

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ

ИРКУТСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ **Прикладная химия** **и биотехнология**

Том 13 N 1 (44) 2023



ИЗДАТЕЛЬСТВО
Иркутского национального исследовательского
технического университета



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия и биотехнология
Том 13 N 1 (44) 2023

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор:

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

Члены редакционной коллегии:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ответственный секретарь:

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

Журнал основан в 2011 г.

Периодичность издания – 4 раза в год.

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

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

Учредитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Иркутский национальный исследовательский технический университет»

Подписной индекс в ООО «Урал-Пресс» – 41903

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

Адрес учредителя и издателя:

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

Адрес редакции:

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

E-mail: biochem@istu.edu

PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
Applied chemistry and biotechnology
IZVESTIYA VUZOV.
Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya
Volume 13 N 1 (44) 2023

EDITORIAL BOARD

Editor in Chief :

Sergei N. Evstafev

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

Editorial council:

Gennadiy B. Borovskii

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

Svetlana Yu. Bratskaya

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

Sergey D. Varfolomeyev

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

Francis Verpoort

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

Vladimir K. Voronov

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

Enjun Gao

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

Mirali N. Dadashev

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

Mikhail Ya. Ioelovich

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

Alexander I.

Nepomnyashchikh

Purevsuren Barnasan

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

Mostafa Rahimnejad

Dr. Sci. (Chemistry), Academician of Mongolian AS, Institute of Chemistry and Chemical Technology of Mongolian AS, Head of the Laboratory of Coal Chemistry (Ulan Bator, Mongolia)
Ph.D. in Biotechnology-Chemical Engineering, Professor of chemical engineering department, Babol Noshirvani University of Technology (Babol, Iran)

Vasily V. Rogozhin

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

Valentina P. Salovarova

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

Sanjib Kumar Panda

Boris A. Ulyanov

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

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

Vitaliy V. Khutoryanskiy

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

Vera A. Chkhenkeli

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

Yanming Shen

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

Executive Secretary:

Alexandra N. Chesnokova

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

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

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

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

The subscription code in Ural-Press LLC: 41903

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

Address of the founder and publisher:

83 Lermontov St., Irkutsk 664074, Russian Federation

Editorial address:

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

СОДЕРЖАНИЕ

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Воронов В.К. Особенности молекулярного строения замещенных азолов, содержащих биологически активный гетероцикл, а также их комплексов по данным спектроскопии ЯМР высокого разрешения ...	6
Кузнецова Ю.Л., Жиганшина Э.Р., Гущина К.С., Чесноков С.А., Кузнецова О.В. Полимеризация метилметакрилата в присутствии трибутилбора и аэросила	17

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Шарма Р., Чоудхари Н., Чоудхари Р., Шарма Г. Противогрибковый потенциал эфирных масел <i>Mentha piperita</i> и <i>Cinnamotum verum</i>	28
Гисматулина Ю.А., Корчагина А.А., Будаева В.В. Синтез наноструктурированных нитратов бактериальной целлюлозы	38
Крапивная М.В., Домрачева В.А., Стом Д.И. Влияние поверхностно-активных веществ (додецилсульфата натрия, цетилтриметиламмония бромида) на проницаемость клеточных мембран корнеплодов красной столовой свеклы <i>Beta vulgaris</i> L.	50
Серба Е.М., Соколова Е.Н., Оверченко М.Б., Римарева Л.В., Игнатова Н.И., Борщева Ю.А. Усовершенствование методики определения липазы, основанной на методе получения жирных кислот, в ферментных препаратах для пищевой промышленности	57
Егорова И.Н., Шергина О.В., Тупикова Г.С. Минеральный состав почвенной цианопрокариоты <i>Nostoc commune</i> из Байкальского региона	67
Табакаев А.В., Табакаева О.В., Щелканов М.Ю. Специализированная липидная композиция для профилактики гиперлипидемии и ожирения	77
Крыжко А.В., Дидович С.В., Сорокин А.В., Лавлинская М.С. Влияние акрилатных гидрогелей на основные параметры культивирования и антагонистическую активность агрономически полезных бактерий	88
Андреева Е.М., Стеценко С.К., Терехов Г.Г., Хуршкайнен Т.В., Кучин А.В. Возможности использования биопрепаратов, полученных из древесной зелени хвойных пород, в искусственном лесовосстановлении сосны обыкновенной	99
Кирилова Н.И., Дегтярева И.А., Прищепенко Е.А. Перспективы применения модифицированного биофунгицида на основе <i>Trichoderma viride</i> для оздоровления почв	107
Цикуниб А.Д., Демченко Ю.А. Токсиколого-биохимическая модель оценки экологической чистоты сельскохозяйственной продукции	115
Цыганова С.И., Левданский А.В., Скрипников А.М., Таран О.П. Структура и сорбционная активность коры лиственницы после обработки зелеными реагентами	124

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Ковалева Е.Б., Дьячкова С.Г., Ганина А.А., Артемьева Ж.Н., Кузора И.Е., Гершпигель Т.Н., Олейник Д.А. Улучшение эксплуатационных свойств автобензинов за счет оптимизации коэффициента распределения детонационной стойкости	133
Короткова Т.Г., Бушумов С.А. Кинетические кривые сорбции нефтепродуктов прокаленным сорбентом из золошлаковых отходов теплоэнергетики	142

CONTENTS

CHEMICAL SCIENCES

Voronov V.K. Molecular structure of substituted azoles, containing a biologically active heterocycle, and their complexes according to high-resolution NMR spectroscopy.....	6
Kuznetsova Yu.L., Zhiganshina E.R., Gushchina K.S., Chesnokov S.A., Kuznetsova O.V. Polymerization of methyl methacrylate in the presence of tributylborane and aerosil	17

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Sharma R., Choudhary N., Choudhary R., Sharma G. Drug discovery: a new bioactive compounds isolated from natural sources	28
Gismatulina Yu.A., Korchagina A.A., Budaeva V.V. Synthesis of nanostructured bacterial nitrocellulose ..	38
Krapivnaya M.V., Domracheva V.A., Stom D.I. Effect of surfactants (sodium dodecyl sulfate, cetyltrimethylammonium bromide) on cell membrane permeability of red beet roots <i>Beta vulgaris</i> L.....	50
Serba E.M., Sokolova E.N., Overchenko M.B., Rimareva L.V., Ignatova N.I., Borsheva Yu.A. Improving an approach to lipase determination in enzyme preparations for the food industry based on a method of fatty acid production	57
Egorova I.N., Shergina O.V., Tupikova G.S. Mineral composition of the <i>Nostoc commune</i> soil cyanoprokaryota in the Baikal region	67
Tabakaev A.V., Tabakaeva O.V., Shchelkanov M.Yu. Lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity	77
Kryzhko A.V., Didovich S.V., Sorokin A.V., Lavlinskaya M.S. Effect of acrylate-based hydrogels on basic cultivation parameters and antagonistic activity of soil beneficial bacteria	88
Andreeva E.M., Stetsenko S.K., Terekhov G.G., Khurshkainen T.V., Kutchin A.V. Possibility the use biopreparations from coniferous raw materials in artificial reforestation of Scots pine	99
Kirillova N.I., Degtyareva I.A., Prishchepenko E.A. Prospects of a modified biofungicide based on <i>Trichoderma viride</i> for soil health improvement	107
Tsikunib A.D., Demchenko Yu.A. A toxicological and biochemical model for assessing the ecological quality of agricultural products	115
Tsyganova S.I., Levdansky A.V., Skripnikov A.M., Taran O.P. Structure and sorption activity of larch bark treated with green reagents	124

CHEMICAL TECHNOLOGY

Kovaleva E.B., D'yachkova S.G., Ganina A.A., Artemyeva Zh.N., Kuzora I.E., Gerspiegel T.N., Oleinik D.A. Improving the performance of motor gasolines by optimizing their knock resistance distribution factor.....	133
Korotkova T.G., Bushumov S.A. Kinetic curves of oil products sorption by calcined sorbent from ash and slag wastes of thermal power engineering	142

Обзорная статья

УДК 543.429.23

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-6-16>



Особенности молекулярного строения замещенных азолов, содержащих биологически активный гетероцикл, а также их комплексов по данным спектроскопии ЯМР высокого разрешения

В.К. Воронов✉

Иркутский национальный исследовательский технический университет,
г. Иркутск, Российская Федерация

Аннотация. Проведен анализ строения и состава молекулярных (многоэлектронных) систем по спектрам ядерного магнитного резонанса (ЯМР), полученным от ядер атома водорода и углерода – ЯМР ^1H и ^{13}C . В ряде случаев проводились квантово-химические расчеты. Кроме ^1H и ^{13}C , использовались также спектры ЯМР от других ядер. Изучалось пространственное и электронное строение молекул различных классов, содержащих в своем составе гетероатомы (азот, кислород, серу, кремний, фосфор), а также различные функциональные группы. Серия работ относится к изучению координационных соединений (диамагнитных и парамагнитных), а также комплексных соединений донорно-акцепторного типа. Установлены области значений параметров спектров ЯМР (химических сдвигов и констант спин-спиновой взаимодействия, включая величины дальних констант спин-спиновой взаимодействия, характерные для азольного цикла) и наиболее известных функциональных групп, входящих в состав замещенных имидазолов и пиразолов. Показано, что указанные параметры могут быть использованы для установления пространственного и электронного строения вновь синтезируемых соединений, содержащих азольный гетероцикл. Проведен анализ спектров ЯМР ^1H и ^{13}C растворов комплексов 1-винилимидазола с хлоридами марганца, кобальта, никеля и меди, а также с органилгалогенстаннанами $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{SnX}$. Доказано, что в растворе парамагнитных комплексов 1-винилимидазола с хлоридами элементов первой переходной группы координирующий атом имеет октаэдрическое окружение, причем четыре молекулы лиганда занимают экваториальное положение. Структура диамагнитных комплексов этого азола с органилгалогенстаннанами представляет собой тригональную бипирамиду. Отработан метод изучения молекулярного строения, основанный на использовании явления ЯМР в парамагнитных системах. Рассмотрены примеры (производные 1-замещенных азолов) применения спектров ЯМР, измененных сверхтонким взаимодействием, для решения различного рода задач, связанных со строением и внутримолекулярной динамикой многоэлектронных систем.

Ключевые слова: спектроскопия ЯМР, 1-замещенные азолы, координационные соединения

Для цитирования: Воронов В.К. Особенности молекулярного строения замещенных азолов, содержащих биологически активный гетероцикл, а также их комплексов по данным спектроскопии ЯМР высокого разрешения // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 6–16. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-6-16>.

CHEMICAL SCIENCES

Review article

Molecular structure of substituted azoles, containing a biologically active heterocycle, and their complexes according to high-resolution NMR spectroscopy

Vladimir K. Voronov✉

Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The structure and composition of many-electron molecular systems were analysed by nuclear magnetic resonance (NMR) spectra obtained from hydrogen and carbon atom nuclei, NMR ^1H and ^{13}C . In some cases, quantum chemical calculations were carried out. In addition to ^1H and ^{13}C , NMR spectra from other nuclei were also used. The spatial and electronic structure of molecules of various classes containing heteroatoms (nitrogen, oxygen, sulphur, silicon and phosphorus), as well as various functional groups, were studied. A series of papers deal with coordination compounds (diamagnetic and paramagnetic), as well as complex compounds of a donor-acceptor type. Parameter domains of NMR spectra — chemical shifts and spin-spin interaction constants — were determined, including the values of long-range spin-spin interaction constants characteristic of the azole cycle and well-known

© Воронов В.К., 2023

functional groups that make up substituted imidazoles and pyrazoles. It was shown that the indicated parameters can be used to establish the spatial and electronic structure of newly synthesized compounds containing an azole heterocycle. The study involved the analysis of NMR spectra ^1H and ^{13}C of solutions of 1-vinylimidazole complexes with manganese, cobalt, nickel and copper chlorides, as well as with organylhalogenostannanes ($\text{C}_2\text{H}_5\text{SnX}$). In a solution of paramagnetic complexes of 1-vinylimidazole with chlorides of elements of the first transition group, the coordinating atom proved to have an octahedral environment, with four ligand molecules occupying the equatorial position. The structure of the diamagnetic complexes of this azole with organylhalogenostannanes is a trigonal bipyramid. A method for studying molecular structures based on NMR in paramagnetic systems is proposed. Examples (derivatives of 1-substituted azoles) of using NMR spectra modified by ultrafine interaction for solving various problems related to the structure and intramolecular dynamics of many-electron systems are provided.

Keywords: NMR spectroscopy, 1-substituted azoles, coordination compounds

For citation: Voronov V.K. Molecular structure of substituted azoles, containing a biologically active heterocycle, and their complexes according to high-resolution NMR spectroscopy. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):6-16. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-6-16>.

ВВЕДЕНИЕ

Пятичленные гетероциклические соединения, содержащие в цикле два или три атома азота, чрезвычайно распространены в природе. Они играют важную роль в биологических процессах и находят разнообразное применение в медицине и технике. Так, соединения, включающие пиразольный и имидазольный циклы, используются в качестве лекарственных препаратов, обладают широким спектром биологической активности. Среди них найдены регуляторы роста растений, дефолианты, гербициды, гипотензивные препараты. Это общепринятые представления, объясняющие, в частности, неослабевающий интерес исследователей к производным имидазола, пиразола и триазола, а также к их комплексам с солями переходных металлов и различными электроакцепторами [1–6]. Данная заинтересованность во многом определяется необходимостью расширения ассортимента биологически активных соединений как основы получения новых лекарственных препаратов. Значимый вклад в этом направлении сделан Иркутским институтом химии Сибирского отделения РАН (до распада СССР – Иркутский институт органической химии Сибирского отделения АН СССР). В 60-х годах XX века в этом институте начались исследования химических и биологических свойств N-винилимидазолов и N-винилбензимидазолов под руководством профессоров Г.Г. Скворцовой и Е.С. Домниной. К этому времени указанные соединения были фактически совершенно не изучены. В последующие годы круг изучаемых различных производных азолов значительно расширился. Исследования соединений данного класса продолжают и в настоящее время. Научным руководителем этих работ является академик РАН Б.А. Трофимов (см. публикации [7–15] и приведенную там литературу).

Проведенные исследования показали, в частности, перспективность использования в медицине комплексных соединений 1-винилазолов и поливинилазолов с солями кадмия, кобальта, никеля, железа, цинка в качестве антидотов окиси углерода, стимуляторов эритропоэза, радиопротекторов, антигипоксантов, антисиликозных препаратов. Однако практическое их использование в медицинских целях предполагало проведение исследований, направленных на установление молекулярного строения и внутримолекулярной динамики указанных соединений. Именно такая информация непосредственно связана с физико-химическими и био-

логическими свойствами соединений, синтезируемых или выделяемых из природного сырья. В свою очередь, знание указанных свойств необходимо для получения веществ с прогнозируемыми свойствами, в том числе для создания конкретных лекарственных форм.

Предметом исследований, результаты которых отражены в настоящей публикации, являлся, прежде всего, анализ строения и состава молекулярных (многоэлектронных) систем по спектрам ядерного магнитного резонанса (ЯМР), полученных от ядер атома водорода (методами протонного магнитного резонанса – ЯМР ^1H) и атома углерода (ЯМР ^{13}C). В ряде случаев, кроме ^1H и ^{13}C , использовались также спектры ЯМР от других ядер. Ряд работ включал проведение квантово-химических расчетов. Изучалось пространственное и электронное строение молекул различных классов, содержащих в своем составе гетероатомы (азот, кислород, серу, кремний, фосфор), а также различные функциональные группы. Серия работ относится к изучению координационных соединений (диамагнитных и парамагнитных), а также комплексных соединений донорно-акцепторного типа. Обсуждались конформационные переходы и таутомерия молекулярных систем, внутримолекулярные водородные связи, поворотная изомерия, конкурентная координация, природа связей металл–лиганд, механизмы химических превращений. Почти все изученные соединения и их комплексы являются новыми (впервые синтезированными либо выделенными из природного сырья). Среди изученных соединений имеется более пятидесяти производных азольного ряда. Результаты, представленные в данной работе, получены фактически в соответствии с планами химических и биологических исследований.

В обозначенных выше задачах центральное место занимало установление спектральных проявлений особенностей пространственного и электронного строения исследуемых молекулярных систем. Часть исследований посвящена изучению особенностей явления ЯМР в парамагнитных системах, специфика которых определяется характером электронно-ядерного или сверхтонкого взаимодействия (СТВ) с участием электронов, локализованных на d- или f-орбиталях [16]. Результатом указанных исследований стало, в частности, создание метода спектрального анализа, основанного на использовании закономерностей СТВ (метода парамагнитных добавок в спектроскопии ЯМР). Практически важный

результат исследований явления ЯМР в парамагнитных комплексах состоит также в том, что продемонстрирована реальная возможность получения нередко уникальной информации о строении сложных молекулярных систем по спектрам ЯМР, трансформированных СТВ. В конечном счете данная информация также является ключом к планированию направленного синтеза соединений, в том числе с прогнозируемыми характеристиками. Результаты выполненных нами исследований отражены в серии публикаций, включающих 5 обзорных статей и 2 монографии. Эти результаты, как и характер проведенных исследований, иллюстрирует материал, изложенный далее. Достаточно полное описание приведено в публикациях [17–20], где можно найти ссылки и на другие наши работы.

ЯМР 1-ВИНИЛИМИДАЗОЛА

В таблице приведены сдвиги (ω , м.д.) сигналов ЯМР ^1H и ^{13}C в спектрах парамагнитного комплекса $\text{CoCl}_2 \cdot 4\text{ВИМ}$ (I), а также диамагнитного комплекса $\text{R}_3\text{SnCl} \cdot \text{ВИМ}$ (II) по сравнению со спектром 1-винилимидазола, записанных в дейтерохлороформе.

Как следует из таблицы, парамагнитные сдвиги сигналов протонов и ядер углерода гетероцикла заметно больше (в среднем примерно на порядок) сигналов резонирующих ядер винильной группы. Они также одинакового знака. Это свидетельствует о том, что неспаренная спиновая плотность, попадающая на атом азота N-3 с парамагнитного координирующего иона кобальта, делокализуется далее преимущественно по σ -системе молекулы винилимидазола (ВИМ). Вместе с тем относительно большие сдвиги для ядер винильной группы, сопоставимое по величине значение ω для сигналов протонов H_A и H_X свидетельствуют о попадании неспаренной спиновой плотности также и в π -систему. Отсюда следует, что введение в имидазольное кольцо электронного заместителя должно влиять на электронную структуру ВИМ, а следовательно, и на ЯМР-спектральные характеристики этого азота.

Примечательно, что больший по величине сдвиг сигнала протона H_A в сравнении с протоном H_B соот-

ветствует тому факту, что в спектрах ЯМР замещенных 1-винилпирролах наблюдается дальнее спин-спиновое взаимодействие через шесть связей протона Н-3 именно с протоном H_A ($J_{\text{H}(3),\text{H}(\text{A})}^6 = 0,4$ Гц, рис. 1), образующих W-фрагмент.

Смысл этого вывода состоит в том, что в определенных молекулярных системах возмущающее воздействие неспаренного электрона на лиганды в парамагнитном комплексе качественно соответствует воздействию спина электрона в радикале и спина ядра в диамагнитной молекуле, изоструктурной радикалу и лиганду. Таким образом, согласно существующим представлениям о механизмах сверхтонкого взаимодействия в парамагнитных системах (как σ -системы, так и π -системы) ВИМ

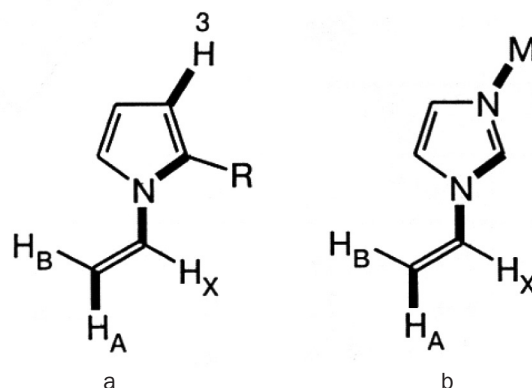
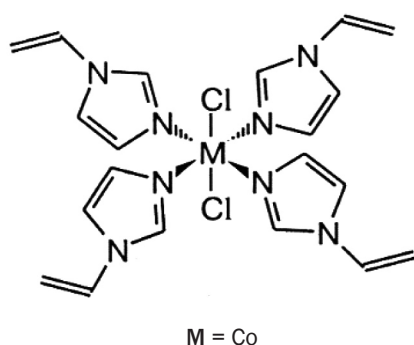
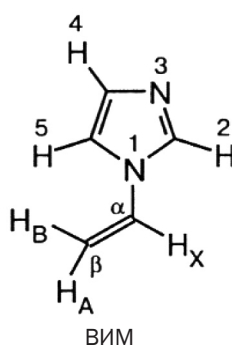


Рис. 1. Иллюстрация дальнего спин-спинового взаимодействия в замещенных пирролах через шесть связей (а) и делокализации неспаренной электронной спиновой плотности на протон H_A молекулы винилимидазола в парамагнитном комплексе (b)

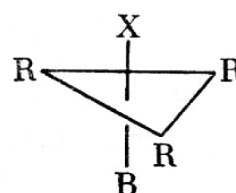
Fig. 1. Illustration of the long-range spin-spin interaction in substituted pyrroles through six bonds (a) and the delocalization of the unpaired electron spin density per H_A proton of the vinylimidazole molecule in the paramagnetic complex (b)



M = Co



ВИМ



B = ВИМ, X = Cl, R = C_2H_5

Сдвиги в спектрах комплексов (I–II) по сравнению со спектром винилимидазола*

Shifts in the spectra of complexes (I–II) compared to the spectrum of vinylimidazole*

Комплекс	H_A	H_B	H_X	H-2	H-4	H-5	C_α	C_β	C-2	C-4	C-5
I	4,60	2,40	4,64	32,74	26,81	27,57	41,08	23,99	360,18	257,68	191,15
II	0,18	0,17	0,18	0,27	0,01	0,20	-0,41	2,86	0,07	-2,42	0,96

Примечание. * – минус соответствует сдвигу в сильное поле.

участвуют в передаче указанного взаимодействия. Это обеспечивает специфику спектров ЯМР парамагнитных комплексов, образуемых данным азолом.

При координации ВИМ с органилгалогенстаннаном сигналы всех протонов образуемого комплекса смещаются в слабое поле (см. таблицу), что свидетельствует об уменьшении электронной плотности на этих ядрах вследствие донорно-акцепторного взаимодействия ВИМ через атом азота N-3 ввиду координации. При этом значения ω протонов винильной группы сопоставимы со сдвигами сигналов протонов кольца. Исключение составляет сигнал протона Н-4, значения химического сдвига которого в спектре ЯМР ^1H диамагнитного комплекса II и лиганда почти совпадают. Константы вицинального спин-спинового взаимодействия протонов винильной группы (J_{AX} и J_{BX}) в спектре комплекса II и свободного лиганда ВИМ совпадают. Однако константа геминального взаимодействия β -олефиновых протонов изменяется от 1,5 до 1,9 Гц. Это свидетельствует об изменении характера связи C-H β -углеродного атома винильной группы в комплексе. Координация ВИМ приводит также к изменениям в экранировании ядер углерода и к смещению сигналов как в слабое, так и в сильное поле. Характерно, что наименьший сдвиг испытывает сигнал от кольцевого атома C-2, в то время как наименьшее значение имеет сигнал протона, связанного с углеродом C-4. Также следует обозначить еще одно экспериментальное наблюдение: константа спин-спинной связи $J_{\text{Sn-C-C-H}}^{117}$ увеличивается в комплексе II до 96,3 Гц по сравнению с некоординированным органилгалогенстаннаном ($(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{SnCl}$ (91,8 Гц).

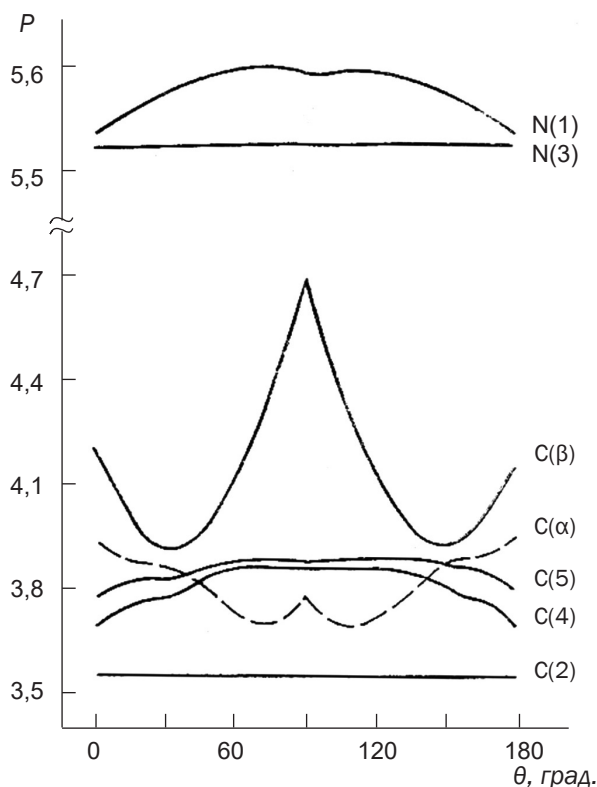


Рис. 2. Зависимость полной электронной плотности на атомах молекулы 1-винилимидазола от угла θ
 Fig. 2. Relationship between total electron density on the atoms of the 1-vinylimidazole molecule and the angle θ

В отличие от парамагнитного комплекса кобальта I структура диамагнитного комплекса ВИМ с триэтилгалогенстаннаном R представляет собой тригональную бипирамиду. При этом атом олова имеет sp^3d -гибридизацию, и три алкильные группы стремятся стать копланарными, взаимодействуя с приблизительно sp^2 -орбиталями олова. Две другие связи должны быть dp -типа, через которые происходит связывание атома олова с молекулой ВИМ и галогеном X; s-характер связи Sn-C возрастает в ряду sp^3 , sp^2 , sp , поэтому при координации происходит отмеченное выше увеличение константы $J_{\text{Sn-C-C-H}}^{117}$.

При координации расположение винильной группы относительно имидазольного кольца может измениться, что, в свою очередь, должно отразиться на ее сопряжении с π -системой гетероцикла. Подтверждением такого вывода, по крайней мере, на качественном уровне является изменение рассчитанной полуэмпирическим квантово-химическим методом полной электронной плотности (P, относит. ед.) на атомах ВИМ при варьировании угла θ в пределах от 0 до 180° , который характеризует выход винильной группы из плоскости имидазольного цикла. Результаты такого расчета отражает рис. 2. Оказалось, что варьирование величины θ в разной степени изменяет полную электронную плотность на атомах молекулы ВИМ. Обращает на себя внимание нечувствительность $P_{\text{C}(2)}$ и особенно $P_{\text{N}(3)}$ к величине угла θ . Именно атомом N-3 молекула ВИМ взаимодействует с $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{SnCl}$, т.е. испытывает донорно-акцепторное воздействие этого органилгалогенстаннана. Следовательно, донорно-акцепторное взаимодействие и поворот винильной группы можно рассматривать как две независимые (в первом приближении) причины, обуславливающие изменения параметров спектров ЯМР ВИМ при координации. Этим также объясняются разные знаки и сопоставимость величины сдвигов сигналов винильной группы со сдвигами сигналов атомов имидазольного цикла (см. таблицу).

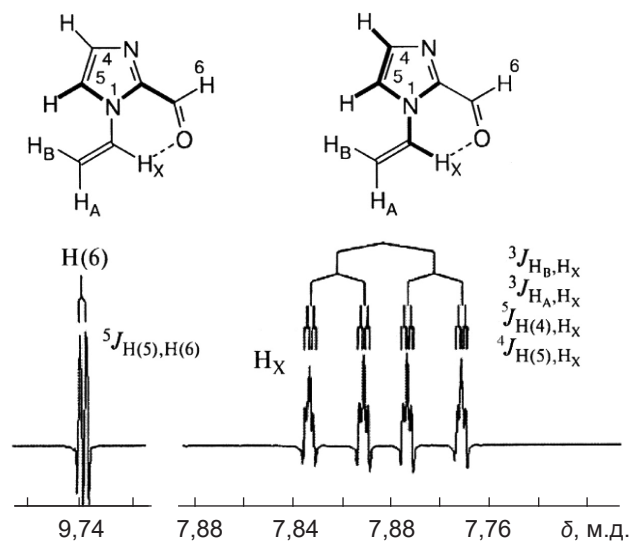


Рис. 3. Фрагмент спектра ЯМР ^1H альдегида винилимидазола
 Fig. 3. Fragment of the ^1H NMR spectrum of vinylimidazole aldehyde

Проведенные нами исследования показали еще одну характерную особенность молекулярного строения ВИМ – существование дальнего спин-спинового взаимодействия (ДССВ) между протонами азольного гетероцикла и винильной группы, связанной с пиррольным атомом азота (N-1). Оказалось, что такое взаимодействие проявляется в том случае, когда в положении 2 пятичленного кольца находится атом азота (пиразол, триазол) либо заместитель у C-2, в частности метильная или карбонильная группы (имидазол). На рис. 3 приведен фрагмент спектра ЯМР ^1H альдегида ВИМ, иллюстрирующий характер спин-спиновой связи протонов винильной группы и имидазольного кольца. Именно следствием такой связи является расщепление компонент сигнала протона H_x в триплеты. Указанное взаимодействие соответствует представлению о плоском строении альдегида ВИМ, чему способствует внутримолекулярная связь протона H_x с атомом кислорода карбонильной группы.

Помимо соединения I и II, нами были исследованы также ЯМР комплексов ВИМ· 4MnCl_2 , ВИМ· 4NiCl_2 , ВИМ· 4CuCl_2 и R_3SnX ·ВИМ ($\text{X} = \text{Br}, \text{I}$). Детальный анализ спектральной информации показал, что в комплексах $\text{M} \cdot 4\text{ВИМ}$ ($\text{M} = \text{Ni}, \text{Co}, \text{Cu}$) молекулы ВИМ находятся в экваториальной плоскости. Для этих комплексов реализуется механизм делокализации неспаренной электронной спиновой плотности с координирующего иона на молекулы лигандов через пиридиновый атом азота. В случае комплекса марганца сверхтонкое взаимодействие передается как через σ -системы, так и π -системы молекулы ВИМ. Для выяснения причины передачи СТВ по π -механизму было принято во внимание существенное уменьшение времени релаксации протона H_x при незначительном смещении его сигнала. Следствием этого является уширение сигнала H_x , а также изменение константы J_{AX} и J_{BX} из-за эффекта подавления спин-спинового взаимодействия химическим обменом.

Причину, обуславливающую дополнительное уширение сигнала H_x , можно понять, если считать

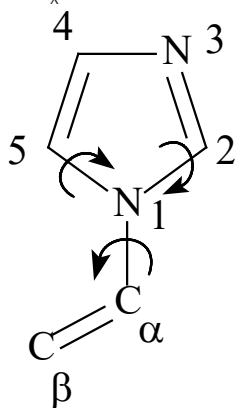


Рис. 4. Возможные внутримолекулярные движения в молекуле 1-винилимидазола

Fig. 4. Possible intramolecular movements in the 1-vinylimidazole molecule

молекулу ВИМ неплоской. Действительно, в соответствии с рис. 4, из-за отклонения связей $\text{N}_1\text{--C}_2$ и $\text{N}_1\text{--C}_5$ от плоскости $\text{C}_2\text{--N}_3\text{--C}_4\text{--C}_5$ атом H_2 приблизится к N_1 , а H_5 удалится. При этом вследствие вращения вокруг связи $\text{N}_1\text{--C}_\alpha$ винильная группа может повернуться так, что H_x также приблизится к атому N_1 . Выход этого атома из плоскости гетероцикла должен приводить к нарушению сопряжения его неподеленной пары с π -системой гетероцикла. При этом H_x будет препятствовать сопряжению p_z -электронов N_1 и π -системы винильной группы. Таким образом, неподеленная пара атома N_1 может оказаться изолированной настолько, что молекула ВИМ будет входить в координационную сферу Mn^{2+} именно этим атомом. Так как время релаксации ядер лиганда определяется 6-й степенью расстояния до координирующего иона, дополнительное уширение прежде всего должны испытывать сигналы протонов H_x и H_2 .

В растворе молекулы ВИМ какое-то время (время жизни в координационной сфере парамагнитного иона) находятся в координационной сфере и затем могут покидать ее. В случае комплексов кобальта, никеля и меди молекулы ВИМ каждый раз координируются пиридиновым атомом азота N_3 , что обуславливает передачу СТВ по σ -механизму. В случае же комплекса марганца молекула ВИМ при очередном вхождении также координируется атомом N_3 , но при следующем вхождении – пиррольным атомом N_1 . По-видимому, больший ионный радиус Mn^{2+} в сравнении с ионными радиусами Co^{2+} , Ni^{2+} и Cu^{2+} делает возможным координацию молекулы ВИМ к Mn^{2+} атомом N_1 . Поэтому наблюдаемый парамагнитный сдвиг будет определяться также влиянием механизма делокализации. Именно этим объясняются отмеченные выше отличительные особенности СТВ в комплексе $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{ВИМ}$. Очевидно, что изменение температуры исследуемого образца может влиять на характер искажения строения имидазольного цикла, а следовательно, на возможность координации молекулы ВИМ атомом N_1 .

ЯМР 1-ВИНИЛПИРАЗОЛА

Проведенные исследования показали, что в спектрах ЯМР на протонах 1-винильных производных имидазола и пиразола при температуре выше 0°C наблюдается уширение сигналов протона H_A винильной группы и кольцевых протонов: H-2 – в спектре 1-винилимидазола, H-3 и H-4 – в спектре винилпиразола (ВПЗ). Это уширение не снимается дополнительным облучением (гомоядерный двойной резонанс), но зависит от температуры исследуемого образца. Так, в спектре 1-винилимидазола при температуре 60°C ширина линий квартета от H_A и H_B одинакова, а вид сигналов протонов кольца определяется спин-спиновым взаимодействием протонов между собой. В спектре ВПЗ при температуре 60°C

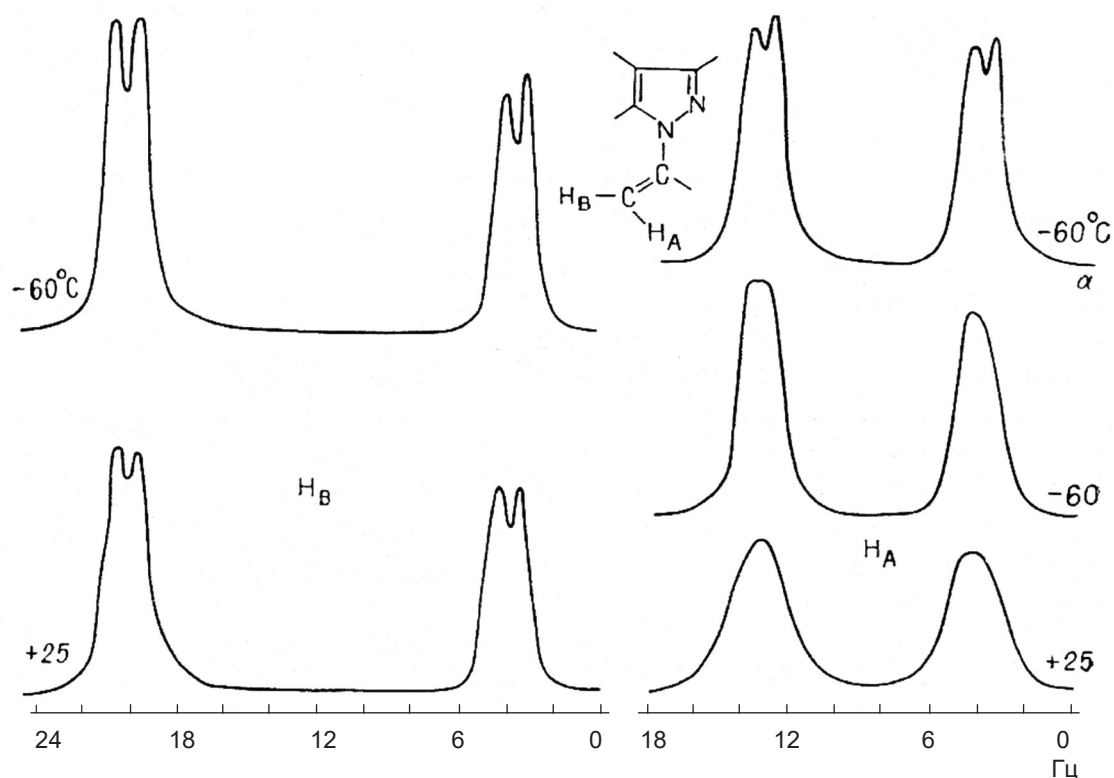


Рис. 5. Часть спектра протонного магнитного резонанса винилпиразола, записанная при различных температурах образца. Кривая а: сигнал протона H_A при развязке от протона H_3

Fig. 5. Degree of damage to the proton magnetic resonance of vinylpyrazole, injury at different sample temperatures. Curve a: signal of proton H_A upon decoupling from proton H_3

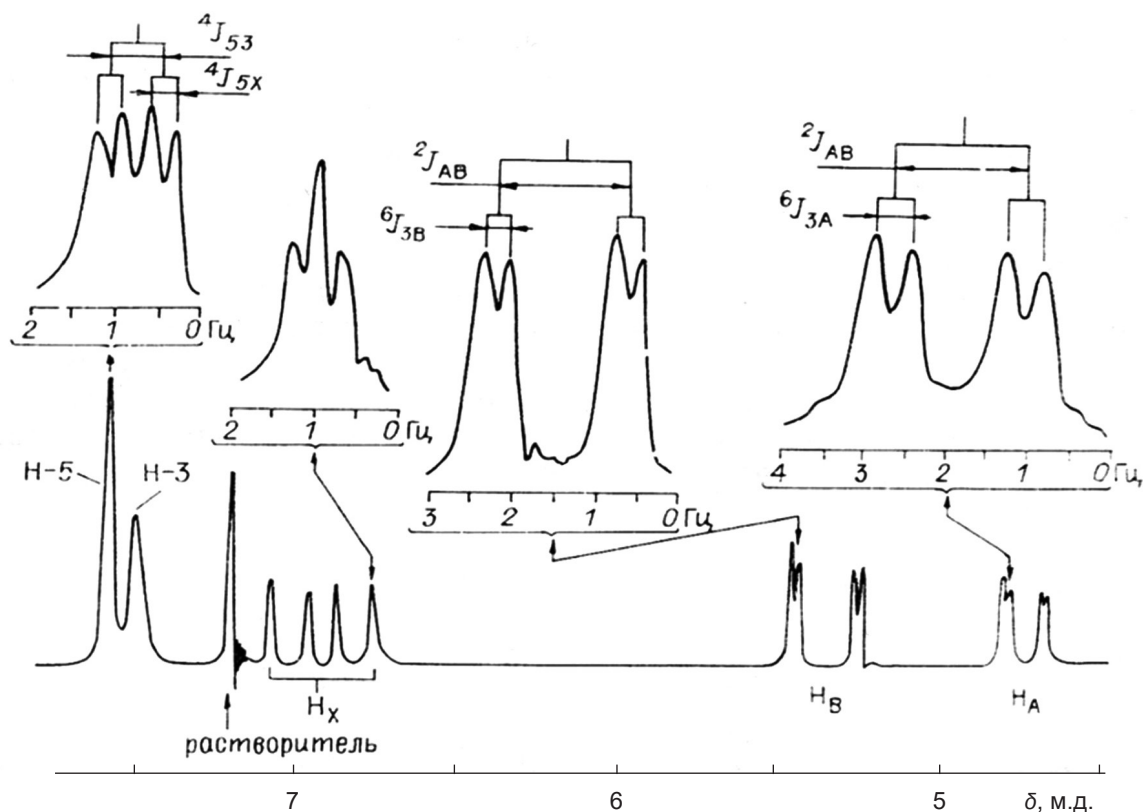


Рис. 6. Спектр протонного магнитного резонанса, иллюстрирующий характер спин-спинового взаимодействия в 1-винил-4-бромпиразоле

Fig. 6. Proton magnetic resonance spectrum illustrating the nature of the spin-spin interaction in 1-vinyl-4-bromopyrazole

отмеченное выше уширение сигнала H_A не снимается (рис. 5).

Однако использование двойного резонанса оказывается эффективным, т.к. приводит к сужению линий квартета H_A (рис. 5, кривая а). Это свидетельствует о дальнем спин-спиновом взаимодействии протонов кольца и винильной группы. Воздействие температуры на ширину резонансных линий свидетельствует о влиянии квадрупольного момента ядра на релаксацию протонов через спин-спиновую связь $^1H-^{14}N$. Указанные особенности спектров ВПЗ, а также близость значений химических сдвигов сигналов протонов Н-3 и Н-5 затрудняли анализ спектров по правилам для спектров первого порядка с тем, чтобы достаточно однозначно определить величины всех констант J и прежде всего константы J дальнего спин-спинового взаимодействия. Замена водорода в положении 4 на бром должна упрощать вид спектра, не меняя (по крайней мере, существенно) пространственную структуру. В связи с этим анализировался спектр 1-винил-4-бромпиразола вакуумированного образца в условиях развязки от ядра азота ^{14}N . Спектр 4-бромзамещенного производного ВПЗ характеризуется следующими параметрами (δ , м.д.; J , Гц): $\delta_5 = 7,63$; $\delta_3 = 7,54$; $\delta_A = 4,86$; $\delta_{H_x} = 5,45$; $\delta_0 = 6,97$; $^2J_{AB} = 1,50$; $^3J_{AX} = 8,90$; $^3J_{BX} = 15,70$; $^4J_{35} = 0,62$; $^5J_{3X} = 0,32$; $^6J_{3A} = 0,43$; $^6J_{3B} = 0,29$. Индексы при δ и J соответствуют обозначениям на рис. 6.

На рис. 6 внизу приведен обзорный спектр протонного магнитного резонанса (ПМР) в 1-винил-4-бром-

пиразоле, а над ним – отдельные сигналы в увеличенном масштабе, характеризующие спин-спиновое взаимодействие, в том числе и дальнее, в 1-винил-4-бромпиразоле. Отнесение сигналов протонов у двойной связи сделано в соответствии со значениями δ и J , характерными для спектров ПМР винильных соединений. Принципиальной является идентификация сигналов кольцевых протонов, проведенная с помощью метода парамагнитных добавок, в качестве которых использовался ацетилацетонат никеля – $Ni(AA)_2$. При соответствующих условиях уширение, обусловленное СТВ между нескомпенсированным электронным спином и резонирующими ядрами лигандов, связано с расстоянием r от координирующего иона до резонирующего ядра соотношением $\Delta \sim r^{-6}$ [18]. Следовательно, трансформация спектра парамагнитной добавкой должна приводить к существенно неодинаковому уширению сигналов. Исходя из данного условия, следовало ожидать, что $\Delta_3 > \Delta_5 \approx \Delta_4$. Далее, если ориентироваться на парамагнитные сдвиги сигналов ВИМ в спектре парамагнитного комплекса $NiCl_2 \cdot 4ВИМ$, наблюдаемые парамагнитные сдвиги сигналов протонов пиразольного цикла должны быть заметно больше таковых сигналов винильной группы.

На рис. 7 приведены обзорные спектры ПМР ВПЗ, записанные в CCl_4 при комнатной температуре, внутренний стандарт – гексаметилдисилоксан без (1) и с небольшими добавками $Ni(AA)_2$ (2–5). Концентрация

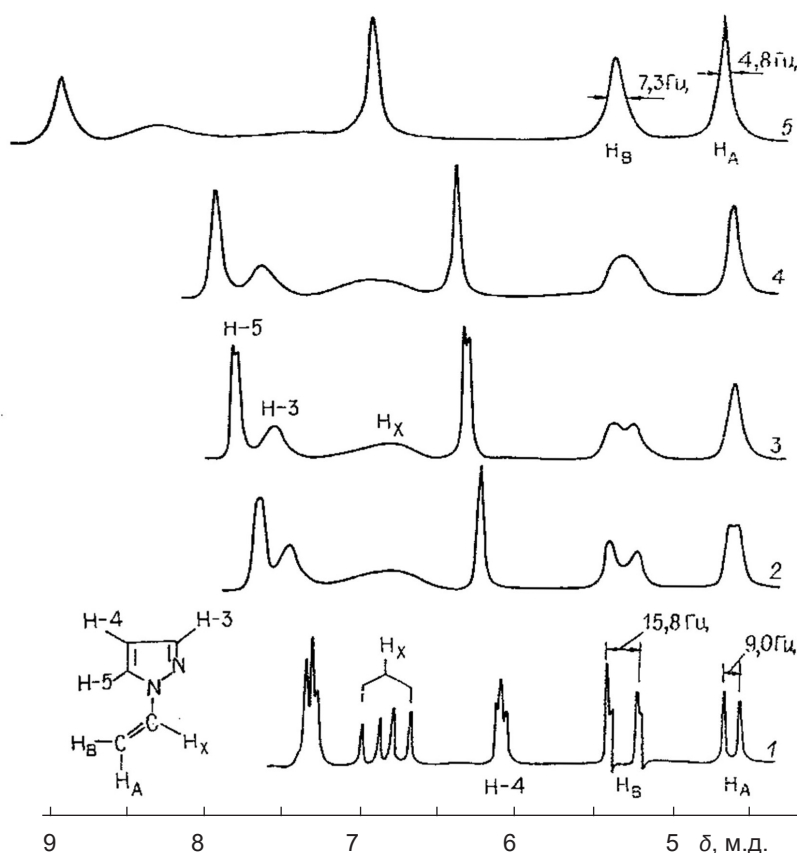


Рис. 7. Спектры протонного магнитного резонанса 1-винилпиразола без (1) и с различным содержанием добавок (2–5) $Ni(AA)_2$

Fig. 7. Proton magnetic resonance spectra of 1-vinylpyrazole without (1) and with different contents of additives (2–5) $Ni(AA)_2$

ацетилацетоната никеля примерно на два порядка меньше концентрации ВПЗ в исследуемых образцах. Как и в случае спектра 1-винил-4-бромпиразола, два дублета в сильном поле обусловлены β -олефиновыми протонами H_A и H_B (см. рис. 7, спектр 1). Дублетный характер сигналов является следствием спин-спинового взаимодействия упомянутых выше протонов с протоном H_X , сигнал которого по этой причине представлен квартетом (дублет дублетов). Далее в сторону слабого поля от сигналов β -олефиновыми протонами резонирует протон Н-4, обуславливая появление сигнала с триплетной структурой, вследствие его взаимодействия с протонами Н-3 и Н-5 с примерно одинаковой константой ($J_{43} \approx J_{45} \approx 1,5$ Гц). Если говорить о 2-х других протонах пиразольного цикла, то они резонируют в наиболее слабом поле, давая два близко расположенных сигнала. При увеличенном масштабе видно, что один из них (с меньшим значением химического сдвига) оказывается более уширенным. Добавление в раствор 1-винилпиразола $Ni(AA)_2$ приводит, во-первых, к существенному уширению именно этого сигнала и, во-вторых, к заметному парамагнитному смещению второго (более узкого) сигнала (см. рис. 7, спектры 2–5). На основании характера влияния СТВ на спектры ЯМР следует заключить, что в спектре ВПЗ в наиболее слабом поле резонирует протон Н-5. Такой же порядок расположения сигналов протонов пиразольного цикла сохраняется и в спектре 1-винил-4-бромпиразола. Аналогичное отнесение сигналов было сделано также в спектрах ЯМР метильных замещенных пиразолов. Это был первый пример использования метода парамагнитных добавок в структурных исследованиях, основанного на использовании спектров ЯМР, трансформированных СТВ. Детали метода были подробно рассмотрены в работах, ссылки на которые можно найти в обзорной статье [18].

Представляет интерес следующая особенность спектров ПМР ВПЗ, записанных с добавками $Ni(AA)_2$. Оказалось, что с увеличением концентрации парамагнитного комплекса в образце дублеты от β -олефиновых протонов заменяются синглетами с меньшей шириной линии, чем величины вицинальных констант $J = 9,0$ Гц, $J = 15,8$ Гц (см. рис. 7). Объяснение этого эффекта основывается на представлении об изменении времени релаксации T_2 – одного из взаимодействующих по спин-спиновому механизму ядер в образцах, содержащих парамагнитные ионы. Такое изменение T_2 происходит вследствие химического обмена молекул между координационной сферой парамагнитного комплекса и свободным лигандом. Условие, необходимое для снятия (подавления) спин-спинового взаимодействия, записывается в следующем виде: $JT_{2P} < 1$, где $1/T_{2P} = 1/T_{2M} - 1/T_2$; T_{2M} и T_2 – времена поперечной релаксации ядра в парамагнитном комплексе и вне его [16, 18]. Если в молекуле лиганда ядро i , взаимодействующее с ядром j , окажется достаточно близко к координирующему иону, то приведенное неравенство может реализоваться, в результате чего константа J_{ij} , которую принято выражать в единицах частоты, в сигнале ядра j не будет проявляться. При добавлении в раствор ВПЗ небольшого количества $Ni(AA)_2$ сигнал протона H_X сильно уширяется (на рис. 7 в спектре 5 он фактически не виден), что свидетельствует о су-

щественном изменении величины T_{2P} для H_X . Это указывает также на такое относительное расположение винильной группы и гетероцикла, при котором H_X ориентирован в сторону атома N-2. Именно этим атомом азота ВПЗ координирует с $Ni(AA)_2$. Следует отметить, что добавление в раствор $Ni(AA)_2$ приводит также к подавлению спин-спинового взаимодействия протонов Н-3 и Н-4, поэтому сигнал Н-4 из триплета превращается в дублет (ср. спектры 1 и 3 на рис. 7) из-за спин-спинового взаимодействия с протоном Н-5.

Из спектра протонного магнитного резонанса 1-винилпиразола (см. рис. 6) следует, что между протоном цикла Н-3 и протоном Н-4 винильной группы реализуется ДССВ через шесть связей. В соответствии с существующими в литературе представлениями обсуждаемое ДССВ передается преимущественно через плоский зигзагообразный фрагмент (рис. 8, схема А), т.е. при транс-расположении протонов Н-3 и H_A .

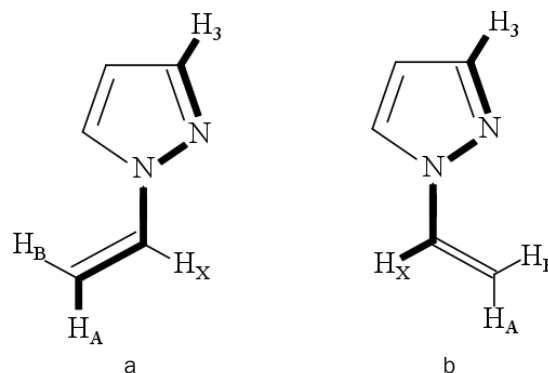


Рис. 8. S-транс(N_2)-конформация (а) и S-цис(N_2)-конформация (b) 1-винилпиразола

Fig. 8. S-trans (N_2)-conformation (a) and S-cis (N_2)-conformation (b) of 1-vinylpyrazole

Это свидетельствует об эффективной заселенности S-транс(N_2)-конформации. В то же время имеется константа ДССВ через пять связей между протоном цикла Н-3 и протоном винильной группы H_X (0,32 Гц), которое также передается через плоский зигзагообразный фрагмент (рис. 8, схема В). Следовательно, S-цис(N_2)-конформация 1-винил-4-бромпиразола также оказывается заселенной. Таким образом, анализ ДССВ указывает на наличие поворотной цис-транс-изомерии в 1-винилпиразолах.

Таким образом, проведен анализ спектров протонного магнитного резонанса 1-винилпиразола, записанных в условиях содержания в исследуемых образцах парамагнитной добавки. На этом основании сделано отнесение сигналов протонов, находящихся в 3 и 5-м положениях пиразольного цикла. Дано объяснение эффекта подавления или снятия спин-спинового взаимодействия на основе представления об изменении времени релаксации взаимодействующих по спин-спиновому механизму ядер в образцах, содержащих парамагнитные ионы. Такое изменение обусловлено воздействием спина неспаренных электронов координирующего иона на резонирующие ядра молекул лиганда (1-винилпиразола). Установлено, что координированная молекула данного гетероцикла имеет молекулярное строение, при котором

протон винильной группы, находящийся в α по отношению к атому азота N-1 пиразольного цикла, ориентирован в сторону атома N-2. Данные, полученные в процессе обсуждения спектров 1-винилпиразола, использовались для полного анализа спектра протонного магнитного 1-винил-4-бромпиразола, отличительной особенностью которого является проявление ДССВ протонов кольца и винильной группы. Анализ указанного взаимодействия позволил сделать вывод о том, что характерной особенностью молекулярного строения 1-винильных производных пиразола является наличие в них поворотной *цис-транс*-изомерии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Записаны и проанализированы спектры ЯМР высокого разрешения нескольких десятков 1-замещенных производных азолов. Установлены области значений параметров спектров ЯМР (химических сдвигов и констант спин-спиновой взаимодействия, включая величины дальних констант спин-спиновой взаимодействия, характерные для азольного цикла) и наиболее известных функциональных групп, входящих в состав замещенных имидазолов и пиразолов. Показано, что указанные параметры могут быть использованы для установления пространственного и электронного строения вновь синтезируемых соединений, содержащих азольный гетероцикл. Принципиальная особенность исследованных спектров ЯМР – проявление в них дальней спин-спиновой связи вследствие взаимодействия протонов гетероцикла и винильной группы. Такое взаимодействие проявляется в том случае, когда в положении 2 пятичленного цикла находится атом азота (пиразол, триазол) либо заместителем у C-2 является метильная группа (имидазол). Указанная дальняя спин-спиновая связь демонстрирует, в частности, наличие поворотной *цис-транс*-изомерии в 1-винилпиразолах относительно химической связи между атомом N-1 гетерокольца и связанного с ним атомом углерода заместителя.

Проведен анализ спектров ЯМР ^1H и ^{13}C растворов комплексов 1-винилимидазола с хлоридами марганца, кобальта, никеля и меди, а также с органигалогенстаннанами ($\text{C}_2\text{H}_5\text{SnX}$). Доказано, что в растворе парамагнитных комплексов 1-винилимидазола с хлоридами элементов первой переходной группы координирующий атом имеет октаэдрическое окружение, причем четыре молекулы лиганда занимают экваториальное положение. Установлено, что в исследованных комплексах кобальта, никеля и меди молекулы 1-винилимидазола координируются к центральному иону пиридиновым атомом азота N-3. Что касается парамагнитного комплекса марганца, то молекулы данного азола могут координироваться также и пиррольным атомом азота N-1 в определенном интервале температур. В свою очередь, указанная возможность обусловлена неплоскостным строением гетероцикла 1-винилимидазола. Структура диамагнитных комплексов этого азола с органигалогенстаннанами представляет собой тригональную бипирамиду. При этом атом олова имеет sp^3d -гибридизацию, и три алкильные группы стремятся стать копланарными, взаимодействуя приблизительно с sp^2 -орбиталями олова. Две другие связи являются dp -типа, через которые происходит связывание атома олова с молекулой 1-винилимидазола и галогеном X.

Отработан метод изучения молекулярного строения, основанный на использовании явления ЯМР в парамагнитных системах. Рассмотрены примеры (производные 1-замещенных азолов) его практического применения для решения различного рода задач, связанных со строением и внутримолекулярной динамикой многоэлектронных систем. Эти примеры иллюстрируют те приемы, которые необходимо использовать с целью получения информации о молекулярном строении как лигандов, так и комплексов из их спектров ЯМР, трансформированных сверхтонким или электронно-ядерным взаимодействием.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ocansey E., Darkwa J., Makhubela B.C.E. Synthesis, characterization and evaluation of bulky bis(pyrazolyl)palladium complexes in Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions // RSC Advances. 2018. Vol. 8, no. 25. P. 13826–13834. <https://doi.org/10.1039/C8RA01430B>.
2. Chibac A.L., Georghe R., Corneliu C., Sacarescu G., Simionescu M., Sacarescu L. Pyrazoline based chloride sensor for body fluids screening // Journal of Molecular Liquids. 2019. Vol. 284. P. 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.04.007>.
3. Saliyeva L.N., Diachenko I.V., Vas'kevich R.I., Slyvka N.Yu., Vovk M.V. Imidazothiazoles and their hydrolyzed analogs: methods of synthesis and biomedical potential // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2020. Vol. 56, no. 11. P. 1394–1407. <https://doi.org/10.1007/s10593-020-02827-w>.
4. Petko K.I., Filatov A.A. Addition reaction of various azoles to perfluoromethyl vinyl ether // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2021. Vol. 57. P. 666–671. <https://doi.org/10.1007/s10593-021-02965-9>.
5. Meanwell N.A., Sista R. A survey of applications of tetrahydropyrrolo-3,4-azoles and tetrahydropyrrolo-2,3-azoles in medicinal chemistry // Advances in Heterocyclic Chemistry. 2021. Vol. 134. P. 31–100. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2020.10.004>.
6. Rotella D.P. Heterocycles in drug discovery: properties and preparation // Advances in Heterocyclic Chemistry. 2021. Vol. 134. P. 149–183. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2020.10.002>.
7. Шостаковский М.Ф., Скворцова Г.Г., Домнина Е.С. N-винильные производные пиррольного ряда // Успехи химии. 1969. Т. 38. С. 407–419.
8. Шостаковский М.Ф., Скворцова Г.Г., Глазкова Н.П., Домнина Е.С. Винилирование имидазола и бензимидазола // Химия гетероциклических соединений. 1969. N 6. С. 1070–1072.
9. Малькиа А.Г., Скворцов Ю.М., Трофимов Б.А., Торяшинова Д.Д., Чипанина Н.Н., Волков А.Н. [и др.]. Цианоацетилен и его производные. Нуклеофильное присоединение азолов к фенилацетилену // Журнал органической химии. 1981. Т. 17. С. 2438–2444.
10. Андриянкова Л.В., Комарова Т.Н., Нахманович А.С., Абрамова Н.Д., Скворцова Г.Г. Взаимодействие бензимидазол-2-тиона с ацетилацетиленами и

дибензоил-ацетиленами // Журнал органической химии. 1985. Т. 21. С. 2610–2613.

11. Nedolya N.A., Brandsma L., Trofimov B.A. Direct synthesis of isomeric thiazole and imidazole derivatives from methyl isothiocyanate // *Tetrahedron Letters*. 1997. Vol. 38, no. 35. P. 6279–6280. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(97\)01407-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(97)01407-X).

12. Trofimov B.A., Adriyankova L.V., Mal'kina A.G., Belyaeva K.V., Nikitina L.P., Baikalo L.V. A peculiar vinylation of 1-substituted imidazoles with α,β -acetylenic γ -hydroxyacid nitriles // *Mendeleev Communications*. 2007. Vol. 17, no. 4. P. 237–238. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2007.06.019>.

13. Trofimov B.A., Adriyankova L.V., Mal'kina A.G., Belyaeva K.V., Nikitina L.P., Afonin A.V., et al. C(2)-functionalization of 1-substituted imidazoles with aldehydes and electron-deficient acetylenes: a novel three-component reaction // *European Journal of Organic Chemistry*. 2010. Vol. 2010, no. 9. P. 1772–1777. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200901397>.

14. Trofimov B.A., Adriyankova L.V., Belyaeva K.V. New methodology of functionalization of the imidazole ring by alkynes // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2012. Vol. 48, no. 1. P. 147–154. <https://doi.org/10.1007/s10593-012-0978-2>.

15. Belyaeva K.V., Adriyankova L.V., Nikitina L.P., Bagryanskaya I.Yu., Afonin A.V., Ushakov I.A., et al. Reaction of 1-substituted benzimidazoles with acylacetylenes and water: ring-opening versus ring-expansion and isotopic effect of deuterium //

Tetrahedron. 2015. Vol. 71, no. 19. P. 2891–2899. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.03.056>.

16. Miao Q., Nitsche Ch., Orton H., Overhand M., Otting G., Ubbink M. Paramagnetic chemical probes for studying biological macromolecules // *Chemical Reviews*. 2022. Vol. 122, no. 10. P. 9571–9642. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00708>.

17. Voronov V.K., Ushakov I.A. Structure and intramolecular dynamics of biologically active compounds: analysis of NMR spectra transformed by spin labels // *Applications of NMR Spectroscopy*. 2016. Vol. 5. P. 159–218. <https://doi.org/10.2174/9781681082875116050006>.

18. Воронов В.К. Исследование молекулярного строения по спектрам ЯМР высокого разрешения, трансформированным парамагнитными комплексами // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2019. Т. 9. N 2. P. 183–193. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-183-193>.

19. Voronov V.K., Ushakov I.A., Adamovich S.N., Oborina E.N. NMR spectroscopic studies of ligand exchange in paramagnetic complexes of Co and Ni hydrometallates // *Russian Chemical Bulletin*. 2021. Vol. 70. P. 2354–2358. <https://doi.org/10.1007/s11172-021-3352-7>.

20. Voronov V.K., Ushakov I.A., Funtikova E.A. The heterospin cobalt complexes: peculiarities of high-resolution NMR spectra // *Heliyon*. 2022. Vol. 8, no. 4. P. e09202. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09202>.

REFERENCES

1. Ocansey E., Darkwa J., Makhubela B.C.E. Synthesis, characterization and evaluation of bulky bis(pyrazolyl)palladium complexes in Suzuki–Miyaura cross-coupling reactions. *RSC Advances*. 2018;8(25):13826–13834. <https://doi.org/10.1039/C8RA01430B>.

2. Chibac A.L., Georghe R., Corneliu C., Sacarescu G., Simionescu M., Sacarescu L. Pyrazoline based chloride sensor for body fluids screening. *Journal of Molecular Liquids*. 2019;284:139–146. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.04.007>.

3. Saliyeva L.N., Diachenko I.V., Vas'kevich R.I., Slyva N.Yu., Vovk M.V. Imidazothiazoles and their hydrogenated analogs: methods of synthesis and biomedical potential. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2020;56(11):1394–1407. <https://doi.org/10.1007/s10593-020-02827-w>.

4. Petko K.I., Filatov A.A. Addition reaction of various azoles to perfluoromethyl vinyl ether. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2021;57:666–671. <https://doi.org/10.1007/s10593-021-02965-9>.

5. Meanwell N.A., Sistla R. A survey of applications of tetrahydropyrrolo-3,4-azoles and tetrahydropyrrolo-2,3-azoles in medicinal chemistry. *Advances in Heterocyclic Chemistry*. 2021;134:31–100. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2020.10.004>.

6. Rotella D.P. Heterocycles in drug discovery: properties and preparation. *Advances in Heterocyclic Chemistry*. 2021;134:149–183. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2020.10.002>.

7. Shostakovskij M.F., Skvortova G.G., Domnina E.S. N-vinyl derivatives of the pyrrole series. *Uspehi himii = Russian Chemical Reviews*. 1969;38:407–419. (In Russian).

8. Shostakovskij M.F., Skvortova G.G., Glazkova N.P., Domnina E.S. Vinylation of imidazole and benzimidazole. *Himija geterociklicheskih soedinenij = Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 1969;6:1070–1072. (In Russian).

9. Mal'kiya A.G., Skvortov Ju.M., Trofimov B.A., Torjashinova D.D., Chipanina N.N., Volkov A.N., et al. Cyanoacetylene and its derivatives. Nucleophilic addition of azoles to phenylacetylene. *Zhurnal organicheskoy himii*. 1981;17:2438–2444. (In Russian).

10. Andriyankova L.V., Komarova T.N., Nahmanovich A.S., Abramova N.D., Skvortova G.G. Interaction of benzimidazole-2-thione with acetylacetylenes and dibenzoyl-acetylenes. *Zhurnal organicheskoy himii*. 1985;21:2610–2613. (In Russian).

11. Nedolya N.A., Brandsma L., Trofimov B.A. Direct synthesis of isomeric thiazole and imidazole derivatives from methyl isothiocyanate. *Tetrahedron Letters*. 1997;38(35):6279–6280. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(97\)01407-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(97)01407-X).

12. Trofimov B.A., Adriyankova L.V., Mal'kina A.G., Belyaeva K.V., Nikitina L.P., Baikalo L.V. A peculiar vinylation of 1-substituted imidazoles with α,β -acetylenic γ -hydroxyacid nitriles. *Mendeleev Communications*. 2007;17(4):237–238. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2007.06.019>.

13. Trofimov B.A., Adriyankova L.V., Mal'kina A.G., Belyaeva K.V., Nikitina L.P., Afonin A.V., et al. C(2)-functionalization of 1-substituted imidazoles with aldehydes and electron-deficient acetylenes: a novel three-component reaction. *European Journal of Organic Chemistry*.

try. 2010;2010(9):1772-1777. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200901397>.

14. Trofimov B.A., Adriyankova L.V., Belyaeva K.V. New methodology of functionalization of the imidazole ring by alkynes. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2012;48(1):147-154. <https://doi.org/10.1007/s10593-012-0978-2>.

15. Belyaeva K.V., Adriyankova L.V., Nikitina L.P., Bagryanskaya I.Yu., Afonin A.V., Ushakov I.A., et al. Reaction of 1-substituted benzimidazoles with acylacetylenes and water: ring-opening versus ring-expansion and isotopic effect of deuterium. *Tetrahedron*. 2015;71(19):2891-2899. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.03.056>.

16. Miao Q., Nitsche Ch., Orton H., Overhand M., Otting G., Ubbink M. Paramagnetic chemical probes for studying biological macromolecules. *Chemical Reviews*. 2022;122(10):9571-9642. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00708>.

17. Voronov V.K., Ushakov I.A. Structure and intramolecular dynamics of biologically active compounds: anal-

ysis of NMR spectra transformed by spin labels. *Applications of NMR Spectroscopy*. 2016;5:159-218. <https://doi.org/10.2174/9781681082875116050006>.

18. Voronov V.K. Use of high-resolution NMR spectra transformed by paramagnetic complexes for studying molecular structure. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2019;9(2):183-193. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-183-193>.

19. Voronov V.K., Ushakov I.A., Adamovich S.N., Oborina E.N. NMR spectroscopic studies of ligand exchange in paramagnetic complexes of Co and Ni hydrometalatranes. *Russian Chemical Bulletin*. 2021;70:2354-2358. <https://doi.org/10.1007/s11172-021-3352-7>.

20. Voronov V.K., Ushakov I.A., Funtikova E.A. The heterospin cobalt complexes: peculiarities of high-resolution NMR spectra. *Heliyon*. 2022;8(4):e09202. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09202>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Воронов Владимир Кириллович,
д.х.н., профессор,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
✉vladim.voronov1945@yandex.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Vladimir K. Voronov,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
✉vladim.voronov1945@yandex.ru

Вклад автора

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

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.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict interests

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

Автор прочел и одобрил окончательный вариант рукописи.

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

Информация о статье

Поступила в редакцию 14.04.2022.
Одобрена после рецензирования 27.10.2022.
Принята к публикации 28.02.2023.

Information about the article

The article was submitted 14.04.2022.
Approved after reviewing 27.10.2022.
Accepted for publication 28.02.2023.

Научная статья

УДК 541.124:542.952.6:547.313

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-17-27>



Полимеризация метилметакрилата в присутствии трибутилбора и аэросила

Ю.Л. Кузнецова*✉, Э.Р. Жиганшина**, К.С. Гущина*, С.А. Чесноков**,
О.В. Кузнецова**

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
г. Нижний Новгород, Российская Федерация

**Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН,
г. Нижний Новгород, Российская Федерация

Аннотация. Исследована полимеризация метилметакрилата в присутствии 0,3–1,2 масс. % аэросила и следующих инициаторов: динитрила азо-бис-изомасляной кислоты, динитрила азо-бис-изомасляной кислоты совместно с трибутилбором, динитрила азо-бис-изомасляной кислоты совместно с трибутилбором и 2,5-ди-трет-бутилбензохиноном-1,4, трибутилбора совместно с ди-трет-бутилперокситрифенилсульфидом. Введение аэросила способствует изменению кинетики полимеризации метилметакрилата и характера ИК-спектра, свидетельствующее об увеличении доли синдиотактического полимера. Это связано с ориентацией мономера и полимера на поверхности наполнителя вследствие адсорбции за счет карбонильного атома кислорода и d-орбиталей кремния. Каждая иницирующая система оказывает особое влияние на ход кинетических кривых. Полимеризация метилметакрилата в присутствии трибутилбора – это координационно-радикальная полимеризация, протекающая в координационной сфере атома бора. Дополнительная координация нарушает координацию мономера и замедляет полимеризацию. Полимеризация метилметакрилата в присутствии системы трибутилбор–п-хинон сочетает в себе координационно-радикальную полимеризацию и псевдоживую радикальную полимеризацию. Для иницирующей системы трибутилбор–ди-трет-бутилперокситрифенилсульфид наряду с физической адсорбцией реализуется и химическая адсорбция, способствующая образованию композита, в котором полимерная матрица (полиметилметакрилат) связана с наполнителем (аэросилом) ковалентными связями. Увеличение количества аэросила до 10 масс. % приводит к соответствующему изменению ИК-спектров композитов. Для изучения механических свойств были получены лабораторные образцы композитов и пленок. Деформационные свойства полиметилметакрилата ухудшаются при его наполнении аэросилом, что характерно для композиционных материалов. Микротвердость меняется в зависимости от используемого инициатора и вида прививки (физической или химической) и коррелирует с кинетическими данными.

Ключевые слова: аэросил, трибутилбор, метилметакрилат, полимеризационное наполнение, полимерный композиционный материал

Благодарности. Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Аналитический центр ИМХ РАН» (г. Нижний Новгород) при поддержке гранта «Обеспечение развития материально-технической инфраструктуры центров коллективного пользования научным оборудованием» (уникальный идентификатор RF – 2296.61321X0017, номер соглашения 075-15-2021-670).

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (базовая часть госзадания, проект № FSWR-2023-0025).

Для цитирования: Кузнецова Ю.Л., Жиганшина Э.Р., Гущина К.С., Чесноков С.А., Кузнецова О.В. Полимеризация метилметакрилата в присутствии трибутилбора и аэросила // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 17–27. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-17-27>.

CHEMICAL SCIENCES

Original article

Polymerization of methyl methacrylate in the presence of tributylborane and aerosil

Yulia L. Kuznetsova*✉, Elnara R. Zhiganshina**, Ksenya S. Gushchina*,
Sergey A. Chesnokov**, Olga V. Kuznetsova**

*National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod,
Nizhny Novgorod, Russian Federation

**G.A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry RAS, Nizhny Novgorod, Russian Federation

© Кузнецова Ю.Л., Жиганшина Э.Р., Гущина К.С., Чесноков С.А., Кузнецова О.В., 2023

Abstract. In this work, we study the polymerization of methyl methacrylate in the presence of 0.3–1.2 wt% aerosil and the following initiators: dinitrile azo-bis-isobutyric acid together with tributylborane; dinitrile azo-bis-isobutyric acid together with tributylborane and 2,5-di-tert-butyl benzoquinone-1,4; tributylborane together with di-tert-butyl peroxy-triphenylstibine. Aerosil introduction alters the polymerization kinetics of methyl methacrylate and the respective IR spectra, indicating an increase in the proportion of syndiotactic polymer. This process is related to the orientation of the monomer and polymer on the filler surface due to adsorption by means of the carbonyl oxygen atom and silicon d-orbitals. Each initiating system has a particular effect on the kinetic curves. The polymerization of methyl methacrylate in the presence of tributylborane proceeds through coordination-radical polymerization in the coordination sphere of the boron atom. Additional coordination disrupts monomer coordination and slows down polymerization. The polymerization of methyl methacrylate in the presence of the tributylborane-p-quinone system combines the routes of coordination-radical polymerization and pseudo-living radical polymerization. The initiating system of tributylborane-di-tert-butyl peroxy-triphenylstibine is characterized by implementation of both physical and chemical adsorption mechanisms. The latter promotes the formation of a composite through covalent bonds between the polymer matrix (polymethyl methacrylate) and the filler (aerosil). An increase in the amount of aerosil up to 10 wt% leads to a corresponding change in the IR spectra of the composites. Laboratory samples were prepared to study the mechanical properties of composites and films. When filled with aerosil, polymethyl methacrylate demonstrate worse deformation properties, which is typical of composite materials. The microhardness of the material varies depending on the initiator used and the grafting type (physical or chemical), correlating with the kinetic data.

Keywords: aerosil, tributylborane, methyl methacrylate, polymerization filler, polymer composite material

Acknowledgements. The study was carried out using the equipment of the Center for Collective Use “Analytical Center of IOMC RAS” (Nizhny Novgorod) with the financial support of the grant “Ensuring the development of the material and technical infrastructure of the centers for collective use of scientific equipment” (Unique identifier RF – 2296.61321X0017, Agreement no. 075-15-2021-670).

Funding. The work was financially supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (project no. FSWR-2023-0025).

For citation: Kuznetsova Yu.L., Zhiganshina E.R., Gushchina K.S., Chesnokov S.A., Kuznetsova O.V. Polymerization of methyl methacrylate in the presence of tributylborane and aerosil. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):17-27. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-17-27>.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время большое внимание уделяется созданию полимерных композиционных материалов (ПКМ) и разработке новых способов наполнения полимеров. ПКМ – это конструкция, в которой наполнитель встроен в матрицу [1–5], которая связывает и распределяет частицы наполнителя, обеспечивает химическую стойкость конструкции и придает форму конечному изделию [5]. В целом ПКМ представляет собой тонкую дисперсию 2-х или более несмешивающихся фаз, кажущихся гомогенными в макроскопическом масштабе и гетерогенными в микроскопическом [6–8]. Наполнение полимеров доступными неорганическими наполнителями решает 2 задачи параллельно: с одной стороны, способствует экономии более дорогого полимера, а с другой, позволяет улучшать эксплуатационные свойства материалов и часто придавать им новые качества [9]. Одним из популярных наполнителей является диоксид кремния, что обусловлено большим многообразием его модификаций и широкой областью применения [4, 10, 11]. ПКМ на основе кремнеземов природного и синтетического происхождения находят свое применение в строительстве, сельском хозяйстве, пищевой промышленности и биомедицине [10]. Главным преимуществом диоксида кремния является его адсорбирующая способность как по отношению к воде в случае гидрофильных модификаций, так и к органическим веществам в случае гидрофобных модификаций [11]. Склонность наполнителя к физической адсорбции усиливает действие матрицы по распределению

и скреплению наполнителя, что значительно улучшает качество получаемого ПКМ.

Перспективным методом создания ПКМ является метод полимеризационного наполнения, позволяющий получать ПКМ в одну стадию [9]. Данный метод дает возможность получать ПКМ, в которых наполнитель связан с полимерной матрицей как за счет физической адсорбции, так и за счет химической прививки. Ряд публикаций свидетельствует об иницировании системой триалкилбор–кислород привитой полимеризации виниловых мономеров на природные [12–14] и синтетические [15] полимеры, а также минеральные наполнители [16]. Способность системы триалкилбор–кислород иницировать привитую полимеризацию на поверхности органических и минеральных наполнителей положена в основу создания акрилатных клеевых композиций [17]. Низкотемпературная иницирующая система трибутилбор (ТББ) – ди-tert-бутилперокситрифенилсурьма (ДТБФС) позволяет осуществлять химическую прививку поливинилхлорида на аэросил [18]. В настоящее время известны и другие иницирующие системы, содержащие алкилы бора, такие как динитрил азо-бис-изомасляной кислоты (ДАК) – ТББ [19] и ДАК–ТББ–*p*-хинон [20], которые не были исследованы в полимеризационном наполнении виниловых мономеров.

Цель работы – исследование полимеризационного наполнения полиметилметакрилата (ПММА) аэросилом в присутствии иницирующих систем, включающих ТББ: ДАК–ТББ, ДАК–ТББ–2,5-ди-tert-бутилбензохинон-1,4 (2,5-ДТББХ), ТББ–ДТБФС.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Органические растворители очищали по известным методикам [21]. Метилметакрилат (ММА) отмывали от ингибитора 10%-м водным раствором гидроксида натрия, а затем водой до нейтральной реакции. Сушили над сернокислым натрием. Перегоняли, собирая фракцию с температурой кипения 100 °С. ДАК (ООО АО «Реахим», Россия) очищали перекристаллизацией из метил-трет-бутилового эфира. ТББ, $T_{\text{кип.}} 91$ °С/12 мм рт. ст., синтезировали взаимодействием эфира 3-фтористого бора с соответствующим реактивом Гриньяра [22] и перегоняли при пониженном давлении (90 °С/8 мм рт. ст.). Чистоту веществ контролировали методом ЯМР-спектроскопии. ДТБФС получали из трифенилсурьмы и трет-бутилгидропероксида при мольном соотношении 1:5 в петролейном эфире при температуре 0–5 °С, выход продукта количественный [23]. 2,5-ДТБХ получен окислением соответствующего гидрохинона. Наполнитель – аэросил А-200 (ТУ-6-18-188-74).

Для проведения полимеризации в ампулу помещали расчетные количества наполнителя, мономера, инициатора и хинона. Смесь дегазировали многократным замораживанием и размораживанием в вакууме. В другую ампулу добавляли необходимое количество гексанового раствора ТББ, гексан отгоняли при пониженном давлении. Содержимое ампул смешивали, замораживали, оттаивали от установки и помещали в термостат с заданной температурой (30 и 60 °С для ДТБФС и ДАК соответственно). Через заданные интервалы времени ампулы вынимали из термостата и охлаждали. Полученные полимеры выделяли путем быстрого высаживания петролейным эфиром, сушили при комнатной температуре. Конверсию определяли гравиметрически. Для изучения пост-полимеризации готовили раствор макроинициатора 5 масс. % в мономере, раствор заливали в ампулу, дегазировали, оттаивали и помещали в термостат при температуре 80 °С.

Для регистрации ИК-спектров поглощения был использован ИК-спектрофотометр IRPrestige-21 (Shimadzu, Япония). Для снятия ИК-спектра приготавливали пленки на отражающей пластине (KBr, ZnSe).

Для получения лабораторных образцов композитов в каждом случае исходную композицию дегазировали в ампуле и прогревали в водном термостате при температуре 30/60 °С в течение 1–1,5 ч. Затем ампулу вскрывали и вязкий полимеризат на воздухе помещали в полость формы, образованной двумя силикатными стеклами с демпфирующей прокладкой между ними (трубка ПВХ диаметром 2 мм). Форму с композицией помещали в термощкаф и прогревали при температуре 60 °С в течение 10 ч, после чего форму остужали до комнатной температуры, разбирали и извлекали образец полимерного стекла. Микротвердость полимерных композитов измеряли с помощью твердомера ПМТ–3 (АО «ЛОМО», Россия). Принцип действия прибора основан на вдавлении алмазной пирамиды в исследуемый материал под определенной нагрузкой и измерении линейной величины диагонали полученного отпечатка. Для этого готовили образцы стекол толщиной 2 мм. Число твердости определяли по формуле:

$$H = \frac{1854 \times P}{C^2},$$

где H – число твердости, кг-мм⁻²; P – нагрузка, г; C – диагональ отпечатка, мк.

Изучение деформационных свойств полученных образцов было основано на результатах испытаний при растяжении. Испытания проводили на испытательной машине Zwick/Roell Z005 (Zwick, Германия). Для этого были изготовлены пленки образцов без наполнителя и с содержанием аэросила 10 масс. % одинаковой толщины. Данный метод заключается в растяжении образца полимера с постоянной скоростью и регистрацией деформации и напряжения (силы).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Диоксид кремния широко применяется в создании ПКМ. Интерес к этому наполнителю обусловлен наличием нескольких его аллотропных модификаций, различающихся размером частиц, плотностью, количеством гидроксильных групп на поверхности. Такое разнообразие кремнеземов позволяет использовать их для создания широкого круга ПКМ. В настоящей работе в качестве наполнителя в полимеризационном наполнении ПММА использовали непористый кремнезем – аэросил с размером частиц 7–40 нм. Основные достоинства его как наполнителя следующие: предотвращение расслаивания наполненных композиций, резко выраженный усиливающий эффект в резинах, предотвращение слипания полимерных пленок, хорошая диспергируемость в большинстве полимеров [24].

Была изучена кинетика полимеризации ММА в присутствии следующих инициаторов:

- I – 0,1 мол. % ДАК (рис. 1);
- II – 0,1 мол. % ДАК; 0,8 мол. % ТББ (рис. 2);
- III – 0,1 мол. % ДАК; 0,8 мол. % ТББ; 0,25 мол. % 2,5-ДТБХ (рис. 3);
- IV – 0,8 мол. % ТББ; 0,1 мол. % ДТБФС (рис. 4).

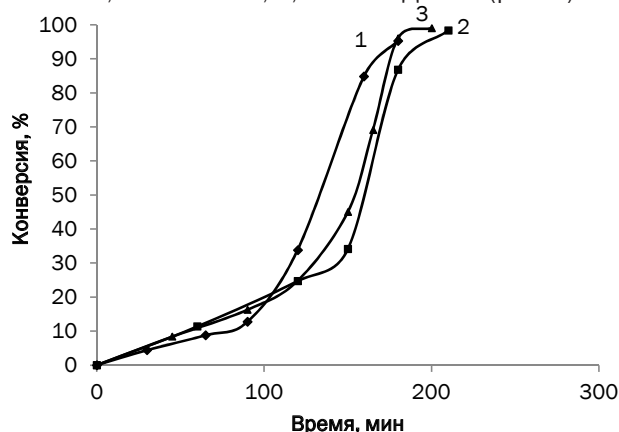


Рис. 1. Кинетические кривые полимеризации метилметакрилата при температуре 60 °С, инициируемой динитрилом азо-бис-изомасляной кислоты (0,1 мол. %): 1 – без наполнителя; 2 – 0,5 мол. % (0,3 масс. %); 3 – 1,0 мол. % (0,6 масс. %) аэросила

Fig. 1. Kinetic curves of polymerization of MMA at 60 °C initiated by AIBN (0.1 mol%): 1 – without filler; 2 – 0.5 mol% (0.3 wt%); 3 – 1.0 mol% (0.6 wt%) of aerosil

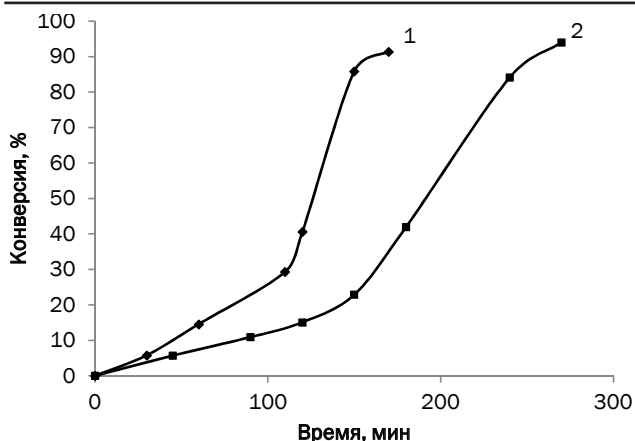


Рис. 2. Кинетические кривые полимеризации метилметакрилата при температуре 60 °С, инициируемой динитрилом азо-бис-изомасляной кислоты (0,1 мол. %), в присутствии трибутилбора (0,8 мол. %): 1 – без наполнителя; 2 – 0,5 мол. % (0,3 масс. %) аэросила

Fig. 2. Kinetic curves of polymerization of MMA at 60 °C initiated by AIBN (0.1 mol%) in the presence of TBB (0.8 mol%): 1 – without filler; 2 – 0.5 mol% 0.3 wt% of aerosil

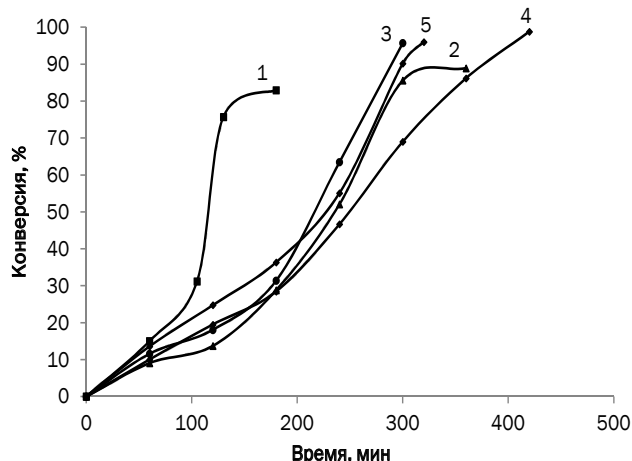


Рис. 3. Кинетические кривые полимеризации метилметакрилата при температуре 60 °С, инициируемой 0,1 мол. % динитрилом азо-бис-изомасляной кислоты, в присутствии 0,8 мол. % трибутилбора и 0,25 мол. % 2,5-ди-трет-бутилбензохинона: 1 – без наполнителя; 2 – 0,5 (0,3); 3 – 1,0 (0,6); 4 – 1,5 (0,9); 5 – 2,0 (1,2) мол. % (масс. %) аэросила

Fig. 3. Kinetic curves of polymerization of MMA at 60 °C initiated by 0.1 mol% AIBN, in the presence of 0.8 mol% TBB and 0.25 mol% 2,5-di-tert-butyl benzoquinone (2,5-DTBBQ): 1 – without filler; 2 – 0.5 (0.3); 3 – 1.0 (0.6); 4 – 1.5 (0.9); 5 – 2.0 (1.2) mol% (wt%) of a erosil

Температура процесса составила 60 °С для инициаторов I–III, 30 °С – для IV. Выбор инициаторов II–IV обусловлен тем, что, согласно литературным данным [12–16], некоторые боралкилсодержащие инициирующие системы позволяют проводить полимеризационное наполнение виниловых мономеров за счет прививки полимера на поверхность наполнителя. Причем IV ранее использовалась в полимеризационном наполнении только поливинилхлорида [18], а II и III использованы в данной работе впервые. Традиционный радикальный инициатор I взят для сравнения.

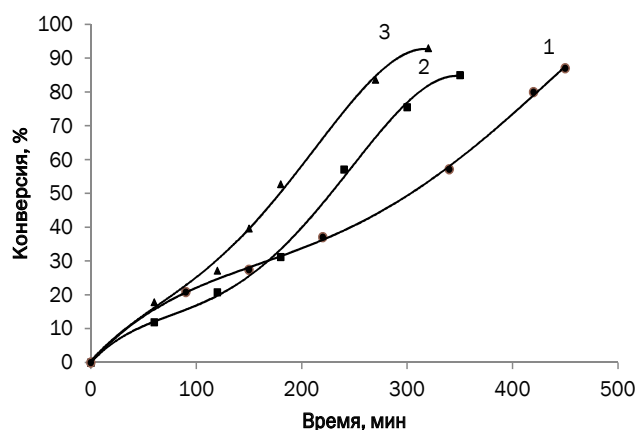
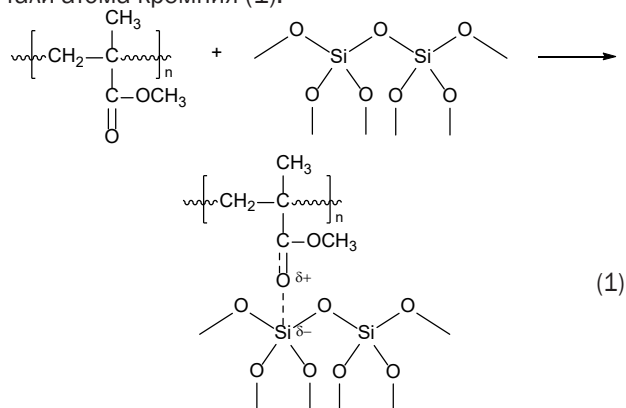


Рис. 4. Кинетические кривые полимеризации метилметакрилата при температуре 30 °С, инициируемой ди-трет-бутилперокситрифенилсульфурой (0,1 мол. %), трибутилбором (0,8 мол. %): 1 – без наполнителя; 2 – 0,5 (0,3); 3 – 1,5 (0,9) мол. % (масс. %) аэросила

Fig. 4. Kinetic curves of polymerization of MMA at 30 °C initiated by di-tert-butylperoxytriphenylsulfur (DTBPS) (0.1 mol%), TBB (0.8 mol%): 1 – without filler; 2 – 0.5 (0.3); 3 – 1.5 (0.9) mol% (wt%) of aerosil

Как видно из рис. 1–4, введение аэросила в полимеризацию MMA в количестве 0,5–2,0 мол. % способствует изменению хода кинетической кривой. Характер этого изменения зависит от того, какой инициатор использовался в полимеризации. Так, в присутствии традиционного радикального инициатора ДАК I наблюдается незначительное увеличение начальной скорости полимеризации и смещение гель-эффекта в сторону больших конверсий. Для инициаторов II и III (см. рис. 2, 3), наоборот, скорость падает. В случае IV (см. рис. 4) наблюдается увеличение скорости полимеризации и вырождение гель-эффекта.

В ИК-спектрах ПММА, синтезированного в присутствии инициатора III и аэросила (рис. 5, кр. 2, 3), наблюдается незначительное увеличение интенсивности полосы поглощения при 1060 см⁻¹ по сравнению с ИК-спектром ненаполненного ПММА (см. рис. 5, кр. 1). Это может быть связано с увеличением доли синдиотактического ПММА [25], которое происходит вследствие соответствующего расположения мономерных звеньев на поверхности наполнителя за счет координации карбонильного кислорода и вакантной d-орбитали атома кремния (1):



Увеличение концентрации аэросила способствует увеличению интенсивности полосы поглощения при

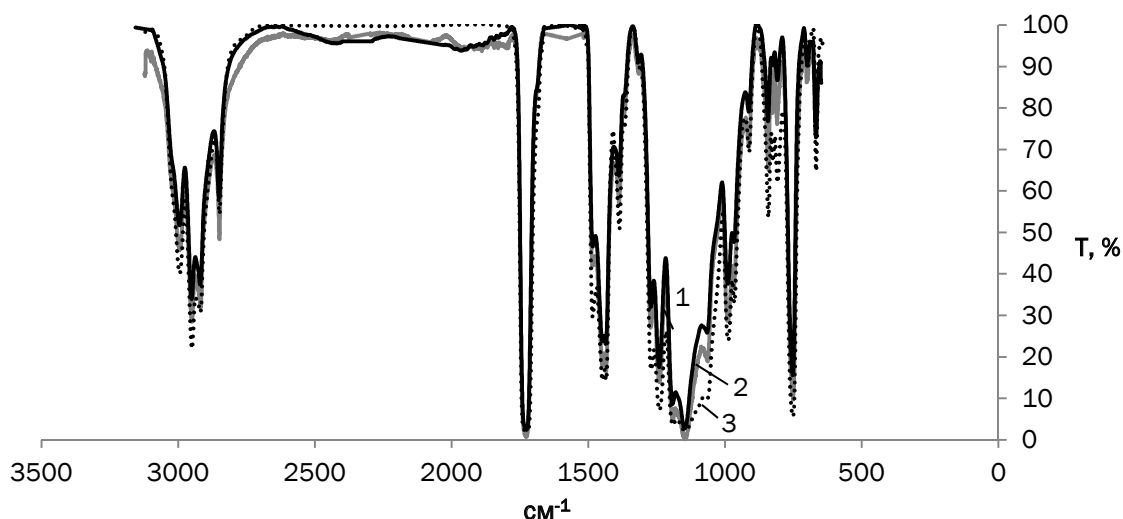


Рис. 5. ИК-спектры полиметилметакрилата, синтезированного в присутствии 0,1 мол. % динитрила азо-бис-изомасляной кислоты; 0,8 мол. % трибутилбора; 0,25 мол. % 2,5-ди-трет-бутилбензохинона: 1 – без наполнителя; 2 – 0,5 (0,3); 3 – 2,0 (1,2) мол. % (масс. %) аэросила

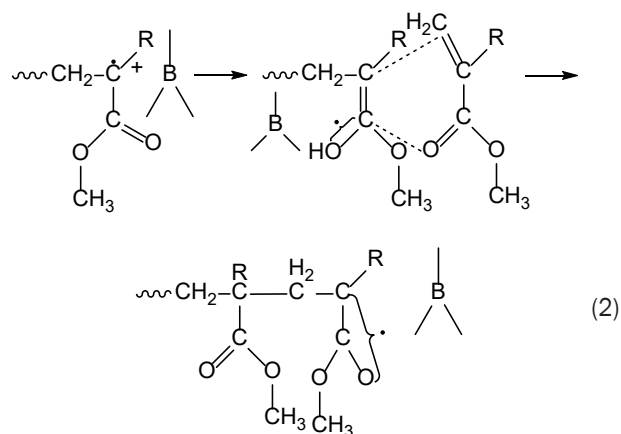
Fig. 5. IR spectra of PMMA synthesized in the presence of 0.1 mol% AIBN, 0.8 mol% TBB, 0.25 mol% 2,5-DTBBQ: 1 – without filler; 2 – 0.5 (0.3); 3 – 2.0 (1.2) mol% (wt%) aerosil

1060 cm^{-1} . Кроме того, наблюдается уменьшение интенсивности полосы поглощения при 1140 cm^{-1} и прослеживается тенденция к расширению полос поглощения в интервале 1150–1240 cm^{-1} , относящаяся к деформационным и валентным колебаниям С–О-связи в сложной группе ПММА и колебаниям С–С-связи углеродного скелета. Подобные изменения в ИК-спектрах наблюдаются для всех использованных инициаторов, зависят только от концентрации аэросила и не связаны с составом инициатора (табл. 1).

Таким образом, не зависимо от использованного инициатора образующийся ПММА адсорбирован на

поверхности аэросила, что является основной причиной изменения ИК-спектров (см. рис. 5, табл. 1). Предположительно адсорбция ПММА предшествует адсорбция MMA за счет координации карбоксильного кислорода и вакантной d-орбитали атома кремния [14], что в случае инициатора I способствует упорядоченному расположению молекул мономера, снижению неконтролируемого роста цепи при геле-эффекте (см. рис. 1, кр. 2, 3) по сравнению с полимеризацией в отсутствие аэросила (см. рис. 1, кр. 1).

Для инициаторов II и III, содержащих в своем составе ТББ (см. рис. 2, 3), характерна координационно-радикальная полимеризация (2) [26]:



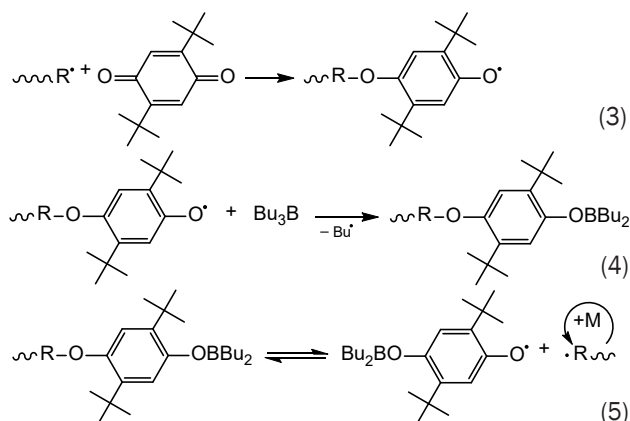
Мы полагаем, что в результате такой конкурирующей координации радикала роста в момент присоединения новой молекулы мономера уменьшается адсорбция MMA на поверхности аэросила и, как следствие, нарушается упорядоченное расположение молекул мономера, в результате чего снижается скорость полимеризации (см. рис. 2, 3). При этом общая адсорбция готового продукта сохраняется, о чем свидетельствуют данные ИК-спектров (см. рис. 5, табл. 1).

Таблица 1. Интенсивности полос поглощения при 1060 и 1140 cm^{-1} в ИК-спектрах полиметилметакрилата, полученного в присутствии различных иницирующих систем и аэросила

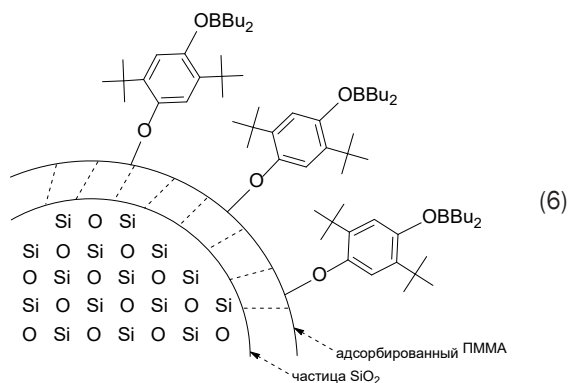
Table 1. Intensity of absorption bands at 1060 and 1140 cm^{-1} in the IR spectra of PMMA obtained in the presence of various initiating systems and aerosil

Иницирующая система	Содержание аэросила, масс. %	Интенсивность полосы поглощения при 1060 cm^{-1} , %	Интенсивность полосы поглощения при 1140 cm^{-1} , %
ДАК	0	72,8	95,8
	0,3	76,6	93,5
	0,6	80,5	91,7
ДАК-ТББ	0	72,8	95,8
	0,3	78,4	93,2
ДАК-ТББ-2,5-ДТББХ	0	72,8	95,8
	0,3	77,3	93,7
	1,2	84,0	91,3
ДТБФС-ТББ	0	72,8	95,8
	0,3	75,5	93,0
	0,9	81,2	91,7

Полимеризация ММА в присутствии инициатора III (см. рис. 3) сочетает в себе координационно-радикальную полимеризацию (2) и псевдоживую радикальную полимеризацию [20, 22]. Улавливание л-хиноном радикалов роста (3) и последующее S_R2-замещение (4) приводит к образованию макроинициатора, который способствует реиницированию (5).

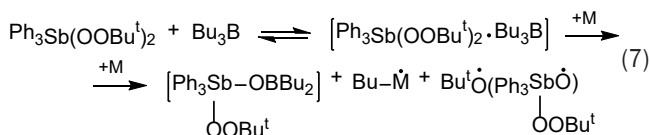


Появление дополнительного источника свободных радикалов – макроинициатора, который адсорбирован на поверхности аэросила, – способствует сохранению высокой начальной скорости полимеризации (см. рис. 3, кр. 2–4) в отличие от полимеризации ММА в присутствии инициатора II (см. рис. 2, кр. 2). В результате полимер, полученный за счет обратимого ингибирования, «прикреплен» к адсорбированному на поверхности аэросила ПММА в виде «лучей» (6).

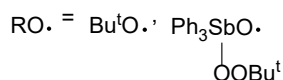
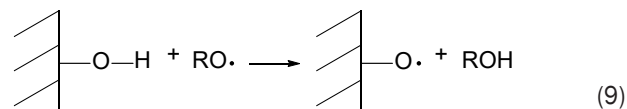
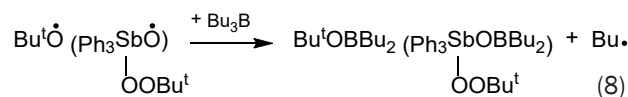


Подтверждением псевдоживой полимеризации является пост-полимеризация ММА. Полимер с конверсией 23%, синтезированный полимеризацией ММА в присутствии инициатора III и 1,5 мол. % (0,9 масс. %) аэросила, использовали в качестве макроинициатора. За 2 ч наблюдали рост глубины превращения в 2,8 раза.

Значительное отличие кинетики полимеризации ММА в присутствии низкотемпературной иницирующей системы IV (см. рис. 4, кр. 1, 2) от остальных инициаторов I–III (см. рис. 1–3) связано с другим механизмом полимеризационного наполнения [18]. Образование первичных углерод- и кислородцентрированных радикалов происходит при распаде комплекса ТББ–ДТБФС при участии мономера (7):



Кислородцентрированные радикалы отрывают атом водорода от гидроксильных групп аэросила, тем самым иницируя привитую полимеризацию (8, 9):



То есть полимеризационное наполнение в случае инициатора IV представляет собой совокупность адсорбции ПММА на поверхности аэросила за счет взаимодействия карбоксильного кислорода и атомов кремния, а также химической прививки за счет поверхностных гидроксильных групп аэросила.

Увеличение содержания аэросила в образцах ПММА до 10 масс. % приводит к дальнейшему увеличению интенсивности полос поглощения при 1060 см⁻¹ (рис. 6, кр. 2), аналогичное тому, что наблюдали для полимеров, полученных в присутствии 0,5–2,0 мол. % аэросила. Полосы поглощения, соответствующие кремнезему (1060–1160 см⁻¹), в полученных спектрах (см. рис. 6, кр. 2) попали в диапазон сильного поглощения, что указывает на образование более компактной упаковки полимера с аэросилом. Следует отметить, что ИК-спектр механической смеси ПММА и аэросила (рис. 7, кр. 2) с аналогичными концентрациями идентичен спектру ПММА (см. рис. 7, кр. 1), что подтверждает наше предположение о первичной адсорбции мономера на поверхности наполнителя.

ИК-спектры наполненного ПММА с содержанием аэросила 10 масс. %, синтезированного в присутствии иницирующих систем I–IV, полностью идентичны. Для установления факта прививки были проведены испытания некоторых механических свойств продуктов, а именно микротвердости и деформационных свойств (табл. 2). Механические свойства изучались для образцов ПММА, содержащих 10 масс. % аэросила, изготовленных в виде лабораторных композитов и пленок. Деформационные свойства ПММА ухудшаются при его наполнении аэросилом, что характерно для композиционных материалов.

Изменение микротвердости определяется тем, какой инициатор использовали в наполнении ПММА. Как видно из табл. 2, ненаполненные образцы сильно отличаются по своим молекулярно-массовым характеристикам, в связи с этим сильно различается микротвердость гомополимеров. Введение аэросила в образцы усиливает композиты, созданные при участии I и IV. Мы полагаем, что снижение микротвердости образцов, полученных в присутствии систем II

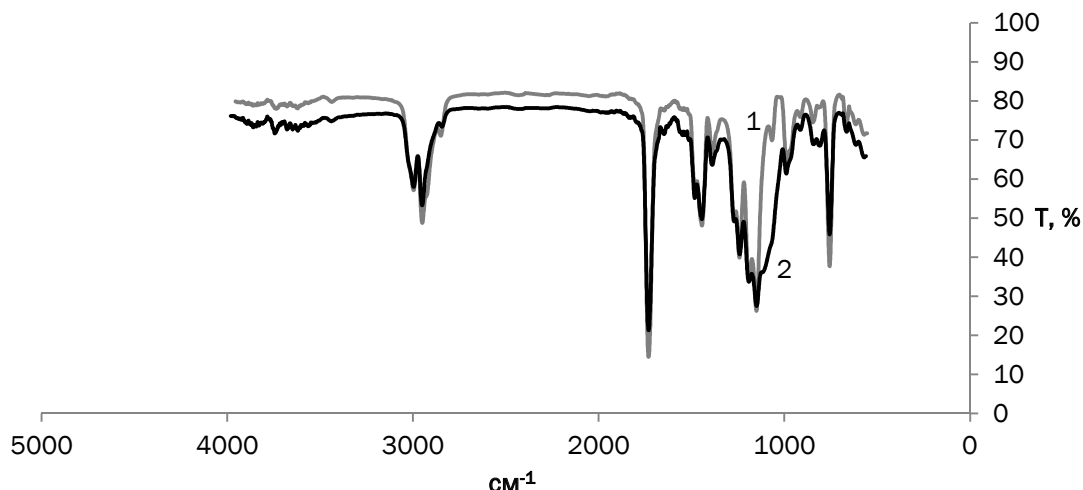


Рис. 6. ИК-спектры полиметилметакрилата, полученные в присутствии динитрила азо-бис-изомасляной кислоты: 1 – без наполнителя; 2 – 10 масс. % аэросила

Fig. 6. IR spectra of PMMA obtained in the presence of AIBN: 1 – without filler; 2 – 10 wt% aerosil

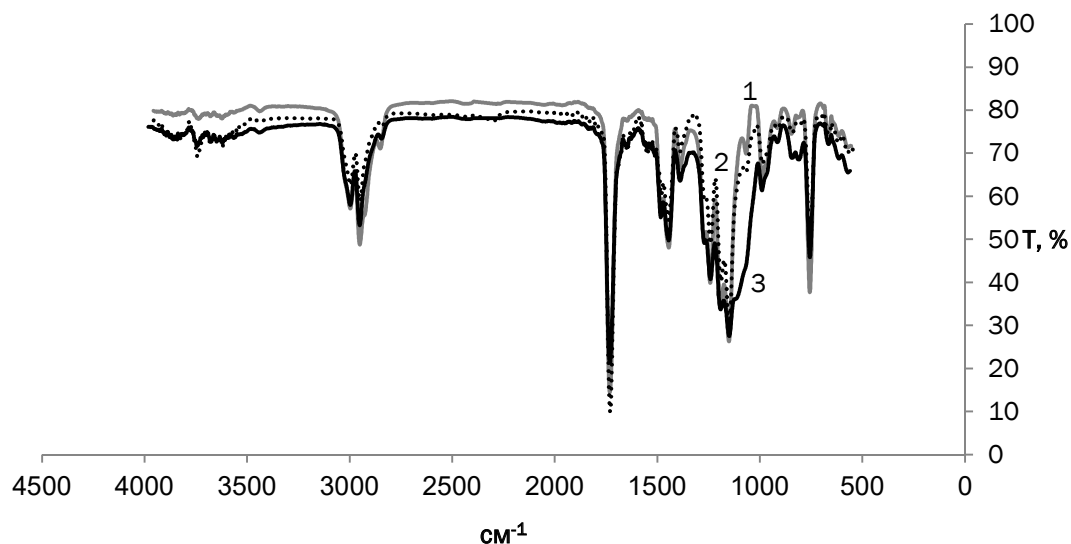


Рис. 7. ИК-спектры полиметилметакрилата, полученные в присутствии динитрила азо-бис-изомасляной кислоты: 1 – без наполнителя; 2 – механическая смесь полиметилметакрилата и 10 масс. % аэросила; 3 – 10 масс. % аэросила

Fig. 7. IR spectra of PMMA obtained in the presence of AIBN: 1 – without filler; 2 – mechanical mixture of PMMA and 10 wt% aerosil; 3 – 10 wt% aerosil

Таблица 2. Механические свойства полиметилметакрилата и полиметилметакрилата, наполненного 10 масс. % аэросила

Table 2. Mechanical properties of PMMA and PMMA filled with 10 wt% aerosil

Состав образца	$M_n \cdot 10^{-3}$	M_w/M_n	Микротвердость, кг-мм ²	Разрушающее напряжение при растяжении, МПа	Относительное удлинение при растяжении, %
Метилметакрилат, I	360	1,96	15,24	31,13	3,75
Метилметакрилат, аэросил, I	–	–	20,90	9,10	0,86
Метилметакрилат, II	200	2,96	25,34	36,27	3,76
Метилметакрилат, аэросил, II	–	–	22,46	–	–
Метилметакрилат, III	50	4,38	21,23	39,11	4,64
Метилметакрилат, аэросил, III	–	–	17,64	14,21	1,56
Метилметакрилат, IV	40	10,47	8,90	33,08	4,60
Метилметакрилат, аэросил, IV	–	–	13,36	10,64	1,28

и III, связано с тем, что ТББ нарушает координацию ПММА на аэросиле за счет своей координирующей способности. В случае инициатора IV триалкилбор не оказывает такого влияния, т.к. принимает участие в образовании радикалов совместно с элементоорганическим пероксидом и аэросилом (7–9), способствуя протеканию привитой полимеризации. Полученные данные коррелируют с данными по изучению кинетики полимеризации.

ВЫВОДЫ

Исследована кинетика полимеризации ММА в присутствии традиционного инициатора ДАК и боралкилсодержащих иницирующих систем, а также аэросила. Установлено, что ход кинетической кривой претерпевает изменения при введении аэросила, ко-

торые связаны с составом иницирующей системы.

Полимерные образцы, синтезированные в присутствии 0,3–10 масс. % аэросила, исследованы методом ИК-спектроскопии. Показано, что введение аэросила способствует изменению интенсивности полосы поглощения при 1060 см⁻¹ и ширины полос поглощения в области 1725–1060 см⁻¹, которое усиливается с увеличением концентрации аэросила.

Для ПММА, содержащего 10 масс. % аэросила, ухудшаются деформационные свойства. Изменение микротвердости связано с иницирующей системой, которую использовали для проведения полимеризационного наполнения. Увеличение данной характеристики наблюдается для композитов, синтезированных в присутствии традиционного инициатора ДАК и системы ТББ–ДТБФС.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Hsissou R., Seghiri R., Benzekri Z., Hilali M., Rafik M., Elharfi A. Polymer composite materials: a comprehensive review // *Composite Structures*. 2021. Vol. 262. P. 113640. <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2021.113640>.
2. Van de Werken N., Tekinalp H., Khanbolouki P., Ozcan S., Williams A., Tehrani M. Additively manufactured carbon fiber-reinforced composites: state of the art and perspective // *Additive Manufacturing*. 2020. Vol. 31. P. 100962. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2019.100962>.
3. Asim M., Saba N., Jawaid M., Nasir M., Pervaiz M., Alothman O.Y. A review on phenolic resin and its composites // *Current Analytical Chemistry*. 2018. Vol. 14, no. 3. P. 185–197. <https://doi.org/10.2174/1573411013666171003154410>.
4. Лебедева О.В., Сипкина Е.И. Полимерные композиты и их свойства // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2022. Т. 12. N 2. С. 192–207. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-192-207>.
5. Arabpour A., Shockravi A., Rezaia H., Farahati R. Investigation of anticorrosive properties of novel silane-functionalized polyamide/GO nanocomposite as steel coatings // *Surfaces and Interfaces*. 2020. Vol. 18. P. 100453. <https://doi.org/10.1016/j.surf-in.2020.100453>.
6. Zindani D., Kumar K. An insight into additive manufacturing of fiber reinforced polymer composite // *International Journal of Lightweight Materials and Manufacture*. 2019. Vol. 2, no. 4. P. 267–278. <https://doi.org/10.1016/j.ijlmm.2019.08.004>.
7. Rbaa M., Benhiba F., Hssissou R., Lakhrissi Y., Lakhrissi B., Touhami M.E., et al. Green synthesis of novel carbohydrate polymer chitosan oligosaccharide grafted on dglucose derivative as bio-based corrosion inhibitor // *Journal of Molecular Liquids*. 2021. Vol. 322. P. 114549. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114549>.
8. Hssissou R., Benzidia B., Hajjaji N., Elharfi A. Elaboration, electrochemical investigation and morphological study of the coating behavior of a new polymeric polyepoxide architecture: crosslinked and hybrid decaglycidyl of phosphorus Penta methylene dianiline on E24 carbon steel in 3.5% NaCl // *Portugaliae Electrochimica Acta*. 2019. Vol. 37, no. 3. P. 179–191. <https://doi.org/10.4152/pea.201903179>.
9. Баженов С.А., Берлин А.А., Кульков А.А., Ошмян В.Г. Полимерные композиционные материалы. Прочность и технология. Долгопрудный: Интеллект, 2010. 352 с.
10. Jeelani P.G., Mulay P., Venkat R., Ramalingam C. Multifaceted application of silica nanoparticles. A review // *Silicon*. 2020. Vol. 12, no. 6. P. 1337–1354. <https://doi.org/10.1007/s12633-019-00229-y>.
11. Чукин Г.Д. Химия поверхности и строение дисперсного кремнезема: монография. М.: Паладин, 2008. 172 с.
12. Fujisawa S., Kadoma Y. Tri-*n*-butylborane/watercomplex-mediated copolymerization of methyl methacrylate with proteinaceous materials and proteins: a review // *Polymers*. 2010. Vol. 2, no. 4. P. 575–595. <https://doi.org/10.3390/polym2040575>.
13. Tsukada M., Yamamoto T., Nakabayashi N., Ishikawa H., Freddi G. Grafting of methyl methacrylate onto silk fibers initiated by tri-*n*-butylborane // *Journal of Applied Polymer Science*. 1991. Vol. 43, no. 11. P. 2115–2121. <https://doi.org/10.1002/app.1991.070431119>.
14. Kuznetsova Yu.L., Morozova E.A., Vavilova A.S., Markin A.V., Smirnova O.N., Zakharycheva N.S., et al. Synthesis of biodegradable grafted copolymers of gelatin and polymethyl methacrylate // *Polymer Science. Series D*. 2020. Vol. 13, no. 4. P. 453–459. <https://doi.org/10.1134/S1995421220040115>.
15. Okamura H., Sudo A., Endo T. Generation of radical species on polypropylene by alkylborane-oxygen system and its application to graft polymerization // *Journal of Polymer Science. Part A: Polymer Chemistry*. 2009. Vol. 47, no. 22. P. 6163–6167. <https://doi.org/10.1002/pola.23659>.
16. Додонов В.А., Дрезгич А.И. Иницирующая система три-*n*-бутилбор – кислород в полимеризационном наполнении ПВХ минеральными наполнителями // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. 2012. N 3. С. 79–82.
17. Патент N 1621491, Российская Федерация, СО8 J5/02. Способ склеивания термопластов / В.А. Додонов, Ю.В. Жаров, Ю.Н. Краснов, Л.В. Чесноков; заявитель и патентообладатель Научно-исследовательский институт химии при Горьковском государ-

ственном университете им. Н.И. Лобачевского. Заявл. 32.02.1989; опубл. 20.05.1996.

18. Додонов В.А., Дрэгичь А.И., Гушин А.В., Ильянов С.Н. Полимеризационное наполнение ПВХ минеральными оксидами под действием радикальной системы триалкилбор-дипероксид трифенилсурьмы // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2012. N 4. С. 118–124.

19. Dodonov V.A., Starostina T.I., Kuropatov V.A., Malyshova Y.B., Kuznetsova Y.L., Buzina A.S. Coordination radical polymerization of methyl methacrylate, initiated by the azobis(isobutyronitrile)-tri-n-butylborane binary system // Russian Journal of Applied Chemistry. 2017. Vol. 90, no. 1. P. 77–83. <https://doi.org/10.1134/s1070427217010128>.

20. Dodonov V.A., Kuznetsova Yu.L., Vilko A.I., Skuchilina A.S., Nevodchikov V.I., Beloded L.N. Uncontrolled pseudoliving free-radical polymerization of methyl methacrylate in the presence of butyl-p-benzoquinones // Russian Chemical Bulletin. 2007. Vol. 56, no. 6. P. 1162–1165. <https://doi.org/10.1007/s11172-007-0176-z>.

21. Вайсбергер А., Проскауэр Э., Риддик Дж., Тупс Э. Органические растворители. Физические свойства

и методы очистки / пер. с англ. Н.Н. Тихомировой. М.: Изд-во иностранной литературы, 1958. 520 с.

22. Ludin D., Voitovich Yu., Salomatina E., Kuznetsova Yu., Grishin I., Fedushkin I., et al. Polymerization with borane chemistry. Tributylborane/p-quinone system as a new method of reversible-deactivation radical copolymerization for styrene and methyl acrylate // Macromolecular Research. 2020. Vol. 28, no. 9. P. 851–860. <https://doi.org/10.1007/s13233-020-8111-3>.

23. А.С., N 677382, СССР. Способ получения сульфоорганических дипероксидов / Г.А. Разуваев, В.А. Додонов, Т.Г. Брилкина. 1979.

24. Зайцев В.Н. Комплексообразующие кремнеземы: синтез, строение привитого слоя и химия поверхности. Харьков: Фолио, 1997. 239 с.

25. Дехант И., Данц Р., Киммер В., Шмольке Р. Инфракрасная спектроскопия полимеров / пер. с нем. В.В. Архангельского. М.: Химия, 1976. 472 с.

26. Додонов В.А., Гришин Д.Ф., Аксенова И.Н. Электрофильность растущих макрорадикалов как фактор, определяющий скорость в координационно-радикальной полимеризации акриловых мономеров // Высокомолекулярные соединения. Серия Б. 1993. Т. 35. N 12. С. 2070–2072.

REFERENCES

1. Hsissou R., Seghiri R., Benzekri Z., Hilali M., Rafik M., Elharfi A. Polymer composite materials: a comprehensive review. *Composite Structures*. 2021;262:113640. <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2021.113640>.

2. Van de Werken N., Tekinalp H., Khanbolouki P., Ozcan S., Williams A., Tehrani M. Additively manufactured carbon fiber-reinforced composites: state of the art and perspective. *Additive Manufacturing*. 2020;31:100962. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2019.100962>.

3. Asim M., Saba N., Jawaid M., Nasir M., Pervaiz M., Alotthman O.Y. A review on phenolic resin and its composites. *Current Analytical Chemistry*. 2018;14(3):185–197. <https://doi.org/10.2174/1573411013666171003154410>.

4. Lebedeva O.V., Sipkina E.I. Polymer composites and their properties. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):192–207. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-192-207>.

5. Arabpour A., Shockravi A., Rezaei H., Farahati R. Investigation of anticorrosive properties of novel silane-functionalized polyamide/GO nanocomposite as steel coatings. *Surfaces and Interfaces*. 2020;18:100453. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2020.100453>.

6. Zindani D., Kumar K. An insight into additive manufacturing of fiber reinforced polymer composite. *International Journal of Lightweight Materials and Manufacture*. 2019;2(4):267–278. <https://doi.org/10.1016/j.ijlmm.2019.08.004>.

7. Rbaa M., Benhiba F., Hsissou R., Lakhrissi Y., Lakhrissi B., Touhami M.E., et al. Green synthesis of novel carbohydrate polymer chitosan oligosaccharide grafted on dglucose derivative as bio-based corrosion inhibitor. *Journal of Molecular Liquids*. 2021;322:114549. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114549>.

8. Hsissou R., Benzidia B., Hajjaji N., Elharfi A. Elab-

oration, electrochemical investigation and morphological study of the coating behavior of a new polymeric polyepoxide architecture: crosslinked and hybrid decaglycidyl of phosphorus Penta methylene dianiline on E24 carbon steel in 3.5% NaCl. *Portugaliae Electrochimica Acta*. 2019;37(3):179–191. <https://doi.org/10.4152/pea.201903179>.

9. Bazhenov S.L., Berlin A.A., Kul'kov A.A., Oshmyan V.G. *Polymer composite materials. Strength and technology*. Dolgoprudnyi: Intellect; 2010. 352 p. (In Russian).

10. Jeelani P.G., Mulay P., Venkat R., Ramalingam C. Multifaceted application of silica nanoparticles. A review. *Silicon*. 2020;12(6):1337–1354. <https://doi.org/10.1007/s12633-019-00229-y>.

11. Chukin G.D. *Surface chemistry and structure of dispersed silica: monograph*. Moscow: Paladin; 2008. 172 p. (In Russian).

12. Fujisawa S., Kadoma Y. Tri-n-butylborane/watercomplex-mediated copolymerization of methyl methacrylate with proteinaceous materials and proteins: a review. *Polymers*. 2010;2(4):575–595. <https://doi.org/10.3390/polym2040575>.

13. Tsukada M., Yamamoto T., Nakabayashi N., Ishikawa H., Freddi G. Grafting of methyl methacrylate onto silk fibers initiated by tri-n-butylborane. *Journal of Applied Polymer Science*. 1991;43(11):2115–2121. <https://doi.org/10.1002/app.1991.070431119>.

14. Kuznetsova Yu.L., Morozova E.A., Vavilova A.S., Markin A.V., Smirnova O.N., Zakharycheva N.S., et al. Synthesis of biodegradable grafted copolymers of gelatin and polymethyl methacrylate. *Polymer Science. Series D*. 2020;13(4):453–459. <https://doi.org/10.1134/S1995421220040115>.

15. Okamura H., Sudo A., Endo T. Generation of radical species on polypropylene by alkylborane-oxygen system and its application to graft polymerization. *Journal of Polymer Science. Part A:*

Polymer Chemistry. 2009;47(22):6163-6167. <https://doi.org/10.1002/pola.23659>.

16. Dodonov V.A., Dregich A.I. Initiating system tri-*n*-butylborane-oxygen in pvc polymerization filling with mineral fillers. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo* = *Vestnik of Lobachevsky University of Nizhny Novgorod*. 2012;(3):79-82. (In Russian).

17. Dodonov V.A., Zharov Yu.V., Krasnov Yu.N., Chesnokov L.V. *Method of thermoplastic glueing*. Patent RF, no. 1621491; 1996. (In Russian).

18. Dodonov V.A., Dregich A.I., Gushchin A.V., Ilyanov S.N. PVC polymerization filling with metal oxides in the presence of radical initiating system trialkylborane-triphenylantimony diperoxides. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo* = *Vestnik of Lobachevsky University of Nizhny Novgorod*. 2012;(4):118-124. (In Russian).

19. Dodonov V.A., Starostina T.I., Kuropatov V.A., Malysheva Y.B., Kuznetsova Y.L., Buzina A.S. Coordination radical polymerization of methyl methacrylate, initiated by the azobis(isobutyronitrile)-tri-*n*-butylborane binary system. *Russian Journal of Applied Chemistry*. 2017;90(1):77-83. <https://doi.org/10.1134/s1070427217010128>.

20. Dodonov V.A., Kuznetsova Yu.L., Vilkova A.I., Skuchilina A.S., Nevodchikov V.I., Beloded L.N. Uncontrolled pseudoliving free-radical polymerization of methyl methacrylate in the presence of butyl-*p*-benzoquinones. *Russian Chemical Bulletin*. 2007;56(6):1162-1165. <https://doi.org/10.1007/s11172-007-0176-z>.

21. Weissberger A., Proskauer E.S., Riddick J.A., Toops E.E. Organic solvents. Physical properties and methods of purification; 1955. (Russ. ed.: Vaisberger A., Proskauer E., Riddick Dzh., Tups E. *Organicheskie rastvoriteli. Fizicheskie svoystva i metody ochistki*. Moscow: Izd-vo inostrannoi literatury; 1958. 520 p.).

22. Ludin D., Voitovich Yu., Salomatina E., Kuznetsova Yu., Grishin I., Fedushkin I., et al. Polymerization with borane chemistry. Tributylborane/*p*-quinone system as a new method of reversible-deactivation radical copolymerization for styrene and methyl acrylate. *Macromolecular Research*. 2020;28(9):851-860. <https://doi.org/10.1007/s13233-020-8111-3>.

23. Razuvaev G.A., Dodonov V.A., Brilkina T.G. *Method for obtaining organoantimony diperoxides*. Certificate of authorship USSR. 1979. (In Russian).

24. Zaitsev V.N. *Complexing silicas: synthesis, grafted layer structure and surface chemistry*. Khar'kov: Foli; 1997. 239 p. (In Russian).

25. Dehant I., Danz R., Kimmer W., Schmolke R. Infrared spectroscopy of polymers. (Russ. ed.: Dekhant I., Dants R., Kimmer V., Shmol'ke R. *Infrakrasnaya spektroskopiya polimerov*. Moscow: Khimiya; 1976. 472 p.).

26. Dodonov V.A., Grishin D.F., Aksenova I.N. Electrophilicity of propagating macroradicals as a rate-determining factor in coordination-radical polymerization of acrylic monomers. *Vysokomolekulyarnye soedineniya. Seriya B* = *Polymer Science. Series B*. 1993;35(12):2070-2072. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кузнецова Юлия Леонидовна,

к.х.н., доцент,
доцент кафедры органической химии,
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
✉kyul@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4151-9266>

Жиганшина Эльнара Ринатовна,

младший научный сотрудник лаборатории
фотополимеризации и полимерных материалов,
Институт металлоорганической химии
им. Г.А. Разуваева РАН,
603137, г. Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49,
Российская Федерация,
zhisanshinae@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7003-5183>

Гущина Ксения Сергеевна,

магистрант, младший научный сотрудник кафедры
аналитической и медицинской химии,
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
ksesha.gushchina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2745-251X>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Yulia L. Kuznetsova,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
National Research Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603022,
Russian Federation,
✉kyul@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4151-9266>

Elnara R. Zhiganshina,

Junior Researcher,
Laboratory of Photopolymerization and Polymer
Materials,
G.A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry
RAS,
49, Tropinin St., Nizhny Novgorod, 603137,
Russian Federation,
zhisanshinae@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7003-5183>

Ksenya S. Gushchina,

Junior Researcher,
Department of Analytical and Medical Chemistry,
Master's Student,
National Research Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603022,
Russian Federation,
ksesha.gushchina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2745-251X>

Чесноков Сергей Артурович,
д.х.н., ведущий научный сотрудник,
заведующий лабораторией фотополимеризации
и полимерных материалов,
Институт металлоорганической химии
им. Г.А. Разуваева РАН,
603137, г. Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49,
Российская Федерация,
sch@iomc.ras.ru
<http://orcid.org/0000-0002-8671-7269>

Кузнецова Ольга Владимировна,
д.х.н., ведущий научный сотрудник,
заведующая лабораторией
физико-химических исследований,
Институт металлоорганической химии
им. Г.А. Разуваева РАН,
603137, г. Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49,
Российская Федерация,
olga@iomc.ras.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6244-2440>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 25.11.2022.
Одобрена после рецензирования 08.02.2023.
Принята к публикации 28.02.2023.

Sergey A. Chesnokov,
Dr. Sci. (Chemistry), Chief Researcher,
Head of the Laboratory of Photopolymerization
and Polymer Materials,
G.A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry
RAS,
49, Tropinin St., Nizhny Novgorod, 603137,
Russian Federation,
sch@iomc.ras.ru
<http://orcid.org/0000-0002-8671-7269>

Olga V. Kuznetsova,
Dr. Sci. (Chemistry), Chief Researcher,
Head of the Laboratory of Physical-chemical Research,
G.A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry
RAS,
49, Tropinin St., Nizhny Novgorod, 603137,
Russian Federation,
olga@iomc.ras.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6244-2440>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 25.11.2022.
Approved after reviewing 08.02.2023.
Accepted for publication 28.02.2023.



Drug discovery: a new bioactive compounds isolated from natural sources

Richa Sharma*✉, Neeraj Choudhary**, Rajat Choudhary***, Gajanand Sharma****

*Mahatma Gandhi University of Medical Sciences & Technology, Jaipur, India

**Dev Bhoomi Uttarkhand University, Dehradun, India

***Teoler High School, Jaipur, India

****MPS International, Jaipur, India

Abstract. A rise in mortality due to fungal infections in immunocompromised population has been observed lately. Nowadays, due to increased fungal infections, the limitations encountered in their treatment like resistance, side-effects and high toxicity, the rising over prescription and overuse of conventional antifungals all stimulate a search for alternative natural drugs. Therefore we are in dire need of natural newer strategies that involve reliable agents for the treatment of fungal diseases such as essential oils (EOs) are known for their anti-microbial properties and are multi-component in nature. Soil samples (66 samples) were collected from different agricultural fields and animals habitat of Saharanpur (U.P.). Isolation of keratinophilic fungi was carried out by hair baiting technique. Extraction of *Mentha piperita* and *Cinnamomum verum* EO was carried out by hydrodistillation method and chemical composition of both extracted EOs was determined by Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry (GC-MS). Antimycotic studies of EO was done by standard disc diffusion method. In the present study, the antifungal potential of *M. piperita* and *C. verum* EOs was evaluated against three human pathogenic fungi isolated from the soil of agricultural field and animals habitat of Saharanpur (U.P.) i.e. *Trichophyton mentagrophytes*, *T. tonsurans* and *T. equinum*. The chemical composition of *M. piperita* and *C. verum* EOs were analysed by GC-MS. Menthol (53.28%) was the major compound of the *M. piperita* EO followed by menthyl acetate (15.1%) and menthofuran (11.18%). Major constituents of *C. verum* EO were linalool (8%), (E)-cinnamaldehyde (7.2%), β -caryophyllene (7.4%), eucalyptol (6.4%), and eugenol (5.6%). EOs of *M. piperita* and *C. verum* have been found to have a remarkable and excellent antifungal activity against these pathogenic fungi. Present findings conclude that natural products like plant-derived EOs instead of chemotherapy and emergence of resistance to antifungal drugs can be regarded as an environmental safety mode of diseases control against pathogens.

Keywords: essential oils, antimicrobial, drug, resistance, natural products

Acknowledgments. The authors are highly thankful to BISR for GC-MS of essential oils.

For citation: Sharma R., Choudhary N., Choudhary R., Sharma G. Drug discovery: a new bioactive compounds isolated from natural sources. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):28-37. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-28-37>.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.6

Противогрибковый потенциал эфирных масел *Mentha piperita* и *Cinnamomum verum*

Р. Шарма*✉, Н. Чоудхари**, Р. Чоудхари***, Г. Шарма****

*Университет медицинских наук и технологий им. Махатмы Ганди, г. Джайпур, Индия

**Университет Дев Бхуми Уттарханд, г. Дехрадун, Индия

***Средняя школа Теолер, г. Джайпур, Индия

****МПС Интернешнл, г. Джайпур, Индия

Аннотация. В последнее время наблюдается рост смертности от грибковых инфекций среди населения с ослабленным иммунитетом. Рост грибковых инфекций, ограничений, возникающих при их лечении, таких как резистентность, побочные эффекты и высокая токсичность, а также чрезмерное назначение и использование обычных противогрибковых препаратов стимулирует поиск альтернативных природных лекарств и новых стратегий. Эти стратегии предполагают использование таких надежных агентов для лечения грибковых заболеваний, как эфирные масла, известные своими антимикробными свойствами и являющиеся многокомпонентными по своей природе. В настоящем исследовании противогрибковый потенциал эфирных

масел *Mentha piperita* и *Cinnamomum verum* оценивался в отношении 3-х патогенных для человека грибов, выделенных из почвы сельскохозяйственных полей и среды обитания животных в г. Сахаранпуре (Индия): *Trichophyton mentagrophytes*, *T. tonsurans* и *T. equinum*. В общей сложности было взято 66 образцов почвы. Выделение кератинофильных грибов проводили методом с использованием волос в качестве «приманок». Экстракцию эфирных масел *Mentha piperita* и *Cinnamomum verum* осуществляли методом гидродистилляции, а химический состав обоих экстрагированных эфирных масел определяли с помощью газовой ГХ-МС. Исследования противогрибковой активности эфирных масел проводили стандартным диско-диффузионным методом. Химический состав эфирных масел *M. piperita* и *C. verum* анализировали методом ГХ-МС. Ментол (53,28%) был основным соединением эфирного масла *M. piperita*, за ним следовали ментилацетат (15,1%) и ментофуран (11,18%). Основными составляющими эфирного масла *C. verum* были линалоол (8%), (Е)-коричный альдегид (7,2%), β-кариофиллен (7,4%), эвкалиптол (6,4%) и эвгенол (5,6%). Было обнаружено, что эфирные масла *M. piperita* и *C. verum* обладают высокой противогрибковой активностью против рассмотренных патогенных грибов. Результаты исследования показывают, что эфирные масла растительного происхождения можно рассматривать как безопасный для окружающей среды способ борьбы с патогенами и как альтернативу химиотерапии и противогрибковым препаратам, к которым возникла устойчивость.

Ключевые слова: эфирные масла, противомикробные лекарственные препараты, резистентность, натуральные продукты

Благодарности. Авторы выражают благодарность BISR за ГХ-МС эфирных масел.

Для цитирования: Шарма Р., Чоудхари Н., Чоудхари Р., Шарма Г. Противогрибковый потенциал эфирных масел *Mentha piperita* и *Cinnamomum verum* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 28–37. (In English). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-28-37>.

INTRODUCTION

Keratinophilic fungi are a group of microorganism that are able to decompose keratin remains in environment and pathogenic to humans and animals. The soil that is rich in keratin materials is most conducive for the growth and occurrence of keratinophilic fungi distribution is variable with the environment and depends on different environment factors such as humans and animals presence. Keratinophilic fungi include a variety of filamentous fungi mainly comprising hyphomycetes and several other taxonomic groups [1, 2]. Dermatophytes cause humans and animals mycoses and thus have drawn the attention of medical and veterinary epidemiologists. The majority of dermatophytes can live saprophytically and keratinophilic fungi can be considered as a potential pathogen [3]. They occur in many natural and man-made habitats. Keratinophilic fungi are unique in the sense that they require and utilize keratin for growth [4, 5]. Studies on keratinophilic fungi are now considerable significance for their important role on the breakdown of keratinous debris of animals and man in the nature and they have a worldwide distribution [6, 7]. Studies have been shown that soils are important sources of dermatophytes and keratinophilic fungi [8–10]. In the past two decades, the emergence of resistance to various antifungal drugs has accelerated dramatically. Azole-resistant *Candida* and *Aspergillus* species are the top pathogens responsible for nosocomial or food-borne infections [11, 12]. In addition, the formation of biofilms by *Candida* species have raised concerns due to their increased resistance to antifungal therapy and protects the microbial cells within biofilms from the host immune defenses [13, 14]. Moreover, Eos especially with known antibacterial effects have the potential to be used in food industry as preservatives and to increase the shelf life of products. Therefore, determining the antimicrobial properties of EOs might help to overcome microorganism resistance to antibiotics. The chemical composition of aromatic plants depends largely on the individual genetic variability and different plant parts.

The presence and concentration of certain chemical constituents of EOs also fluctuate according to the season, climatic condition, and site of plant growth [15]. A review of literatures reveals that there are many EOs which acquire antifungal activity [16–19]. The development of antifungal resistance is complex and depends on multiple host and microbial factors [20]. According to Moreira et al, lipophilic compounds of the oils bond the phospholipid bilayer of the cell membrane increasing its permeability and spreading out the intracellular contents or damaging the enzymatic system of the cell [21, 22]. *Mentha piperita* oil is one of the most popular and widely used EOs, mostly because of its main components, Menthol, and menthone [23]. Previous studies have shown antiviral, antibacterial, antifungal, antibiofilm formation, radioprotective, antioedema, analgesic and antioxidant activities of the EO [24–26]. Cinnamon is a good source of the powerful antioxidant manganese. Therefore, much attention has been paid to the discovery and development of new antimicrobial agents that might act against these resistant microorganisms, and cinnamon could be an interesting candidate [27, 28]. With regards to volatile components, the chemical composition of cinnamon EOs depends on the part of the plant from which they are extracted [29–31]. The presence and concentration of certain chemical constituents of EOs also fluctuate according to the season, climatic condition, and site of plant growth [15, 32]. The objective of this work was to evaluate the antifungal efficacy of *Mentha piperita* and *Cinnamomum verum* EOs against drug resistant three widely pathogenic fungal strains that cause superficial skin infections in humans and trying to find more safely hygienic natural plant products. The goal of this study was to investigate the chemical composition and *in vitro* antifungal activities of EOs of the leaves of *M. piperita* and *C. verum*.

MATERIALS AND METHODS

Collection of Soil Samples. Sixty Six soil samples were collected from different agricultural fields and ani-

mals habitat of Saharanpur (U.P.) India. For this present study, different soil samples were collected in sterile polyethylene bags and brought to the laboratory for further microbiological analysis. Keratin substrates (Ks) were collected from different sources such as chicken feather, buffalo hairs, goat hairs, dog hairs, pig hairs, ship hairs, and horse hairs in clean sterilized plastic bags and transferred to the laboratory. Samples were transmitted to the laboratory as early as possible for further analysis like pH, temperature, humidity, salinity, total dissolved solids.

Collection of Plants & Extraction of Oil. Fresh leaves of *M. piperita* and *C. vernum* were purchased from Saharanpur, U.P. during summer season. Identification of both plant leaves was done from Herbarium office, NBRI, Lucknow. Extraction of oil from the fresh leaves of *M. piperita* and *C. vernum* were carried out by standard hydrodistillation method, Clevenger's apparatus and all operations were carried out at room temperature. The fresh leaves of *M. piperita* and *C. vernum* were washed to remove soil and cut into small pieces. Small pieces of leaves of *M. piperita* and *C. vernum* (250 gm) were placed in a separate flask together with distilled water (1L). After 5–6 h, oil was collected from the apparatus, anhydrous with sodium sulphate for removal of water traces, then this 100% pure essential oil were dispensed into dark bottles and stored at 4 °C until used. Essential oil was ready to use for disc diffusion test and determination of MIC. The essential oil thus obtained was subjected to antidermatophytic activity.

Isolation of keratinophilic fungi by Hair Bait Technique. Isolation of keratinophilic fungi was done using the hair bait technique (Vanbreuseghem R., 1952) [33]. Moist chamber were prepared using sterile soil samples. 2–3 cm short strands of sterilized defatted baits were spread over soil samples. 10–15 ml of sterile water was added to the soil to facilitate germination of fungal spores. Petri dishes were then incubated at room temperature at 28 °C for 15–20 days. Plates were examined periodically for the development of mycelium.

Identification of Keratinophilic fungi. Each single fungal colony was taken from the mixed culture. Pure culture was developed by repeated sub culturing which was transferred to agar slant and subcultured and then stored at 4 °C temperature. The fungal colonies were identified by microscopic and macroscopic characteristics. The macroscopic examination of fungi was characterized by duration of growth, surface morphology and pigment production on the reverse and microscopically, the isolated fungi was stained with Lactophenol cotton blue staining and observe under the microscope at high power of objective lens.

Gas chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) analysis of *M. piperita* and *C. vernum* EOs. Quantitative and qualitative analysis of the EOs were performed using a GC-MS apparatus. The analysis was performed with an Rtx 5 MS column. For the GC-MS detection, an electron ionization system with ionization energy of 70 eV was used. Nitrogen gas was used as carrier gas with a flow rate of 1.21 ml/min. The column was raised from 50 to 320 °C at a rate of 3 °C min. The relative percentage of the oil constituents was expressed as percentage by peak areas and the identification of oil components was based on their retention time with available literature values [34].

Antimycotic Studies of EOs against Selected Fungi by Disc Diffusion. Oil was screened for their antifungal activity against *Trichophyton mentagrophytes*, *T. equinum* and *T. tonsurans* by disc diffusion method [35]. Standard size whatman no. 1 filter paper discs 6.0 mm in diameter, sterilized by dry heat at 140 °C in an oven for one hour were used to determine antifungal activity. SDA medium for disc diffusion test was prepared. After sterilization it was poured into sterilized petriplates and allowed to solidify. Then one day old fresh culture of isolated fungi were be used for inoculums preparation. A suspension was just turbid (~0.5 McFarland standard) by visual inspection was prepared by suspending fungus in 0.9% NaCl solution and the homogeneous suspension was used for inoculation. Using a sterile cotton swab, fungal cultures were swabbed on the surface of sterile Sabourauds Dextrose Agar plates. Sterilized filter paper discs were soaked in neat, undiluted (100, 75, 50, 25%) concentration of oils. Using an ethanol dipped and flamed forceps, oil saturated discs of 100, 75, 50, 25% concentration were aseptically placed over Sabourauds dextrose agar plates seeded with the respective test microorganism. The antibiotic discs of Clotrimazole and Ketoconazole (10 mcg per disc) were also aseptically placed over the seeded Sabouraud's dextrose agar plates as a standard drug for comparison of antifungal activity with EOs. The plates were incubated at 28 °C for 48–72 h. The diameter of the inhibition zones was measured in mm and the activity index was calculated on the basis of the size of the inhibition zone. Three replicates were kept in each case and average values were calculated.

RESULTS AND DISCUSSION

The present study reported that out of sixty six soil samples collected, three species of keratinophilic fungi were predominantly isolated from different animal's habitat and agricultural fields with different keratin substrates. These habitats contain lots of keratin debris. In the present work, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans* and *T. equinum* were isolated predominantly from the agricultural and animal habitat soils of Saharanpur (U.P.) and also found main etiological agent of zoonotic dermatophytosis in investigated area. Macroscopic and microscopic characteristics of isolated fungi are shown in Tab. 1. Various earlier workers were reported the diverse population of keratinophilic fungi and dermatophytes from India soil [36, 37]. The high prevalence of keratinophilic fungi from the soil of Saharanpur due to buffalo hairs, human hairs and dog hairs which come to the soil either as dead or dropped off serves as substrates and are subjected to microbial decomposition. The present study clearly indicates that the diverse existence of keratinophilic fungi in soil of Saharanpur and play major role in bioremediation in natural environment. The present study coincides with other workers who also reported diverse soil habitats have been screened from different countries Brazil, Kuwait, Iran and India indicating that these groups of fungi are distributed worldwide [38–40]. In urban areas, where there are high concentrations of people and animals, soil rich in organic matter may constitute a permanent or occasional reservoir for fungi and during this fungi can be a potential source of skin infection for animals and humans. These animals serve as reservoirs of

zoophilic dermatophytes and their zoonotic infections have considerable importance [41, 42]. Sandpits are thought to play a role in the epidemiology of human and animals mycoses and reported special care needs to be paid to identify potential pathogenic fungal species such as species from *Fusarium*, isolated from soil samples of recreational parks and in all elementary school [43]. Some workers reported that when infections due

to other opportunistic fungal agents occur can lead to very unfavorable and even serious outcomes infection by fungi [44].

The leaves of *Mentha piperita* and *Cinnamomum verum* were collected from Saharanpur (U.P.) and EO was extracted by Clevenger apparatus based on hydrodistillation method as shown in Fig 1, 2. Hence, antimycotic studies and chemical composition of es-

Table 1. Macroscopic and Microscopic Characteristics of Isolated fungi

Таблица 1. Макроскопические и микроскопические характеристики выделенных грибов

Isolated Fungi	Macroscopic Characteristics	Microscopic Characteristics
<i>Trichophyton tonsurans</i>	Colonies on Sabouraud's Dextrose Agar at 28 °C grow moderately and the color of the colony is initially white then creamy yellow rose at age with conidial production. Suede like with radial folds sometimes powdery or velvety. Reverse is pale lemon yellow to mahogany brown may dark diffusing in the agar.	Many pyriform microconidia on stalks ballon forms. Rare distorted macroconidia. Hyphae are relatively broad irregular, much branched with numerous septa. Microconidia are varying in size and shape from long clavate to broad pyriform is borne right.
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Colonies on Sabouraud's Dextrose Agar at 28 °C grow moderately and velvety, flat, thin with powder and pale powder dry and white powder in color.	Round microconidia in grape-like clusters, Spiral hyphae and macro conidia narrowly attached to hyphae.
<i>Trichophyton equinum</i>	Growth rate moderately rapid texture suede like to downy flat. Thallus color cream to pale yellow deeps to pinkish or brown is in centre. Reverse deep yellow becoming red brown or dark pink may produce brown soluble pigment.	Pyriform microconidia lateral may be produced on stalks. Rare club shaped macroconidia smooth thin walled.



Fig. 1. *Mentha piperita* (Peppermint oil)

Рис. 1. *Mentha piperita* (масло мяты перечной)

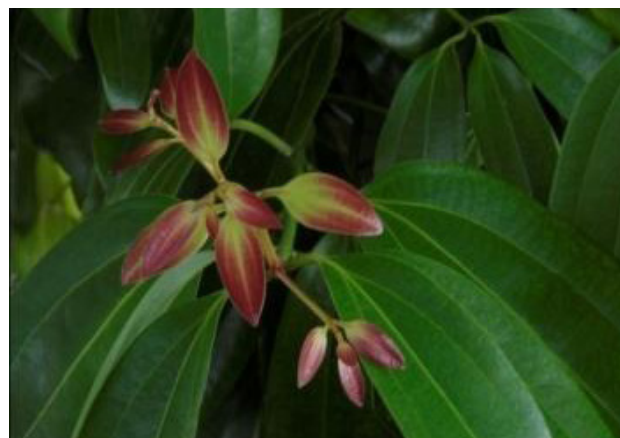


Fig. 2. *Cinnamomum verum* (Cinnamon oil)

Рис. 2. *Cinnamomum verum* (масло корицы)

Table 2. Chemical components (%) of the EOs distilled from *Mentha piperita*

Таблица 2. Химический состав (%) эфирных масел, дистиллированных из *Mentha piperita*

Compounds	RI	% Oil
α -Pinene	930	0.32
Sabinene	970	0.26
β -pinene-1	978	0.58
β -pinene-2	1035	6.69
Cis-sabinene hydrate	1072	0.50
Menthone	1155	2.45
Menthofuran	1168	11.18
Neomenthal	1166	2.79
Menthol	1178	53.28
Neomenthyl acetate	1274	0.65
Menthyl acetate	1298	15.10
Isomenthyl acetate	1308	0.61
β -Bourbonene	1389	0.37

sentinal oils of Cinnamon and Peppermint were carried out against selected fungi to eco-friendly control the fungal infections. In the present study, thirteen (13) compounds representing 99.37% area of the oil, were identified. The qualitative and quantitative compositions of the EO of *M. piperita* by GC-MS analysis and antifungal activity was carried out by disc diffusion method are presented in Tab. 2, 3 and Fig. 3. GC/MS analyses showed that the main constituent of the *M. piperita* EO was menthol (53.28%) followed by menthyl acetate (15.1%) and menthofuran (11.18%). The compositions of the EOs might be affected by the developmental stages of the plant. Some authors reported alpha terpinen as the dominant component of *M. piperita* EO (19.7%) while other previous studies identified menthol as one of the main constituents of the EOs [23, 45]. The higher concentration of menthol in this study as may reflect variations due to geographical location from

Table 3. Antifungal activity of *Mentha piperita* oil against selected isolated fungal strains

Таблица 3. Противогрибковая активность масла *Mentha piperita* в отношении отдельных изолированных штаммов грибов

Oil	Test strain	Concentration of oil, %	IZ* of sample, mm
<i>Mentha piperita</i> oil (Peppermint oil)	<i>T. mentagrophytes</i>	100	60
		75	50
		50	29
		25	12
	<i>T. tonsurans</i>	100	67
		75	40
		50	30
		25	15
	<i>T. equinum</i>	100	50
		75	39
		50	29
		25	15

Note. * – Inhibition zone (in mm) of standard antifungal drugs including the diameter of disc (6 mm).

which the plants were collected. In this study, the EOs of *M. piperita* exhibited strong antimycotic activities against *T. mentagrophytes* (60 mm), *T. equinum* (67 mm) and *T. tonsurans* (50 mm) at 100% concentration of pure EO than standard drugs. Similarly second oil i.e. *Cinnamomum verum*, chemical constituents was identified by GC-MS analysis resulted in the identification of ten (10) chemical compounds for *C. verum* EO, as indicated in Tab. 4 and Fig. 4. (*E*)-cinnamaldehyde (7.2%), linalool (8.00%), β -caryophyllene (7.40%), eucalyptol (6.40%), and eugenol (5.60%) were the main components of the *C. verum* EO. The other important constituents were *p*-cymene (1.90%), α -humulene (1.70%), δ -cadinene (1.40%), α -pinene (1.30%), and limonene (1.20%). In accordance with our results, several studies have reported that cinnamaldehyde is the major chemical compound of *C. zeylanicum* bark EO [46, 47]. Antimycotic activity of *C. verum* EO was also evaluat-

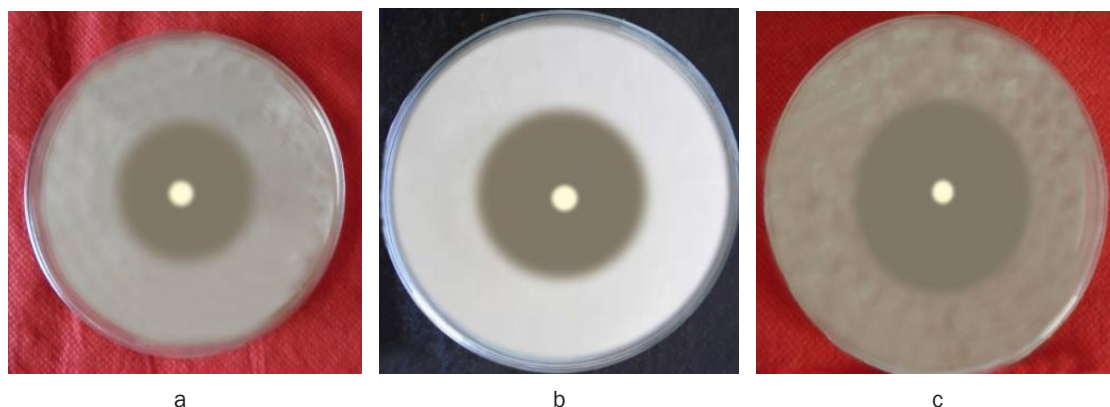


Fig. 3. Antidermatophytic activity of *Mentha piperita* EO at 100% concentration against selected fungal strains: a – *T. equinum*; b – *T. mentagrophytes*; c – *T. tonsurans*

Рис. 3. Противодерматофитная активность эфирного масла *Mentha piperita* в 100%-й концентрации в отношении отдельных штаммов грибов: а – *T. equinum*; б – *T. mentagrophytes*; в – *T. tonsurans*

ed by disc diffusion method and found excellent inhibition of zone at 100% concentration of pure EO against *T. tonsurans* (60 mm), *T. mentagrophytes* (59 mm) and *T. equinum* (58 mm) as compared to standard antifungal drugs i.e. Ketoconazole and Clotrimazole (Tab. 5).

Inhibition zone of Ketoconazole and Clotrimazole (10 mcg/disc) is 32 and 30 mm against *T. mentagrophytes*. Inhibition zone of Ketoconazole and Clotrimazole (10 mcg/disc) is 28 and 25 mm against *T. tonsurans*. Inhibition zone of Ketoconazole and Clotrimazole (10 mcg/disc) is 24 and 22 mm against *T. equinum*.

The traditional use of plants as medicines provide the basis for indicating which EOs may be useful for specific medical conditions. It is important to investigate scientifically those plants which have been used in traditional medicines as potential sources of novel antimicrobial compounds [48]. The present findings similar with Wuthi-Udomlert et al who reported the antifungal activity of turmeric oil against 29 clinical strains of dermatophytes and in screening of turmeric oil, diameter of inhibition zone was found to vary from 26.1 to 46 mm against 29 clinical strains of dermatophytes [49]. There are numerous scientific studies which proved the inhibitory effect of the EOs against different fungi [50]. It is important to analyze that the plants which have been used in the medicines as a potential source of normal antimicrobial compounds. The present work coincides with the work of Sharma et al who also reported the additive and inhibitory effect of *Curcuma longa* (Turmeric) and *Zingiber officinale* (Ginger) EOs against dermatophytes causing superficial skin infections [51]. The use of EOs in treatment and prevention from infection has been in demand in the field of research from the past. Natural products have served as a research resource for most drugs, providing a basis for chemical research and discovery of new drugs [52]. Several reasons have been offered to explain the success of natural products, among them is their great chemical diversity, the effects of evolutionary pressure in creating biologically active molecules, the structural similarity of protein targets in different species, among others [53]. The treatment of fungal disease is limited and part of the reason is due to the limited spectrum of the currently antifungal drugs and the expensive treatment particularly due to

Table 4. Chemical components (%) of the EOs distilled from *Cinnamomum verum*

Таблица 4. Химический состав (%) эфирных масел, дистиллированных из *Cinnamomum verum*

Compounds	RI	% Oil
E-cinnamaldehyde	15.22	7.2
α -Pinene Linalool	5.66	1.3
Linalool	9.86	8.0
β-Caryophyllene	18.58	7.4
Eucalyptol	8.08	6.4
Eugenol	16.90	5.6
α -Humulene	19.47	1.7
δ-Cadinene	20.97	1.4
p-Cymene	7.82	1.9
Limonene	7.93	1.2

Table 5. Antifungal activity of *Cinnamomum verum* oil against selected fungi

Таблица 5. Противогрибковая активность масла *Cinnamomum verum* в отношении некоторых грибов

Oil	Test strain	Concentration of oil, %	IZ* of sample, mm
<i>Cinnamomum verum</i> oil	<i>T. mentagrophytes</i>	100	59
		75	50
		50	30
		25	20
	<i>T. tonsurans</i>	100	60
		75	46
		50	31
		25	19
	<i>T. equinum</i>	100	58
		75	45
		50	31
		25	19

Note. * – Inhibition zone (in mm) including the diameter of disc (6 mm).

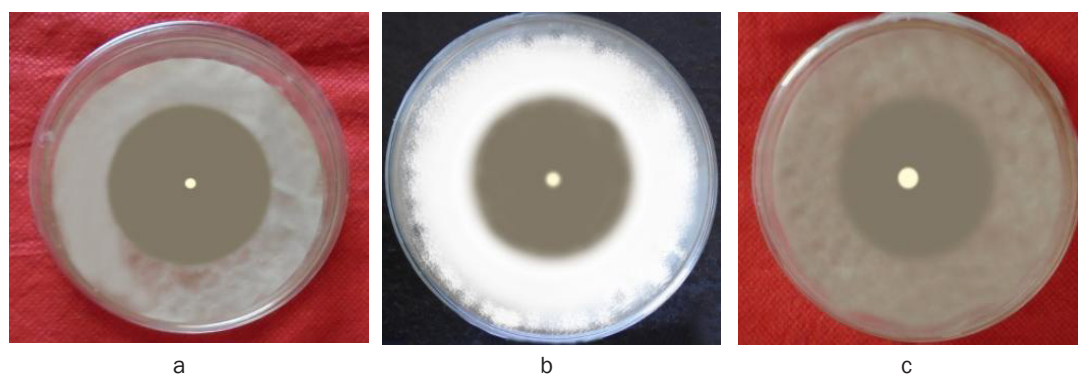


Fig. 4. Antidermatophytic activity of *Cinnamomum verum* EO at 100% concentration against selected fungal strains: a – *T. equinum*; b – *T. mentagrophytes*; c – *T. tonsurans*

Рис. 4. Антидерматофитная активность эфирного масла *Cinnamomum verum* в 100%-й концентрации в отношении отдельных штаммов грибов: а – *T. equinum*; б – *T. mentagrophytes*; в – *T. tonsurans*

the need of prolonged therapy. Jayaprakasha et al also reported some alternative therapies including natural products are necessary to control the fungal infections [54]. Various workers have reported that due to high volatility and lipophilicity of the EOs they are readily attached to penetrate in to the cell membrane to exert their biological effect. Ali and Ali in Saudi Arabia investigate the antifungal activity of plants from the Jeddah region (*A. indica*, *Z. spina-christi*, and *O. europaea*), *P. dactylifera* seed, neem oil and other oils [55]. Another interesting investigation reports the antibacterial activity of cinnamon bark EO and its main constituents, *trans*-cinnamaldehyde and eugenol against *Cronobacter sakazakii* and *C. malonicus*, which are opportunistic pathogens that cause infection in children and immunocompromised adults. Kizil et al reported the EOs exhibited fungistatic and fungicidal activities against both of the standard and clinical strains of *Candida* species at concentrations ranging from 0.5 μ L/mL to 8 μ L/mL [56]. According to the study of Saharkhiz et al EOs killed the standard strain of *C. neoformans* is a well-known primarily opportunistic pathogen which produces chronic and life-threatening meningitis at concentration of 4 μ L/mL [56]. The antifungal activities of the EOs of *Acantholippia seriphoides*, *Artemisia mendozaana*, *Gymnophyton polycephalum*, *Satureja parvifolia*, *Tagetes mendozana*, and *Lippia integrifolia*, collected in the Central Andes area, Province of San Juan, Argentina, were investigated against *M. gypseum*, *T. mentagrophytes* and *T. rubrum* and were inhibited by the EOs of *G. polycephalum*, *L. integrifolia*, and *S. parvifolia*, with minimum inhibitory concentrations (MICs) between 31.2 and 1000 μ g/mL. This study shows that these Central Andean area species might be used to treat superficial fungal infections [57]. In the study of Agarwal et al and Saharkhiz et al found that the formation of biofilm by *C. albicans* was inhibited completely at a concentration of up to 2 μ L/mL in a dose-dependent manner [56, 58]. Shiming et al reported antifungal mechanism of EOs, inhibits the synthesis of ergosterol in fungal and cholesterol in mammalian cells [59]. The present results showed the excellent antidermatophytic efficacy of *M. piperita* and *C. verum* against *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans* and *T. equinum* as compared to standard antifungal drugs and

can be used to control the superficial fungal infections of the skin as an eco-friendly agent and to combat the mechanism of antimicrobial drug resistance. The tested EO in the present study was rich in Menthol. It has been shown that this phenolic monoterpene has a hydroxyl group around the phenolic ring and exhibits its antimicrobial activity through the disruption of the cytoplasmic membrane and due to the main characteristics of EOs is their hydrophobicity, which enables their incorporation into the cell membrane [60, 61]. The great importance of natural products in developing new therapeutic tools is evident. In this aspect, medicinal plants and their derivatives are important for pharmacological research and drug development. Special attention has been directed to natural derivatives, based on the knowledge of antifungal compound production in nature.

CONCLUSION

The polluted area of agricultural fields of soil is a dynamic medium in which a large number of keratinophilic and non-keratinophilic fungi live in close association. Some keratinophilic fungi are pathogenic to man and animals. Dermatophytic infections are highly common and endemic disease in developing countries due to poverty, improper health facilities, illiteracy and other poorly developed diagnostic techniques. Also, some microorganisms which are resistant to newer or modern antifungal synthetic drugs and in some severely immunosuppressed patients. *M. piperita* and *C. verum* EOs can be suggested as an alternative to synthetic antibiotics, especially for the treatment of antibiotic-resistant infections. These EOs can also be considered for developing products to controlling fungal infections. Thus, there is a need for an alternative therapy that is safe, cheaper, economical and easily available so wide range of EOs from plants are still unexplored for their antifungal activity. Hence, the present study conclude that to explore new antifungal agents alternative to synthetic drugs for the treatment of dermatophytic and other fungal diseases. This research study will be beneficial for the human health, human economy, environment safety and antimicrobial drug resistance for proper and timely treatment of fungal infections in immunocompromised patients.

REFERENCES

1. Khanam S.J.P., Jain P.C. Isolation of keratin degrading fungi from soil of Damoh (India). *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*. 2002;4(2):251-254.
2. Mukesh S., Sharma M. Incidence of dermatophytes and other keratinophilic fungi in the schools and college playground soils of Jaipur, India. *African Journal of Microbiology Research*. 2010;4(24):2647-2654.
3. Marsella R., Mercantini R. Keratinophilic fungi isolated from soils of the Abruzzo National Park Italy. *Mycopathologia*. 2013;94(2):97-107.
4. Dominik T., Majchrowicz I. A trial for isolating keratinolytic and keratinophilic fungi from the soils of the cemeteries and forests of Szczecin. *Ekologia Polska – Seria A*. 1964;12:79-105.
5. Ajello L. The dermatophytes, *Microsporum gypseum* as a saprophyte and parasite. *Journal of Investigative Dermatology*. 1953;21(3):157-171. <https://doi.org/10.1038/jid.1953.86>.
6. Al-Doory Y. The occurrence of keratinophilic fungi in Texas soil. *Mycopathol Mycol Appl*. 1967;33:105-112. <http://doi.org/10.1007/BF02053441>.
7. Karam El-Din A.A., Youssef A.Y., Zaki S. Distribution of pathogenic and potentially pathogenic fungi among soil fungal flora in Egypt. *African Journal of Mycology and Biotechnology*. 1996;4:23-39.
8. Hedayati M.T., Mohseni-Bandpi A., Moradi S. A survey on the pathogenic fungi in soil samples of potted plants from Sari hospitals, Iran. *Journal of Hospital Infection*. 2004;58(1):59-62. <http://doi.org/10.1016/j.jhin.2004.04.011>.
9. Ramesh V.M., Hilda A. Incidence of keratinophilic

fungi in the soil of primary schools and public parks of Madras City, India. *Mycopathol Mycol Appl.* 1998;143:139-145. <http://doi.org/10.1023/a:1006945012620>.

10. Papini R., Mancianti F., Grassott G., Cardini G. Survey of keratinophilic fungi isolated from city park soils of Pisa, Italy. *Mycopathol Mycol Appl.* 1998;143(1):17-123. <http://doi.org/10.1023/a:1006919707839>.

11. Hidron A.I., Edwards J.R., Patel J., Horan T.C., Sievert D.M., Pollock D.A., et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infection Control & Hospital Epidemiology.* 2008;29(11):996-1011. <http://doi.org/10.1086/591861>.

12. Mayrhofer S., Paulsen P., Smulders F.J.M., Hilbert F. Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. *International Journal of Food Microbiology.* 2004;97(1):23-29. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.04.006>.

13. Zomorodian K., Haghighi N.N., Rajaei N., Pakshir K., Tarazooie B., Vojdani M., et al. Assessment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. *Medical Mycology.* 2011;49(2):208-211. <http://doi.org/10.3109/13693786.2010.507605>.

14. Chevalier M., Medioni E., Prêcheur I. Inhibition of *Candida albicans* yeast-hyphal transition and biofilm formation by *Solidago virgaurea* water extracts. *Journal of Medical Microbiology.* 2012;61(7):1016-1022. <http://doi.org/10.1099/jmm.0.041699-0>.

15. Sara B. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology.* 2004;94:223-253. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.

16. Ahmet C., Saban K., Hamdullah K., Ercan K. Antifungal properties of essential oils and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. *Biochemical Systematics and Ecology.* 2005;33(3):245-256. <http://doi.org/10.1016/j.bse.2004.08.006>.

17. Tiwari R.D., Shrestha A.K. Antifungal activity of crude extracts of some medicinal plants against *Fusarium solanai* (Mart.) Sacc. *Ecoprint: An International Journal of Ecology.* 2009;16:75-78. <https://doi.org/10.3126/eco.v16i0.3476>.

18. Mishra A.K., Dubey N.K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Applied and Environmental Microbiology.* 1994;60(4):1101-1105. <http://doi.org/10.1128/aem.60.4.1101-1105.1994>.

19. Bagamboula C.F., Uyttendaele M., Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology.* 2004;21(1):33-42. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(03\)00046-7](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(03)00046-7).

20. White T.C., Holleman S., Mirels L.F., Stevens D.A. Resistance mechanisms in clinical isolates of *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2002;46(6):1704-1713. <http://doi.org/10.1128/AAC.46.6.1704-1713.2002>.

21. Moreira M.R., Ponce A.G., del Valle C.E., Roura S.I.

Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food-borne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie.* 2005;38(5):565-570. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.012>.

22. Souza E.L., de Barros J.C., de Oliveira C.E.V., da Conceicao M.L. Influence of *Origanum vulgare* L. essential oil on enterotoxin production, membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology.* 2010;137(2-3):308-311. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.025>.

23. Derwich E., Benziene Z., Taouil R., Senhaji O., Touzani M. Aromatic plants of morocco: GC/MS analysis of the essential oils of leaves of *Mentha piperita*. *Advances in Environmental Biology.* 2010;4(1):80-85.

24. Tyagi A.K., Malik A. Liquid and vapour-phase antifungal activities of selected essential oils against *Candida albicans*: microscopic observations and chemical characterization of *Cymbopogon citratus*. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 2010;10:65. <http://doi.org/10.1186/1472-6882-10-65>.

25. Sandasi M., Leonard C.M., Viljoen A.M. The *in vitro* antibiofilm activity of selected culinary herbs and medicinal plants against *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology.* 2010;50(1):30-35. <http://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02747.x>.

26. Baliga M., Rao S. Radioprotective potential of mint: a brief review. *Journal of Cancer Therapeutics and Research.* 2010;6(3):255-262. <http://doi.org/10.4103/0973-1482.73336>.

27. Nabavi S.M., Marchese A., Izadi M., Curti V., Daglia M., Nabavi S.F. Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: From farm to pharmacy. *Food Chemistry.* 2015;173:339-347. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.042>.

28. Hogberg L.D., Heddini A., Cars O. The global need for effective antibiotics: Challenges and recent advances. *Trends in Pharmacological Sciences.* 2010;31(11):509-515. <http://doi.org/10.1016/j.tips.2010.08.002>.

29. Wong Y.C., Ahmad-Mudzaqqirand M.Y., Wan-Nurdiyana W.A. Extraction of essential oil from Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*). *Oriental Journal of Chemistry.* 2014;30(1):37-47. <http://doi.org/10.13005/ojc/300105>.

30. Muchuweti M., Kativu E., Mupure C.H., Chidewe C., Ndhlala A.R., Benhura M.A.N. Phenolic composition and antioxidant properties of some spices. *American Journal of Food Technology.* 2007;2(5):414-420. <http://doi.org/10.3923/ajft.2007.414.420>.

31. Chevalier M., Medioni E., Prêcheur I. Inhibition of *Candida albicans* yeast-hyphal transition and biofilm formation by *Solidago virgaurea* water extracts. *Journal of Medical Microbiology.* 2012;61(7):1016-1022. <http://doi.org/10.1099/jmm.0.041699-0>.

32. Saharkhiz M.J., Ghani A., Khayat M. Changes in essential oil composition of Clary sage (*Salvia sclarea* L.) aerial parts during its phenological cycle. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology.* 2009;3:90-93.

33. Vanbreuseghem R. Technique biologique pour l'isolement des dermatophytes du sol. *Annales de la Société belge de médecine tropicale.* 1952;32:173-178.

34. Sharma G., Sharma R., Saxena R., Rajni E. Syner-

- gistic, antidermatophytic activity and chemical composition of essential oils against zoonotic dermatophytosis. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2022;48:1338-1347. <https://doi.org/10.1134/S1068162022060218>.
35. Gould J.C., Bowie J.H. The determination of bacterial sensitivity to antibiotics. *Edinburgh Medical Journal*. 1952;59(4):178-199.
36. Deshmukh S.K., Agrawal S.C. Degradation of human hair by some dermatophytes and other keratinophilic fungi. *Mykosen*. 1982;25(8):463-466. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0507.1982.tb01965.x>.
37. Shadzis S., Chadeganipour M., Alimoradi M. Isolation of keratinophilic fungi from elementary schools and public parks in Isfahan, Iran. *Mycoses*. 2002;45(11-12):496-499. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2002.00798.x>.
38. Shukla P., Shukla C.B., Kango N., Shukla A. Isolation and characterization of a dermatophyte, *Microsporum gypseum* from poultry farm soils of Rewa (Madhya Pradesh), India. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2003;6(6):622-625. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2003.622.625>.
39. Sharma R., Rajak R.C. Keratinophilic fungi: Nature's keratin degrading machines. Their isolation identification and ecological role. *Resonance*. 2003;8:28-40. <http://doi.org/10.1007/BF02837919>.
40. Marchisio M.V. Keratinophilic fungi: their role in nature and degradation of keratinic substrates. In: *Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi*. 2000; vol. 7, p. 77-85.
41. Cabañes F.J. Emerging mycotoxins: introduction. *Review Iberoam Micologia*. 2002;17(2):S61-S62.
42. Baranova Z., Kozak M., Bilek J. Zoophilic dermatomycosis in a family caused by *Trichophyton mentagrophytes* var. *quincheanum* – A case report. *Acta Veterinaria Brno*. 2003;72(2):311-314. <https://doi.org/10.2754/avb200372020313>.
43. Ali-Shtayeh M.S. Keratinophilic fungi isolated from childrens sandpits in the Nablus area west bank of Jordan. *Mycopathologia*. 1988;103:141-146. <http://doi.org/10.1007/BF00436812>.
44. Ramesh V.M., Hilda A. Incidence of keratinophilic fungi in the soil of primary schools and public parks of Madras City, India. *Mycopathologia*. 1998;143(3):139-145. <http://doi.org/10.1023/a:1006945012620>.
45. Gianni C., Cerri A., Crostic C. Non-dermatophytic onychomycosis. N underestimated entity? A study of 51 cases. *Mycoses*. 2000;43(1-2):29-33. <http://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2000.00547.x>.
46. Höfling J.F., Anibal P.C., Obando-Pereda G.A., Peixoto I.A.T., Furletti V.F., Foglio M.A., et al. Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. *Brazilian Journal of Biology*. 2010;70(4):1065-1068. <http://doi.org/10.1590/s1519-69842010000500022>.
47. Unlu M., Ergene E., Unlu G.V., Zeytinoglu H.S., Vural N. Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). *Food Chemical Toxicol.* 2010;48(11):3274-3280. <http://doi.org/10.1016/j.fct.2010.09.001>.
48. Gende L.B., Floris I., Fritz R., Eguaras M.J. Antimicrobial activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil and its main components against *Paenibacillus* larvae from Argentina. *Bulletin of Insectology*. 2008;61(1):1-4.
49. Wuthi-Udomlert M., Grisanapa W., Luanratana O., Caichompoo W. Antifungal activity of *Curcuma longa* grown in Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine*. 2000;31(1):178-182.
50. Falahati M., Tabrizi N.O., Jahaniani F. Antidermatophyte activities of *Eucalyptus canaldensis* in comparison with griseofulvin. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*. 2005;4:80-83.
51. Sharma R., Sharma G.N., Sharma M. Additive and inhibitory effect of antifungal activity of *Curcuma longa* (Turmeric) and *Zingiber officinale* (Ginger) essential oils against *Pityriasis versicolor* infections. *Journal of Medicinal Plants*. 2011;5(32):6987-6990. <http://doi.org/10.5897/JMPR11.1032>.
52. Chin Y.W., Balunas M.J., Chai H.B., Kinghorn A.D. Drug discovery from natural sources. *AAPS Journal*. 2006;8(2):E239-E253. <http://doi.org/10.1007/BF02854894>.
53. Harvey A.L. Natural products as a screening resource. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2007;11(5):480-484. <http://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.08.012>.
54. Jayaprakasha G.K., Rao L.J.M., Sakariah K.K. Volatile constituents from *Cinnamomum zeylanicum* fruit stalks and their antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003;51:4344-4348. <http://doi.org/10.1021/jf034169i>.
55. Al-Ali S., Al-Judaibi A. Effect of natural products and essentials oils on pathogenic fungi. *Acta Scientific Microbiology*. 2019;2(6):2581-3226. <http://doi.org/10.31080/ASMI.2019.02.0255>.
56. Kizil S., Haşimi N., Tolan V., Kiliç E., Yüksel U. Mineral content, essential oil components and biological activity of two mentha species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.). *Turkish Journal of Field Crops*. 2010;15(2):148-153. <http://doi.org/10.17557/TJFC.56629>.
57. Lima B., López S., Luna L., Agüero M.B., Aragón L., Tapia A., et al. Essential oils of medicinal plants from the central andes of Argentina: chemical composition, and antifungal, antibacterial, and insect-repellent activities. *Chemistry & Biodiversity*. 2011;8(5):924-936. <http://doi.org/10.1002/cbdv.201000230>.
58. Agarwal V., Lal P., Pruthi V. Prevention of *Candida albicans* biofilm by plant oils. *Mycopathologia*. 2008;165(1):13-19. <http://doi.org/10.1007/s11046-007-9077-9>.
59. Shiming Li., Lo C.Y., Ho C.T. Hydronylated polymethoxylated flavonoids and mentholated flavonoid in sweet orange peel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006;54(12):4176-4185. <http://doi.org/10.1021/jf060234n>.
60. Trombetta D., Castelli F., Sarpietro M.G. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2005;49(6):2474-2478. <http://doi.org/10.1128/AAC.49.6.2474-2478.2005>.
61. Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002;68(4):1561-1568. <http://doi.org/10.1128/AEM.68.4.1561-1568.2002>.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Richa Sharma,
Dr., Associate Professor,
Department of Microbiology,
Mahatma Gandhi University of Medical Sciences
& Technology,
Mahatma Gandhi Rd, Ricco Industrial Area, Sitapura,
Jaipur, Rajasthan 302022, India,
✉richa.phd.15@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9747-0700>

Neeraj Choudhary,
Dr., Assistant Professor,
Department of Microbiology,
Dev Bhoomi Uttarakhand University,
Dev Bhoomi Campus, Chakrata Road, Manduwala,
Nauगाон, Uttarakhand 248007, Dehradun, India,
<https://orcid.org/0000-0001-5434-0455>

Rajat Choudhary,
Student,
Teoler High School,
Lalarpura, Jaipur, Rajasthan 302012, India

Gajanand Sharma,
Dr., Head of Department of Chemistry,
MPS International,
Bhabha Marg, Tilak Nagar, Jaipur, Rajasthan 302004,
India,
<https://orcid.org/0000-0003-3771-3197>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 08.12.2022.
Approved after reviewing 08.02.2023.
Accepted for publication 28.02.2023.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Рича Шарма,
доктор, доцент,
Университет медицинских наук и технологий
им. Махатмы Ганди,
302022, г. Джайпур, Раджастан, Ситапура,
промышленная зона Рикко, проезд Махатма Ганди,
Индия,
✉richa.phd.15@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9747-0700>

Нирадж Чоудхари,
доктор, доцент,
Университет Дев Бхуми Уттарханд,
248007, г. Дехрадун, Уттакханд, Наугаон, Мандувала,
Чакрата Роуд, Кампус Дев Бхуми, Индия,
<https://orcid.org/0000-0001-5434-0455>

Раджат Чоудхари,
студент,
Средняя школа Теолер,
302012, г. Джайпур, Раджастан, Ларарпура, Индия

Гаджананд Шарма,
доктор, заведующий кафедрой химии,
МПС Интернешнл,
302004, г. Джайпур, Раджастан, Тилак Нагар,
Бхабха Марг, Индия,
<https://orcid.org/0000-0003-3771-3197>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 08.12.2022.
Одобрена после рецензирования 08.02.2023.
Принята к публикации 28.02.2023.

Научная статья
УДК 662.231.39
DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-38-49>



Синтез наноструктурированных нитратов бактериальной целлюлозы

Ю.А. Гисматулина✉, А.А. Корчагина, В.В. Будаева

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

Аннотация. Работа посвящена исследованию синтеза нитратов целлюлозы из бактериальной целлюлозы. Бактериальная целлюлоза характеризуется высокой степенью полимеризации – 4600. Методом растровой электронной микроскопии установлено, что ее структура представляет собой плотную сетку наноразмерных микрофибрилл. Методом ИК-спектроскопии показаны функциональные группы, соответствующие природной целлюлозе. Путем обработки бактериальной целлюлозы промышленной серно-азотной кислотной смесью с содержанием азотной кислоты 47–52% и серной кислоты 34–38% получены с выходом 156–159% образцы наноструктурированных нитратов бактериальной целлюлозы, полностью растворимые в ацетоне, что подтверждает получение именно азотнокислых эфиров целлюлозы. Нитраты целлюлозы по функциональным свойствам близки: массовая доля азота – 11,65–11,78%, вязкость – 963–1282 мПа·с, растворимость в спиртоэфирной смеси – 12,9–14,1%. Методом растровой электронной микроскопии показано, что нитрование бактериальной целлюлозы приводит к дезорганизации плотной сетки микрофибрилл. Подтверждение получения азотнокислых эфиров целлюлозы установлено методом ИК-спектроскопии по наличию функциональных нитрогрупп. Методами термогравиметрического и дифференциально-термического анализов показана высокая чистота синтезированных образцов. Оригинальность результатов заключается в сравнительном анализе свойств нитратов целлюлозы, синтезированных на основе бактериальной целлюлозы, полученной разными способами предварительной подготовки; в использовании кислотных смесей различного состава и отличных от применяемых в мировой науке условий нитрования. Представленные результаты обосновывают целесообразность использования наноструктурированной бактериальной целлюлозы в качестве прекурсора нитратов целлюлозы, применяемых в новых высокотехнологичных материалах, наукоемких областях, отличных от областей применения нитратов целлюлозы из растительной целлюлозы.

Ключевые слова: наноструктурированная бактериальная целлюлоза, синтез, стабилизация, серно-азотная кислотная смесь, наноструктурированные нитраты целлюлозы, морфология поверхности

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-73-00120, <https://rscf.ru/project/22-73-00120/>.

Для цитирования: Гисматулина Ю.А., Корчагина А.А., Будаева В.В. Синтез наноструктурированных нитратов бактериальной целлюлозы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 38–49. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-38-49>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Synthesis of nanostructured bacterial nitrocellulose

Yuliya A. Gismatulina✉, Anna A. Korchagina, Vera V. Budaeva

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the SB RAS, Biysk, Russian Federation

Abstract. This work investigates an approach to the synthesis of nitrocellulose from bacterial cellulose. Bacterial cellulose demonstrates a high polymerization degree of 4600 and, according to SEM, consists of a dense network of nanosized microfibrils. IR spectroscopy identified functional groups corresponding to natural cellulose. Samples of nanostructured bacterial nitrocellulose were obtained in 156–159% yield by treating bacterial cellulose with an industrial mixture of 47–52% nitric acid and 34–38% sulfuric acid. The obtained samples proved to be completely soluble in acetone, which confirmed the formation of nitric acid cellulose ethers. The samples were found to have similar functional properties: the mass nitrogen fraction of 11.65–11.78%; the viscosity of 963–1282 mPa·s; the solubility in an alcohol-ether mixture of 12.9–14.1%. The conducted SEM analysis showed that nitration of bacterial cellulose leads to disorganization of the dense network of microfibrils. The production of nitric acid cellulose ethers was established by IR spectroscopy according to the presence of functional nitro groups. The methods of thermogravimetric and differential thermal analysis confirmed the high purity of the synthesized materials. The novelty of the conducted study lies in a comparative analysis of the properties of nitrocellulose samples synthesized

from bacterial cellulose using different pre-treatment methods, as well as in the application of acid mixtures and nitration conditions different from those reported in literature. The obtained results indicate the feasibility of using nanostructured bacterial cellulose as a precursor of novel nitrocellulose materials for application in knowledge-intensive fields and as an alternative to nitrocellulose obtained from plant cellulose.

Keywords: nanostructured bacterial cellulose, synthesis, stabilization, sulfuric and nitric acid mixture, nanostructured nitrocellulose, surface morphology

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation grant no. 22-73-00120, <https://rscf.ru/project/22-73-00120/>.

For citation: Gismatulina Yu.A., Korchagina A.A., Budaeva V.V. Synthesis of nanostructured bacterial nitrocellulose. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):38-49. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-38-49>.

ВВЕДЕНИЕ

Нитраты целлюлозы (НЦ), впервые полученные более 200 лет назад французским химиком А. Бранконно, благодаря уникальному сочетанию своих физико-химических, технологических и эксплуатационных характеристик по-прежнему остаются наиболее востребованными энергетическими биополимерами целлюлозы [1]. Область применения НЦ охватывает широкий спектр использования – от традиционных военной и гражданской сфер до получения новых высокотехнологических материалов – и постоянно продолжает расширяться [2–7].

В связи с быстрыми темпами развития электроники, электротехники и других наукоемких технологий требуются новые виды НЦ, удовлетворяющие прогрессивному росту. НЦ из растительного сырья, несмотря на его неоспоримые преимущества, отвечающие современным принципам зеленой химии (энергоэффективности, доступности, биоразлагаемости и быстрой скорости возобновления), не могут в полной мере удовлетворить такой спрос ввиду своих природно-морфологических особенностей [8]. Наряду с растительной целлюлозой учеными в качестве прекурсора НЦ рассматриваются ее синтетические аналоги [9], однако исследования в этой области только набирают свой оборот.

По мнению мировой науки, особую ценность в качестве прекурсора новых видов НЦ представляет наноструктурированная бактериальная целлюлоза (БЦ), которая совершенно отличается по своей природе от растительной и синтетической целлюлозы [10, 11]. Благодаря своим уникальным свойствам – высокой механической прочности, чрезвычайной тонкости, чистоте, молекулярно-структурной однородности волокон, а также высоким значениям степени полимеризации и степени кристалличности – БЦ может быть модифицирована в НЦ для наноматериалов различной конфигурации и функциональности [12–18], что является главной движущей силой новой промышленной революции, поскольку нитрование наноструктурированной целлюлозы в сравнении с растительной способствует образованию энергетических биополимеров с улучшенными свойствами.

Впервые принципиальная возможность получения НЦ из БЦ была показана путем обработки БЦ, концентрированной азотной кислотой в среде дихлорметана [19]. Однако из-за крайне малого количества синтезируемого вещества ученым не удалось определить его основные характеристики. Позднее авторами рабо-

ты [20] были проведены исследования по изучению зависимости массовой доли (м.д.) азота от условий нитрования, однако данные по вязкости и растворимости, являющихся важными характеристиками для практического использования НЦ и определяющих технологические и физико-механические свойства готовых изделий, а также расход растворителя при их получении, приведены не были. В работе [8] из БЦ синтезированы НЦ в широком диапазоне м.д. азота, обладающие жесткой молекулярной цепью в разбавленном растворе ацетона. Более поздним достижением в области получения НЦ из БЦ стала работа [21], в которой в качестве исходного сырья для получения НЦ был использован пищевой продукт – *Nata de Coco*. Методом рентгеноструктурного анализа было выявлено, что обработка БЦ нитрующей смесью в процессе нитрования привела к аморфизации его кристаллической структуры. Еще одной группой ученых [14] был проведен сравнительный синтез НЦ из 2-х альтернативных источников: растительного (пух растения *Ceiba pentandra* L.) и микробиального происхождения (*Nata de Coco*). Было установлено, что НЦ из обоих источников характеризуются высокой степенью замещения с преимуществом НЦ из *Nata de Coco*. Ранее нами [22, 23] была показана принципиальная возможность синтеза НЦ путем обработки промышленной серно-азотной кислотной смесью БЦ, полученной на синтетической питательной среде с использованием симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* Sa-12. Полученные НЦ характеризовались следующими свойствами: м.д. азота – 11,45%, крайне высокой вязкостью – 1900 мПас, растворимостью в спирто-эфирной смеси – 15,8% и м.д. золы – 0,10%, что еще раз подтверждает необходимость проведения всесторонних комплексных исследований в этой области, поскольку полученный единичный результат лишь подтверждает всевозможную вариативность свойств по получаемым НЦ при изменении условий нитрования.

Наряду с современными исследованиями, охватывающими прямой синтез НЦ из наноструктурированной БЦ, зарубежными учеными рассматривается возможность использования НЦ на основе БЦ в качестве перспективного энергетического связующего [12, 13, 15, 24, 25], основного компонента порохов [24–25], поскольку НЦ из БЦ характеризуются сверхтонкой, высокочистой волокнистой сетью и более стабильной структурой в сравнении с растительными НЦ [24–25]. Так, авторы работы [15] пришли к мнению, что благодаря высокой прочности при растяже-

нии сверхтонкому строению микроволокон, а также их сверхчистоте НЦ на основе БЦ обеспечат лучшие механические и эксплуатационные характеристики топлива по сравнению с традиционными энергетическими связующими. Одним из последних достижений зарубежных ученых в области применения наноструктурированных НЦ является их использование в золь-гель синтезе нечувствительных наноэнергетических композитов [17], которые имеют долгосрочные перспективы для современного вооружения.

Другой не менее важной наукоёмкой областью применения НЦ из наноструктурированной целлюлозы, в частности БЦ, является изготовление детекторов ионизирующих излучений, полупроницаемых мембран, биологических индикаторов, биосенсоров, чипов, селективных сорбентов, клея для склейки изделий и элементов электронной техники [1, 5, 16, 26, 27].

Анализ мировой литературы показал, что начиная с 2010 года и по настоящее время БЦ рассматривается в качестве альтернативы растительным источникам, однако синтез НЦ из БЦ преимущественно ведется в микроколичествах, не позволяющих в совокупности оценить физико-химические и структурно-морфологические характеристики, а также исследовать синтезированные НЦ на предмет химической стойкости и совместимости с различными пластификаторами.

Целью настоящей работы являлся синтез образцов нитратов наноструктурированной БЦ, полученной с использованием симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* Sa-12, а также определение основных функциональных свойств наноструктурированных нитратов бактериальной целлюлозы (ННБЦ) в полном объеме.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В представленной работе объектом исследования являлся образец БЦ, полученный с использованием в качестве продуцента симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* Sa-12, приобретенной во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов. Биосинтез БЦ проводили на синтетической питательной среде в стационарных условиях в климатической камере KB 400 (E6) (Binder, Германия) при температуре 27 °С в ранее выявленных оптимальных условиях [28]. По окончании культивирования гель-пленку БЦ снимали с поверхности питательной среды и промывали от компонентов питательной среды и клеток поэтапной обработкой 2 масс. % NaOH и 0,25 масс. % HCl с последующей промывкой дистиллированной водой до нейтральной реакции [28]. Для дальнейшей химической трансформации отмытые пленки БЦ измельчали в блендере и подвергали сублимационной сушке в лиофилизаторе HR7000-M (Harvest Right LLC, США). Степень полимеризации БЦ определяли по времени истечения раствора целлюлозы в кадоксене (оксид кадмия в этилендиаминах) на вискозиметре ВПЖ-3 (ООО «ЭКРОСХИМ», Россия) с диаметром капилляра 0,92 мм [29].

Для получения образцов ННБЦ исходный образец БЦ предварительно был измельчен в ромбовидную сечку размером около 5х5 мм и высушен в сушильном шкафу при температуре около (60±5) °С

в течение 10 ч. Фотография исходного образца БЦ представлена на рис. 1. Получение образцов ННБЦ проводили в одинаковых условиях с использованием промышленной серно-азотной кислотной смеси с содержанием азотной кислоты 48–52% и серной кислоты 34–38%: температура 25–30 °С, продолжительность 40 мин [30, 31], модуль 1:160. По окончании процесса нитрования образцы ННБЦ были промыты и подвергнуты высокотемпературной стабилизации (при температуре не ниже 80 °С), включающей обработку в воде в течение 1 ч, обработку в 0,03%-м растворе бикарбоната натрия в течение 3 ч и обработку в воде в течение 1 ч.

Образец ННБЦ-1 – это образец НЦ, полученный нами ранее в работе [23], выбранный для сравнения. Образец ННБЦ-2 и ННБЦ-3 – образцы НЦ, полученные в рамках данной работы при использовании в одинаковых условиях (таблица).

Основные функциональные свойства образцов ННБЦ были определены согласно [30, 31]. Массовую долю (м.д.) азота в образцах ННБЦ определяли ферросульфатным способом, основанным на омылении образцов ННБЦ концентрированной серной кислотой и восстановлении образовавшейся азотной кислоты сульфатом железа (II) до оксида азота (II), которая с избытком последнего образует комплексное соединение $[\text{Fe}(\text{NO})]\text{SO}_4$, окрашивающее раствор в желто-розовый цвет. Вязкость образцов ННБЦ определяли путем измерения времени истечения 2%-го ацетонового раствора из капиллярного стеклянного вискозиметра ВПЖ-1 (ООО «ЭКРОСХИМ», Россия). Растворимость образцов ННБЦ устанавливали по методу, основанному на растворении ННБЦ в спиртоэфирном растворителе при объемном соотношении этилового спирта к диэтиловому эфиру, равном 1:2, с последующей фильтрацией, сушкой и взвешиванием нерастворившегося остатка. Растворимость в ацетоне (1 г ННБЦ и 50 мл ацетона) измеряли путем фильтрации нерастворимого в ацетоне остатка ННБЦ с последующим высушиванием и взвешиванием. Выход полученных образцов ННБЦ рассчитывали по формуле:

$$W = (m_{\text{пр}} \cdot 100) / m_{\text{исх}},$$

где $m_{\text{пр}}$ – масса образца ННБЦ, г; $m_{\text{исх}}$ – масса исходного образца БЦ, г.

Дополнительно образцы ННБЦ были исследованы следующими методами: растровой электронной микроскопии (РЭМ) с помощью сканирующего электронного микроскопа JEOL GSM 840 (Jeol Ltd., Япония); ИК-спектроскопии с использованием спектрометра Инфралюм ФТ-801 (ООО НПФ «Люмэкс-Сибирь», Россия) в диапазоне частот 4000–500 см^{-1} ; совместного термогравиметрического (ТГА) и дифференциально-термического (ДТА) анализа на термоанализаторе TGA/DTG-60 (Shimadzu, Япония) в следующих условиях: масса навески – 0,5 мг, скорость нагрева – 10 °С/мин, максимальная температура – 350 °С, среда инертная – азот.

Работа выполнена с использованием приборной базы Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН, г. Бийск).



a



b

Рис. 1. Исходная влажная бактериальная целлюлоза (a); образец бактериальной целлюлозы, высушенной методом сублимационной сушки в лиофилизаторе (b)

Fig. 1. Initial wet bacterial cellulose (a); sample of bacterial cellulose freeze-dried in a lyophilizer (b)

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На рис. 1 представлены фотографии исходной влажной БЦ (рис. 1, a) и образца БЦ, высушенного методом сублимационной сушки в лиофилизаторе (рис. 1, b).

Согласно рис. 1, a, образец исходной влажной БЦ представляет собой полупрозрачную гладкую однородную гелеподобную пленку белого цвета. В результате предварительного измельчения в блендере и последующей сублимационной сушки образца БЦ в лиофилизаторе была получена монолитная непрозрачная пленка воздушной структуры толщиной 15 мм. На рис. 1, b представлен образец высушенной и измельченной БЦ в количестве 5 г.

Экспериментальным путем было установлено, что образец наноструктурированной БЦ, полученный с использованием симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* Sa-12, характеризуется высокой степенью полимеризации – 4600. Известно,

что м.д. α-целлюлозы в БЦ составляет не менее 99,0%, а нецеллюлозные примеси в ней практически отсутствуют [22, 23], что свидетельствует о ее сверхчистоте.

Известно [32], что результат этерификации зависит не только от показателей качества исходной целлюлозы, но и от ее исходной формы, а также состояния поверхности, и чем развитее и доступнее обрабатываемая нитрующими смесями поверхность целлюлозы, тем более равномерно будет проходить процесс нитрования. С учетом вышеизложенного можно предположить, что благодаря сверхчистоте, хорошо развитой поверхности и морфологической однородности волокон БЦ ее этерификация пройдет достаточно успешно с получением однородных по функциональным (физико-химическим) свойствам и морфологическому строению волокон образцов ННБЦ. В таблице представлены основные функциональные свойства образцов ННБЦ.

Основные функциональные свойства образцов наноструктурированных нитратов бактериальной целлюлозы

Main Functional Properties of Nanostructured Bacterial Cellulose Nitrate Samples

Образец	Состав кислотной смеси для нитрования	Выход*, %	Характеристики		
			м.д. азота, %	вязкость 2%-го раствора в ацетоне, мПа·с	растворимость в спирто-эфирной смеси, %
ННБЦ-1 [23]	HNO ₃ – 50% H ₂ SO ₄ – 36% H ₂ O – 14%	150	10,96	916	13,4
ННБЦ-2	HNO ₃ – 48% H ₂ SO ₄ – 38% H ₂ O – 14%	159	11,78	963	14,1
ННБЦ-3	HNO ₃ – 52% H ₂ SO ₄ – 34% H ₂ O – 14%	156	11,65	1282	12,9

Примечание. * – выход посчитан после сушки ННБЦ на открытом воздухе.

Из представленных в таблице результатов следует, что синтезированные в данном исследовании образцы – ННБЦ-2 и ННБЦ-3 – характеризуются близкими функциональными свойствами: м.д. азота – 11,65–11,78%, вязкость – 963–1282 мПа·с, растворимость в спирто-эфирной смеси – 12,9–14,1% и выходом – свыше 156%. Сравнивая синтезированные образцы ННБЦ-2 и ННБЦ-3 с образцом ННБЦ-1 [23], отметим следующее: повышение м.д. азота с 10,96 до 11,65–11,78% и выхода со 150 до 156–159%. Это может быть обусловлено, во-первых, разными режимами сублимационной сушки и способами подготовки исходных образцов БЦ к сушке (исходный образец БЦ для ННБЦ-1 не подвергался предварительному измельчению блендером во влажном состоянии); во-вторых, увеличением модуля нитрования с 1:50 (для образца ННБЦ-1) до 1:160 (для образцов ННБЦ-2 и ННБЦ-3). Такое резкое повышение модуля нитрования связано с более низкой насыпной плотностью образца БЦ, предварительно измельченного в блендере перед сублимационной сушкой в лиофилизаторе (см. рис. 1, *b*). Из таблицы также следует, что основные функциональные свойства образцов ННБЦ-2 и ННБЦ-3 хорошо воспроизводятся. Предельно высокая 100%-я растворимость образцов НЦ в ацетоне подтверждает получение именно азотнокислых эфиров целлюлозы.

Полученные результаты значительно отличаются от нитрования традиционной растительной целлюлозы. Особенно обращает на себя внимание высокая вязкость синтезированных образцов ННБЦ – 963–1282 мПа·с в сравнении с промышленными

образцами НЦ – 0,6–72 мПа·с [33]. Значительная разница в вязкостных характеристиках ННБЦ с НЦ из растительной целлюлозы связана с уникальной 3-мерной сетчатой структурой [23] и высокой степенью полимеризации [34].

На рис. 2 представлены микрофотографии образца исходной наноструктурированной БЦ и образцов ННБЦ, из которых следует, что при нитровании сохраняется сетчатая структура исходной БЦ.

Согласно рис. 2, *a*, микрофибриллы образца исходной БЦ представляют собой длинные переплетенные между собой объемные нити, визуально напоминающие нейронные сети. Структура микрофибрилл компактна, однородна. Можно также отметить высокую плотность упаковки микрофибрилл образца исходной БЦ.

Согласно рис. 2, *b*, *c*, в результате обработки образца исходной БЦ серно-азотной кислотной смесью происходит реорганизация микрофибрилл в обоих образцах ННБЦ, при этом наноструктурность образцов, проявляющаяся в сохранении размеров волокон ННБЦ по отношению к размерам волокон исходной БЦ, сохраняется. В структуре образцов ННБЦ между микрофибриллами наблюдается множество беспорядочных отверстий неправильной формы с четкими границами. Плотность упаковки микрофибрилл образцов ННБЦ отличается от образца исходной БЦ более рыхлой структурой. Такая структура образцов ННБЦ может быть обусловлена одновременно протекающими при нитровании процессами гидролитической деструкции под действием серной кислоты и окислительной деструкции под действием азотной кислоты.

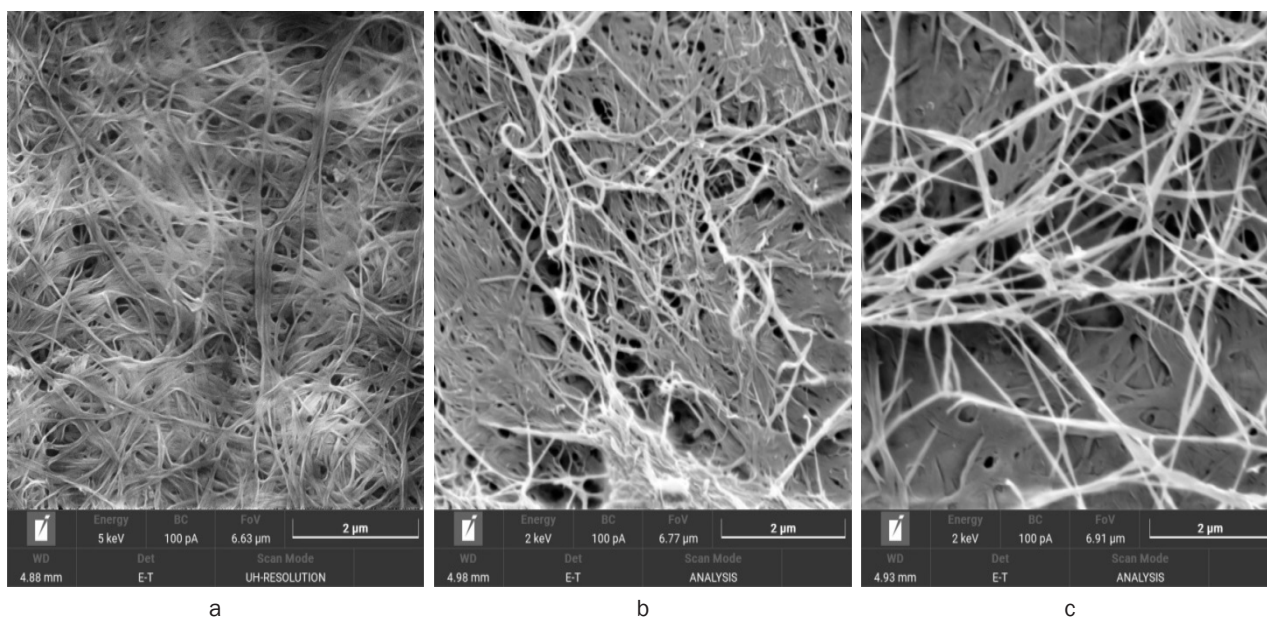


Рис. 2. Микрофотографии образцов: *a* – исходная бактериальная целлюлоза; *b* – наноструктурированные нитраты бактериальной целлюлозы-2; *c* – наноструктурированные нитраты бактериальной целлюлозы-3

Fig. 2. Micrographs of samples: *a* – initial bacterial cellulose; *b* – nanostructured nitrates of bacterial cellulose-2; *c* – nanostructured nitrates of bacterial cellulose-3

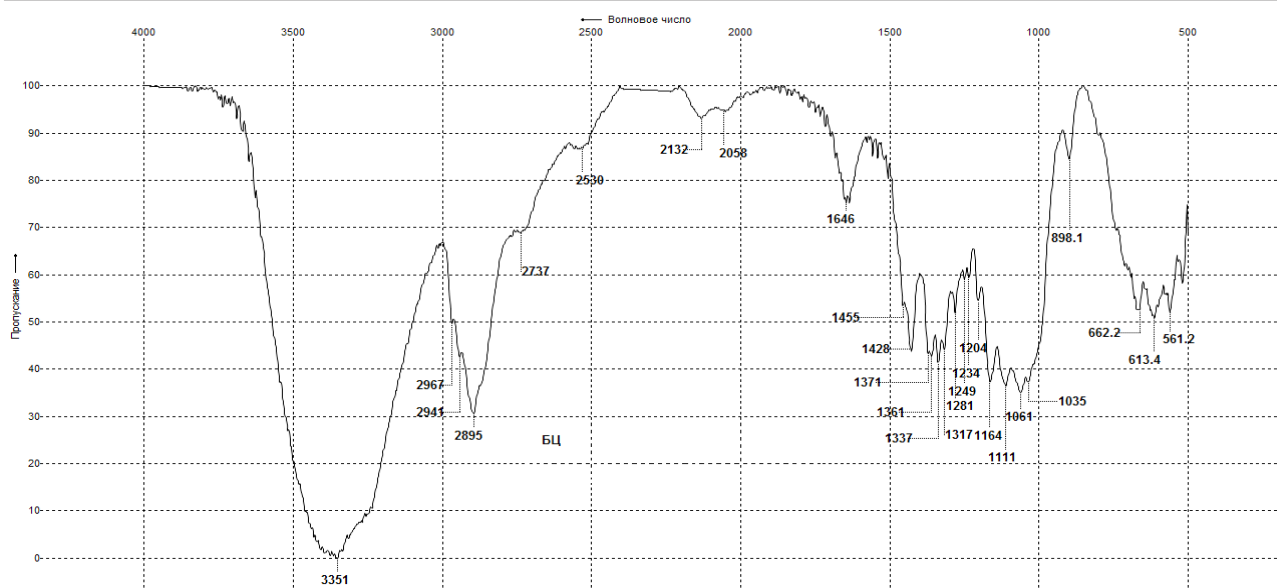
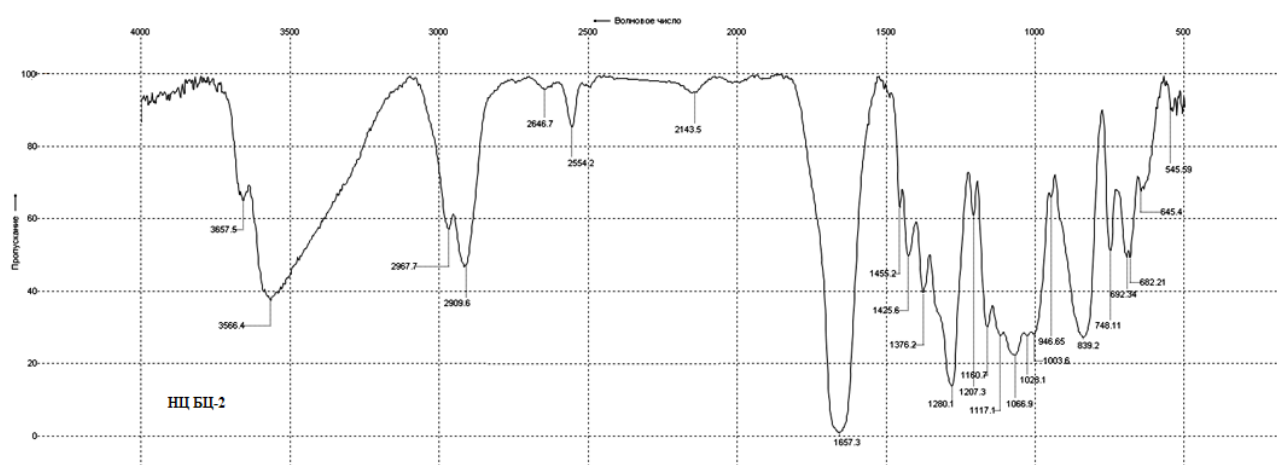
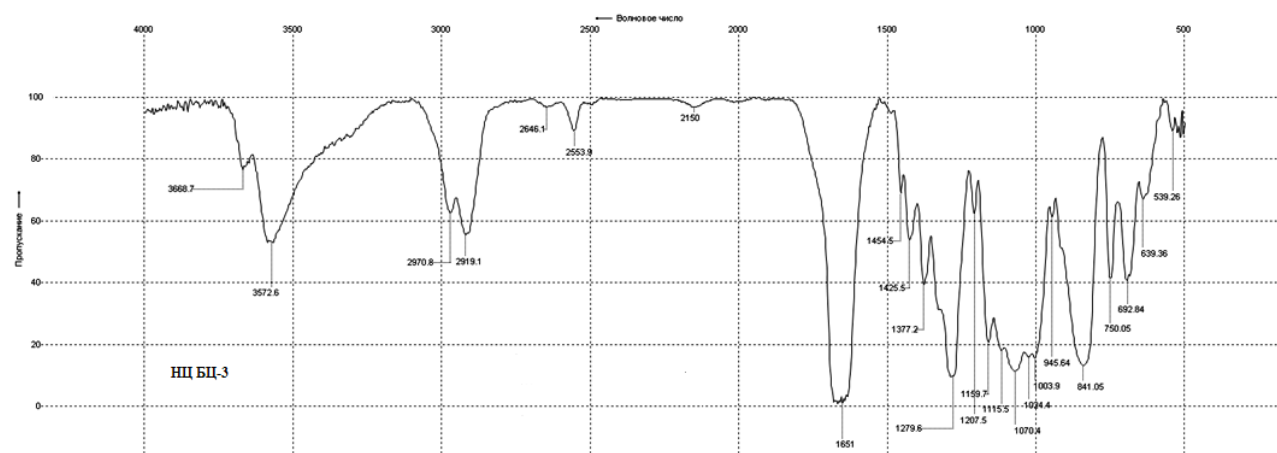


Рис. 3. ИК-спектр исходной бактериальной целлюлозы

Fig. 3. IR spectrum of the original bacterial cellulose



a



b

Рис. 4. ИК-спектры образцов наноструктурированных нитратов бактериальной целлюлозы: а – наноструктурированные нитраты бактериальной целлюлозы-2; б – наноструктурированные нитраты бактериальной целлюлозы-3

Fig. 4. IR spectra of nanostructured bacterial cellulose nitrates samples: a – nanostructured nitrates of bacterial cellulose-2; b – nanostructured nitrates of bacterial cellulose-3

На рис. 3 представлен ИК-спектр исходной БЦ.

В ИК-спектре исследуемого образца БЦ присутствуют основные функциональные группы (3351, 2895, 1646, 1428, 1361, 1337, 1317, 1164, 1061, 662 см^{-1}), позволяющие идентифицировать образец исходной БЦ как целлюлозу, сопоставимую по пикам валентных колебаний с классической целлюлозой [35–40]. Полученные результаты свидетельствуют о принципиальной возможности успешной этерификации образца БЦ, поскольку в ИК-спектре отсутствуют пики валентных колебаний, отвечающие за наличие примесей.

На рис. 4 представлены ИК-спектры образцов ННБЦ.

Согласно рис. 4, в ИК-спектрах образцов ННБЦ зарегистрированы характеристические частоты, свидетельствующие о структурных особенностях макромолекул НЦ. Полосы поглощения около 2919–2910 см^{-1} отвечают за валентные колебания СН-групп. Присутствуют интенсивные полосы в области 1657–1651 см^{-1} , отвечающие за колебания $\nu_a(\text{NO}_2)$ нитратных групп, связанных с CH_2 -группами глюкопиранозных циклов НЦ (положение $\text{C}_{(6)}$). Полосы поглощения при 1455 см^{-1} относятся к ножничному колебанию CH_2 -групп. Имеются полосы поглощения в областях 1377–1376 см^{-1} и 1280 см^{-1} , которые могут быть отнесены к деформационным колебаниям СН-групп в группах CH_2ONO_2 и симметричным валентным колебаниям групп NO_2 соответственно. Полосы поглощения в области 1161–1160 см^{-1} характеризуются валентными колебаниями гликозидной связи. Полосы поглощения в области 1070–1067 см^{-1} обусловлены валентными колебаниями связей С–О, соединяющих пиранозные циклы. Проявляется ряд полос, обусловленных поглощением нитратных групп, в областях 841–839, 750–748 и 693–682 см^{-1} . Эти полосы относятся соответственно к валентным колебаниям N–O, внеплоскостным маятниковым колебаниям NO_2 и к плоскостным деформационным колебаниям NO_2 . Кроме того, в ИК-спектрах обоих исследуемых образцов ННБЦ присутствуют пики валентных колебаний $\nu(\text{OH})$ в виде широкой полосы сложного контура, что свидетельствует о непол-

ном замещении НЦ. Они принадлежат гидроксильным группам НЦ, участвующим в образовании водородных связей, и являются характерным признаком химической неоднородности НЦ [38, 39]. Полученные результаты хорошо согласуются с данными, представленными в работах [14, 24, 37].

На рис. 5 показаны результаты исследований синтезированных образцов ННБЦ методом ТГА/ДТА.

В результате проведенных исследований было выявлено, что для обоих образцов НЦ характерен один узкий экзотермический пик при температуре около 210 $^{\circ}\text{C}$, сопровождающийся уменьшением массы обоих образцов ННБЦ практически до 92% (рис. 5), что свидетельствует о высокой химической чистоте синтезированных НЦ. Температуры начала интенсивного разложения синтезированных образцов ННБЦ составили 200 и 202 $^{\circ}\text{C}$ соответственно [38–40]. Полученные результаты хорошо согласуются с данными [20, 37]. Синтезированные образцы ННБЦ характеризуются высокой удельной теплотой разложения – 8,45 и 5,79 кДж/г .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальным путем установлено, что образец наноструктурированной БЦ, полученный с использованием в качестве продуцента симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* Sa-12 и высушенный путем сублимационной сушки в лиофилизаторе, характеризуется высокой степенью полимеризации – 4600. Методом растровой электронной микроскопии обнаружено, что структура микрофибрилл образца БЦ сетчатая, компактная, плотная, однородная. Методом ИК-спектроскопии подтверждено наличие основных функциональных групп, соответствующих целлюлозе (3351, 2895, 1646, 1428, 1361, 1337, 1317, 1164, 1061, 662 см^{-1}). Путем обработки БЦ промышленной серно-азотной кислотной смесью с содержанием азотной кислоты 47–52% и серной кислоты 34–38% получены образцы наноструктурированных НЦ (массой не менее 5 г каждый) с близкими функциональными свойствами: м.д. азота – 11,65–11,78%, вязкостью – 963–1282 $\text{мПа}\cdot\text{с}$, растворимостью в спирто-

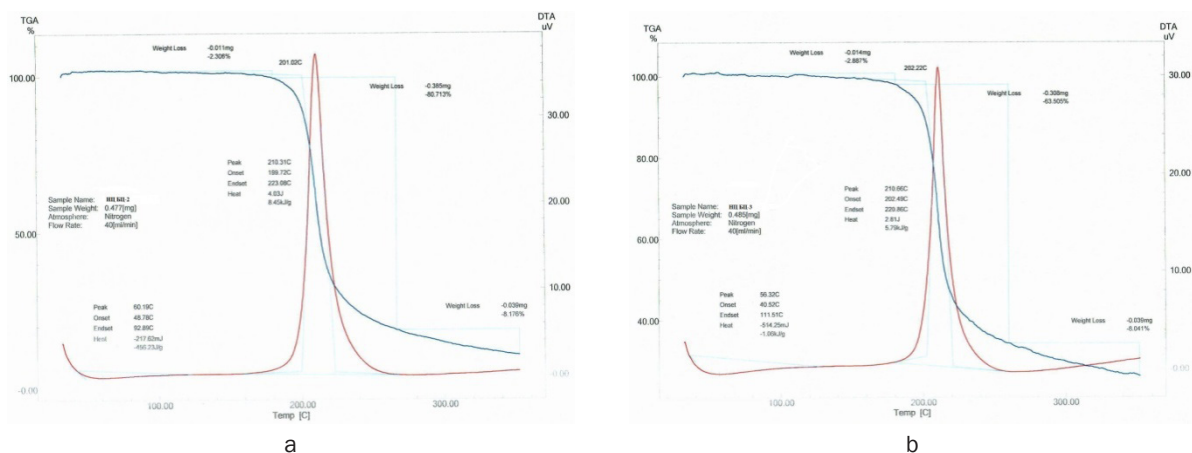


Рис. 5. Термограммы образцов наноструктурированных нитратов бактериальной целлюлозы: а – наноструктурированные нитраты бактериальной целлюлозы-2; б – наноструктурированные нитраты бактериальной целлюлозы-3

Fig. 5. Thermograms of samples of nanostructured bacterial cellulose nitrates: а – nanostructured nitrates of bacterial cellulose-2; б – nanostructured nitrates of bacterial cellulose-3

эфирной смеси – 12,9–14,1% и высокими значениями выхода – 156–159%. Установлено, что образцы НЦ имеют 100%-ю растворимость в ацетоне, гарантирующую получение азотнокислых эфиров целлюлозы. Образцы ННБЦ существенно отличаются от НЦ из растительной целлюлозы ввиду высокой чистоты, степени полимеризации и уникальной сетчатой структуры исходной БЦ. Методом растровой электронной микроскопии охарактеризованы морфологические особенности синтезированных образцов ННБЦ. Показано, что обработка исходной БЦ серно-азотной кислотной смесью приводит к дезорганизации плотноупакованных микрофибрилл с появлением множества неупорядоченных отверстий в структуре НЦ. Методом ИК-спектроскопии образцов ННБЦ выявлены основные функциональные группы (1657–1651, 1280,

841–839, 750–748, 693–682 см⁻¹), наличие которых подтверждает получение именно азотнокислых эфиров целлюлозы. Методами ТГА/ДТА показана высокая чистота синтезированных образцов (термическое разложение образцов до 92%, температура начала интенсивного разложения 200–202 °С). Практическая значимость представленных в данной работе результатов заключается в использовании для синтеза новых НЦ сверхчистой исходной БЦ и, как следствие, в получении химически чистых в совокупности с высокой вязкостью ННБЦ. Полученные результаты позволяют позиционировать синтезированные на основе БЦ ННБЦ для применения в новых высокотехнологических материалах, в наукоемких областях, отличных от областей применения НЦ из растительной целлюлозы.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Tarchoun A.F., Trache D., Klapötke T.M., Abdelaziz A., Bekhouche S., Boukeciat H., et al. Making progress towards promising energetic cellulosic microcrystals developed from alternative lignocellulosic biomass // *Journal of Energetic Materials*. 2022. P. 1–26. <https://doi.org/10.1080/07370652.2022.2032484>.
2. Sabatini J.J., Johnson E.C. A short review of nitric esters and their role in energetic materials // *ACS Omega*. 2021. Vol. 6, no. 18. P. 11813–11821. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c01115>.
3. Tarchoun A.F., Trache D., Klapötke T.M., Abdelaziz A., Derradji M., Bekhouche S. Chemical design and characterization of cellulosic derivatives containing high-nitrogen functional groups: towards the next generation of energetic biopolymers // *Defence Technology*. 2022. Vol. 18, no. 4. P. 537–546. <https://doi.org/10.1016/j.dt.2021.03.009>.
4. Tang R., Xie M.Y., Li M., Cao L., Feng S., Li Z., Xu F. Nitrocellulose membrane for paper-based biosensor // *Applied Materials Today*. 2022. Vol. 26. P. 101305. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2021.101305>.
5. Tang R., Alam N., Li M., Xie M., Ni Y. Dissolvable sugar barriers to enhance the sensitivity of nitrocellulose membrane lateral flow assay for COVID-19 nucleic acid // *Carbohydrate Polymers*. 2021. Vol. 268. P. 118259. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118259>.
6. Xu C., Zhao Z., Qiao Z., Li X., Yang H., Tang D.Y., et al. Reactivity of nanothermite-based micro energetic sticks prepared by direct ink writing // *Chemical Engineering Journal*. 2022. Vol. 438. P. 135608. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135608>.
7. Bekhouche S., Trache D., Abdelaziz A., Tarchoun A.F., Chelouche S., Boudjellal A., et al. Preparation and characterization of MgAl-CuO ternary nanothermite system by arrested reactive milling and its effect on the thermocatalytic decomposition of cellulose nitrate // *Chemical Engineering Journal*. 2023. Vol. 453. P. 139845. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.139845>.
8. Luo Q., Zhu J., Li Z., Duan X., Pei C., Mao C. The solution characteristics of nitrated bacterial cellulose in acetone // *New Journal of Chemistry*. 2018. Vol. 42, no. 22. P. 18252–18258. <https://doi.org/10.1039/C8NJ02018C>.
9. Корчагина А.А., Будаева В.В., Алешина Л.А., Люханова И.В., Бычин Н.В., Сакович Г.В. Модификация растительной целлюлозы и ее синтетического аналога в низкотемпературные продукты этерификации // *Известия вузов учебных заведений. Химия и химическая технология*. 2022. Т. 65. N 6. P. 64–74. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20226506.6598>.
10. Urbina L., Corcuera M.A., Gabilondo N., Eceiza A., Retegi A. A review of bacterial cellulose: sustainable production from agricultural waste and applications in various fields // *Cellulose*. 2021. Vol. 28, no. 13. P. 8229–8253. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04020-4>.
11. Pandit A., Kumar R. A review on production, characterization and application of bacterial cellulose and its biocomposites // *Journal of Polymers and the Environment*. 2021. Vol. 29, no. 9. P. 2738–2755. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02079-5>.
12. Jamal S.H., Roslan N.J., Shah N.A.A., Noor S.A.M., Ong K.K., Yunus W.M.Z.W. Preparation and characterization of nitrocellulose from bacterial cellulose for propellant uses // *Materials Today: Proceedings*. 2020. Vol. 29. P. 185–189. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.540>.
13. Wang Y., Jiang L., Dong J., Li B., Shen J., Chen L., et al. Three-dimensional network structure nitramine gun propellant with nitrated bacterial cellulose // *Journal of Materials Research and Technology*. 2020. Vol. 9, no. 6. P. 15094–15101. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.10.097>.
14. Jamal S.H., Roslan N.J., Ahmad Shah N.A., Mohd Noor S.A., Khim O.K., Yunus W.M.Z.W. Conversion of bacterial cellulose to cellulose nitrate with high nitrogen content as propellant ingredient // *Solid State Phenomena*. 2021. Vol. 317. P. 305–311. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/ssp.317.305>.
15. Chen L., Cao X., Gao J., He W., Liu J., Wang Y., et al. Nitrated bacterial cellulose-based energetic nanocomposites as propellants and explosives for military applications // *ACS Applied Nano Materials*. 2021. Vol. 4, no. 2. P. 1906–1915. <https://doi.org/10.1021/acsnm.0c03263>.
16. Chen L., Nan F., Li Q., Zhang J., Jin G., Wang M., et al. Sol-gel synthesis of insensitive nitrated bacterial cellulose/cyclotrimethylenetrinitramine nano-energetic composites and its thermal decomposition property // *Cellulose*. 2022. Vol. 29, no. 13. P. 7331–7351.

<https://doi.org/10.1007/s10570-022-04730-3>.

17. Tarchoun A.F., Trache D., Abdelaziz A., Harrat A., Boukecha W.O., Hamouche M.A., et al. Elaboration, characterization and thermal decomposition kinetics of new nanoenergetic composite based on hydrazine 3-nitro-1, 2, 4-triazol-5-one and nanostructured cellulose nitrate // *Molecules*. 2022. Vol. 27, no. 20. P. 6945. <https://doi.org/10.3390/molecules27206945>.

18. Tarchoun A.F., Sayah Z.B.D., Trache D., Klapötke T.M., Belmerabt M., Abdelaziz A., et al. Towards investigating the characteristics and thermal kinetic behavior of emergent nanostructured nitrocellulose prepared using various sulfonitric media // *Journal of Nanostructure in Chemistry*. 2022. Vol. 12. P. 963–977. <https://doi.org/10.1007/s40097-021-00466-x>.

19. Yamamoto H., Horii F., Hirai A. Structural studies of bacterial cellulose through the solid-phase nitration and acetylation by CP/MAS ¹³C NMR spectroscopy // *Cellulose*. 2006. Vol. 13, no. 3. P. 327–342. <https://doi.org/10.1007/s10570-005-9034-z>.

20. Sun D.-P., Ma B., Zhu C.-L., Liu C.-S., Yang J.-Z. Novel nitrocellulose made from bacterial cellulose // *Journal of Energetic Materials*. 2010. Vol. 28, no. 2. P. 85–97. <https://doi.org/10.1080/07370650903222551>.

21. Roslan N.J., Jamal S.H., Ong K.K., Yunus W.M.Z.W. Preliminary study on the effect of sulphuric acid to nitric acid mixture composition, temperature and time on nitrocellulose synthesis based *Nata de Coco* // *Solid State Phenomena*. 2021. Vol. 317. P. 312–319. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/SSP.317.312>.

22. Gismatulina Y.A., Gladysheva E.K., Budaeva V.V., Sakovich G.V. Synthesis of bacterial cellulose nitrates // *Russian Chemical Bulletin*. 2019. Vol. 68, no. 11. P. 2130–2133. <https://doi.org/10.1007/s11172-019-2678-x>.

23. Budaeva V.V., Gismatulina Y.A., Mironova G.F., Skiba E.A., Gladysheva E.K., Kashcheyeva E.I., et al. Bacterial nanocellulose nitrates // *Nanomaterials*. 2019. Vol. 9. P. 1694. <https://doi.org/10.3390/nano9121694>.

24. Huang X., Luo Q., Zhu J., Li Z., Zhao J., Pei C. Development rheological and thermal properties of a novel propellant RDX/TEGDN/NBC // *SN Applied Sciences*. 2020. Vol. 2, no. 12. P. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03792-x>.

25. Huang X., Luo Q., Zhu J., Li Z., Li C., Pei C. The preparation and rheological properties of novel energetic composites TEGDN/NBC // *Propellants, Explosives, Pyrotechnics*. 2020. Vol. 45, no. 1. P. 101–110. <https://doi.org/10.1002/prep.201800350>.

26. Mattar H., Baz Z., Saleh A., Shalaby A.S., Azza A.E., Salah H., et al. Nitrocellulose: structure, synthesis, characterization, and applications // *Water, Energy, Food Environment*. 2020. Vol. 3. P. 1–15. <http://dx.doi.org/10.18576/wefej/010301>.

27. Liu P., Fu L., Song Z., Man M., Yuan H., Zheng X., et al. Three dimensionally printed nitrocellulose-based microfluidic platform for investigating the effect of oxygen gradient on cells // *Analyst*. 2021. Vol. 146, no. 17. P. 5255–5263. <https://doi.org/10.1039/D1AN00927C>.

28. Gladysheva E.K., Skiba E.A., Zolotukhin V.N., Sakovich G.V. Study of the conditions for the biosynthesis of bacterial cellulose by the producer *Medusomyces*

gisevii Sa-12 // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2018. Vol. 54, no. 2. P. 179–187. <https://doi.org/10.1134/S0003683818020035>.

29. Bogolitsyn K., Parshina A., Aleshina L. Structural features of brown algae cellulose // *Cellulose*. 2020. Vol. 27. P. 9787–9800. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03485-z>.

30. Korchagina A.A., Gismatulina Yu.A., Budaeva V.V., Zolotukhin V.N., Bychin N.V., Sakovich G.V. *Miscanthus × Giganteus* var. KAMIS as a new feedstock for cellulose nitrates // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. 2020. Vol. 13, no. 4. P. 565–577. <https://doi.org/10.17516/1998-2836-0206>.

31. Gismatulina Yu.A., Budaeva V.V., Sakovich G.V. Nitrocellulose synthesis from *Miscanthus* cellulose // *Propellants, Explosives, Pyrotechnics*. 2018. Vol. 43. P. 96–100. <https://doi.org/10.1002/prep.201700210>.

32. Лен в пороховой промышленности / под ред. С.И. Григорова. М.: ЦНИИХМ, 2015. 348 с.

33. Liu J. Nitrate esters chemistry and technology. Springer Singapore, 2019. 684 p. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-6647-5>.

34. Solovov R., Kazberova A., Ershov B. Special aspects of nitrocellulose molar mass determination by dynamic light scattering // *Polymers*. 2023. Vol. 15, no. 2. P. 263. <https://doi.org/10.3390/polym15020263>.

35. Venkateshaiah A., Padil V.V., Nagalakshmaiah M., Waclawe S., Cerník M., Varma R.S. Microscopic techniques for the analysis of micro and nanostructures of biopolymers and their derivatives // *Polymers*. 2020. Vol. 12, no. 3. P. 512–544. <https://doi.org/10.3390/polym12030512>.

36. Gao Z., Jiang L., Xu Q., Wub W.Q., Mensah R.A. Thermal kinetics and reactive mechanism of cellulose nitrate decomposition by traditional multi kinetics and modeling calculation under isothermal and non-isothermal conditions // *Industrial Crops and Products*. 2020. Vol. 145. P. 112085. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112085>.

37. Meng X., Pu C., Cu P., Xiao Z. Preparation, thermal and sensitivity properties of nano-sized spherical nitrocellulose composite crystal // *Propellants, Explosives, Pyrotechnics*. 2020. Vol. 45. P. 1–11. <https://doi.org/10.1002/prep.201900319>.

38. Михайлов Ю.М., Романько Н.А., Гатина Р.Ф., Климович О.В., Альмашев Р.О. Спектральное исследование целлюлозы и нитратов целлюлозы // *Боеприпасы и высокоэнергетические конденсированные системы*. 2010. N 1. С. 52–62.

39. Tarchoun A.F., Trache D., Klapötke T.M., Krumm B., Mezroua A., Derradji M., et al. Design and characterization of new advanced energetic biopolymers based on surface functionalized cellulosic materials // *Cellulose*. 2021. Vol. 28, no. 10. P. 6107–6123. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-03965-w>.

40. Tarchoun A.F., Trache D., Klapötke T.M., Chelouche S., Derradji M., Bessa W., et al. A promising energetic polymer from *Posidonia oceanica* Brown algae: synthesis, characterization, and kinetic modeling // *Macromolecular Chemistry and Physics*. 2019. Vol. 220, no. 22. P. 1900358. <https://doi.org/10.1002/macp.201900358>.

REFERENCES

1. Tarchoun A.F., Trache D., Klapötke T.M., Abdelaziz A., Bekhouche S., Boukeciat H., et al. Making progress towards promising energetic cellulosic microcrystals developed from alternative lignocellulosic biomass. *Journal of Energetic Materials*. 2022;1-26. <https://doi.org/10.1080/07370652.2022.2032484>.
2. Sabatini J.J., Johnson E.C. A short review of nitric esters and their role in energetic materials. *ACS Omega*. 2021;6(18):11813-11821. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c01115>.
3. Tarchoun A.F., Trache D., Klapötke T.M., Abdelaziz A., Derradji M., Bekhouche S. Chemical design and characterization of cellulosic derivatives containing high-nitrogen functional groups: towards the next generation of energetic biopolymers. *Defence Technology*. 2022;18(4):537-546. <https://doi.org/10.1016/j.dt.2021.03.009>.
4. Tang R., Xie M.Y., Li M., Cao L., Feng S., Li Z., Xu F. Nitrocellulose membrane for paper-based biosensor. *Applied Materials Today*. 2022;26:101305. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2021.101305>.
5. Tang R., Alam N., Li M., Xie M., Ni Y. Dissolvable sugar barriers to enhance the sensitivity of nitrocellulose membrane lateral flow assay for COVID-19 nucleic acid. *Carbohydrate Polymers*. 2021;268:118259. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118259>.
6. Xu C., Zhao Z., Qiao Z., Li X., Yang H., Tang D.Y., et al. Reactivity of nanothermite-based micro energetic sticks prepared by direct ink writing. *Chemical Engineering Journal*. 2022;438:135608. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135608>.
7. Bekhouche S., Trache D., Abdelaziz A., Tarchoun A.F., Chelouche S., Boudjellal A., et al. Preparation and characterization of MgAl-CuO ternary nanothermite system by arrested reactive milling and its effect on the thermocatalytic decomposition of cellulose nitrate. *Chemical Engineering Journal*. 2023;53:139845. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.139845>.
8. Luo Q., Zhu J., Li Z., Duan X., Pei C., Mao C. The solution characteristics of nitrated bacterial cellulose in acetone. *New Journal of Chemistry*. 2018;42(22):18252-18258. <https://doi.org/10.1039/C8NJ02018C>.
9. Korchagina A.A., Budaeva V.V., Aleshina L.A., Lyukhanova I.V., Bychin N.V., Sakovich G.V. Modification of plant cellulose and its synthetic analogue into low-substituted esterification products. *Izvestiya vuzov uchebnykh zavedenii. Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya = ChemChemTech*. 2022;65(6):64-74. (In Russian). <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20226506.6598>.
10. Urbina L., Corcuera M.A., Gabilondo N., Eceiza A., Retegi A. A review of bacterial cellulose: sustainable production from agricultural waste and applications in various fields. *Cellulose*. 2021;28(13):8229-8253. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04020-4>.
11. Pandit A., Kumar R. A review on production, characterization and application of bacterial cellulose and its biocomposites. *Journal of Polymers and the Environment*. 2021;29(9):2738-2755. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02079-5>.
12. Jamal S.H., Roslan N.J., Shah N.A.A., Noor S.A.M., Ong K.K., Yunus W.M.Z.W. Preparation and characterization of nitrocellulose from bacterial cellulose for propellant uses. *Materials Today: Proceedings*. 2020;29:185-189. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.540>.
13. Wang Y., Jiang L., Dong J., Li B., Shen J., Chen L., et al. Three-dimensional network structure nitramine gun propellant with nitrated bacterial cellulose. *Journal of Materials Research and Technology*. 2020;9(6):15094-15101. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.10.097>.
14. Jamal S.H., Roslan N.J., Ahmad Shah N.A., Mohd Noor S.A., Khim O.K., Yunus W.M.Z.W. Conversion of bacterial cellulose to cellulose nitrate with high nitrogen content as propellant ingredient. *Solid State Phenomena*. 2021;317:305-311. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/ssp.317.305>.
15. Chen L., Cao X., Gao J., He W., Liu J., Wang Y., et al. Nitrated bacterial cellulose-based energetic nanocomposites as propellants and explosives for military applications. *ACS Applied Nano Materials*. 2021;4(2):1906-1915. <https://doi.org/10.1021/acsanm.0c03263>.
16. Chen L., Nan F., Li Q., Zhang J., Jin G., Wang M., et al. Sol-gel synthesis of insensitive nitrated bacterial cellulose/cyclotrimethylenetrinitramine nano-energetic composites and its thermal decomposition property. *Cellulose*. 2022;29(13):7331-7351. <https://doi.org/10.1007/s10570-022-04730-3>.
17. Tarchoun A.F., Trache D., Abdelaziz A., Harat A., Boukecha W.O., Hamouche M.A., et al. Elaboration, characterization and thermal decomposition kinetics of new nanoenergetic composite based on hydrazine 3-nitro-1, 2, 4-triazol-5-one and nanostructured cellulose nitrate. *Molecules*. 2022;27(20):6945. <https://doi.org/10.3390/molecules27206945>.
18. Tarchoun A.F., Sayah Z.B.D., Trache D., Klapötke T.M., Belmerabt M., Abdelaziz A., et al. Towards investigating the characteristics and thermal kinetic behavior of emergent nanostructured nitrocellulose prepared using various sulfonitric media. *Journal of Nanostructure in Chemistry*. 2022;12:963-977. <https://doi.org/10.1007/s40097-021-00466-x>.
19. Yamamoto H., Horii F., Hirai A. Structural studies of bacterial cellulose through the solid-phase nitration and acetylation by CP/MAS ¹³C NMR spectroscopy. *Cellulose*. 2006;13(3):327-342. <https://doi.org/10.1007/s10570-005-9034-z>.
20. Sun D.-P., Ma B., Zhu C.-L., Liu C.-S., Yang J.-Z. Novel nitrocellulose made from bacterial cellulose. *Journal of Energetic Materials*. 2010;28(2):85-97. <https://doi.org/10.1080/07370650903222551>.
21. Roslan N.J., Jamal S.H., Ong K.K., Yunus W.M.Z.W. Preliminary study on the effect of sulphuric acid to nitric acid mixture composition, temperature and time on nitrocellulose synthesis based *Nata de Coco*. *Solid State Phenomena*. 2021;317:312-319. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/SSP.317.312>.
22. Gismatulina Y.A., Gladysheva E.K., Budaeva V.V., Sakovich G.V. Synthesis of bacterial cellulose nitrates. *Russian Chemical Bulletin*. 2019;68(11):2130-2133. <https://doi.org/10.1007/s11172-019-2678-x>.
23. Budaeva V.V., Gismatulina Y.A., Mironova G.F., Skiba E.A., Gladysheva E.K., Kashcheyeva E.I., et al. Bacterial nanocellulose nitrates. *Nanomaterials*. 2019;9:1694. <https://doi.org/10.3390/nano9121694>.
24. Huang X., Luo Q., Zhu J., Li Z., Zhao J., Pei C. De-

velopment rheological and thermal properties of a novel propellant RDX/TEGDN/NBC. *SN Applied Sciences*. 2020;2(12):1-12. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03792-x>.

25. Huang X., Luo Q., Zhu J., Li Z., Li C., Pei C. The preparation and rheological properties of novel energetic composites TEGDN/NBC. *Propellants, Explosives, Pyrotechnics*. 2020;45(1):101-110. <https://doi.org/10.1002/prep.201800350>.

26. Mattar H., Baz Z., Saleh A., Shalaby A.S., Azza A.E., Salah H., et al. Nitrocellulose: structure, synthesis, characterization, and applications. *Water, Energy, Food Environment*. 2020;3:1-15. <http://dx.doi.org/10.18576/wefej/010301>.

27. Liu P., Fu L., Song Z., Man M., Yuan H., Zheng X., et al. Three dimensionally printed nitrocellulose-based microfluidic platform for investigating the effect of oxygen gradient on cells. *Analyst*. 2021;146(17):5255-5263. <https://doi.org/10.1039/D1AN00927C>.

28. Gladysheva E.K., Skiba E.A., Zolotukhin V.N., Sakovich G.V. Study of the conditions for the biosynthesis of bacterial cellulose by the producer *Medusomyces gisevii* Sa-12. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2018;54(2):179-187. <https://doi.org/10.1134/S0003683818020035>.

29. Bogolitsyn K., Parshina A., Aleshina L. Structural features of brown algae cellulose. *Cellulose*. 2020;27:9787-9800. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03485-z>.

30. Korchagina A.A., Gismatulina Yu.A., Budaeva V.V., Zolotukhin V.N., Bychin N.V., Sakovich G.V. *Miscanthus × Giganteus* var. KAMIS as a new feedstock for cellulose nitrates. *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. 2020;13(4):565-577. <https://doi.org/10.17516/1998-2836-0206>.

31. Gismatulina Yu.A., Budaeva V.V., Sakovich G.V. Nitrocellulose synthesis from *Miscanthus* cellulose. *Propellants, Explosives, Pyrotechnics*. 2018;43:96-100. <https://doi.org/10.1002/prep.201700210>.

32. *Flax in the powder industry*. S.I. Grigorova (ed.). Moscow: TsNIIKhM; 2015. 348 p. (In Russian).

33. Liu J. *Nitrate esters chemistry and technology*. Springer Singapore; 2019. 684 p. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-6647-5>.

34. Solovov R., Kazberova A., Ershov B. Special aspects of nitrocellulose molar mass determination by dynamic light scattering. *Polymers*. 2023;15(2):263. <https://doi.org/10.3390/polym15020263>.

35. Venkateshaiah A., Padil V.V., Nagalakshmaiah M., Wacław S., Cerník M., Varma R.S. Microscopic techniques for the analysis of micro and nanostructures of biopolymers and their derivatives. *Polymers*. 2020;12(3):512-544. <https://doi.org/10.3390/polym12030512>.

36. Gao Z., Jiang L., Xu Q., Wub W.Q., Mensah R.A. Thermal kinetics and reactive mechanism of cellulose nitrate decomposition by traditional multi kinetics and modeling calculation under isothermal and non-isothermal conditions. *Industrial Crops and Products*. 2020;145:112085. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112085>.

37. Meng X., Pu C., Cu P., Xiao Z. Preparation, thermal and sensitivity properties of nano-sized spherical nitrocellulose composite crystal. *Propellants, Explosives, Pyrotechnics*. 2020;45:1-11. <https://doi.org/10.1002/prep.201900319>.

38. Mikhailov Yu.M., Roman'ko N.A., Gatina R.F., Klimovich O.V., Al'mashev R.O. Spectral study of cellulose and cellulose nitrates. *Boepripsy i vysokoenergeticheskie kondensirovannye sistemy*. 2010;(1):52-62. (In Russian).

39. Tarchoun A.F., Trache D., Klapotke T.M., Krumm B., Mezroua A., Derradji M., et al. Design and characterization of new advanced energetic biopolymers based on surface functionalized cellulosic materials. *Cellulose*. 2021;28(10):6107-6123. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-03965-w>.

40. Tarchoun A.F., Trache D., Klapötke T.M., Chelouche S., Derradji M., Bessa W., et al. A promising energetic polymer from *Posidonia oceanica* Brown algae: synthesis, characterization, and kinetic modeling. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 2019;220(22):1900358. <https://doi.org/10.1002/macp.201900358>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Гисматулина Юлия Александровна,
к.т.н., старший научный сотрудник,
Институт проблем химико-энергетических технологий
СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1,
Российская Федерация,
julja.gismatulina@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5480-7449>

Корчагина Анна Александровна,
к.т.н., научный сотрудник,
Институт проблем химико-энергетических технологий
СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1,
Российская Федерация,
yakusheva89_21.ru@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3633-2392>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Yuliya A. Gismatulina,
Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher,
Institute for Problems of Chemical and Energetic
Technologies SB RAS,
1, Sotsialisticheskaya St., 659322, Biysk,
Russian Federation,
julja.gismatulina@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5480-7449>

Anna A. Korchagina,
Cand. Sci. (Engineering), Researcher,
Institute for Problems of Chemical and Energetic
Technologies of the Siberian Branch SB RAS,
1, Sotsialisticheskaya St., 659322, Biysk,
Russian Federation,
yakusheva89_21.ru@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3633-2392>

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

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 22.12.2022.
Одобрена после рецензирования 08.02.2023.
Принята к публикации 28.02.2023.

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

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 22.12.2022.
Approved after reviewing 08.02.2023.
Accepted for publication 28.02.2023.



Влияние поверхностно-активных веществ (додецилсульфата натрия, цетилтриметиламмония бромид) на проницаемость клеточных мембран корнеплодов красной столовой свеклы *Beta vulgaris* L.

М.В. Крапивная*✉, В.А. Домрачева*, Д.И. Стом****

*Иркутский национальный исследовательский технический университет,
г. Иркутск, Российская Федерация

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

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

Аннотация. Изучено воздействие двух ПАВ на красную столовую свеклу *Beta vulgaris* L.: анионоактивного – додецилсульфата натрия (ДСН), катионоактивного – цетилтриметиламмония бромид (ЦТАБ). Степень повреждения тканей корнеплодов *Beta vulgaris* L. оценивалась по усилению выхода электролитов из клеток кондуктометрическим методом, вакуолярных пигментов бетацианинов – спектрофотометрическим методом. Показано, что ДСН не нарушал проницаемость клеточных мембран в концентрациях до 0,05 г/л, ЦТАБ – до 0,005 г/л. Повышение содержания указанных ПАВ приводило к последовательному увеличению выхода электролитов и бетацианинов из тканей свеклы, что свидетельствовало о негативном действии ПАВ. При этом прослеживалась хорошая концентрационная зависимость: чем больше было содержание изучаемых детергентов, тем выше значения удельной электропроводности и оптической плотности инкубационных растворов. При обработке тестируемого растения исследуемыми соединениями в концентрации 1 г/л наблюдали значительный токсический эффект. Так, через 2 ч от начала измерений электропроводность водного раствора, в котором инкубировали высадки корнеплодов свеклы, предварительно подвергнутые 30-минутной обработке растворами 1 г/л ДСН и ЦТАБ, увеличивалась до 42 и 81 мкСм/см соответственно, что на 89 и 272% больше значений контроля. В то же время выход бетацианинов превышал значения контроля на 327 и 805% соответственно. В ходе экспериментов установлено, что ДСН и ЦТАБ увеличивают проницаемость мембран растительных клеток: как плазмолеммы, так и тонопласта. Испытанные методы зарекомендовали себя как быстрые (время получения ответа – 3 ч) и эффективные, они могут быть рекомендованы для экспрессной оценки интенсивности влияния ПАВ на растительные организмы, изучения мембранотропного действия веществ, для контроля при селекции сельскохозяйственных культур растений на устойчивость к неблагоприятным условиям.

Ключевые слова: *Beta vulgaris* L., кондуктометрический метод, спектрофотометрический метод, выход электролитов, проницаемость клеточных мембран, поверхностно-активные вещества

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 19-29-05213.

Для цитирования: Крапивная М.В., Домрачева В.А., Стом Д.И. Влияние поверхностно-активных веществ (додецилсульфата натрия, цетилтриметиламмония бромид) на проницаемость клеточных мембран корнеплодов красной столовой свеклы *Beta vulgaris* L. // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 50–56. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-50-56>.

PHYSICO-CHEMICAL BIOLOGY

Original article

Effect of surfactants (sodium dodecyl sulfate, cetyltrimethylammonium bromide) on cell membrane permeability of red beet roots *Beta vulgaris* L.

Mariya V. Krapivnaya*✉, Valentina A. Domracheva*, Devard I. Stom****

*Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

**Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

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

Abstract. The paper considers the effect of two surfactants – anionic sodium dodecyl sulfate (SDS) and cationic cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) – on red beet root *Beta vulgaris* L. Damage to root tissues of *Beta vulgaris* L. was assessed in terms of an increased release of electrolytes and vacuolar pigments of betacyanins from cells using

© Крапивная М.В., Домрачева В.А., Стом Д.И., 2023

conductometric and spectrophotometric methods, respectively. It was shown that SDS and CTAB do not impair the cell membrane permeability at concentrations of up to 0.05 and 0.005 g/l, respectively. An increase in the concentration of these surfactants led to a subsequent rise in the electrolyte and betacyanin release from the beet tissues, indicating the negative effect of the surfactants. A good concentration dependence was observed, i.e., higher concentrations of the studied detergents correlated with higher values of the electric conductivity and optical density of the incubation solutions. A significant toxic effect was noted when the test plant was treated with the studied compounds at a concentration of 1 g/l. Thus, two hours after the onset of measurements, the electrical conductivity of the aqueous solution, in which the beet roots previously subjected to 30-min treatment with 1 g/l SDS and CTAB solutions were incubated, increased to 42 and 81 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectively. These values exceeded the reference values by 89 and 272%, respectively. At the same time, the betacyanin yield exceeded the reference values by 327 and 805%, respectively. The experiments showed that SDS and CTAB increase the permeability of plant cell membranes of both plasmalemma and tonoplast. The tested methods proved to be fast (three hours response time) and efficient. These methods can be used to rapidly assess the effect of surfactants on plant bodies, to study the membranotropic effect of substances, and to control the breeding crop plants in terms of their resistance to unfavourable conditions.

Keywords: *Beta vulgaris* L., conductometric method, spectrophotometric method, electrolyte release, cell membrane permeability, surfactants

Funding. The reported study was funded by the RFBR grant 19-29-05213.

For citation: Krapivnaya M.V., Domracheva V.A., Stom D.I. Effect of surfactants (sodium dodecyl sulfate, cetyltrimethylammonium bromide) on cell membrane permeability of red beet roots *Beta vulgaris* L. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):50-56. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-50-56>.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время поверхностно-активные вещества (ПАВ) находят свое применение в самых разнообразных сферах деятельности человека. ПАВ широко используются как в повседневной жизни человека (в бытовых чистящих и косметических средствах благодаря высокой способности пенообразования), так и во многих промышленных процессах [1]. Это неизбежно сопровождается попаданием ПАВ в окружающую среду, что, в свою очередь, не может не сказываться на состоянии растительных организмов.

Клеточная мембрана растительной клетки растворима в растворах ПАВ [2]. Молекулы ПАВ имеют амфифильную структуру, в которой гидрофильные «головки» молекулы контактируют с поверхностью, а гидрофобные «хвосты» оказываются в контакте с раствором¹ [3]. ПАВ солибилизируют мембранные белки, имитируя бислой липидов. Белки, встроенные в липидные бислой мембраны, включаются в эти мицеллы посредством гидрофобных взаимодействий. Теперь они окружены слоем молекул ПАВ, а гидрофильные части подвергаются воздействию водной среды [2]. Эти свойства позволяют ПАВ снижать поверхностное натяжение между двумя несмешивающимися фазами и нарушать целостность клеточных липидных мембран [1, 2, 4].

Одними из самых распространенных ПАВ являются додецилсульфат натрия и цетилтриметиламмония бромид.

Додецилсульфат натрия (ДСН, SLS, $\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$), также известный как лаурилсульфат натрия, является наиболее изученным анионным сульфатным ПАВ, широко используемым в качестве эмульгирующего чистящего средства [5]. Поэтому ДСН очень часто встречается в сточных водах [6].

По данным литературных источников, ДСН в определенных концентрациях токсичен для растений. Он вызывает замедление роста корней, снижает содержание

хлорофилла а и хлорофилла b в листьях, тем самым влияя на эффективность фотосинтеза [7]. Согласно данным из исследования Саксонова М.Н. и соавторов, ДСН в концентрации 85,1 мг/л оказывал тормозящее действие на рост числа новых листьев водного растения ряска малой (*Lemna minor* L.) на 50% [8]. Помимо этого, ДСН вызывает снижение активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы, аскорбатпероксидазы и глутатионредуктазы), а также приводит к появлению симптомов окислительного стресса [7].

Другой известный детергент – цетилтриметиламмония бромид (ЦТАБ, СТАВ, $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{NBr}$) – относится к представителям катионных ПАВ. Он состоит из гидрофобной цепи из 16 атомов углерода и четвертичного аммония. ЦТАБ применяют в косметике в качестве биоцидов, антистатиков, поверхностно-активных моющих средств, эмульгаторов и суспендирующих агентов [9, 10]. Помимо применения в косметических и моющих средствах, ЦТАБ также используется в биотехнологии [11, 12]. Среди обычно используемых катионных ПАВ ЦТАБ имеет самую длинную алкильную цепь и самую низкую критическую концентрацию мицеллообразования. Это объясняет, почему ЦТАБ способствует активному разрушению клеточных мембран [10]. ЦТАБ очень токсичен для водных организмов. Он может оказывать долговременное неблагоприятное воздействие на водные организмы [9, 13].

Синтетические ПАВ, к которым относятся ДСН и ЦТАБ, получают из труднобиodeградируемых компонентов. Это может пагубно сказываться на состоянии окружающей среды. Кроме того, ПАВ способствуют увеличению содержания фосфора, что может вызывать цветение воды [14].

Внешнему воздействию поллютантов, в том числе ПАВ, в первую очередь подвергаются наружные мембраны клеток. Следовательно, одним из самых первых признаков повреждения растительных тканей может служить нарушение барьерных свойств их по-

¹Холмберг К., Йёнссон Б., Кронберг Б., Линдман Б. Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах. М.: Лаборатория знаний, 2020. 531 с.

верхностных структур [15]. Изменение проницаемости клеточных мембран приводит к выходу клеточных электролитов в окружающую среду. Поэтому значительное увеличение электропроводности раствора, содержащего ткань с поврежденными клетками, свидетельствует о нарушении избирательной проницаемости мембран [16, 17]. Простой способ количественно охарактеризовать этот процесс состоит в измерении электропроводности раствора, содержащего ткань с поврежденными клетками [18].

Кроме выхода электролитов, при повреждении вакуолярной мембраны – тонопласта – корнеплодов свеклы *Beta vulgaris* L. наблюдается и выход в инкубационную среду красно-фиолетовых водорастворимых пигментов – бетацианинов. Красящая способность последних позволяет применить спектрофотометрический метод для оценки повреждения вакуолярных мембран клеток.

Основным пигментом корнеплодов свеклы *Beta vulgaris* L., относящимся к группе бетацианинов, является бетанидин-5-О-β-гликозид (бетанин) [19]. Содержание бетацианинов значительно различается между сортами [20]. Для эксперимента был выбран сорт Бордо, данный сорт является одним из наиболее распространенных сортов в сельском хозяйстве нашей страны и поэтому находится в легкой доступности². Сообщается, что уровень накопления бетацианинов корнеплодов свеклы сорта Бордо составляет 68 мг/100 г [21], по другим данным – 35 мг/100 г [22].

Целью настоящей работы явилось изучение воздействия ПАВ (ДСН, ЦТАБ) и определение их действующих и недействующих концентраций на клеточные мембраны растительных клеток на примере корнеплодов свеклы *Beta vulgaris* L.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования служили корнеплоды красной столовой свеклы *Beta vulgaris* L. сорта Бордо. К моменту исследования корнеплоды находились в овощехранилище в течение 4 месяцев при температуре 2–4 °С. Ткани корнеплодов подвергали воздействию ПАВ: ДСН (х.ч., ООО «АО РЕАХИМ», Россия) и ЦТАБ (х.ч., AppliChem GmbH, Германия). Установлено, что гранулированная форма лучше растворима в воде и менее токсична, чем порошкообразная, поэтому в наших экспериментах использовали гранулированную форму ДСН [1].

Одним из наиболее быстрых и эффективных способов оценки степени повреждения клеточных мембран является кондуктометрический метод. С применением этого метода оценивали степень повреждения клеточных мембран по относительному выходу электролитов из тканей свеклы, обработанной ПАВ, по сравнению с контролем (необработанные ПАВ высежки корнеплодов свеклы)³ [15]. Для этого в наших опытах на 100 мл раствора приходилась выборка по 5 кубиков свеклы размером 1 см³ (7,3±0,2 г). Высежки делали при помощи металлической кубикорезки из предварительно нарезанных дисков свеклы толщиной 1 см. Для экспери-

мента кубики брали ближе к поверхности корнеплодов, где концентрация бетацианина была наибольшей.

Предварительно кубики из корнеплодов столовой свеклы вымачивали под проточной водой в течение 30 мин. После чего их по 5 штук выдерживали в 100 мл испытуемых растворов (ДСН 1; 0,5 и 0,05 г/л; ЦТАБ 1; 0,05 и 0,005 г/л) в течение 30 мин. В контрольном варианте экспонирование проводили в дистиллированной воде. Затем материал, подвергнутый воздействию ПАВ, промывали дистиллированной водой и переносили в емкости с равным объемом дистиллированной воды, электропроводность и оптическую плотность которой предварительно измеряли. Сразу после погружения материала определяли электропроводность с использованием кондуктометра Эксперт-002 (ООО «Эконикс-Эксперт», Россия) с датчиком погружного типа УЭП-П-С для лабораторных измерений.

Параллельно с замерами электропроводности проводили определение оптической плотности на спектрофотометре ЭКРОС ПЭ-5400УФ (ООО «Экротхим», Россия) при максимуме поглощения бетацианинов в видимом диапазоне – 537 нм [20]. Измерения осуществляли через каждые 30 мин, вплоть до 2-х ч от начала измерений.

Все эксперименты проводили в 3-х независимых опытах, по 2 повторности в каждом. Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета программ Microsoft Office. Выводы сделаны при вероятности безошибочного прогноза $P \geq 0,95$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученная в экспериментах кинетика выхода электролитов и бетацианина из тканей столовой свеклы под воздействием растворов ДСН (0,05; 0,5 и 1 г/л) в интервале времени от 0 до 120 мин представлена на рис. 1 и 2.

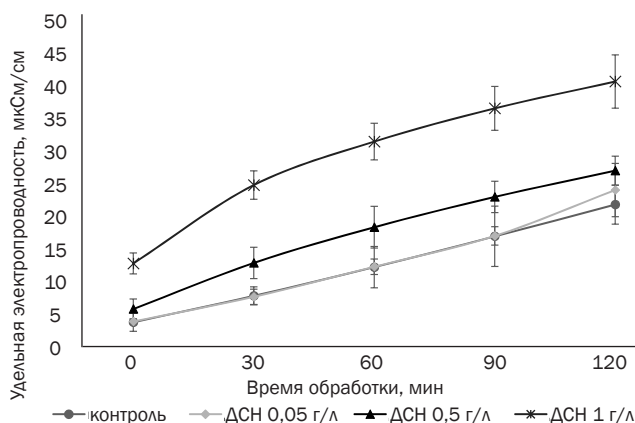


Рис. 1. Динамика выхода электролитов из ткани корнеплодов *Beta vulgaris* L. после воздействия растворов додецилсульфата натрия в концентрациях 0,05; 0,5 и 1 г/л

Fig. 1. Dynamics of the release of electrolytes from the *Beta vulgaris* L. roots after exposure to SDS solutions at concentrations of 0.05; 0.5 and 1 g/l

²Елизаров О.А. Дифференцирующая роль условий выращивания и отбора на проявление сортовых признаков у свеклы столовой: на примере сорта Бордо 237: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. М., 2002. 23 с.

³Тыняная И.И. Разделение, концентрирование и анализ антоцианов и бетацианинов в экстрактах растительного сырья с применением оптических и хроматографических методов: автореф. дис. ... канд. хим. наук. Воронеж, 2015. 15 с.

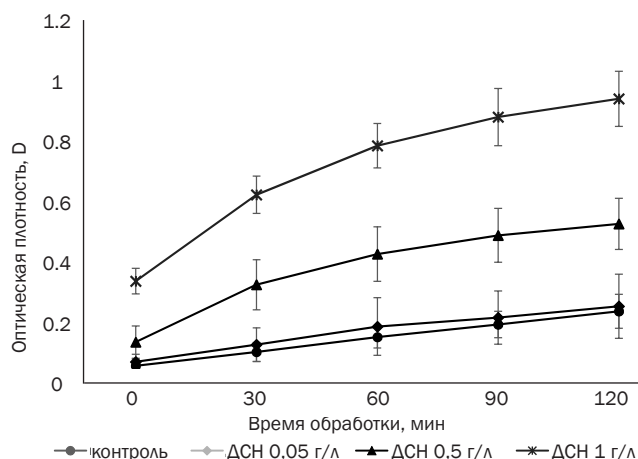


Рис. 2. Динамика выхода бетацианинов из ткани корнеплодов *Beta vulgaris* L. после воздействия растворов додецилсульфата натрия в концентрациях 0,05; 0,5 и 1 г/л

Fig. 2. Dynamics of the release of betacanins from the *Beta vulgaris* L. roots after exposure to SDS solutions at concentrations of 0.05; 0.5 and 1 g/l

На рис. 1, 2 явно прослеживалась концентрационная зависимость эффекта: чем больше концентрация ДСН, тем выше значения удельной электропроводности и оптической плотности изучаемых образцов. Таким образом, наибольшие показатели удельной электропроводности и оптической плотности наблюдали в образцах с концентрацией ДСН 1 г/л. В этом случае через 2 ч эксперимента они достигали значений 41,7 мкСм/см и 0,94 D соответственно, что в сравнении с контролем (22,1 мкСм/см и 0,22 D) выше на 89 и 327% соответственно. Удельная электропроводность и оптическая плотность раствора ДСН в концентрации 0,05 г/л приближены к контролю. Это позволяет сделать вывод, что при таком содержании ДСН не оказывал видимого влияния на проницаемость мембран тканей

корнеплодов столовой свеклы. Таким образом, судя по эффектам на клеточные мембраны, недействующими концентрациями ДСН явились концентрации <0,05 г/л, действующими – >1 г/л.

Эксперименты по изучению воздействия ЦТАБ проводили по аналогии с опытами в присутствии ДСН. На рис. 3 и 4 представлены кривые выхода электролитов и бетацианина из тканей корнеплодов столовой свеклы под воздействием ЦТАБ в концентрациях 0,005; 0,05 и 1 г/л.

Наблюдаемые нами закономерности выхода электролитов и бетацианина в наружный раствор под воздействием ДСН прослеживаются и в экспериментах с ЦТАБ. Но при этом было обнаружено, что ЦТАБ в большей мере влияет на проницаемость клеточных мембран, чем ДСН в равных концентрациях. Так, показатели удельной электропроводности и оптической плотности в образцах ЦТАБ в концентрации 1 г/л достигали через 120 мин эксперимента в среднем значений 81 мкСм/см и 1,72 D соответственно, что в сравнении с контролем (21,8 мкСм/см и 0,19 D) выше на 272 и 805% соответственно. Это почти вдвое больше значений удельной электропроводности и оптической плотности раствора с ДСН в аналогичной концентрации. Так, если в случае с ДСН концентрация 0,05 г/л оказалась недействующей, то ЦТАБ в этой же концентрации нарушал барьерные свойства поверхностных структур тканей корнеплодов. Об этом свидетельствовало увеличение выхода электролитов и бетацианина по сравнению с контролем. В концентрации 0,005 г/л ЦТАБ значения удельной электропроводности и оптической плотности оставались на уровне контроля. Следовательно, ЦТАБ в концентрации 0,005 г/л не влиял на проницаемость мембран.

Таким образом, для ЦТАБ недействующими на мембраны клеток и вакуолей свеклы концентрациями были <0,005 г/л, а действующими – свыше 1 г/л.

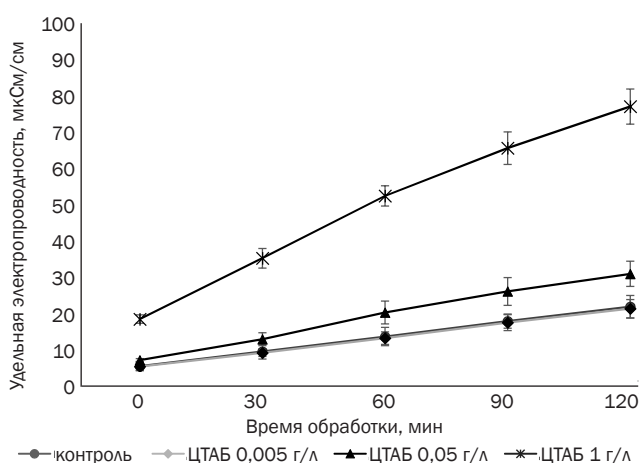


Рис. 3. Динамика выхода электролитов из ткани корнеплодов *Beta vulgaris* L. после воздействия растворов цетилтриметиламмония бромид в концентрациях 0,005; 0,05 и 1 г/л

Fig. 3. Dynamics of the release of electrolytes from the *Beta vulgaris* L. roots after exposure to CTAB solutions at concentrations of 0.005; 0.05 and 1 g/l

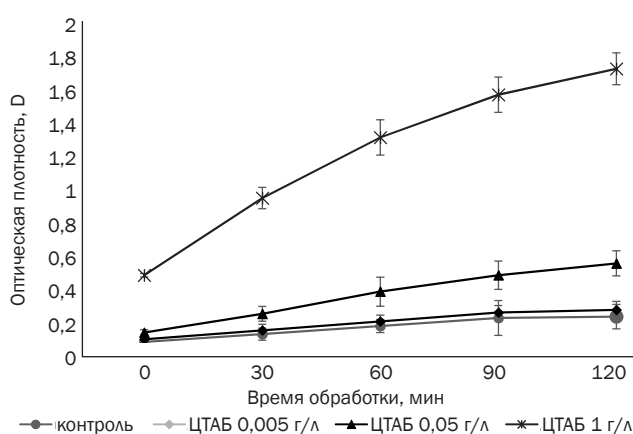


Рис. 4. Динамика выхода бетацианинов из ткани корнеплодов *Beta vulgaris* L. после воздействия растворов цетилтриметиламмония бромид в концентрациях 0,005; 0,05 и 1 г/л

Fig. 4. Dynamics of the release of betacanins from the *Beta vulgaris* L. roots after exposure to CTAB solutions at concentrations of 0.005; 0.05 and 1 g/l

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Индикаторами изменения проницаемости корнеплодов свеклы могут служить выходы электролитов и красящих пигментов бетацианинов из клеток, определяемые кондуктометрическим и спектрофотометрическим методами соответственно.

Приведенные выше результаты экспериментов показывают, что при воздействии таких ПАВ, как анионоактивный ДСН и катионоактивный ЦТАБ, на ткань корнеплодов столовой свеклы *Beta vulgaris* L. сорта Бордо существенно увеличивался выход электролитов и бетацианина, что говорит об увеличении проницаемости клеточных мембран. Через 2 ч эксперимента выход электролитов из клеток корнеплодов после воздействия растворами 1 г/л ДСН и ЦТАБ составлял 42 и 81 мкСм/см соответственно, что на 89 и 272% выше значений контроля. В то же время выход бетацианинов составил 0,94 и 1,72 Д соответственно, что на 327 и 805% выше значений контроля. При этом прослеживалась хорошая концентрационная зависимость: чем больше было содержание изучаемых детергентов, тем выше значения удельной электропроводности и оптической плотности инкубационных растворов.

В отношении степени воздействия на клеточные

мембраны для ДСН были найдены следующие концентрации: сильнодействующая – 1 г/л; ингибирующая – 0,5 г/л; недействующая – 0,05 г/л. Для ЦТАБ сильнодействующая концентрация составила 1 г/л; ингибирующая – 0,05 г/л; недействующая – 0,005 г/л. Следовательно, ЦТАБ обладает более сильным повреждающим действием на мембраны клеток столовой свеклы, чем ДСН.

Таким образом, результаты, полученные кондуктометрическим и спектрофотометрическим методами, показали увеличение выхода электролитов и бетацианина в раствор из тканей корнеплода при повышении концентрации ДСН и ЦТАБ в ответ на воздействие испытанных ПАВ. Это, в свою очередь, свидетельствует о значительных нарушениях поверхностных структур клеток тканей и о нарушении барьерных свойств мембран.

Испытанные методы зарекомендовали себя как быстрые и эффективные, они могут быть рекомендованы для экспрессной оценки интенсивности влияния ПАВ на растительные организмы, для изучения мембранотропного действия веществ, для контроля при селекции сельскохозяйственных культур растений на устойчивость к неблагоприятным условиям.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Niraula T.P., Bhattarai A., Chatterjee S.K. Sodium dodecyl sulphate: a very useful surfactant for scientific investigations // Journal of Innovation and Knowledge. 2014. Vol. 2, no. 1. P. 111–113.
2. Kagalwala A.Y., Kavitha K. Effects of surfactant (sodium lauryl sulphate) on *Hydrilla verticillata* // International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research. 2012. Vol. 1, no. 2. P. 128–138.
3. Yadav S.N., Rai S., Shah P., Roy N., Bhattarai A. Spectrophotometric and conductometric studies on the interaction of surfactant with polyelectrolyte in the presence of dye in aqueous medium // Journal of Molecular Liquids. 2022. Vol. 355. P. 118949. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118949>.
4. Li Y., Lee J.-S. Staring at protein–surfactant interactions: fundamental approaches and comparative evaluation of their combinations: a review // Analytica Chimica Acta. 2019. Vol. 1063. P. 18–39. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.024>.
5. Bondi C.A.M., Marks J.L., Wroblewski L.B., Raatikainen H.S., Lenox S.R., Gebhardt K.E. Human and environmental toxicity of sodium lauryl sulfate (SLS): evidence for safe use in household cleaning products // Environmental Health Insights. 2015. Vol. 9. P. 27–32. <https://doi.org/10.4137/EHI.S31765>.
6. Rauniyar B.S., Bhattarai A. Study of conductivity, contact angle and surface free energy of anionic (SDS, AOT) and cationic (CTAB) surfactants in water and isopropanol mixture // Journal of Molecular Liquids. 2021. Vol. 323, no. 4. P. 114604. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114604>.
7. Genisel M., Eren O. Evaluation of physiological and biochemical aberration linked to effect of sodium dodecyl sulphate on barley seedlings // SN Applied Sciences. 2020. Vol. 2. Article number: 514. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2289-z>.
8. Saksonov M.N., Stom D.I., Kupchinsky A.B. Combined action of sodium dodecyl sulphate, tween-85 and oil on duckweed (*Lemna minor*) // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021. Vol. 720. P. 012051. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/720/1/012051>.
9. Pang S., Willis L. Final report on the safety assessment of cetrimonium chloride, cetrimonium bromide, and stearyltrimonium chloride // International Journal of Toxicology. 1997. Vol. 16, no. 3. P. 195–220.
10. Lai Y.S., Zhou Y., Eustance E., Straka L., Wang Z., Rittmann B.E. Cell disruption by cationic surfactants affects bioproduct recovery from *Synechocystis* sp. PCC 6803 // Algal Research. 2018. Vol. 34, no. 12. P. 250–255. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.010>.
11. Юрков А.П., Крюков А.А., Горбунова А.О., Кожемяков А.П., Степанова Г.В., Мачс Э.М. [и др.]. Молекулярно-генетическая идентификация грибов арбускулярной микоризы // Экологическая генетика. 2018. Т. 16. N 2. С. 11–23. <https://doi.org/10.17816/ecogen16211-23>.
12. Allen G.C., Flores-Vergara M.A., Krasynanski S., Kumar S., Thompson W.F. A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide // Nature Protocols. 2006. Vol. 1, no. 5. P. 2320–2325. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.384>.
13. Tsagkaropoulou G., Allen F.J., Clarke S.M., Camp P.J. Self-assembly and adsorption of cetyltrimethylammonium bromide and didodecyltrimethylammonium bromide surfactants at the mica–water interface // Soft Matter. 2019. Vol. 15, no. 41. P. 8402–8411. <https://doi.org/10.1039/C9SM01464K>.
14. Aquirre-Ramirez M., Silva-Jimenez H., Banat I.M., Diaz De Rienzo M.A. Surfactants: physicochemical interactions with biological macromolecules // Biotechnology Letters. 2021. Vol. 43. P. 523–535. <https://doi.org/10.1007/s10241-021-00523-2>.

doi.org/10.1007/s10529-020-03054-1.

15. Грищенко Н.Н., Лукаткин А.С. Определение устойчивости растительных тканей к абиотическим стрессам с использованием кондуктометрического метода // Поволжский экологический журнал. 2005. N 1. С. 3–11.

16. Приходько Н.В. Изменение проницаемости клеточных мембран как общее звено механизмов неспецифической реакции растений на внешние воздействия // Физиология и биохимия культурных растений. 1977. Т. 9. N 3. С. 301–309.

17. Kolesnikova E.V., Ozolina N.V., Nurminsky V.N., Nesterkina I.S., Sitneva L.A., Lapteva T.I. Evaluation of the effect of oxidative stress on roots of red beet (*Beta vulgaris* L.) // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. 2014. Vol. 10, no. 4. P. 5–12.

18. Hatsugai N., Katagiri F. Quantification of plant cell death by electrolyte leakage assay // Bio-protocol. 2018. Vol. 8, no. 5. P. 1–7. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2758>.

19. Azeredo H.M.C. Betalains: properties, sources,

applications, and stability – a review // International Journal of Food Science and Technology. 2009. Vol. 44, no. 12. P. 2365–2376. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x>.

20. Sadowska-Bartosz I., Bartosz G. Biological properties and applications of betalains // Molecules. 2021. Vol. 26, no. 9. P. 2520. <https://doi.org/10.3390/molecules26092520>.

21. Саенко И.И., Тарасенко О.В., Дейнека В.И., Дейнека Л.А. Бетаинины корнеплодов красной столовой свеклы // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. 2012. Т. 18. N 3. С. 194–200.

22. Кожемяко А.В., Сергеева И.Ю., Долголюк И.В. Экспериментальное определение биологически активных соединений в выжимках свеклы и моркови, районированных в Сибирском регионе // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. N 1. С. 179–187. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-179-187>.

REFERENCES

1. Niraula T.P., Bhattarai A., Chatterjee S.K. Sodium dodecyl sulphate: a very useful surfactant for scientific investigations. *Journal of Innovation and Knowledge*. 2014;2(1):111-113.

2. Kagalwala A.Y., Kavitha K. Effects of surfactant (sodium lauryl sulphate) on *Hydrilla verticillata*. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*. 2012;1(2):128-138.

3. Yadav S.N., Rai S., Shah P., Roy N., Bhattarai A. Spectrophotometric and conductometric studies on the interaction of surfactant with polyelectrolyte in the presence of dye in aqueous medium. *Journal of Molecular Liquids*. 2022;355:118949. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118949>.

4. Li Y., Lee J.-S. Staring at protein-surfactant interactions: fundamental approaches and comparative evaluation of their combinations: a review. *Analytica Chimica Acta*. 2019;1063:18-39. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.024>.

5. Bondi C.A.M., Marks J.L., Wroblewski L.B., Raatikainen H.S., Lenox S.R., Gebhardt K.E. Human and environmental toxicity of sodium lauryl sulfate (SLS): evidence for safe use in household cleaning products. *Environmental Health Insights*. 2015;9:27-32. <https://doi.org/10.4137/EHI.S31765>.

6. Rauniyar B.S., Bhattarai A. Study of conductivity, contact angle and surface free energy of anionic (SDS, AOT) and cationic (CTAB) surfactants in water and isopropanol mixture. *Journal of Molecular Liquids*. 2021;323(4):114604. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114604>.

7. Genisel M., Eren O. Evaluation of physiological and biochemical aberration linked to effect of sodium dodecyl sulphate on barley seedlings. *SN Applied Sciences*. 2020;2. Article number: 514. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2289-z>.

8. Saksonov M.N., Stom D.I., Kupchinsky A.B. Combined action of sodium dodecyl sulphate, tween-85 and oil on duckweed (*Lemna minor*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;720:012051. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/720/1/012051>.

9. Pang S., Willis L. Final report on the safety assess-

ment of cetrimonium chloride, cetrimonium bromide, and stearammonium chloride. *International Journal of Toxicology*. 1997;16(3):195-220.

10. Lai Y.S., Zhou Y., Eustance E., Straka L., Wang Z., Rittmann B.E. Cell disruption by cationic surfactants affects bioproduct recovery from *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Algal Research*. 2018;34(12):250-255. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.010>.

11. Yurkov A.P., Kryukov A.A., Gorbunova A.O., Kojemyakov A.P., Stepanova G.V., Machs E.M., et al. Molecular genetic identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *Jekologicheskaja genetika = Ecological genetics*. 2018;16(2):11-23. (In Russian). <https://doi.org/10.17816/ecogen16211-23>.

12. Allen G.C., Flores-Vergara M.A., Krasynanski S., Kumar S., Thompson W.F. A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide. *Nature Protocols*. 2006;1(5):2320-2325. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.384>.

13. Tsagkaropoulou G., Allen F.J., Clarke S.M., Camp P.J. Self-assembly and adsorption of cetyltrimethylammonium bromide and didodecyltrimethylammonium bromide surfactants at the mica-water interface. *Soft Matter*. 2019;15(41):8402-8411. <https://doi.org/10.1039/C9SM01464K>.

14. Aquirre-Ramirez M., Silva-Jimenez H., Banat I.M., Diaz De Rienzo M.A. Surfactants: physicochemical interactions with biological macromolecules. *Biotechnology Letters*. 2021;43:523-535. <https://doi.org/10.1007/s10529-020-03054-1>.

15. Grishhenkova N.N., Lukatkin A.S. Determination of resistance of plant tissues to abiotic stresses using the conductometric method. *Povolzhskij jekologicheskij zhurnal = Povolzhskiy Journal of Ecology*. 2005;(1):3-11. (In Russian).

16. Prihod'ko N.V. Changes in cell membrane permeability as a common link in the mechanisms of nonspecific plant responses to external influences. *Fiziologija i biohimija kul'turnyh rastenij*. 1977;9(3):301-309. (In Russian).

17. Kolesnikova E.V., Ozolina N.V., Nurminsky V.N., Nesterkina I.S., Sitneva L.A., Lapteva T.I. Evaluation of

the effect of oxidative stress on roots of red beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 2014;10(4):5-12.

18. Hatsugai N., Katagiri F. Quantification of plant cell death by electrolyte leakage assay. *Bio-protocol*. 2018;8(5):1-7. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2758>.

19. Azeredo H.M.C. Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science and Technology*. 2009;44(12):2365-2376. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x>.

20. Sadowska-Bartosz I., Bartosz G. Biological properties and applications of betalains. *Molecules*. 2021;26(9):2520.

<https://doi.org/10.3390/molecules26092520>.

21. Saenko I.I., Tarasenko O.V., Deineka V.I., Deineka L.A. Betacyanins of red beetroot root. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Estestvennye nauki*. 2012;18(3):194-200. (In Russian).

22. Kozhemayko A.V., Sergeeva I.Yu., Dolgolyuk I.V. Experimental determination of biologically active compounds in pomace of Siberian beet and carrot. *Tehnika i tehnologija pishhevyh proizvodstv = Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(1):179-187. (In Russian). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-179-187>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Крапивная Мария Владимировна,
магистр,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
✉krapivnaya.m@list.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8674-8970>

Домрачева Валентина Андреевна,
д.т.н., профессор,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
domra@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-1727-621X>

Стом Дэвард Иосифович,
д.б.н., профессор,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация;
заведующий лабораторией водной токсикологии,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация;
главный научный сотрудник,
Байкальский музей СО РАН,
664520, п. Листвянка, ул. Академическая, 1,
Российская Федерация,
stomd@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9496-2961>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 04.05.2022.
Одобрена после рецензирования 10.12.2022.
Принята к публикации 28.02.2023.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Mariya V. Krapivnaya,
Master,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
✉krapivnaya.m@list.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8674-8970>

Valentina A. Domracheva,
Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
domra@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-1727-621X>

Devard I. Stom,
Dr. Sci. (Biology), Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation;
Head of the Laboratory of Water Toxicology,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation;
Chief Researcher,
Baikal Museum SB RAS,
1, Akademicheskaya St., Listvyanka, 664520,
Russian Federation,
stomd@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9496-2961>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 04.05.2022.
Approved after reviewing 10.12.2022.
Accepted for publication 28.02.2023.

Научная статья

УДК 577.663

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-57-66>



Усовершенствование методики определения липазы, основанной на методе получения жирных кислот, в ферментных препаратах для пищевой промышленности

Е.М. Серба, Е.Н. Соколова✉, М.Б. Оверченко, Л.В. Римарева, Н.И. Игнатова,
Ю.А. Борщева

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии – филиал
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», г. Москва, Российская Федерация

Аннотация. Производство ферментных препаратов занимает одно из ведущих мест в современной биотехнологии и относится к отраслям, объем продукции которых постоянно растет, а сфера применения неуклонно расширяется. Создание промышленного производства наиболее широко используемых ферментных препаратов помогает существенно интенсифицировать и усовершенствовать многие существующие технологии или даже сформировать принципиально новые. Все это свидетельствует о том, что производство ферментных препаратов является одним из перспективных направлений в биотехнологии, которое будет и далее интенсивно расширяться. В этой связи большой интерес для многих отраслей народного хозяйства, где необходим частичный или полный гидролиз жиров и масел, представляют липазы. Они находят применение в пищевой и легкой промышленности, сельском хозяйстве, медицине, а также в аналитической практике. Проведены сравнительные исследования 3-х методов, основанных на реакции гидролитического расщепления сложноэфирных связей в молекуле жира с высвобождением свободных жирных кислот. Установлены оптимальные параметры наибольшего образования жирных кислот. Выбран субстрат, на котором получена более стабильная эмульсия с более высокой точностью измерений. В результате установлены оптимальные условия проведения биокаталитической реакции гидролиза субстрата (оливкового масла) с использованием стандартного ферментного препарата «Липаза»: температура составляет 40 °С; pH – 4,7; продолжительность – 20 мин. С целью получения достоверных данных и подтверждения подобранных оптимальных параметров проведены сравнительные исследования по определению активности липазы в различных объектах микробного происхождения. При варьировании дозировкой ферментного препарата активность липаз находится в пределах 5% погрешности измерений, что принято в стандартных методиках определения активности ферментного препарата для пищевой промышленности и подтверждено экспериментальными данными.

Ключевые слова: растительные масла, методики, ферментные препараты, жирные кислоты, гидролиз

Для цитирования: Серба Е.М., Соколова Е.Н., Оверченко М.Б., Римарева Л.В., Игнатова Н.И., Борщева Ю.А. Усовершенствование методики определения липазы, основанной на методе получения жирных кислот, в ферментных препаратах для пищевой промышленности // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 57–66. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-57-66>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Improving an approach to lipase determination in enzyme preparations for the food industry based on a method of fatty acid production

Elena M. Serba, Elena N. Sokolova✉, Marina B. Overchenko, Lyubov' V. Rimareva,
Nadezhda I. Ignatova, Yuliya A. Borsheva

Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology – branch of Federal Research Center
of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russian Federation

Abstract. The production of enzyme preparations remains to be a promising and permanently growing direction of modern biotechnology. The industrial production of the most widely used enzyme preparations contributes not only to improving the existing technologies, but also to developing fundamentally new processes. In this connection, lipases as part of the processes of partial or complete hydrolysis of oils and fats present significant research interest. Lipases find application in food processing and consumer goods manufacturing, as well as in agriculture, medicine, and analytical practice. In this study, we compare three methods based on the reaction of hydrolytic cleavage of

© Серба Е.М., Соколова Е.Н., Оверченко М.Б., Римарева Л.В., Игнатова Н.И., Борщева Ю.А., 2023

ester bonds in a fat molecule followed by the release of free fatty acids. The optimum parameters providing for the highest production of fatty acids were determined. A substrate to obtain a more stable emulsion under a higher accuracy of measurements was experimentally selected. The established optimum conditions for a biocatalytic reaction of substrate hydrolysis (olive oil) using the conventional enzyme preparation "Lipase" included the temperature of 40 °C, the pH of 4.7, and the duration of 20 minutes. In order to confirm the validity of the data and parameters obtained, comparative studies were carried out to determine lipase activity in various objects of microbial origin. When varying the dosage of the enzyme preparation, the lipase activity was found to be within 5% of measurement accuracy. This error agrees well with the conventional methods of determining the activity of enzyme preparations for the food industry.

Keywords: vegetable oils, methods, enzyme preparations, fatty acids, hydrolysis

For citation: Serba E.M., Sokolova E.N., Overchenko M.B., Rimareva L.V., Ignatova N.I., Borsheva Yu.A. Improving an approach to lipase determination in enzyme preparations for the food industry based on a method of fatty acid production. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):57-66. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-57-66>.

ВВЕДЕНИЕ

Большинство пищевых технологий основано на биокаталитических методах конверсии сельскохозяйственного сырья. Ферментативный катализ позволяет радикально изменять функционально технологические свойства сырья на различных этапах его переработки, открывая тем самым широкие возможности для создания принципиально новой специализированной продукции [1]. Реализация отечественных ферментных препаратов (ФП) в отраслях пищевой и перерабатывающей промышленности обеспечивает ресурсосбережение и импортозамещение, позволяет снизить расход сырья, увеличить выход и повысить качество целевой продукции.

Базовая основа контроля качества ФП для пищевой промышленности состоит в проведении испытаний по их безопасности, включающих определение непатогенности штамма – продуцента ферментов – и токсичности полученных на его основе биопрепаратов, а также анализ содержания основных и минорных ферментов, по уровню активности которых тестируют ФП [2–4].

В настоящее время ассортимент ФП существенно изменился. На рынке представлены концентрированные ФП микробного происхождения с различной субстратной специфичностью и механизмом действия, обладающие повышенной стабильностью и расширенным диапазоном температурного и pH-оптимума. Наличие ФП с новыми физико-химическими характеристиками привело к необходимости создания современных усовершенствованных методик определения их активности [2]. На основе этих методов осуществляется контроль качества ФП, проводятся исследования по определению их субстратной специфичности и уровня ферментативной активности, разрабатываются условия применения и нормы расхода ФП для биокаталитической переработки сельскохозяйственного сырья.

В последние годы основное внимание уделялось ферментам амилолитического, гемицеллюлазного, протеолитического и пектиназного действия, наибо-

лее широко применяемым в пищевой промышленности (ПП) [3]. Для организации (проведения) контроля качества ФП разработаны национальные и межгосударственные стандарты, включающие унифицированные методы определения их активности¹. Однако отсутствуют стандартизированные методы определения активности ряда ферментов (например, липазы), также необходимых для пищевой промышленности.

Интерес исследователей к одному из важнейших гидролитических ферментов – липазе – существенно возрос [5–7]. Роль липазы как ключевого фермента, участвующего в липидном обмене в организме человека, достаточно велика. Липаза способствует усвоению жирорастворимых витаминов А, D, Е, К, обеспечивает переваривание липидов, участвует в энергетическом обмене [8–10]. В пищевой промышленности липаза применяется в производстве хлебоулучшителей и кондитерских изделий, сыров; входит в состав многих улучшителей муки [11]. Липолитическое действие фермента при расщеплении высокомолекулярных жирных кислот на фракции используется для формирования аромата и вкуса некоторых продуктов (например, полутвердых и твердых сыров). Перспективно ее применение для переработки вторичного сырья животного происхождения, а также отходов масложировой промышленности; в кожевенной промышленности – при выделке мехов и кож; в сельском хозяйстве – при приготовлении легкоусвояемых кормов и для улучшения обмена веществ у животных² [12].

Липазы делятся на два основных класса гидролаз: «истинные» эстеразы (ЕС 3.1.1.1, гидролазы карбоксиэфиров) и липазы (ЕС 3.1.1.3; триацилглицеролгидролазы; стеапсин; трибутиридаза; липаза триглицеридов, или ТАГ-липаза)^{3,4}. Эстеразы катализируют разрыв эфирных связей в основном в триглицеридах, состоящих из коротких жирных кислот; они специфичны главным образом в отношении длины и формы углеводородных цепей по обе стороны от эфирной связи.

Наиболее востребованы в ПП ТАГ-липазы, катализирующие гидролитическое расщепление водонерастворимых субстратов, таких как триацилглицерины,

¹Машанов А.И., Величко Н.А., Ташлыкова Е.Е. Биоконверсия растительного сырья. Красноярск, 2014. 223 с.

²Силантьева Л.А. Технология продуктов смешанного сырьевого состава. СПб.: ИТМО, 2016. 40 с.

³Артемук Е.Г., Королько А.В. Ферменты. Брест, 2010. 31 с.

⁴Шапиро Д.К. Практикум по биологической химии: справочник. Минск: Высшая школа, 1976. 288 с.

состоящие из длинноцепочечных жирных кислот, с образованием высших жирных кислот и глицерина. Гидролиз липидов – это гетерогенный процесс, а липаза обладает способностью функционировать на поверхности раздела фаз (липид–вода). При этом чем выше степень диспергирования субстрата, тем активнее проходит липолиз.

Результаты анализа научно-методической литературы показывают, что для определения активности липолитических ферментов существуют различные методы⁵ [13–15]. Они различаются способами определения количества образовавшихся продуктов гидролиза или остаточного субстрата: нефелометрические, титриметрические и колориметрические. Имеются различия в виде используемого субстрата и его концентрации в реакционной смеси, а также в условиях проведения анализа (температура, pH субстрата, длительность процесса).

Наиболее простыми являются нефелометрические методы, основанные на измерении просветления жировой эмульсии под действием фермента. Однако из-за невысокой точности измерений их в основном используют в качестве экспресс-методов для получения сравнительных или качественных данных⁶ [16].

Ряд методов определения активности липазы основан на титриметрическом определении количества жирных кислот, образовавшихся в результате гидролиза субстрата. При этом в методиках в качестве субстрата используют различные источники, в основном это растительные масла^{7,8} [17, 18]. Описаны методы определения активности липазы с применением трибутина. Однако на этом субстрате проявляется совместное действие липаз и эстераз [19–21].

Цель работы – исследование процесса биокаталитического гидролиза жирных кислот, источниками которых являлись оливковое, подсолнечное и кукурузное масло, для экспериментального обоснования разработки усовершенствованного метода идентификации и контроля уровня липолитической активности в ферментных препаратах для пищевой промышленности.

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных не менее чем в 3-х повторностях осуществляли методом однофакторного дисперсион-

ного анализа с апостериорным критерием Тьюки при $p < 0,05$ с использованием программы Statistica 6.0.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектами исследований являлись нерафинированные растительные масла (подсолнечное, оливковое и кукурузное) – субстраты для проведения биокаталитической реакции; ФП «Липаза» производства фирмы «Энзим» (Украина). Качественные характеристики и показатели безопасности выбранных растительных масел приведены в табл. 1.

Сравнительный анализ количественного содержания продуктов гидролиза проводили с использованием 3-х известных титриметрических методов⁵, основанных на реакции гидролитического расщепления сложнэфирных связей в молекуле жира с высвобождением свободных жирных кислот. Количество щелочи, пошедшее на титрование, прямо пропорционально количеству свободных жирных кислот, образовавшихся в результате ферментативного гидролиза растительного масла.

I метод. В качестве субстрата использовали эмульсию, содержащую 5% подсолнечного масла и 2% альфа-моностеарата. Раствор ФП готовили в 10%-м растворе ацетатного буфера с pH 4,7. Липолитическую активность выражали количеством 0,01 н раствора гидроксида калия (см³), пошедшим на титрование жирных кислот (ЖК), образовавшихся при действии 1 г ФП на субстрат в течение 2-х часов при 40 °C⁵.

II метод. В качестве субстрата использовали эмульсию, содержащую 40% оливкового масла и 2% поливинилового спирта. Липолитическую активность выражали количеством 0,05 н раствора гидроксида натрия (см³), пошедшим на титрование ЖК, образовавшихся при действии 1 г ФП на субстрат в течение 1 ч при 37 °C (pH = 7,0)⁷.

III метод. В качестве субстрата использовали эмульсию, содержащую 50% подсолнечного масла, в 0,1 М ацетатном буфере. Липолитическую активность выражали количеством 0,1 н раствора гидроксида калия (см³), пошедшим на титрование высвободившихся ЖК, образующихся при гидролитическом расщеплении 1 г масла в течение 1 ч при 20 °C (pH = 4,7)⁴.

Таблица 1. Качественные характеристики и показатели безопасности растительных масел

Table 1. Qualitative characteristics and safety indicators of vegetable oils

Показатели	Используемые субстраты		
	Подсолнечное	Оливковое	Кукурузное
Степень и способ очистки	Нерафинированное Первый сорт	Extra virgin	Нерафинированное Первый сорт
Исходное кислотное число, мг КОН/г	1,1±0,1	0,9±0,1	0,8±0,1
Уровень содержания тяжелых металлов, %	не более 0,001%	не более 0,001%	не более 0,001%
Наличие пестицидов, мг/кг	0,05–0,2	0,05–0,2	0,05–0,2

⁵Полыгалина Г.В., Чередниченко В.С., Римарева Л.В. Определение активности ферментов: справочник. М.: ДеЛи Принт, 2003. С. 244–247.

⁶Амелина Г.Н., Леонова Л.А. Нефелометрия и турбидиметрия. Томск: ТГУ, 2015. 13 с.

⁷Булавицева О.А., Егорова И.Е. Обмен липидов. Иркутск: ИГМУ, 2013. 37 с.

⁸Демьянцева Е.Ю., Копнина Р.А. Ферментативный катализ в ЦБП: учебно-методическое пособие. СПб.: СПбГТУРП, 2014. 47 с.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На первом этапе работы проведены сравнительные исследования 3-х титриметрических методов определения липолитической активности в ФП «Липаза», взятом в качестве стандартного образца. Заявленная производителем активность составляла 4500 ед/г ФП. Полученные данные показали существенные различия в количественном уровне определяемой липолитической активности, низкую воспроизводимость и высокие погрешности каждой методики.

Результаты проведения анализа липолитической активности ФП «Липаза» (стандартный образец) с использованием тестируемых методов позволили выявить их недостатки.

По I методу:

1) сложности в подготовке субстрата (подсолнечного масла), т. к. его приготовление в ацетатном буферном растворе с рН, равном 4,7, не позволяет получать однородную суспензию. При этом значении рН происходит расслоение субстрата, что мешает проведению ферментативной реакции. Приготовление эмульсии масла с альфа-моностераром глицерина на воде позволяет достичь ее стабильности;

2) сложности при титровании жирных кислот, образующихся в результате ферментативного гидролиза: отмечен нечеткий, неустойчивый переход окраски индикатора (фенолфталеина) из бесцветной в розовую, которая исчезает в течение 30–40 сек.;

3) в формуле расчета липолитической активности не учитывалась длительность каталитического процесса.

По II методу:

1) сложности с физическим состоянием эмульсии субстрата, которая через 2–3 мин расслаивалась;

2) титрование проходило более стабильно, но присутствовала высокая погрешность измерений, вызванная расслоением эмульсии субстрата;

3) в формуле расчета липолитической активности не учитывалась длительность каталитического процесса.

По III методу:

1) нестабильность субстрата (подсолнечного масла);

2) использование после проведения ферментативной реакции в качестве инaktivатора диэтилового эфира;

3) в формуле расчета активности присутствует показатель количества субстрата, но не учтены длительность каталитического процесса и количество фермента, взятое на анализ.

С целью получения стабильных результатов при использовании I-го метода скорректированы условия титрования в связи с неустойчивостью перехода окраски индикатора, связанного, по-видимому, с низкой исходной концентрацией субстрата, и, соответственно, незначительного перехода продуктов гидролиза ЖК в реакционную среду. Поэтому в дальнейшем окончание титрования контролировали по потенциометру, доводя значение рН растворов до 9,5–10,0. Однако стабильных показателей достигнуто не было.

Выявленные сложности с физическим состоянием эмульсии субстрата при проведении анализа по II-му методу показали высокую погрешность измерений при титровании, вызванную расслоением эмульсии субстрата.

Для сравнения результатов анализа активность липазы (ед. ЛС/г) рассчитывали по следующей формуле:

$$ЛС = \frac{(V_1 - V_2) \cdot n}{m \cdot t},$$

где V_1 – количество раствора 0,01 н КОН, пошедшее на титрование опытной пробы, см³; V_2 – то же для контрольного образца, см³; m – количество ФП, взятое на анализ, г; n – объем реакционной смеси, взятой на анализ, см³; t – длительность гидролиза, мин.

Результаты расчета липолитической активности в стандартном ФП показали существенный разброс в полученных данных. При этом более стабильные результаты получены по методу III (табл. 2). Количество

Таблица 2. Определение липолитической активности по методу III

Table 2. Determination of lipolytic activity according to method III

Количество ферментного препарата (n), взятого на анализ, г	Количество 0,01 н КОН, пошедшее на титрование, см ³		Активность липазы, ед. ЛС/г
	Опыт	Контроль	
0,00005	0,55	0,20	145,8±13,1
0,00010	0,65		112,5±5,2
0,00015	0,90		116,7±5,8
0,00020	1,15		118,2±5,9
0,00030	0,80		50,0±6,0

Примечание. Значения представлены в виде средних ± стандартное отклонение.

ФП, взятое на исследование, соответствовало механизму фермент-субстратного комплекса.

Показано, что в диапазоне от 0,0001 до 0,0002 г фермента, взятого на анализ, погрешность измерений составила ±5%.

В дальнейшем основные направления для усовершенствования методики включали выбор субстрата, исследование условий проведения ферментативной реакции и уточнение формулы для количественного расчета уровня активности липазы в определяемом образце ФП. В целях замены токсичного реагента, применяемого для инактивации фермента по истечении ферментативной реакции, исследовали возможность его замены на более безопасный.

За основу были взяты условия проведения активности липазы по III-му методу. Изменения в основном заключались в исследовании таких показателей, как длительность гидролиза, объем реакционной смеси и количество ФП, взятое на анализ, которые должны быть учтены в формуле расчета липолитической активности.

Далее проведены исследования по выбору субстрата и времени гидролиза для получения новых экспериментальных данных зависимости активности фермента от времени его гидролиза (рис. 1).

В качестве субстрата использовали один из 3-х видов растительного масла: подсолнечное, оливковое и кукурузное. Гидролиз субстрата проводили в 0,1 М ацетатном буфере при температуре 20 °С. О количестве ЖК в реакционной среде, образующихся в результате ферментативного гидролиза, судили по количеству 0,01 н раствора КОН, пошедшему на титрование прогидролизированных субстратов.

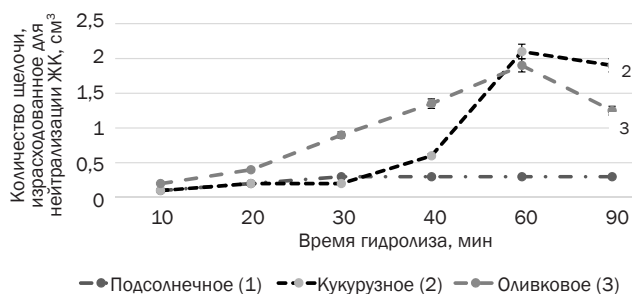


Рис. 1. Влияние длительности ферментативного гидролиза различных видов растительного масла на образование жирных кислот

Fig. 1. Fatty acids formation through enzymatic hydrolysis of various types of vegetable oil

Установлено, что использование в качестве субстрата оливкового масла позволило получить более стабильную эмульсию и повысить точность измерений (см. рис. 1). В процессе его гидролиза отмечен наиболее широкий диапазон, в котором наблюдалась прямо пропорциональная зависимость количества высвобождаемых свободных ЖК от длительности биокаталитической реакции – от 10 до 60 мин. Поэтому в дальнейшем в качестве субстрата использовали оливковое масло.

На следующем этапе исследовали влияние условий ферментативного гидролиза (рН реакционной смеси

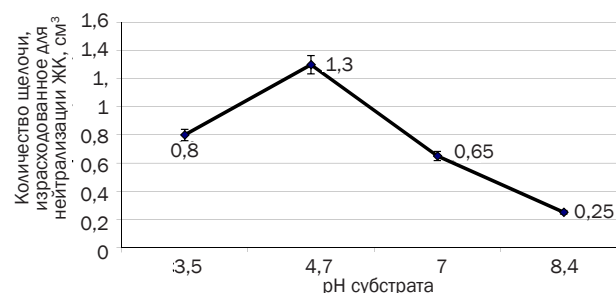


Рис. 2. Влияние рН субстрата на высвобождение жирных кислот при гидролизе оливкового масла в течение 60 мин

Fig. 2. Fatty acids release during olive oil 60 min hydrolysis depending on substrate pH value

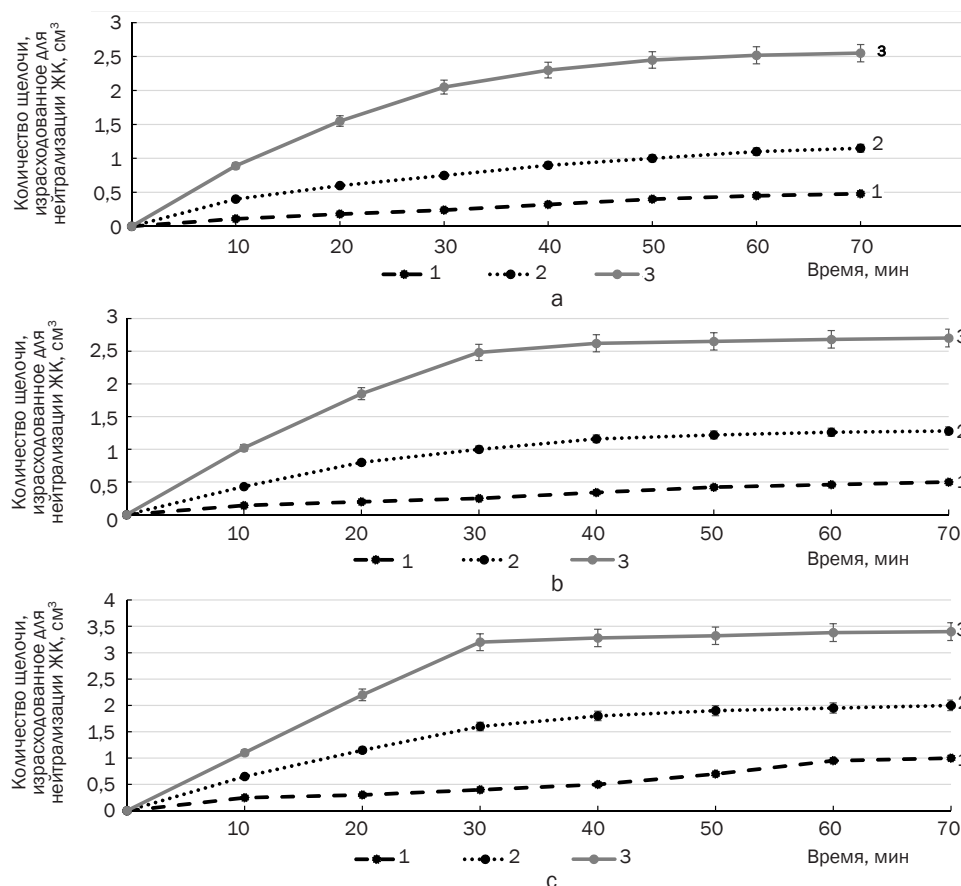


Рис. 3. Динамика образования жирных кислот в процессе ферментативного гидролиза оливкового масла под действием различных температур: а – температура гидролиза 20 °С; б – температура гидролиза 30 °С; с – температура гидролиза 40 °С. 1 – $m_1 = 0,00005$ г; 2 – $m_2 = 0,0001$ г; 3 – $m_3 = 0,0002$ г (m – количество ферментного препарата, взятое на анализ)

Fig. 3. Dynamics of fatty acids formation through olive oil enzymatic hydrolysis under the influence of various temperatures: а – hydrolysis temperature 20 °С; б – hydrolysis temperature 30 °С; с – hydrolysis temperature 40 °С. 1 – $m_1 = 0,00005$ g; 2 – $m_2 = 0,0001$ g; 3 – $m_3 = 0,0002$ g (m – the amount of the enzyme preparation taken for analysis)

и температуры) на количество высвободившихся ЖК (рис. 2 и 3).

Результаты исследований показали, что наибольшее количество щелочи, пошедшее на титрование, имело место при значении pH = 4,7. Дальнейшее повышение pH приводило к существенному снижению ее количества, а следовательно, и к снижению активности ФП.

Для установления оптимальных режимов проведения биокаталитической реакции и определения липолитической активности на следующем этапе исследовали динамику образования ЖК в свободной форме при разных температурах (20, 30 и 40 °C) и длительность процесса (от 10 до 70 мин) в зависимости от количества фермента, взятого на анализ (см. рис. 3).

Приведенные данные показывают, что на рис. 3 (а, б, с) можно выделить типичные кинетические кривые ферментативной реакции, при которых начальный участок кривой линейен, т. е. зависимость концентрации образовавшегося продукта гидролиза от времени имеет пропорциональный характер. На основании полученных результатов установлено, что пропорциональная зависимость образования свободных ЖК от длительности биокаталитической реакции и концентрации фермента наблюдалась в основном в интервале от 10 до 30 мин. Наибольшее высвобождение ЖК в процессе гидролиза оливкового масла имело место при температуре 40 °C в течение 30 мин. Дальнейшая продолжительность гидролиза субстрата не приводила к существенному увеличению концентрации ЖК в реакционной смеси, а следовательно, и количества 0,01 н раствора КОН, пошедшего на их титрование.

В связи с тем, что длительность прямолинейного участка кинетической кривой от опыта к опыту несколько изменялась, были выбраны условия, при которых отмечены наиболее стабильные результаты, отражающие зависимость прироста образования свободных ЖК во времени: температура 40 °C и длительность гидролиза 20 мин при дозировках взятого на анализ ФП 0,0002 и 0,0001 г.

Таким образом, подобранные параметры ферментативной реакции (температура составила 40 °C, pH – 4,7 и длительность гидролиза (t) – 20 мин) были введены в усовершенствованный метод определения липолитической активности. Поскольку метод основан на определении ЖК, образовавшихся в результате действия липазы на субстрат – оливковое масло, путем титрования их щелочью, а в оливковом масле содержится до 78% олеиновой кислоты [20–22], расчет липолитической активности вели на олеиновую кислоту. За единицу активности липазы (ед. ЛС) принимали такое количество фермента, которое при 40 °C и значении pH = 4,7 катализирует за 1 мин расщепление оливкового масла с образованием 1 мкмоль олеиновой кислоты. Активность выражали в ед. ЛС/г (для порошкообразного) или ед. ЛС/см³ (для жидкого) анализируемого ФП. В связи с тем, что жидкие ФП представлены на рынке в основном в концентрированном виде (ультраконцентраты), для более точного расчета их активности необходимо вводить в формулу расчета показатель плотности данных ФП.

С целью учета конечного разведения ФП (m) в реакционной среде в формулу расчета активности дополнительно введен коэффициент, равный 4. Данный

коэффициент учитывает количество рабочего раствора ФП (1 см³), взятого на анализ, в 4 см³ реакционной смеси, в которую входят 1,0 см³ оливкового масла, 1 см³ ацетатного буфера (pH = 4,7), 1 см³ воды и 1 см³ рабочего раствора ФП.

Липолитическую активность ферментного препарата ЛС, ед. ЛС/г или ед. ЛС/см³, вычисляли по формуле:

$$ЛС = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 4 \cdot T}{282,46 \cdot m \cdot \tau} \cdot d,$$

где V₁ – количество раствора 0,01 н КОН, пошедшее на титрование опытного образца, см³; V₂ – то же для контрольного образца, см³; 4 – коэффициент, учитывающий 4-кратное разбавление рабочего раствора ФП непосредственно в реакционной смеси; T – титр 0,01 н раствора КОН, эквивалентен количеству гидроксида калия, содержащемуся в 1 см³ 0,01 н раствора, мкг/см³ (561 мкг/см³); 282,46 – молекулярная масса олеиновой кислоты, мкг/мкмоль; m – количество ФП, взятое на анализ, г; τ – длительность гидролиза, мин; d – плотность жидкого ФП, г/см³.

Результаты, представленные в табл. 2, подтвердили, что расчетный уровень липолитической активности (ед. ЛС/см³), определяемый на основании количества 0,01 н раствора КОН, пошедшего на титрование ЖК, был стабилен при подобранных условиях: продолжительность гидролиза – 20 мин; температура – 40 °C; количество ФП, взятого на анализ: m₁ = 0,0001 г, m₂ = 0,0002 г (табл. 3). Увеличение продолжительности

Таблица 3. Зависимость величины липолитической активности ферментного препарата «Липаза» от количества фермента и продолжительности гидролиза субстрата

Table 3. Dependence of the lipolytic activity of the Lipase enzyme preparation on the enzyme amount and the substrate hydrolysis duration

Количество ферментного препарата, взятое на анализ, г	Время гидролиза, мин	Объем 0,01 н КОН, (V ₁ – V ₂), см ³	ЛС, ед/см ³
m ₁ = 0,0001	10	0,65	5161±242
	20	1,15	4565±148
	30	1,60	4235±162
	40	1,80	3573±147
	50	1,90	3017±114
	60	1,95	2580±121
	70	2,00	2269±104
m ₂ = 0,0002	10	1,10	4367±187
	20	2,20	4367±248
	30	3,20	4237±137
	40	3,25	3226±123
	50	3,32	2636±96
	60	3,38	2236±88
	70	3,40	1928±72

Примечание. Значения представлены в виде средних ± стандартное отклонение.

Таблица 4. Определение липолитической активности в ферментных препаратах отечественного производства
Table 4. Determination of lipolytic activity in enzyme preparations of domestic production

Наименование ферментного препарата	Количество ферментного препарата, взятое на анализ, г	Объем 0,01 н КОН, ($V_1 - V_2$), см ³	ЛС, ед/г	Погрешность, %
Амилопротооризин	0,001	0,4	106,0±4,4	4,2
	0,005	1,9	101,7±3,6	
Глюконофетидин	0,001	0,7	185,5±7,1	2,9
	0,005	3,4	180,2±7,3	
Пектофетидин	0,001	0,2	52,0±3,6	4,2
	0,005	0,9	49,7±2,6	

Примечание. Значения представлены в виде средних ± стандартное отклонение.

гидролиза до 40–70 мин приводило к снижению активности липазы и повышению величины погрешности.

Таким образом, определяемая активность, которая при равных условиях ферментативной реакции пропорциональна концентрации фермента, зависит от эффективности его каталитического действия, т. е. от количества продуктов гидролиза, изменяющегося под влиянием фермента в единицу времени. В результате установлены оптимальные условия проведения биокаталитической реакции гидролиза субстрата (оливкового масла) с использованием стандартного ФП «Липаза»: температура – 40 °С; pH – 4,7; продолжительность – 20 мин.

С целью получения достоверных данных и подтверждения подобранных оптимальных параметров проведены сравнительные исследования по определению активности липазы в различных объектах микробного происхождения (табл. 4).

Результаты исследований по определению липолитической активности подтвердили выбранные ранее оптимальные параметры и условия проведения каталитической реакции при разработке методики. При варьировании дозировкой ФП активность липаз находится в пределах 5% погрешности измерений, что принято в стандартных методиках определения активности ФП для пищевой промышленности и подтверждено экспериментальными данными.

Таким образом, определение липолитической активности в анализируемом объекте необходимо осуществлять следующим образом. В коническую колбу объемом 100 см³ помещают 1 см³ оливкового масла, добавляют 1 см³ ацетатного буфера со значением pH = 4,7, тщательно перемешивают, вносят 1,0 см³ рабочего раствора фермента и 1,0 см³ дистиллированной воды, предварительно прогретых в течение

3–4-х мин при температуре 40 °С. Общий объем реакционной смеси составляет 4 см³. Колбу закрывают пробкой и помещают в термостатируемый шейкер. Содержимое колбы встряхивают при постоянном перемешивании для проведения ферментативной реакции при (40,0±1,0) °С в течение 20 мин.

По окончании ферментативного гидролиза для инактивации фермента к реакционной смеси добавляют 30 см³ 96%-го этилового спирта. Свободные ЖК, образовавшиеся при ферментативном расщеплении масла, оттитровывают 0,01 н раствором КОН. В качестве индикатора используют спиртовой раствор фенолфталеина. Окончанием титрования считается появление устойчивой бледно-малиновой окраски фенолфталеина. Одновременно проводят аналогичный контрольный ферментативный гидролиз с кипяченным рабочим раствором ФП.

ВЫВОДЫ

На основании результатов проведенных исследований предлагается модифицированная методика определения липолитической активности, в которую внесены следующие изменения:

- в качестве субстрата подобрано оливковое масло, что позволило получить более стабильную эмульсию и повысить точность измерений;
- осуществлена замена токсичного реактива, используемого ранее для инактивации фермента, на этиловый спирт как более безопасный реагент;
- уточнена формула расчета липолитической активности;
- разработаны и экспериментально подтверждены оптимальные параметры методики определения липолитической активности: температура – 40 °С, время гидролиза – 20 мин, pH субстрата – 4,7.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Римарева Л.В., Серба Е.М., Соколова Е.Н., Борщева Ю.А., Игнатова Н.И. Ферментные препараты и биокаталитические процессы в пищевой промышленности // Вопросы питания. 2017. Т. 86. N 5. С. 63–74.
2. Сафина В.Р., Мелентьев А.И., Акуганов Г.Э. Влияние субстратной индукции и условий культивирования на синтез хитозаназ *Bacillus thuringiensis* B-387 // Пищевая промышленность. 2019. N 4. С. 85–87. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10043>.
3. Серба Е.М., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И.,

Таджибова П.Ю., Римарева Л.В. К вопросу о контроле качества ферментных препаратов для пищевой промышленности // Пищевая промышленность. 2019. N 4. С. 87–88. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10044>.

4. Римарева Л.В., Серба Е.М., Оверченко М.Б., Таджибова П.Ю., Серба Е.В., Кривова А.Ю. [и др.]. Научно-экспериментальное обоснование безопасности биотехнологической продукции для пищевой промышленности // Вестник Российской сельскохо-

зайственной науки. 2019. N 1. С. 40–43. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2019/1/40-43>.

5. Дьяченко Ю.А., Цикуниб А.Д. Активность липазы как показатель высокого качества и экологической чистоты семян подсолнечника // Техника и технология пищевых производств. 2017. Т. 44. N 1. С. 118–123.

6. Зубарева И.М., Митина Н.Б., Кириченко Е.С. Изучение липазной активности *Blakeslea Trispora* продуцента бета-каротина // Вопросы химии и химической технологии. 2012. N 1. С. 32–35.

7. Чирикова М.С., Шакун Т.П., Петрова Г.М., Глушень Е.М. Выделение и идентификация нового природного штамма – деструктора жировых соединений // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. научных трудов. 2016. Т. 8. С. 382–391.

8. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Гундобина О.С., Михайлова С.В., Захарова Е.Ю., Вишнёва Е.А. [и др.]. Дефицит лизосомной кислой липазы: клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям // Педиатрическая фармакология. 2016. Т. 13. N 3. С. 239–243. <https://doi.org/10.15690/pf.v13i3.1573>.

9. Quinn A.G., Burton B., Deegan P., Di Rocco M., Enns G.M., Guardamagna O., et al. Sustained elevations in LDL cholesterol and serum transaminases from early childhood are common in lysosomal acid lipase deficiency // Molecular Genetics and Metabolism. 2014. Vol. 111, no. 2. P. S89. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.12.215>.

10. Fouchier S.W., Defesche J.C. Lysosomal acid lipase A and the hyper cholesterol emic phenotype // Current Opinion in Lipidology. 2013. Vol. 24, no. 4. P. 332–338. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e328361f6c6>.

11. Коршенко Л.О. Стабилизация качества хлеба из пшеничной муки с низкими хлебопекарными свойствами // Вестник Евразийской науки. 2014. N 6. С. 2–11. <https://doi.org/10.15862/115TVN614>.

12. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Таджибова П.Ю., Серба Е. М. Некоторые аспекты методологии контроля безопасности, качества и подлинности ферментных препаратов для пищевой промышленности // Пищевая промышленность. 2020. N 4. С. 48–55. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-04411>.

13. Gupta P., Upadhyay L.S.B., Shrivastava R. Lipase catalyzed-transesterification of vegetable oils by lipolytic bacteria // Research Journal of Microbiology. 2011. Vol. 6, no. 3. P. 281–288.

14. Никитенко А.И., Леонтьев В.Н., Болтовский В.С. Методические особенности определения активности липаз в семенах рапса // Труды БГТУ. № 4: Химия, технология органических веществ и биотехнология. 2011. N 4. С.190–193.

15. Альмяшева Н.Р., Голышкин А.В. Закономерности биосинтеза липолитических ферментов ксилотрофным базидиомицетом *Fomes fomentarius* // Современные проблемы науки и образования. 2016. N 6. С. 553.

16. Кригер А.В., Дышлюк Л.С., Долганюк В.Ф., Зимица М.И., Асякина Л.К. Выделение, очистка и изучение свойств рекомбинантной липазы, экспрессированной в *Escherichia coli* // Фундаментальные исследования. 2013. N 12. С. 122–126.

17. Григорьянц А.Г., Коротаева М.А., Алехнович В.И., Шиганов И.Н. Инструментальные методы контроля состава и свойств полидисперсных сред // Наука и образование. 2012. N 2. С.11–14.

18. Вертипрахов В.Г., Бутенко М.Н. Новый способ определения количества пищевых белков, жиров и углеводов в продуктах и кормах // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. N 9. С. 52–55.

19. Гамаюрова В.С., Воробьев Е.С., Давлетшина Г.А., Ржечицкая Л.Э. Анализ кинетических параметров ферментативного катализа реакций этерификации в среде гексана // Кинетика и катализ. 2021. Т. 62. N 3. С. 316–324. <https://doi.org/10.31857/S0453881121030023>.

20. Самойлова Ю.В., Сорокина К.Н., Нуриддинов М.А., Розанов А.С. Разработка биокатализатора для переэтерификации пищевых жиров с использованием иммобилизованных ферментов липаз // Высокие технологии в современной науке и технике: сб. научных трудов ТПУ. Томск. 2013. С. 119–123.

21. Шеламова С.А., Тырсин Ю.А. Роль карбоксильных групп в каталитической активности липазы *Rhizopus oryzae* // Региональные геосистемы. 2014. С. 103–108.

22. Воловик В.Т., Леонидова Т.В., Коровина Л.М., Блохина Н.А., Касарина Н.П. Сравнение жирнокислотного состава различных пищевых масел // Международный журнал прикладных исследований. 2019. N 5. С. 147–152. <https://doi.org/10.17513/mjpf.12754>.

REFERENCES

1. Rimareva L.V., Serba E.M., Sokolova E.N., Borshcheva Yu.A., Ignatova N.I. Enzyme preparations and biocatalytic processes in the food industry. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2017;86(5):63-74. (In Russian).

2. Safina V.R., Melentiev A.I., Aktuganov G.E. The effect of substrate induction and culture conditions on synthesis of chitosanases by *Bacillus thuringiensis*, strain B-387. *Pishchevaya promyshlennost' = Food Industry*. 2019;(4):85-87. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10043>.

3. Serba E.M., Overchenko M.B., Ignatova N.I., Tadzhibova P.Yu., Rimareva L.V. On the issue about quality control of enzyme preparations for the food industry. *Pishchevaya promyshlennost' = Food In-*

dustry. 2019;(4):87-88. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10044>.

4. Rimareva L.V., Serba E.M., Overchenko M.B., Tadzhibova P.Yu., Serba E.V., Krivova A.Yu., et al. Scientifically and experimental safety substitution of biotechnology products for the food processing industry. *Vestnik Rossijskoi sel'skokhozyaistvennoi nauki = Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 2019;(1):40-43. (In Russian). <https://doi.org/10.30850/vrsn/2019/1/40-43>.

5. D'yachenko Yu.A., Tsikunib A.D. Lipase activity as an indicator of high quality and ecological purity of sunflower seeds. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv = Food Processing: Techniques and Technology*. 2017;44(1):118-123. (In Russian).

6. Zubareva I.M., Mitina N.B., Kirichenko E.S. Study of the lipase activity of *Blakeslea Trispora*, a beta-carotene producer. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii*. 2012;(1):32-35. (In Russian).
7. Chyrykava M.S., Shakun T.P., Petrova G.M., Glushen E.M. Isolation and identification of new native strain-degrader of lipid compounds. *Mikrobnye biotekhnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty: sbornik nauchnykh trudov*. 2016;8:382-391. (In Russian).
8. Baranov A.A., Namazova-Baranova L.S., Gundobina O.S., Mikhailova S.V., Zakharova E.U., Vishnyova E.A., et al. Deficiency of lysosomal acid lipase: clinical recommendations for child health care delivery. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*. 2016;13(3):239-243. (In Russian). <https://doi.org/10.15690/pf.v13i3.1573>.
9. Quinn A.G., Burton B., Deegan P., Di Rocco M., Enns G.M., Guardamagna O., et al. Sustained elevations in LDL cholesterol and serum transaminases from early childhood are common in lysosomal acid lipase deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2014;111(2):S89. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.12.215>.
10. Fouchier S.W., Defesche J.C. Lysosomal acid lipase A and the hyper cholesterol emic phenotype. *Current Opinion in Lipidology*. 2013;24(4):332-338. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e328361f6c6>.
11. Korshenko L.O. Stabilization of wheat bread's quality with low baking properties. *Vestnik Evraziiskoi nauki = The Eurasian Scientific Journal*. 2014;(6):2-11. (In Russian). <https://doi.org/10.15862/115TVN614>.
12. Rimareva L.V., Overchenko M.B., Ignatova N.I., Tadzhibova P.Yu., Serba E.M. Some aspects of the methodology for controlling the safety, quality and authenticity of enzyme preparations for the food industry. *Pishchevaya promyshlennost' = Food Industry*. 2020;(4):48-55. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-04411>.
13. Gupta P., Upadhyay L.S.B., Shrivastava R. Lipase catalyzed-transesterification of vegetable oils by lipolytic bacteria. *Research Journal of Microbiology*. 2011;6(3):281-288.
14. Nikitenko A.I., Leontiev V.N., Boltovskii V.S. Methodical features of the lipase activity definition in rape-seeds. *Trudy BGTU. № 4: Khimiya, tekhnologiya organicheskikh veshchestv i biotekhnologiya = Proceedings of BSTU. № 4. Chemistry, organic substances technology and biotechnology*. 2011;(4):190-193. (In Russian).
15. Almyasheva N.R., Golyshekin A.V. Biosynthesis of lipolytic enzymes by xylotrophic basidiomycete *Fomes fomentarius*. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016;(6):553. (In Russian).
16. Kriger A.V., Dyshlyuk L.S., Dolganyuk V.F., Zimina M.I., Asyakina L.K. Allocation, cleaning and studying of properties of the recombinant lipase, expressed in *Escherichia coli*. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2013;(12):122-126. (In Russian).
17. Grigor'yanc A.G., Korotaeva M.A., Alehnovich V.I., Shiganov I.N. Instrumental methods of control over content and properties of polydisperse medium. *Nauka i obrazovanie = Science and Education*. 2012;(2):11-14. (In Russian).
18. Vertprakhov V.G., Butenko M.N. New method of determining the quantity of food belkov, fats and carbohydrates in the products and the fodders. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2014;(9):52-55. (In Russian).
19. Gamayurova V.S., Vorobiev E.S., Davletshina G.A., Rzechitskaya L.E. Analysis of the kinetic parameters of the enzymatic catalysis of esterifications in hexane. *Kinetics and catalysis = Kinetics and Catalysis*. 2021;62(3):316-324. (In Russian). <https://doi.org/10.31857/S0453881121030023>.
20. Samoilova Yu.V., Sorokina K.N., Nuriddinov M.A., Rozanov A.S. Development of a biocatalyst for interesterification of edible fats using immobilized lipase enzymes. In: *Vysokie tekhnologii v sovremennoi nauke i tekhnike: sbornik nauchnykh trudov TPU*. Tomsk; 2013, p. 119-123. (In Russian).
21. Shelamova S.A., Tyrsin Y.A. The role of carboxyl groups in the catalytic activity of lipase *Rhizopus oryzae* 1403. *Regional'nye geosistemy = Regional Geosystems*. 2014;103-108. (In Russian).
22. Volovik V.T., Leonidova T.V., Korovina L.M., Blokhina N.A., Kasarina N.P. Comparison of fatty acid composition of different edible oils. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh issledovaniy*. 2019;(5):147-152. (In Russian). <https://doi.org/10.17513/mjpf.12754>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Серба Елена Михайловна,
д.б.н., заместитель директора по науке,
Всероссийский научно-исследовательский институт
пищевой биотехнологии – филиал
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»,
111033, г. Москва, ул. Самокатная, 4Б,
Российская Федерация,
Serbae@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1660-2634>

Соколова Елена Николаевна,
к.б.н., ведущий научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский институт
пищевой биотехнологии – филиал
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Elena M. Serba,
Dr. Sci. (Biology), Deputy Director for Science,
Russian Scientific Research Institute of Food
Biotechnology – branch of Federal Research Center
of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
4B, Samokatnaya St., 111033, Moscow,
Russian Federation,
Serbae@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1660-2634>

Elena N. Sokolova,
Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher,
Russian Scientific Research Institute of Food
Biotechnology – branch of Federal Research Center
of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,

111033, г. Москва, ул. Самокатная, 4Б,
Российская Федерация,
✉elenaniksokolova@inbox.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6084-7786>

Оверченко Марина Борисовна,
к.т.н., ведущий научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский институт
пищевой биотехнологии – филиал
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»,
111033, г. Москва, ул. Самокатная, 4Б,
Российская Федерация,
mb_over@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0191-5897>

Римарева Любовь Вячеславовна,
д.т.н., главный научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский институт
пищевой биотехнологии – филиал
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»,
111033, г. Москва, ул. Самокатная, 4Б,
Российская Федерация,
Irimareva@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3097-0836>

Игнатова Надежда Иосифовна,
научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский институт
пищевой биотехнологии – филиал
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»,
111033, г. Москва, ул. Самокатная, 4Б,
Российская Федерация,
ignatova59@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8416-7478>

Борщева Юлия Александровна,
к.т.н., старший научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский институт
пищевой биотехнологии – филиал
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»,
111033, г. Москва, ул. Самокатная, 4Б,
Российская Федерация,
juliyaborshova@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0911-5325>

4B, Samokatnaya St., 111033, Moscow,
Russian Federation,
✉elenaniksokolova@inbox.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6084-7786>

Marina B. Overchenko,
Cand. Sci. (Engineering), Leading Researcher,
Russian Scientific Research Institute of Food
Biotechnology – branch of Federal Research Center
of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
4B, Samokatnaya St., 111033, Moscow,
Russian Federation,
mb_over@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0191-5897>

Lyubov' V. Rimareva,
Dr. Sci. (engineering), Chief Researcher,
Russian Scientific Research Institute of Food
Biotechnology – branch of Federal Research Center
of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
4B, Samokatnaya St., 111033, Moscow,
Russian Federation,
Irimareva@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3097-0836>

Nadezhda I. Ignatova,
Researcher,
Russian Scientific Research Institute of Food
Biotechnology – branch of Federal Research Center
of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
4B, Samokatnaya St., 111033, Moscow,
Russian Federation,
ignatova59@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8416-7478>

Yuliya A. Borsheva,
Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher,
Russian Scientific Research Institute of Food Biotech-
nology – branch of Federal Research Center of Nutri-
tion, Biotechnology and Food Safety,
4B, Samokatnaya St., 111033, Moscow,
Russian Federation,
juliyaborshova@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0911-5325>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 24.03.2022.
Одобрена после рецензирования 10.12.2022.
Принята к публикации 28.02.2023.

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 24.03.2022.
Approved after reviewing 10.12.2022.
Accepted for publication 28.02.2023.

Научная статья

УДК 577.1:57.042; 581: 58.01/07

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-67-76>



Минеральный состав почвенной цианопрокариоты *Nostoc commune* из Байкальского региона

И.Н. Егорова✉, О.В. Шергина, Г.С. Тупикова

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

Аннотация. Почвенная цианопрокариота *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet et Flahault – нитчатый организм, формирующий макроскопические колонии на поверхности почвы, способный к оксигенному фотосинтезу и фиксации атмосферного азота. Вид вносит существенный вклад в азотный и углеродный баланс экосистем, участвует в процессах восстановления нарушенных почв. В задачи настоящего исследования входило определение содержания минеральных элементов (Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, Pb) в талломах *N. commune*, функционирующих в травянистых растительных сообществах Байкальского региона на территориях разной степени антропогенной нарушенности, и установление влияния кислотности почвы на накопление ностоком элементов. Элементный состав определяли методами эмиссионной пламенной фотометрии и атомно-абсорбционной спектроскопии. Впервые в региональных образцах *N. commune* определены уровни накопления Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, Pb. Показано, что талломы вида содержали значительное количество кальция, магния, калия, натрия, железа. По способности аккумулировать кальций (до 27440 мг·кг⁻¹ абс. сухого веса), произрастать на нейтральных и щелочных почвах вид может быть отнесен к кальцефилам. По уровню накопления железа (в среднем 2112 мг·кг⁻¹) *N. commune* на порядок превосходит сосудистые растения. Отмечены существенные различия в содержании изученных элементов в ностоке из разных местонахождений. Талломы *N. commune*, функционирующие в непосредственной близости от скоростной автомагистрали, содержали в повышенных количествах свинец, медь, цинк, кадмий, кальций, магний, натрий. Установлено, что при более низкой кислотности почвы вид накапливает больше Ca, Mg, Cd; в условиях повышенной кислотности почв талломы *N. commune* аккумулируют Fe, Mn, K. Выявлена значительная корреляция между содержанием этих элементов в ностоке и кислотностью верхних горизонтов почв.

Ключевые слова: *Nostoc commune*, почвенная цианопрокариота, минеральные элементы, техногенное загрязнение, Байкальский регион

Финансирование. Работа была выполнена в рамках государственного задания РФ, номер проекта FWSS-2022-0002.

Для цитирования: Егорова И.Н., Шергина О.В., Тупикова Г.С. Минеральный состав почвенной цианопрокариоты *Nostoc commune* из Байкальского региона // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 67–76. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-67-76>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Mineral composition of the *Nostoc commune* soil cyanoprokaryota in the Baikal region

Irina N. Egorova✉, Olga V. Shergina, Galina S. Tupikova

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet et Flahault soil cyanoprokaryote is a filamentous organism forming macroscopic colonies on the soil surface. This organism is capable of oxygenic photosynthesis and atmospheric nitrogen fixation, thereby contributing to the nitrogen and carbon balance of ecosystems and participating in the processes of disturbed soil recovery. The present study aimed to determine the content of mineral elements (Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, Pb) in *N. commune* thalli growing in herbaceous plant communities of the Baikal region in areas of various anthropogenic disturbance, and to establish the effect of soil acidity on the accumulation of these elements. The elemental composition was determined by emission flame photometry and atomic absorption spectroscopy. To the best of our knowledge, the accumulation of Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, and Pb in regional samples of *N. commune* were determined for the first time. The investigated thalli were found to contain significant amounts of Ca, Mg, K, Na, and Fe. The species can be referred to calciphiles in terms of its ability to accumulate Ca (up to 27,440 mg·kg⁻¹ abs. dry weight) and to grow on neutral and alkaline soils. *N. commune*

© Егорова И.Н., Шергина О.В., Тупикова Г.С., 2023

outperforms vascular plants in terms of Fe accumulation (on average, 2112 mg·kg⁻¹). Significant differences were observed in the content of the studied elements in *N. commune* collected from different sites. *N. commune* thalli growing in the vicinity of a highway contained Pb, Cu, Zn, Cd, Ca, Mg, and Na in increased amounts. Under lower soil acidity, the species was found to accumulate more Ca, Mg, and Cd. Under increased soil acidity, *N. commune* thalli accumulate Fe, Mn, and K. A significant correlation between the content of these elements in *N. commune* and the acidity of the upper soil horizons was revealed.

Keywords: *Nostoc commune*, soil cyanoprokaryota, mineral elements, anthropogenic pollution, Baikal region

Funding. The work was supported by State Job RF no. FWSS-2022-0002.

For citation: Egorova I.N., Shergina O.V., Tupikova G.S. Mineral composition of the *Nostoc commune* soil cyanoprokaryota in the Baikal region. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):67-76. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-67-76>.

ВВЕДЕНИЕ

Положение Байкальского региона в центре Азии на юге Восточной Сибири предопределило особенности его природных условий, обусловило сложность и разнообразие природных комплексов. В регионе сосредоточены большие промышленные города, хорошо развита транспортная инфраструктура. Транспорт и промышленность создают значительную нагрузку на окружающую среду, в связи с чем антропогенное загрязнение стало одним из ведущих факторов, определяющих состояние почвенного и растительного покрова. В условиях возрастающего антропогенного давления проблема накопления химических элементов во всех частях природных экосистем становится все более актуальной. Важнейшей составляющей наземной биоты являются водоросли, играющие большую роль в создании первичной продукции, минерализации, водоудержания, стабилизации почвы, циклах биогенных элементов. Известно значение почвенных водорослей как индикаторов изменений окружающей среды. Тем не менее вопросам физиологии и биохимии почвенных водорослей, изучения минерального состава и его изменения под влиянием факторов среды, во многом обусловленном их региональным характером, уделяется недостаточное внимание. В ряде исследований, проводившихся в Байкальском регионе, содержатся данные о составе минеральных элементов высших растений, водных макро- и некоторых микроводорослей из различных биоценозов [1–13]. Сведения о минеральном составе наземных водорослей крайне немногочисленны [14, 15].

Представители рода *Nostoc* – широко распространенные в наземных экосистемах нитчатые колонизальные организмы, участвующие в восстановлении нарушенных почв, в улучшении почвенного плодородия, аккумуляции тяжелых металлов [16–18]. *Nostoc commune* – цианопрокариота/цианобактерия, формирующая макроскопические таломы, способная к окислительному фотосинтезу и фиксации атмосферного азота, вносящая существенный вклад в азотный и углеродный баланс биогеоценозов. Вид формирует высокую биомассу в ряде наземных экосистем Байкальского региона и сопредельных территорий. Наиболее массово развивается в травянистых биоценозах антропогенно нарушенных территорий вблизи дорог, что косвенно свидетельствует о его значительном участии в их восстановлении [14]. Однако сведе-

ния о физиолого-биохимических особенностях вида, функционирующего в различных природных условиях региона, немногочисленны и фрагментарны. Цель настоящего исследования – впервые установить элементный состав (Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, Pb) *N. commune*, развивающегося в травянистых сообществах Байкальского региона на территориях разной степени антропогенной нарушенности, и определить влияние кислотности почвы на накопление элементов талломами вида.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Природные образцы почвенной цианопрокариоты *N. commune* (рис. 1) были собраны в июле 2018 года в окрестностях поселка Баяндай (Иркутская область, Россия) в непосредственной близости от автомагистрали Р-418. На рис. 2 показан район работ.

Территория относится к окраинному понижению Сибирской платформы. Местность сильно пересеченная, грядовая и холмистая с плоскими междуречьями и пологими склонами. Коренные породы – терригенно-угленосные юрские отложения, богатые известью из-за наличия известняков и мергелевых образований. Развита среднемошная и относительно мощная, преимущественно суглинистая, в верхней части генетического профиля слабокислая и нейтральная



Рис. 1. Талломы *Nostoc commune* различного жизненного состояния, расположенные на территории исследований в Байкальском регионе

Fig. 1. *Nostoc commune* thalli of different living status in the Baikal region research area



Рис. 2. Территория исследований. Район работ обозначен справа (красная точка); масштабная линейка – 50 км. Расположение пробных площадей показано справа. 1, 2, 3 – номера пробных площадей; масштабная линейка – 50 м

Fig. 2. Investigation territory location. The work area is marked on the right (red dot); scale bar – 50 km. The locations of the sampling areas (SA) are shown on the left. 1, 2, 3 are SA numbers; scale bar – 50 m

почвы с растительностью средней и повышенной продуктивности. В районе исследования преобладают степи [19, 20]. Автомагистраль Р-418 соединяет крупные города, расположенные на севере и юге Байкальского региона, с популярными туристическими направлениями на озере Байкал.

Дорога приобрела современный вид в 30-х годах прошлого века. В результате вскрыши грунта при строительстве дороги вдоль обочин размещаются насыпи (отвалы) высотой до нескольких метров (см. рис. 2). На отвалах сформировались растительные сообщества со значительным развитием злаков. В напочвенном покрове этих сообществ и рядом с отвалами широко представлен *N. commune*, на отдель-

ных участках выступающий как доминантный вид. Единичные макроколонии *N. commune* были обнаружены в растительном покрове ненарушенных прилегающих территорий.

Материалом для исследования послужили колонии, собранные на разном расстоянии от автомагистрали. Как отмечалось выше, территория характеризуется сложным рельефом. Образцы вида отбирали на 3-х пробных площадях (ПП) размером 100–150 м в длину и 20–25 м в ширину (см. рис. 2). ПП 1 расположена в непосредственной близости от трассы, захватывает обочину и склон насыпи, обращенный к дороге (табл. 1, см. рис. 2). ПП 2 и 3 находились у подножия отвалов с их противоположных от трассы

Таблица 1. Краткая характеристика мест отбора образцов

Table 1. Characteristics of the sampling areas

Пробные площади	Учетные площадки	Широта (N/°)	Долгота (E/°)	Высота (м)
1	1	53,02771	105,48410	670
1	2	53,02795	105,48454	678
1	3	53,02805	105,48501	677
1	4	53,02782	105,48411	685
1	5	53,02784	105,48422	677
1	6	53,02840	105,48589	682
1	7	53,02816	105,48564	676
2	8	53,02707	105,48431	676
2	9	53,02705	105,48428	674
2	10	53,02710	105,48447	676
2	11	53,02711	105,48453	676
2	12	53,02795	105,48454	673
2	13	53,02716	105,48472	674
2	14	53,02719	105,48528	675
3	15	53,02832	105,48447	673
3	16	53,02830	105,48431	673
3	17	53,02831	105,48424	672
3	18	53,02829	105,48418	674
3	19	53,02819	105,48380	673
3	20	53,02820	105,48393	671
3	21	53,02802	105,48360	667

сторон. Некоторые участки ПП 2 и 3 также были перекопаны во время строительства дороги. ПП 3 характеризуется наименьшей нарушенностью. На каждой ПП закладывали учетные площадки размером 1 м², на которых собирали все макроколонии вида. Площадки выбирали с учетом биомассы *N. commune*, поскольку для исследований необходимо значительное ее количество. Всего было заложено по 7 таких площадок. На учетных площадках ПП 2 и 3 также были взяты пробы поверхностных горизонтов дерново-карбонатной почвы для определения кислотности – О (0–1 см), А1 (1–4 см), А2В1 (5–15 см).

Талломы *N. commune* с одной учетной площадки объединяли в один смешанный образец, всего их 21. Собранные образцы промывали в дистиллированной воде, высушивали на воздухе при комнатной температуре, измельчали до порошкообразного состояния. Исследование содержания элементов в *Nostoc* проводилось после озоления материала в муфельной печи при 450 °С и его растворения в концентрированной HCl. Содержание кальция (Ca), магния (Mg), калия (K), натрия (Na) устанавливали методом эмиссионной пламенной фотометрии (пламенный фотометр Flapho 4 производства Carl Zeiss, Германия). Марганец (Mn), железо (Fe), цинк (Zn), медь (Cu), свинец (Pb), кадмий (Cd) определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии (атомно-абсорбционные спектрофотометры AAS Vario 6 производства Analytik Jena AG, Германия; Spectrum One FT-IR фирмы PerkinElmer Life and Analytical Sciences, США). Для измерений pH почвы использовали pH-метр Hanna Checker HI 98103 (Hanna Instruments, Китай). Все измерения проведены в 3-кратной аналитической повторности.

Для статистической обработки полученных данных применяли пакет статистических программ R версии 3.5.1 (2018). Для установления корреляции между содержанием минеральных элементов в *Nostoc* и кислотностью почвы использовали непараметрический коэффициент Спирмена. Рассчитывали t-критерий для определения уровня значимости. Карты исследуемой территории построены с помощью программы Google Earth.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные нами данные по содержанию минеральных элементов в талломах вида (табл. 2, рис. 3) в целом согласуются с таковыми в образцах *N. commune* из других регионов [18, 21–24] и водорослей пресноводных экосистем [3, 17, 25].

По усредненному содержанию элементы в ностоке ранжируются в следующем порядке: Ca>Mg>K>Fe>Na>Mn>Zn>Cu>Pb>Cd. Ранее сообщалось о способности *N. commune* накапливать значительное количество кальция и о том, что его можно отнести к кальцефилам [21]. Полученные нами данные согласуются с литературными.

По сравнению с высшими растениями региональные образцы *N. commune* накапливают значительно большие количества железа, тогда как концентрации других измеренных нами элементов находятся в диапазоне, установленном для континентальной растительности. Среднее содержание железа в растительном покрове континентов составляет 200 мг·кг⁻¹. Для примера,

в Забайкалье в травянистых растениях степей железа в среднем содержалось 182 (флуктуации 82–280) мг·кг⁻¹, в луговых растениях – 130 (56–195) мг·кг⁻¹, в смешанных травостоях – 164 (58–330) мг·кг⁻¹, в растениях рапса – 301 (214–435) мг·кг⁻¹ [цит. по 26]. В изученных талломах *Nostoc commune* содержание железа в среднем составило 2112 мг·кг⁻¹ (пределы колебаний 864–6011). Сходные данные по накоплению железа в ностоке были получены для образцов вида из тундровых биогеоценозов Российской Арктики [22]. В.И. Ермолаев [27] также отмечал, что образцы вида из якутской тундры содержат много железа, хотя значения автором не указаны. Повышенные концентрации Fe в талломах *N. commune* могут отражать геохимические особенности ландшафтов. Так, по данным исследований в Китае в ностоке не выявлено высокого содержания железа, значения варьировались в пределах, установленных для высших растений [23]. Другие исследователи отметили, что изученные ими образцы *N. commune* накапливали до 3940 мг·кг⁻¹ Fe [18].

В талломах *N. commune*, собранных на разном расстоянии от автотрассы Р-418, содержание кальция, магния, калия, натрия, марганца, железа, цинка, меди, свинца и кадмия сильно варьировалось (см. рис. 3, см. табл. 2). Отмечены значительные различия в содержании элементов в талломах *N. commune*, собранных на одной ПП (см. рис. 3), что может быть обусловлено местными особенностями почвенно-растительного покрова.

Известно, что в травянистых биогеоценозах горных регионов почвенно-растительный покров отличается комплексностью и неоднородностью [28–30]. В целом колонии вида, функционирующие рядом с автомагистралью на ПП 1, накапливали больше свинца, чем таковые на ПП 2 и 3, хотя максимальные значения этого элемента найдены в ностоке с одной из площадок на ПП 3. Только в талломах вида, функционировавших в непосредственной близости от трассы, обнаружены максимальные содержания кальция, магния, натрия, цинка, меди и кадмия (см. табл. 2, см. рис. 3). Вероятно, поступление этих элементов во многом обусловлено выбросами транспорта. Содержание калия, железа, марганца на ПП 1 не превышало таковое на ПП 2 и 3, расположенных на удалении от автомагистрали. *N. commune* не имеет специализированных тканей для поглощения элементов и воды, сорбция происходит пассивно. Вид занимает нижний ярус биогеоценозов, поэтому большое значение имеют особенности рельефа и характер растительного покрова, влияющие на поступление элементов из атмосферы. На наш взгляд, этим можно объяснить существенные различия в содержании ряда элементов в талломах *N. commune* вблизи магистрали и на удалении от нее, поскольку наличие отвалов вдоль дороги и развитый травянистый покров препятствуют поступлению элементов к колониям, растущим на поверхности почвы.

Уровни накопления химических элементов в живых организмах определяются явлениями синергизма и антагонизма между элементами, которые не постоянны. Они возникают и меняют свой характер в зависимости от стадии развития организма, концентрации элемента в среде и погодных условий. Степень

Таблица 2. Кислотность почвы и содержание элементов в талломах *N. commune* из Байкальского региона
Table 2. Soil acidity and element content in *N. commune* thalloms from the Baikal region

ПП*	УП**	рН (Н ₂ О почвы)/ горизонты				рН (КС) почвы/ горизонты				Содержание минеральных элементов в <i>Nostoc</i> (мг·кг ⁻¹ абс. сухого веса)									
		О	А1	А2В1	О	А1	А2В1	Сд	Рb	Мn	Fe	Cu	Zn	Ca	Mg	K	Na		
1	1	-***	-	-	-	-	-	0,134	3,92	107,80	3626,00	12,42	39,20	27440,00	8689,34	1731,34	326,66		
1	2	-	-	-	-	-	-	0,036	3,11	84,94	2156,00	4,24	16,98	8068,66	1698,66	2450,00	323,40		
1	3	-	-	-	-	-	-	0,069	6,20	45,74	1992,66	3,26	13,06	6206,66	1143,34	1992,66	280,94		
1	4	-	-	-	-	-	-	0,049	1,55	48,50	1681,33	4,53	14,23	9312,00	1746,00	2037,00	206,93		
1	5	-	-	-	-	-	-	0,036	1,48	51,73	1261,00	2,45	8,08	3556,67	646,67	2392,67	1778,33		
1	6	-	-	-	-	-	-	0,059	4,60	42,46	1829,34	3,92	20,26	8493,34	1829,34	2384,66	316,86		
1	7	-	-	-	-	-	-	0,059	4,60	49,00	2482,66	4,90	18,62	8591,34	2058,00	2482,66	271,14		
2	8	6,2	6,8	7,8	6,0	6,7	7,3	0,104	1,23	32,33	1067,00	4,53	17,14	14226,70	4494,33	1746,00	320,10		
2	9	6,8	6,9	8,0	6,6	6,8	7,4	0,086	0,84	41,60	864,00	3,84	16,96	14080,03	4640,00	1312,00	380,80		
2	10	6,8	7,1	7,2	6,6	7,0	7,1	0,108	1,30	49,00	1502,66	4,24	21,24	17574,60	5716,66	1764,00	336,46		
2	11	6,7	6,9	7,8	6,5	6,8	7,2	0,052	2,19	71,86	2352,00	4,90	20,23	11760,00	4050,66	2711,34	610,86		
2	12	6,6	6,6	7,4	6,3	6,5	7,2	0,059	1,50	39,20	1078,00	3,60	25,48	19698,00	6860,00	1600,66	454,06		
2	13	6,9	7,1	7,1	6,8	7,0	7,1	0,065	2,36	48,50	1422,67	5,50	22,63	17783,33	6143,33	1746,00	378,30		
2	14	5,8	5,8	6,4	5,4	5,6	6,0	0,046	4,24	120,86	6010,66	7,18	27,12	5978,00	2646,00	3038,00	316,86		
3	15	6,3	5,8	5,6	5,4	5,3	5,0	0,052	2,91	78,40	1143,34	3,26	20,58	7513,34	1666,00	2221,34	258,06		
3	16	-	-	-	-	-	-	0,059	6,86	88,20	2613,34	4,24	17,32	7513,34	1731,34	1927,34	248,26		
3	17	6,1	6,4	6,2	5,8	6,0	5,9	0,075	1,46	74,37	1907,67	3,88	23,28	8591,34	1992,66	2580,66	1078,00		
3	18	6,2	6,0	6,3	5,8	5,2	6,1	0,030	2,13	78,40	2809,34	5,22	20,90	6631,34	1502,66	1992,66	313,60		
3	19	5,9	6,2	6,2	5,8	5,6	5,5	0,051	1,11	45,27	1099,33	2,30	13,26	7210,33	1713,67	1843,00	523,80		
3	20	5,9	5,9	6,1	5,8	5,8	5,7	0,037	1,65	62,70	2244,00	3,96	24,75	7491,00	1782,00	2738,99	366,30		
3	21	6,5	6,4	6,4	5,8	5,8	5,6	0,042	2,38	91,46	3201,34	4,90	26,14	8591,34	2058,00	2352,00	277,66		

Примечание. * – пробные площади; ** – учетные площади; *** – данные отсутствуют.

корреляции между содержаниями элементов варьируется и изменяется от очень слабой до сильной [8, 18]. Нами установлена значительная положительная корреляция между содержанием ряда минеральных элементов в *Nostoc commune*, особенно марганцем

и железом, кальцием и магнием, и отрицательная корреляция между натрием и свинцом (табл. 3).

В литературе имеются противоречивые сведения о влиянии почвы на химический состав *N. commune* [18, 23]. В результате проведенных исследований

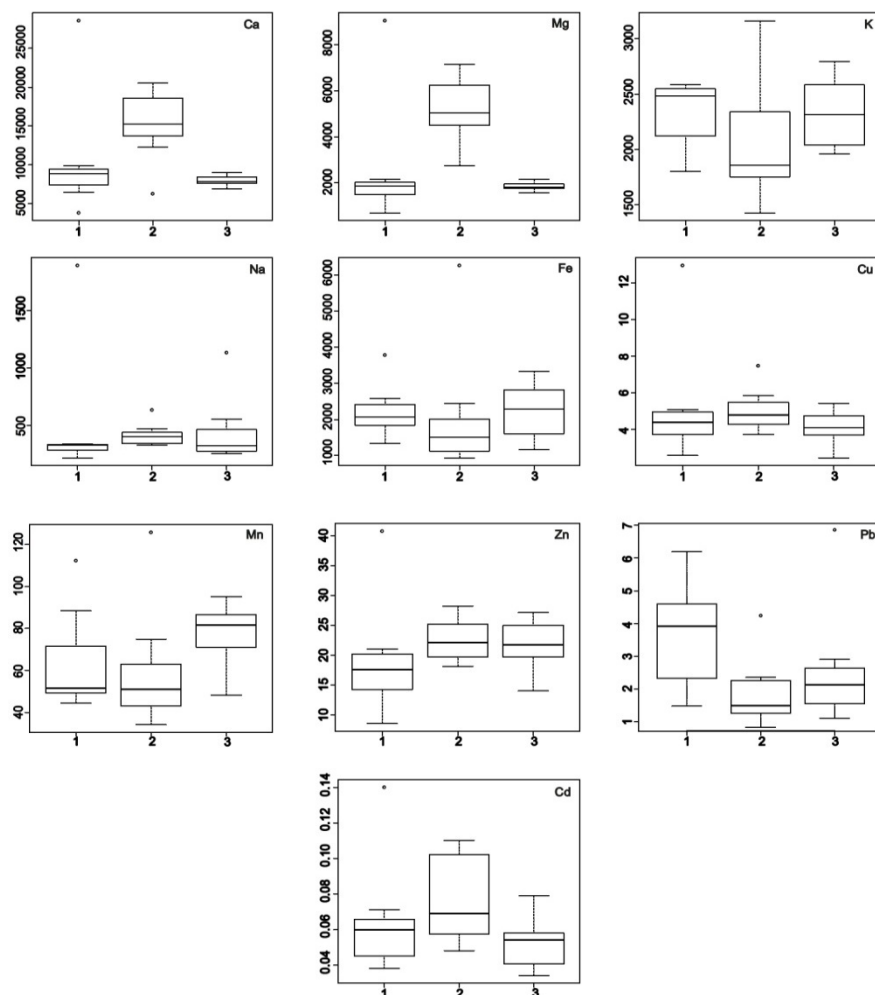


Рис. 3. Содержание минеральных элементов в талломах *Nostoc commune* ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ абсолютно сухой массы), собранных на разном расстоянии от автодороги. 1, 2, 3 – пробные площади ($n = 7$)

Fig. 3. *Nostoc commune* mineral compositions ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of absolutely dry matter) collected from different location near the road P-418 in Baikal region. 1 – sample area (SA) 1; 2 – SA 2; 3 – SA 3 ($n=7$)

Таблица 3. Корреляция между элементами в *Nostoc commune*

Table 3. Correlation between elements in the *Nostoc commune*

	Cd	Pb	Mn	Fe	Cu	Zn	Ca	Mg	K	Na
Cd	–	-0,075	-0,340	-0,260	0,043	0,091	0,639	0,603	-0,539	0,063
Pb	-0,075	–	0,472	0,665	0,327	0,160	-0,245	-0,189	0,325	-0,606
Mn	-0,340	0,472	–	0,804	0,468	0,459	-0,281	-0,156	0,456	-0,242
Fe	-0,260	0,665	0,804	–	0,656	0,460	-0,244	-0,062	0,495	-0,369
Cu	0,043	0,327	0,468	0,656	–	0,536	0,333	0,468	0,099	-0,282
Zn	0,091	0,160	0,459	0,460	0,536	–	0,339	0,573	0,082	0,040
Ca	0,639	-0,245	-0,281	-0,244	0,333	0,339	–	0,854	-0,548	0,161
Mg	0,603	-0,189	-0,156	-0,062	0,468	0,573	0,854	–	-0,398	0,267
K	-0,539	0,325	0,456	0,495	0,099	0,082	-0,548	-0,398	–	-0,076
Na	0,063	-0,606	-0,242	-0,369	-0,282	0,040	0,161	0,267	-0,076	–

Таблица 4. Корреляция между элементами в *Nostoc* и кислотностью почвы

Table 4. Correlation between *Nostoc* elements and soil pH

Элементы	Коэффициент корреляции Спирмена					
	pH (KCl) почвы / горизонт			pH (H ₂ O) почвы / горизонт		
	0	A1	A2B1	0	A1	A2B1
Cd	0,580*	0,795**	0,586*	0,482	0,721**	0,606*
Pb	-0,053	-0,407	-0,440	-0,077	-0,451	-0,335
Mn	-0,637*	-0,573*	-0,609*	-0,186	-0,581*	-0,515
Fe	-0,577*	-0,511	-0,500	-0,363	-0,528	-0,412
Cu	0,010	0,073	0,191	0,084	0,075	0,232
Zn	-0,261	-0,159	-0,215	-0,165	-0,291	-0,242
Ca	0,824**	0,850**	0,644*	0,765**	0,855**	0,614*
Mg	0,777**	0,838**	0,761**	0,632*	0,764**	0,798**
K	-0,601*	-0,543	-0,576*	-0,592*	-0,634*	-0,518
Na	0,425	0,440	0,310	0,088	0,368	0,275

Примечание. Уровень статистической значимости: * – $p=0,05$; ** – $p=0,01$.

нами показано, что кислотность верхних горизонтов изученных почв варьируется от слабокислой до слабощелочной (см. табл. 2). Ранее было установлено, что кислотность органической подстилки и верхних гумусовых горизонтов снижается при переходе от ненарушенных к антропогенно нарушенным почвам [31]. Результаты ранговой корреляции Спирмена между содержанием элементов в *Nostoc* и кислотностью почвы показали, что концентрации Ca, Mg и Cd значительно и позитивно коррелируют с pH почвы (табл. 4). Выявлена отрицательная корреляция между Fe, Mn, K и кислотностью верхних горизонтов. Полученные данные свидетельствуют о том, что процессы, протекающие в почве, имеют значение для накопления ностоком элементов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые установлено содержание ряда элементов (Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, Pb) в талломах почвенной цианобактерии *Nostoc commune*, популяции которой функционируют в травянистых растительных сообществах Байкальского региона разной степени антропогенной нарушенности. Показано, что вид аккумулирует значительные количества кальция и может быть отнесен к кальцефилам. В сравнении с высшими растениями носток способен в высоких концентрациях аккумулировать железо, тогда как содержание других измеренных элементов находится в диапазоне значений,

установленных для континентальной растительности.

Установлено, что в условиях сложного рельефа местности, хорошо развитого растительного покрова воздействие техногенного загрязнения на наземные водоросли во многом зависит от близости их расположения к источнику загрязнения. В наших исследованиях максимальные концентрации Pb, Cd, Zn, Cu, Ca, Mg, Na были отмечены в образцах, собранных в непосредственной близости от автомагистрали.

Одним из определяющих факторов, влияющих на накопление химических элементов живыми организмами, является содержание элементов и их доступность в среде обитания. Атмосфера – это не единственный источник минерального питания и состава наземных водорослей. Такими источниками могут служить мертвые остатки высших растений, разрушающиеся коренные породы или почва [21]. Наши исследования показали, что процессы, происходящие в почве, влияют на накопление *Nostoc commune* химических элементов, т.к. установлена значительная корреляция между содержанием ряда элементов в ностоке и кислотностью почвы. Отмечена статистически значимая положительная корреляция между содержанием Ca, Mg, Cd в ностоке и pH почвы, отрицательная – между Fe, Mn, K и pH. Представляют большой интерес дальнейшие исследования в этой области.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Санина Н.Б., Чупарина Е.В., Нестерова А.А. Химический состав растительности Байкальского биосферного заповедника (в связи с проблемой деградации пихтовых лесов северного склона хр. Хамар-Дабан) // Сибирский экологический журнал. 2004. Т. 11. N 1. С. 57–65.
2. Белоголова Г.А., Коваль П.В., Матяшенко Г.В., Гуничева Т.Н., Чупарина Е.В. Распределение макроэлементов в растениях Южного Прибайкалья // Сибирский экологический журнал. 2006. Т. 13. N 3. С. 359–396.
3. Куликова Н.Н., Парадина Л.Ф., Сутурин А.Н., Таничева И.В., Ижболдина Л.А., Ханаев И.В. [и др.]. Микроэлементный состав круглогодично вегетирующих макроводорослей каменистой литорали оз. Байкал (Россия) // Альгология. 2008. Т. 18. N 3. С. 244–255.
4. Гребенщикова В.И., Китаев Н.А., Лустенберг Э.Е., Медведев В.И., Ломоносов И.С., Карчевский А.Н. Распределение радиоактивных элементов в окружающей среде Прибайкалья (Сообщение 1. Уран) // Сибирский экологический журнал. 2009. Т. 16. N 1. С. 17–28.
5. Гребенщикова В.И., Китаев Н.А., Лустенберг Э.Е., Медведев В.И., Ломоносов И.С., Карчевский А.Н. Распределение радиоактивных элементов в окружающей среде Прибайкалья (Сообщение 2.

- Торий и цезий-137) // Сибирский экологический журнал. 2010. Т. 17. N 3. С. 493–503.
6. Нечаева Е.Г., Белозерцева И.А., Напрасникова Е.В., Воробьева И.Б., Давыдова Н.Д., Дубынина С.С. [и др.]. Мониторинг и прогнозирование вещественно-динамического состояния геосистем Сибирских регионов: монография. Новосибирск: Наука, 2010. 315 с.
7. Павлова Л.А., Ткаченко А.В., Горегляд А.В., Кузьмин М.И. Особенности изучения элементного состава (неорганических компонентов) створок диатомовых водорослей методом РСМА // Методы и объекты химического анализа. 2014. Т. 9. N 2. С. 65–72.
8. Сосорова С.Б., Меркушева М.Г., Убугунов Л.А. Содержание микроэлементов в лекарственных растениях разных экосистем озера Котокельского (Западное Забайкалье) // Химия растительного сырья. 2016. N 2. С. 53–59. <https://doi.org/10.14258/jcprp.201602697>.
9. Шветцов С.Г., Воронин В.И. Распределение урана и тория в почве и растениях Восточной Сибири (Иркутская область) // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. 2019. Т. 12. N 1. С. 86–100. <https://doi.org/10.17516/1997-1389-0035>.
10. Шергина О.В., Михайлова Т.А., Калугина О.В. Изменение биогеохимических показателей в сосновых лесах при техногенном загрязнении // Сибирский лесной журнал. 2018. N 4. С. 29–38. <https://doi.org/10.15372/SJFS20180404>.
11. Bogush A.A., Bobrov V.A., Klimin M.A., Bychinskii V.A., Leonova G.A., Krivonogov S.K., et al. Sedimentation and accumulation of elements in the Vydrino Peat Bog (Southern Baikal Region) // Russian Geology and Geophysics. 2019. Vol. 60, no. 2. P. 163–175. <https://doi.org/10.15372/RGG2019012>.
12. Shiretorova V.G., Zhigzhitzhapova S.V., Dylenova E.P., Radnaeva L.D. Accumulation of heavy metals in aquatic vegetation of the Barguzin River // E3S Web of Conferences. 2020. Vol. 169. P. 01018. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202016901018>.
13. Кашин В.К. Содержание микроэлементов в пырее в Западном Забайкалье // Агрохимия. 2020. N 3. С. 55–61. <https://doi.org/10.31857/S0002188120030072>.
14. Егорова И.Н., Шамбуева Г.С., Шергина О.В., Шинен Н. К экологии *Nostoc commune* (Cyanoprokaryota) из Южной Сибири и Монголии // Сибирский лесной журнал. 2019. N 1. С. 16–29. <https://doi.org/10.15372/SJFS20190102>.
15. Егорова И.Н., Коновалов М.С., Шергина О.В., Дударева Н.В., Тупикова Г.С. Ассоциации водорослей и мохообразных рода *Hedwigia* P. Beauv. в горной тайге Хэнтэя (Забайкальский край, Россия) // Сибирский лесной журнал. 2020. N 6. С. 64–80. <https://doi.org/10.15372/SJFS20200606>.
16. Obana S., Miyamoto K., Motita S., Ohmori M., Inubushi K. Effect of *Nostoc* sp. on soil characteristics plant growth and nutrient uptake // Journal of Applied Phycology. 2007. Vol. 19, no. 6. P. 641–646. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9193-4>.
17. Revilla S.R., Pérez J.M., Salas J.V. Evaluación de la capacidad acumuladora de Cd(II), Pb(II) y Cr(VI) por colonias de *Nostoc commune* “Murmunta” // Revista de la Sociedad Química del Perú. 2018. Vol. 84, no. 2. P. 239–246.
18. Wang W., Li H., Guénon R., Yang Yu., Shu X., Cheng X., et al. Geographical variability of mineral elements and stability of restrictive mineral elements in terrestrial cyanobacteria across gradients of climate, soil and atmospheric wet deposition mineral concentration // Frontiers in Microbiology. 2021. Vol. 11. P. e582655. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582655>.
19. Флоренсов Н.А., Олюнин В.Н. Рельеф и геологическое строение // Предбайкалье и Забайкалье. М.: Наука, 1965. С. 23–90.
20. Угланов М.Н., Бояркин В.М., Иванов И.Н., Филиппова С.А. Природно-мелиоративные условия в лесостепных районах Восточной Сибири. Иркутск: ИГУ, 1990. 160 с.
21. Большев Н.Н. Водоросли и их роль в образовании почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1968. 84 с.
22. Patova E.N., Sivkov M.D. Accumulation of heavy metals by *Nostoc commune* Vauch. ex Bornet et Flahault (Cyanoprokaryota) in terrestrial tundra ecosystems of the Russian Arctic // Algological Studies. 2003. Vol. 109, no. 1. P. 469–473. <https://doi.org/10.1127/1864-1318/2003/0109-0469>.
23. Diao Y., Han H., Zhang D., Zhou Ji., Yang Z. Determination of nine microelements in *Nostoc commune* Vauch by ICP-AES // Advanced Materials Research. 2012. Vol. 518-523. P. 5020–5023. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.518-523.5020>.
24. Горностаева Е.А., Фокина Ф.И., Кондакова Л.В., Огородникова С.Ю., Домрачева Л.И., Лаптев Д.С. [и др.]. Потенциал природных биопленок *Nostoc commune* как сорбентов тяжелых металлов в водной среде // Вода: химия и экология. 2013. N 1. С. 93–101.
25. Hoktha P., Kaewmekha A. Determination of heavy metal (Pb, Cd and Zn) in blue-green algae (*Nostoc commune*) by atomic absorption spectrophotometry // International Journal of Advances in Science Engineering and Technology. 2016. Vol. 3. P. 1–2.
26. Кашин В.К. Особенности накопления микроэлементов степной растительностью Западного Забайкалья // Агрохимия. 2014. N 6. С. 69–76.
27. Ермолаев В.И. Экологические особенности и значение *Nostoc commune* F. ulvaceum Elenk. // Экология. 1979. N 4. С. 90–92.
28. Козлова А.А., Кузьмин В.А., Напрасникова Е.В. Функционирование почв в бугристо-западных экосистемах Верхнего Приангарья // Сибирский экологический журнал. 2010. N 3. С. 407–417.
29. Убугунов Л.Л., Гынинова А.Б., Белозерцева И.А., Доржготов Д., Убугунова В.И., Сороковой А.А. [и др.]. Географические закономерности распределения почв на водосборной территории оз. Байкал (к карте «почвы бассейна оз. Байкал») // Природа Внутренней Азии. 2018. N 2. С. 8–26.
30. Намзалов Б.Б. Экстразональные степные явления в горах Южной Сибири: особенности пространственной организации, очаги новейшего видообразования и ценогенеза // Сибирский экологический журнал. 2020. N 5. С. 600–611. <https://doi.org/10.15372/SEJ20200504>.

31. Егорова И.Н., Тупилова Г.С., Шергина О.В., Казановский С.Г. Дополнительные сведения о водорослях почв степных фитоценозов Предбайкалья // Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной

Азии: материалы IV Всероссийской научной конференции с международным участием (г. Улан-Удэ, 15–18 июня 2021 г.). Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2021. С. 153–156.

REFERENCES

1. Sanina N.B., Chuparina E.V., Nesterova A.A. Chemical composition of plants in the Baikal biospheric reserve (in connection with the problem of degradation of fir forest at the northern side of the Khamar-Daban mountain ridge). *Sibirskij ekologicheskij zhurnal = Contemporary Problems of Ecology*. 2004;11(1):57-65. (In Russian).
2. Belogolova G.A., Koval P.V., Matyashenko G.V., Gunicheva T.N., Chuparina E.V. Distribution of macroelements in plants of the South Baikal region. *Sibirskii ekologicheskii zhurnal = Contemporary Problems of Ecology*. 2006;13(3):359-396. (In Russian).
3. Kulikova X.X., Paradina I.F., Sitiurin A.N., Tanicheva I.V., Izhboldma I.A., Khunaev I.V., et al. Trace element composition of all-the-year-round vegetating macroalgae on the stony littoral of lake Baikal (Russia). *Algologiya*. 2008;18(3):244-255. (In Russian).
4. Grebenshchikova V.I., Kitaev N.A., Lustenberg E.E., Lomonosov I.S., Medvedev V.I., Karchevskii A.N. Radioactive elements distribution in the environment of Pribaikal'e. Communication 1. Uranium. *Sibirskii ekologicheskii zhurnal = Contemporary Problems of Ecology*. 2009;16(1):17-28. (In Russian).
5. Grebenshchikova V.I., Kitaev N.A., Lustenberg E.E., Lomonosov I.S., Medvedev V.I., Karchevskii A.N. Radioactive elements distribution in the environment of Pribaikal'e. Communication 2. Thorium and cesium -137. *Sibirskii ekologicheskii zhurnal = Contemporary Problems of Ecology*. 2010;17(3):493-503. (In Russian).
6. Nechaeva E.G., Belozertseva I.A., Naprasnikova E.V., Vorobyeva I.B., Davydova N.D., Dubynina S.S. *Monitoring and forecasting of the substance-dinamical state of geosystems in the Siberian regions: monograph*. Novosibirsk: Nauka; 2010. 315 p. (In Russian).
7. Pavlova L.A., Tkachenko L.L., Goreglyad A.V., Kuzmin M.I. Peculiarities of the diatom valve chemical composition (inorganic components) study by electron probe X-ray microanalysis. *Metody i ob'ekty khimicheskogo analiza = Methods and Objects of Chemical Analysis*. 2014;9(2):65-72. (In Russian).
8. Sosorova S.B., Merkusheva M.G., Ubugunov L.L. The content of trace elements in medicinal plants of different ecosystems of Lake Kotokelskoe (Western Transbaikalia). *Khimija rastitel'nogo syr'ya*. 2016;(2):53-59. <https://doi.org/10.14258/jcprm.201602697>. (In Russian).
9. Shvettsov S.G., Voronin V.I. Distribution of uranium and thorium in soil and woody plants of Eastern Siberia (Irkutsk Region). *Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Biologiya = Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2019;12(1):86-100. (In Russian). <https://doi.org/10.17516/1997-1389-0035>.
10. Shergina O.V., Mikhailova T.A., Kalugin O.V. Change of biogeochemical indexes in pine forests under technogenic pollution. *Sibirskii lesnoi zhurnal*. 2018;(4):29-38. <https://doi.org/10.15372/SJFS20180404>.
11. Bogush A.A., Bobrov V.A., Klimin M.A., Bychinskii V.A., Leonova G.A., Krivonogov S.K., et al. Sedimentation and accumulation of elements in the Vydrino Peat Bog (Southern Baikal Region). *Russian Geology and Geophysics*. 2019;60(2):163-175. <https://doi.org/10.15372/RGG2019012>.
12. Shiretorova V.G., Zhigzhitzhapova S.V., Dylenova E.P., Radnaeva L.D. Accumulation of heavy metals in aquatic vegetation of the Barguzin River. *E3S Web of Conferences*. 2020;169:01018. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202016901018>.
13. Kashin V.K. Microelements content of *Elytrigia repens* (L.) in the Western Transbaikalia. *Agrokimiya = Agrohimia*. 2020;(3):55-61. (In Russian). <https://doi.org/10.31857/S0002188120030072>.
14. Egorova I.N., Shambueva G.S., Shergina O.V., Shinen N. On the ecology of *Nostoc commune* (Cyanoprokaryota) in Southern Siberia and Mongolia. *Sibirskii lesnoi zhurnal*. 2019;(1):16-29. (In Russian). <https://doi.org/10.15372/SJFS20190102>.
15. Egorova I.N., Kononov M.S., Shergina O.V., Dudareva N.V., Tupikova G.S. Algae and epilithic mosses associations of the *Hedwigia* P. Beauv. genus in mountain taiga of the Khentey uplands (Zabaykalskiy krai, Russia). *Sibirskii lesnoi zhurnal*. 2020;(6):64-80. (In Russian). <https://doi.org/10.15372/SJFS20200606>.
16. Obana S., Miyamoto K., Motita S., Ohmori M., Inubushi K. Effect of *Nostoc* sp. on soil characteristics plant growth and nutrient uptake. *Journal of Applied Phycology*. 2007;19(6):641-646. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9193-4>.
17. Revilla S.R., Pérez J.M., Salas J.V. Evaluación de la capacidad acumuladora de Cd(II), Pb(II) y Cr(VI) por colonias de *Nostoc commune* "Murmunta". *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 2018;84(2):239-246.
18. Wang W., Li H., Guénon R., Yang Yu., Shu X., Cheng X., et al. Geographical variability of mineral elements and stability of restrictive mineral elements in terrestrial cyanobacteria across gradients of climate, soil and atmospheric wet deposition mineral concentration. *Frontiers in Microbiology*. 2021;11:e582655. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582655>.
19. Florensov N.A., Olyunin V.N. Relief and geological structure. In: *Cisbaikalia and Transbaikalia*. Moscow: Nauka; 1965, p. 23–90. (In Russian).
20. Uglanov M.N., Boyarkin V.M., Ivanov I.N., Filipova S.A. *Natural and ameliorative conditions in the forest-steppe regions of Eastern Siberia*. Irkutsk: IGU; 1990. 160 p. (In Russian).
21. Bolyshchev N.N. *Algae and their role in soil formation*. Moscow: Izd-vo Mosk. un-ta; 1968. 84 p. (In Russian).
22. Patova E.N., Sivkov M.D. Accumulation of heavy metals by *Nostoc commune* Vauch. ex Bornet et Flahault (Cyanoprokaryota) in terrestrial tundra ecosystems of the Russian Arctic. *Algological Studies*. 2003;109(1):469-473. <https://doi.org/10.1127/1864-1318/2003/0109-0469>.
23. Diao Y., Han H., Zhang D., Zhou Ji., Yang Z. Determination of nine microelements in *Nostoc commune*

Vauch by ICP-AES. *Advanced Materials Research*. 2012;518-523:5020-5023. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.518-523.5020>.

24. Gornostaeva E.A., Fokina A.I., Kondakova L.V., Ogorodnikova S.Yu., Domracheva L.I., Laptev D.S., et al. Application perspectiveness of *Nostoc commune* biofilms as heavy metal sorbent in water. *Voda: khimiya i ekologiya*. 2013;(1):93-101. (In Russian).

25. Hoktha P., Kaewmekha A. Determination of heavy metal (Pb, Cd and Zn) in blue-green algae (*Nostoc commune*) by atomic absorption spectrophotometry. *International Journal of Advances in Science Engineering and Technology*. 2016;(3):1-2.

26. Kashin V.K. Accumulation features of microelements in steppe plants of Western Transbaikalia. *Al'gologiya = Algologia*. 2014;(6):69-76. (In Russian).

27. Ermolaev V.I. Ecological features and importance of *Nostoc commune* F. *ulvaceum* Elenk. *Ekologiya = Ecology*. 1979;(4):90-92. (In Russian).

28. Kozlova A.A., Kuz'min V.A., Naprasnikova E.V. Functioning of soils in the hummock-hollow ecosystems of the upper Angara Region. *Sibirskij Ekologicheskij*

Zhurnal. 2010;(3):407-417. (In Russian).

29. Ubugunov L.L., Gyninova A.B., Belozertseva I.A., Dorjgotov D., Ubugunova V.I., Sorokovoy A.A., et al. Geographical patterns of soil distribution within the watersheds of Baikal (as applied to the map "the soils of Baikal basin"). *Priroda Vnutrennei Azii = Nature of Inner Asia*. 2018;(2):8-26. (In Russian).

30. Namzalov B.B. Extrazonal phenomena in the mountains of Southern Siberia: peculiarities of morbidity, focus and progressive speciation and cenogenesis. *Sibirskij Ekologicheskij Zhurnal*. 2020;(5):600-611. (In Russian). <https://doi.org/10.15372/SEJ20200504>.

31. Egorova I.N., Tupikova G.S., Shergina O.V., Kazanovskii S.G. Additional information about algae in soils of steppe phytocenoses of Cisbaikalia. In: *Raznoobrazie pochv i bioty Severnoi i Tsentral'noi Azii: materialy IV Vserossiiskoi nauchnoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem = Diversity of Soils and Biota of North and Central Asia: Proceedings of the All-Russian Scientific Conference with International Participation*. 15-18 June 2021, Ulan-Ude. Ulan-Ude: Izd-vo BNTs SO RAN; 2021, p. 153-156. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Егорова Ирина Николаевна,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии и биохимии растений,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
✉ egorova@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2774-1653>

Шергина Ольга Владимировна,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии и биохимии растений,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
✉ sherolga80@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6333-8821>

Тупикова Галина Сергеевна,
ведущий технолог, аспирант,
Сибирский институт физиологии и биохимии растений,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
✉ galina93shambueva@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1751-1969>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 21.03.2022.
Одобрена после рецензирования 25.04.2022.
Принята к публикации 28.02.2023.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Irina N. Egorova,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
✉ egorova@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2774-1653>

Olga V. Shergina,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
✉ sherolga80@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6333-8821>

Galina S. Tupikova,
Leading Technologist, Postgraduate Student,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
✉ galina93shambueva@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1751-1969>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 21.03.2022.
Approved after reviewing 25.04.2022.
Accepted for publication 28.02.2023.

Научная статья

УДК 621.892.3

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-77-87>



Специализированная липидная композиция для профилактики гиперлипидемии и ожирения

А.В. Табакаев^{*,**✉}, О.В. Табакаева^{*}, М.Ю. Щелканов^{*,**}

^{*}Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Российская Федерация

^{**}Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова,
г. Владивосток, Российская Федерация

Аннотация. В современном мире алиментарно-зависимые социально значимые заболевания, в частности ожирение и гиперлипидемия, приобрели масштабы эпидемии, требующей значительных усилий и средств для снижения потерь. Более эффективным и целесообразным является профилактика данных заболеваний, в том числе и с применением специализированных липидных композиций. Цель представленного исследования заключалась в разработке специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения. Используемый метод – купажирование растительных масел и стабилизация природным антиоксидантом с целью повышения устойчивости при хранении. Жирнокислотный состав специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения исследован методом газожидкостной хроматографии, органолептические, физико-химические показатели определены стандартными методами. Устойчивость при хранении оценивалась по перекисному и кислотному числам. В качестве компонентов использованы соевое, низкоэруковое рапсовое, льняное и рыжиковое масла, а также масло микроводорослей *Schizochytrium* sp. Антиоксидантом служил масляный экстракт ксантофиллов из бурой морской водоросли Дальневосточного региона – *Sargassum miyabei*. Специализированные липидные композиции на основе соевого масла характеризуются более высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот, чем на основе низкоэрукового рапсового (72,93–76,25% против 60,71–66,64%). По органолептическим и физико-химическим показателям разработанные специализированные липидные композиции для профилактики гиперлипидемии и ожирения соответствовали требованиям нормативной документации. Введение в состав специализированных липидных композиций масляного экстракта ксантофиллов из бурой водоросли *Sargassum miyabei* позволило существенно увеличить стабильность в хранении (6 месяцев вместо 3 месяцев контроля).

Ключевые слова: специализированная липидная композиция, омега-6/омега-3 жирные кислоты, ксантофиллы, ожирение, гиперлипидемия, профилактика

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ (проект 22-76-00008).

Для цитирования: Табакаев А.В., Табакаева О.В., Щелканов М.Ю. Специализированная липидная композиция для профилактики гиперлипидемии и ожирения // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 77–87. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-77-87>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity

Anton V. Tabakaev^{*,**✉}, Oksana V. Tabakaeva^{*}, Mikhail Yu. Shchelkanov^{*,**}

^{*}Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

^{**}G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Today, alimentary-associated socially significant diseases, such as hyperlipidemia and obesity, have reached epidemic proportions, thus requiring significant healthcare resources to combat the consequences. Prevention of these diseases, including by using specialized lipid compositions, seems to be a more effective and feasible approach. In this work, specialized lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity are developed. The research was based on blending vegetable oils followed by stabilization with a natural antioxidant to increase the shelf life. The fatty acid composition of the obtained lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity was studied by gas-liquid chromatography; the organoleptic, physical, and chemical parameters were determined by conventional methods. The shelf life was evaluated by peroxide and acid number. Soybean, low-erucic rapeseed, linseed, and camelina oils, as well as *Schizochytrium* sp. microalgae oil, were used. An oil extract of xanthophylls from *Sargassum miyabei* – a brown alga from the Far East region – was used as an

© Табакаев А.В., Табакаева О.В., Щелканов М.Ю., 2023

antioxidant. The lipid compositions based on soybean oil were characterized by a higher content of polyunsaturated fatty acids compared to those based on low-erucic rapeseed oil (72.93–76.25% vs. 60.71–66.64%). In terms of organoleptic and physicochemical parameters, the developed lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity meet the requirements of regulatory documentation. The introduction of an oil extract of xanthophylls from the *Sargassum miyabei* brown alga significantly increased the shelf life of the studied compositions (6 months compared to 3 months of control).

Keywords: specialized lipid composition, omega-6/omega-3 fatty acids, xanthophylls, obesity, hyperlipidemia, prevention

Funding. The work was supported by a grant from the Russian Science Foundation (project 22-76-00008).

For citation: Tabakaev A.V., Tabakaeva O.V., Shchelkanov M.Yu. Lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):77-87. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-77-87>.

ВВЕДЕНИЕ

По последним оценкам ВОЗ, более 1 млрд человек в мире имеет лишний вес. Эта проблема актуальна независимо от социальной и профессиональной принадлежности, зоны проживания, возраста и пола. В экономически развитых странах почти 50% населения имеет избыточный вес, из них 30% страдает ожирением. С каждым годом увеличивается число детей и подростков, страдающих ожирением. ВОЗ рассматривает ожирение как глобальную эпидемию, охватывающую миллионы людей¹ [1]. Абсолютно точно доказана связь между ожирением и такими угрожающими жизни заболеваниями, как сахарный диабет 2-го типа, артериальная гипертензия, атеросклероз, некоторые виды злокачественных опухолей, нарушения репродуктивной функции, заболевания ЖКТ и опорно-двигательного аппарата. Также к числу наиболее распространенных у человека форм патологии липидного обмена, кроме ожирения, относят гиперлипидемию, являющуюся причиной сердечно-сосудистых заболеваний, в частности атеросклероза [2]. Лечение ожирения и гиперлипидемии является консервативным, основу составляет диетотерапия, в которой одна из рекомендаций – контроль за количеством и качественным составом жира в диете (рекомендуется ограничение количества жира до 30% и менее от общей калорийности рациона за счет преимущественного использования низкожировых и обезжиренных продуктов при обеспечении в диете равного соотношения между насыщенными, моно- и полиненасыщенными жирными кислотами) [3]. Несмотря на то, что в диетотерапии ожирения рекомендуется снижение потребления жиров (гиполипидемическая диета), необходимо учитывать важность липидов и их необходимость для метаболизма, кроме того, часто людям с избыточной массой тела и ожирением психологически сложно существенно или полностью ограничить себя в потреблении привычных и любимых продуктов с высоким содержанием жира. Одним из методов решения данной проблемы является создание специализированных пищевых систем с модифи-

цированными профилями, способными корректировать массу тела и влиять на липидный обмен с учетом высокого уровня восприятия целевой группой потребителей (людей с избыточной массой тела и гиперлипидемией). Создание безопасных и качественных, в том числе функциональных и специализированных, продуктов питания будет способствовать снижению потерь от социально значимых заболеваний, к которым относится ожирение и гиперлипидемия.

Растительные масла являются продуктами массового и практически ежедневного потребления, т.к. содержат вещества, необходимые для метаболизма человека, – жирорастворимые витамины, незаменимые жирные кислоты, стерины, другие биологически активные вещества (БАВ). Использование растительных жиров заметно увеличилось в связи с развитием новых технологий, позволяющих получать новые виды растительных масел, в том числе и из нетрадиционного сырья.

Традиционные широко распространенные растительные масла характеризуются несбалансированным жирнокислотным составом с преобладанием отдельных жирных кислот, что позволяет относить их к определенной группе, в частности такие масла, как оливковое, высокоолеиновое подсолнечное, относятся к олеиновой группе, т.к. характеризуются высоким содержанием олеиновой кислоты. Подсолнечное, кукурузное, конопляное и другие виды масел относятся к линолевой группе с преобладанием омега-6 линолевой кислоты. Льняное, низкоолеиновое рапсовое, рыжиковое, горчичное, соевое и другие виды масел относятся к линоленовой группе с повышенным содержанием α -линоленовой (омега-3) кислоты².

Отдельные представители жирных кислот, такие как среднецепочечные жирные кислоты (высшие жирные карбоновые кислоты с числом углеродных атомов от 12 до 14), моно- и полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) групп омега-6 (линолевая, γ -линоленовая, арахидоновая кислоты) и омега-3 (α -линоленовая, эйкозапентаеновая, докозагексаеновая кислоты), являются функциональными ингредиентами³. Моно- и полиненасыщенные жирные кисло-

¹Obesity and overweight // World Health Organization. 2020. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (29.01.2023).

²Бурункова Ю.Э. Растительные масла: свойства, технологии получения и хранения, окислительная стабильность: учебно-методическое пособие. СПб.: ИТМО, 2020. 82 с.

³ГОСТ Р 54059-2010. Продукты пищевые функциональные. Ингредиенты пищевые функциональные. Классификация и общие требования. М.: Стандартинформ, 2019. 8 с.

ты оказывают функциональное действие на липидный обмен, в частности влияют на поддержание уровня триацилглицеринов в крови и поддержание уровня общего холестерина и липопротеинов высокой и низкой плотности в крови, что важно для людей с гиперлипидемией. Полиненасыщенные жирные кислоты семейства омега-3 влияют на метаболизм углеводов путем поддержания уровня глюкозы и инсулина в крови, что значимо для людей с ожирением и сахарным диабетом. Среднецепочечные жирные кислоты принимают участие в метаболизме питательных веществ, активизируя метаболизм липидов и липолиз³, что важно для людей с гиперлипидемией и ожирением.

Однако, кроме жирнокислотного состава индивидуального масла, должно учитываться и соотношение омега-6/омега-3 жирных кислот. Несбалансированность данного соотношения ПНЖК является фактором риска многих алиментарно-зависимых заболеваний, в том числе гиперлипидемии и ожирения. Оптимальным соотношением омега-3/омега-6 жирных кислот считается 1:2–1:5. Специализированные пищевые системы с высоким содержанием длинноцепочечных ПНЖК семейства омега-3 прежде всего линоленовой, докозагексаеновой (ДГК) и эйкозапентаеновой (ЭПК) способны в определенной степени нивелировать избыток насыщенных жиров и ПНЖК семейства омега-6 в питании человека. Таким образом, регулируя содержание ПНЖК семейства омега-3 можно создать специализированные пищевые системы с функциональными свойствами для профилактики гиперлипидемии и ожирения [4–8].

В то же время молекулы ПНЖК потенциально являются мишенью перекисного окисления, что негативно сказывается на их биологической активности [9], следовательно, существует целесообразность и необходимость введения в специализированные пищевые системы для профилактики гиперлипидемии и ожирения с высоким уровнем ПНЖК омега-3 эффективных антиоксидантов, в частности каротиноидов.

Биологическая активность каротиноидов научно доказана многочисленными исследованиями [10–16]. Группа каротиноидов является достаточно многочисленной (около 600 представителей), к ней относятся разнообразные по своей структуре вещества. По своему строению каротиноиды делятся на каротины и ксантофиллы. Ксантофиллы – это кето- и различные эпокси- или фураноксипроизводные, а также гидроксипроизводные, синтезируемые при гидроксировании концевых фрагментов молекулы, более распространены, чем каротины. Морские организмы способны синтезировать (водоросли) и накапливать (асцидии, голотурии, двустворчатые моллюски) каротиноиды, преимущественно ксантофиллы. Основным источником каротиноидов среди морских организмов являются водоросли, в основном бурые. Бурые водоросли богаты природными антиоксидантами, в том числе и каротиноидами, в частности фукоксантином и изопреноидами [12]. Именно они могут служить источниками каротиноидов для дальнейшего использования в качестве эффективной добавки в липидную композицию.

Кроме того, существует довольно много исследований, доказывающих, что каротиноиды обладают

способностью оказывать влияние на снижение веса тела [17–19]. Таким образом, введение ксантофиллов бурых водорослей в состав липидной композиции определяется не только антиоксидантной активностью, но и влиянием на метаболические процессы в организме человека [20–23].

Исходя из вышесказанного, разработка специализированных пищевых систем с модифицированным липидным профилем для профилактики гиперлипидемии и ожирения является актуальной задачей. Модификация липидного профиля производится за счет изменения жирнокислотного состава в сторону увеличения содержания ПНЖК омега-3 с учетом соотношения омега-3/омега-6, а также за счет введения ксантофиллов бурых водорослей (фукоксантина, фукоксантинола) как антиоксидантов и метаболически активных соединений.

Целью работы являлась разработка специализированных липидных композиций для профилактики ожирения и гиперлипидемии заданного жирнокислотного состава и отношения семейств омега-6/омега-3, фортифицированных ксантофиллами из морских бурых водорослей.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве источника каротиноидов (ксантофиллов) использован таллом (слоевеище) бурой водоросли *Sargassum miyabei* Yendo, относящейся к классу *Cyclosporophyceae*, порядку *Fucales* Kylin, семейству *Sargassaceae* (Decne) Kütz. Данная водоросль многолетняя, относится к потенциально промысловым видам, масса одного слоевища – до 7 кг. Распространена в Японском и Охотском морях [24]. Масляный экстракт ксантофиллов получали реэкстракцией соевым растительным маслом в течение 8 ч из глицеринового экстракта, извлеченного при использовании в качестве экстрагента 60% глицерина, продолжительность процесса – 8 ч [25].

Содержание ксантофиллов определяли спектрофотометрическим методом. Пигментный комплекс выделяли 100%-м ацетоном. Гомогенат фильтровали через фильтр Шотта при помощи водоструйного насоса. Для полноты извлечения каротиноидов остаток с фильтра переносили в ступку для повторной экстракции еще 5 мл ацетона. Остаток на фильтре промывали ацетоном до обесцвечивания растворителя. Каротиноиды переводили в гексан, смешивая в делительной воронке объединенные ацетоновые экстракты с 5 мл гексана и осторожно добавляя 150 мл 5%-го водного раствора NaCl для разделения гексанового и водного слоев. Экстракт промывали небольшим количеством дистиллированной воды (20–30 мл) для удаления следов ацетона, после чего сушили в течение суток безводным сульфатом натрия. К аликвоте спиртового раствора приливали равное количество 5%-го раствора NaOH в этаноле и ставили в темное место на 12 ч. Каротиноиды реэкстрагировали гексаном, который промывали водой для удаления следов щелочи и высушивали безводным сульфатом натрия. Количественное содержание каротиноидов определяли спектрофотометрически на сканирующем спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония) в ацетоновой вытяжке при длине волны 450 нм [26].

Жирнокислотный анализ липидов проводили с помощью ГЖХ-масс-спектрометра (Hewlett Packard 5890, США). Липиды из образца экстрагировали смесью хлороформ-метанол (2:1). Хлороформенную фазу упаривали и обрабатывали 1%-м метилатом натрия при температуре 56 °С в течение 20 мин. Метилловые эфиры жирных кислот экстрагировали хлороформом и анализировали [27, 28].

Органолептические показатели (запах, цвет и прозрачность) специализированной липидной композиции для профилактики ожирения и гиперлипидемии устанавливали стандартными методами⁴.

Определение кислотного числа специализированной липидной композиции для профилактики ожирения и гиперлипидемии осуществляли нейтрализацией свободных жирных кислот, содержащихся в навеске, спиртовым раствором гидроксида натрия согласно ГОСТ 31933-2012⁵, определение массовой доли фосфорсодержащих веществ – по ГОСТ 31753-2012⁶, содержание влаги и летучих веществ устанавливали по ГОСТ 11812-66⁷, перекисное число – по ИСО 3960:2007⁸, анизидиновое число – по ГОСТ 31756-2012⁹.

Все исследования проводили в 3-кратной повторности. Экспериментальные данные представлены в виде $M \pm m$. Статистическую обработку осуществляли с использованием пакетов прикладных статистических программ Excel, Statistica 7.0. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента при 95%-м уровне значимости.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Методом получения специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения выбрано купажирование растительных ма-

сел с учетом заданного соотношения омега-3/омега-6 с последующей стабилизацией ксантофиллами бурой водоросли *Sargassum miyabei*. Использование купажирования растительных масел как метода коррекции недостаточности ПНЖК и несбалансированности соотношения омега-3/омега-6 с целью профилактики гиперлипидемии и ожирения является эффективным и оправданным с учетом массовости потребления данных пищевых систем. В качестве основы для купажирования выбраны соевое и низкоэруковое рапсовое масла. К дополнительным добавкам относятся масло микроводорослей *Schizochytrium* sp., которое является источником эссенциальных ЭПК и ДГК, а также нетрадиционные растительные масла – льняное, рыжиковое (в качестве источников омега-3 жирных кислот). Жирнокислотный состав выбранных индивидуальных масел, определенных экспериментально, представлен в табл. 1.

Нетрадиционные растительные масла – льняное, рыжиковое и масло микроводорослей *Schizochytrium* sp. – характеризуются высоким содержанием ПНЖК, однако оно обеспечивается разными жирными кислотами. В льняном и рыжиковом маслах преобладающей кислотой является α -линоленовая, что согласуется с результатами других исследований [29, 30]. Соотношение кислот омега-6 и омега-3 в данных маслах является оптимальным, однако отсутствуют ЭПК и ДГК. Соевое масло характеризуется достаточно высоким содержанием ПНЖК, в отличие от низкоэрукового рапсового, в основном за счет линолевой кислоты, однако соотношение кислот омега-6 и омега-3 в нем далеко от оптимального. Низкоэруковое рапсовое масло демонстрирует минимальное содержание ПНЖК, полученные результаты согласуются с литера-

Таблица 1. Жирнокислотный профиль индивидуальных растительных масел

Table 1. Fatty acid profile of individual vegetable oils

Кислота Масло	Линолевая	α -лино- леновая	γ -лино- леновая	ЭПК	ДГК	Общее содержание ПНЖК	ω -6	ω -3	Соотношение ω /6: ω /3
	Массовая доля, %								
Соевое	48,7 $\pm$ 2,12	9,4 $\pm$ 0,37	3,1 $\pm$ 0,14	н/о*	н/о	61,2 $\pm$ 2,84	51,8 $\pm$ 2,26	9,4 $\pm$ 0,40	1:0,18
Низкоэруковое рапсовое	20,6 $\pm$ 0,69	9,6 $\pm$ 0,40	1,0 $\pm$ 0,09	н/о	н/о	31,2 $\pm$ 1,27	21,6 $\pm$ 0,84	9,6 $\pm$ 0,38	1:0,48
Льняное	28,3 $\pm$ 1,15	42,1 $\pm$ 1,86	20,4 $\pm$ 1,05	н/о	н/о	90,8 $\pm$ 4,21	48,7 $\pm$ 2,31	42,1 $\pm$ 2,03	1:0,86
Рыжиковое	18,9 $\pm$ 0,76	41,3 $\pm$ 1,97	30,2 $\pm$ 1,17	н/о	н/о	90,4 $\pm$ 4,18	49,1 $\pm$ 2,27	41,3 $\pm$ 2,05	1:0,84
Микроводорослей <i>Schizochytrium</i> sp.	10,3 $\pm$ 0,43	5,7 $\pm$ 0,21	1,6 $\pm$ 0,07	11,5 $\pm$ 0,48	61,0 $\pm$ 2,76	90,1 $\pm$ 4,09	11,9 $\pm$ 0,48	78,2 $\pm$ 3,54	1:6,57

Примечание. * – не определялось.

⁴ГОСТ 5472-50. Масла растительные. Определение запаха, цвета и прозрачности. М.: Изд-во «Стандарт», 1950. 12 с.

⁵ГОСТ 31933-2012. Масла растительные. Методы определения кислотного числа. М.: Стандартинформ, 2014. 11 с.

⁶ГОСТ 31753-2012. Масла растительные. Методы определения фосфорсодержащих веществ. М.: Стандартинформ, 2014. 10 с.

⁷ГОСТ 11812-66. Масла растительные. Методы определения влаги и летучих веществ. М.: Изд-во «Стандарт», 1966. 11 с.

⁸ИСО 3960:2007. Жиры и масла животные и растительные. Определение перекисного числа. Йодометрическое (визуальное) определение по конечной точке. М.: Стандартинформ, 2014. 22 с.

⁹ГОСТ 31756-2012 (ISO 6885:2006). Жиры и масла животные и растительные. Определение анизидинового числа. М.: Стандартинформ, 2014. 13 с.

турными данными [31, 32]. В масле микроводорослей *Schizochytrium* sp. преобладающими ПНЖК являются ЭПК и ДГК.

Модификация липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения проводилась с учетом потребностей организма человека в липидах и их биологической эффективности¹⁰. Так как кроме жирных кислот метаболически активными веществами, способными влиять на ожирение и гиперлипидемию, являются ксантофиллы с алленовыми связями, в частности ксантофиллы бурых водорослей – фукоксантин и его производное фукоксантинол, их вводили в состав специализированной липидной композиции в виде масляного экстракта, получаемого методом реэкстракции растительным маслом из спиртового (глицеринового) раствора из бурой водоросли *Sargassum miyabei*. Согласно литературным данным, потребление 2,4–3,0 мг фукоксантина в день способствовало значительному снижению веса и содержания жира в организме [33]. Исходя из этого, было определено необходимое содержание

фукоксантина – 2,5–3,0 мг в 100 мл специализированной липидной композиции.

Разработано 6 модельных специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения, состав которых представлен в табл. 2. В качестве контроля определена система, включающая все использованные растительные масла и не содержащая масляный экстракт ксантофиллов из *Sargassum miyabei*.

Все специализированные липидные композиции для профилактики гиперлипидемии и ожирения в качестве компонента включали масло микроводорослей *Schizochytrium* sp. как источник ДГК и ЭПК. Рассматривались 3 и 4-компонентные системы, в которых основой являлось одно из традиционных масел – соевое или низкоэруковое рапсовое. Нетрадиционные масла – льняное и рыжиковое – вводились индивидуально или совместно.

Содержание основных эссенциальных кислот и ксантофиллов в специализированных липидных композициях для профилактики гиперлипидемии и ожирения представлено в табл. 3.

Таблица 2. Содержание основных компонентов в специализированных липидных композициях для профилактики гиперлипидемии и ожирения

Table 2. Main components content in modified lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity

Компонент специализированных липидных композиций	Модельная система						
	1	2	3	4	5	6	Контроль
	Массовая доля, %						
Масло низкоэруковое рапсовое	55	40	35	–	–	–	20
Масло микроводорослей <i>Schizochytrium</i> sp.	5	5	5	5	5	5	5
Масло льняное	30	–	20	20	–	40	20
Масло рыжиковое	–	45	25	20	35	–	20
Масло соевое	–	–	–	45	50	45	35
Экстракт ксантофиллов из бурой водоросли <i>Sargassum miyabei</i>	10	10	10	10	10	10	–

Таблица 3. Содержание основных эссенциальных кислот в специализированных липидных композициях для профилактики гиперлипидемии и ожирения

Table 3. Essential acids content in modified lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity

Специализированная липидная композиция	Линолевая*	α-линоленовая*	γ-линоленовая*	ЭПК*	ДГК*	Общее содержание ПНЖК*	ω-6*	ω-3*	Соотношение ω/6:ω/3*	Содержание ксантофиллов**
1	23,1	19,7	14,9	0,58	2,43	60,71	38,0	22,71	1:0,6	2,9
2	20,5	24,2	19,0	0,61	2,33	66,64	39,5	27,14	1:0,69	2,8
3	18,1	24,1	16,9	0,57	2,45	64,82	35,0	27,12	1:0,77	2,9
4	37,6	20,6	15,1	0,65	2,30	76,25	52,7	23,55	1:0,45	2,7
5	37,3	19,4	15,2	0,56	2,47	72,93	52,5	22,43	1:0,43	2,8
6	39,2	19,2	12,1	0,63	2,34	73,47	51,3	22,27	1:0,43	2,6
Контроль	30,6	22,8	14,9	0,60	2,45	71,35	45,5	25,85	1:0,76	–

Примечание. * – г/100 г; ** – мг/100 мл.

¹⁰МР 2.3.1.0253-21. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации [Электронный ресурс]. URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/402716140/> (29.01.2023).

Результаты исследования жирнокислотного профиля специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения, представленные в табл. 3, демонстрируют, что использование в качестве основы соевого масла позволяет получать системы с содержанием линолевой кислоты в 1,61–2,17 раза больше, чем при использовании низкоэрукового рапсового масла. По содержанию α -линоленовой жирной кислоты максимальным значением характеризуются модельные системы 2 и 3. ЭПК и ДГК содержатся приблизительно в одинаковом количестве, т.к. массовая доля их источника в рецептуре специализированных липидных композиций одинаковая. Общее содержание ПНЖК более высокое в системах 4, 5, 6 (на основе соевого масла) за счет высокого содержания линолевой кислоты, что отражается и в значениях жирных кислот семейства омега-6. Жирные кислоты семейства омега-3 в специализированных липидных композициях для профилактики гиперлипидемии и ожирения представлены максимально в композициях 2, 3, однако их содержание во всех системах различается друг от друга не более чем на 5%. Соотношение жирных кислот семейств омега-6/омега-3 является более оптимальным для специализированных липидных композиций 1–3 (на основе рапсового масла). Содержание ксантофиллов во всех модельных системах приближено к заданному.

Специализированные липидные композиции для профилактики гиперлипидемии и ожирения предполагается использовать в качестве индивидуальных пищевых специализированных систем (растительные масла) либо в качестве компонента масложировых эмульсионных систем. Исходя из этого, немаловажным вопросом является оценка их качества, в частности органолептические и физико-химические показатели. Органолептические показатели специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения представлены в табл. 4. В качестве контроля использована липидная композиция, не содержащая экстракт ксантофиллов из бурой водоросли *Sargassum miyabei*.

Органолептические характеристики разработанных специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения не отличались от характеристик традиционных растительных масел, имели характерный цвет и вкус, высокую прозрачность, запах отсутствовал. Представленные данные демонстрируют, что исследованные специализированные липидные композиции для профилактики гиперлипидемии и ожирения имеют традиционные органолептические показатели и соответствуют требованиям нормативной документации^{11,12}.

Физико-химические показатели специализирован-

Таблица 4. Органолептические показатели специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения

Table 4. Organoleptic parameters of modified lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity

Специализированная липидная композиция	Запах	Вкус	Цвет	Прозрачность
1	Отсутствует	Масла	Светло-желтый	Прозрачное, без осадка
2	Отсутствует	Масла	Ярко-желтый	Прозрачное, без осадка
3	Отсутствует	Масла	Темно-желтый	Прозрачное, без осадка
4	Отсутствует	Масла	Темно-желтый	Прозрачное, без осадка
5	Отсутствует	Масла	Ярко-желтый	Прозрачное, без осадка
6	Отсутствует	Масла	Светло-желтый	Прозрачное, без осадка
Контроль	Отсутствует	Масла	Светло-желтый	Прозрачное, без осадка

Таблица 5. Физико-химические показатели специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения

Table 5. Physico-chemical parameters of modified lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity

Специализированная липидная композиция	Перекисное число, ммоль O ₂ /кг	Кислотное число, мг КОН	Анизидиновое число, усл. ед.	Массовая доля, %	
				влаги и летучих веществ	фосфорсодержащих веществ
1	2,7±0,11	0,19±0,010	1,02±0,05	0,12±0,06	0,04±0,002
2	2,9±0,12	0,21±0,010	0,98±0,04	0,08±0,004	0,05±0,001
3	2,5±0,10	0,16±0,008	1,16±0,05	0,10±0,05	0,04±0,002
4	3,2±0,15	0,18±0,009	1,09±0,03	0,10±0,05	0,03±0,001
5	3,3±0,16	0,15±0,007	0,90±0,02	0,11±0,05	0,02±0,001
6	3,0±0,13	0,22±0,011	1,10±0,03	0,10±0,05	0,04±0,002
Контроль	3,4±0,15	0,25±0,020	1,20±0,06	0,13±0,06	0,04±0,002

¹¹ГОСТ 31760-2012. Масло соевое. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2014. 18 с.

¹²ГОСТ 31759-2012. Масло рапсовое. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2014. 12 с.

ных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения представлены в табл. 5.

Физико-химические показатели специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения после получения незначительно отличаются друг от друга по массовой доле влаги и летучих веществ, а также фосфорсодержащих веществ. Показатели, характеризующие процессы гидролиза и окисления (перекисное, кислотное и анизидиновое числа), имеют определенные различия, обусловленные в первую очередь качеством индивидуальных растительных масел, использованных при создании модельных систем. В целом все физико-химические показатели специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения не выходят за рамки нормативных требований.

Жирнокислотный состав разработанных специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения характеризуется значительным содержанием высоконепредельных ПНЖК, являющихся веществами с высокой окислительной способностью. В то же время ксантофиллы бурых водорослей относятся к эффективным антиоксидантам, способным тормозить процессы свободнорадикального окисления. На рис. 1 представлена динамика окисления липидов специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения.

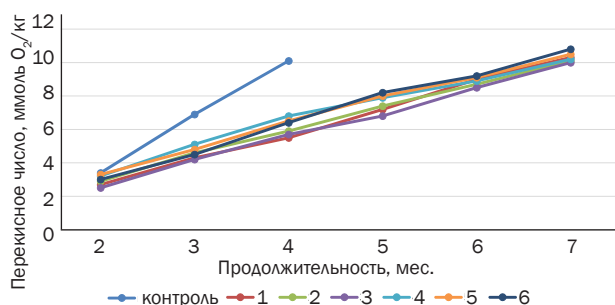


Рис. 1. Динамика окисления липидов специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения (номера специализированных липидных композиций соответствуют данным табл. 2)

Fig. 1. Dynamics of lipid oxidation of modified lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity (the numbers of specialized lipid compositions correspond to table 2)

Изменения перекисного числа липидов демонстрируют, что контрольный образец достаточно быстро подвергается окислению с накоплением первичных продуктов – перекисей и гидроперекисей – и достигает нормативного значения 10 ммоль O_2/kg после 4-х месяцев хранения за счет содержания высоконепредельных ПНЖК – ЭПК и ДГК. В то же время динамика окисления всех специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения характеризуется более низкой скоростью, перекисное число изменяется гораздо медленнее и достигает нормативного значения 10 ммоль O_2/kg на 7-й месяц хранения, что позволяет установить срок хранения 6 месяцев. Такая динамика окисления объясняется наличием в специализированных липидных

композициях для профилактики гиперлипидемии и ожирения эффективных антиоксидантов – ксантофиллов из бурой водоросли *Sargassum miyabei*.

Кроме перекисного числа, важным показателем качества липидов является кислотное число, демонстрирующее глубину процессов гидролиза ацилглицеринов. Динамика гидролиза липидов специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения представлена на рис. 2.

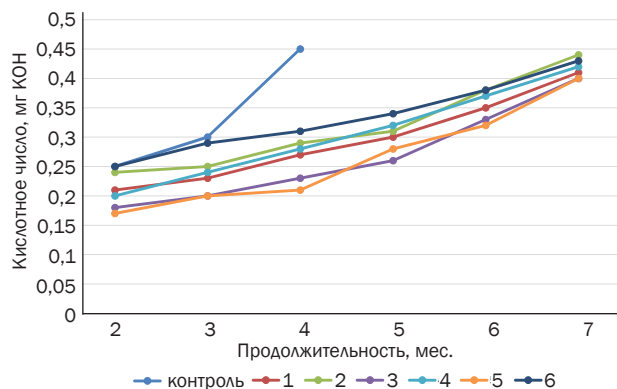


Рис. 2. Динамика гидролиза липидов специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения (номера специализированных липидных композиций соответствуют данным табл. 2)

Fig. 2. Dynamics of lipid hydrolysis of modified lipid compositions for the prevention of hyperlipidemia and obesity (the numbers of specialized lipid compositions correspond to table 2)

Введение антиоксиданта (масляный экстракт ксантофиллов из бурой водоросли *Sargassum miyabei*) в состав специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения позволяет существенно замедлить процессы гидролиза ацилглицеринов, что демонстрирует сравнение кислотного числа опытных и контрольного образцов. Гидролиз ацилглицеринов модифицированного липидного модуля для профилактики гиперлипидемии и ожирения протекает наиболее интенсивно после 3-х месяцев хранения, в течение 7 месяцев кислотное число превышает нормативное значение 0,4 мг КОН, что позволяет определить сроком хранения 6 месяцев. Для контрольного образца срок хранения составляет 3 месяца.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты проведенных исследований позволяют сделать следующие выводы. Использование низкоэрукового рапсового масла в качестве основы купажа дает возможность создавать специализированные липидные композиции для профилактики гиперлипидемии и ожирения с лучшим соотношением жирных кислот семейств омега-6/омега-3. Специализированные липидные композиции на основе соевого масла характеризуются более высоким содержанием ПНЖК, чем на основе низкоэрукового рапсового (72,93–76,25% против 60,71–66,64%). По органолептическим и физико-химическим показателям разработанные специализированные липидные

композиции для профилактики гиперлипидемии и ожирения соответствуют всем требованиям нормативной документации. Окисление и гидролиз разрабатанных специализированных липидных композиций для профилактики гиперлипидемии и ожирения протекают более медленно в сравнении с контролем, что доказывает изменения перекисного и кислотно-

го чисел. Введение в состав специализированной липидной композиции для профилактики гиперлипидемии и ожирения масляного экстракта ксантофиллов из бурой водоросли Дальневосточного региона *Sargassum miyabei* позволяет существенно увеличить стабильность в хранении (6 месяцев вместо 3 месяцев контроля).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kelly T., Yang W., Chen C.S., Reynolds K., He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030 // *International Journal of Obesity*. 2008. Vol. 32, no. 9. P. 1431–1437.
2. Баланова Ю.А., Шальнова С.А., Деев А.Д., Имаева А.Э., Концевая А.В., Муромцева Г.А. [и др.]. Ожирение в российской популяции – распространенность и ассоциации с факторами риска хронических неинфекционных заболеваний // *Российский кардиологический журнал*. 2018. Т. 23. N 6. С. 123–130. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2018-6-123-130>.
3. Драпкина О.М., Самородская И.В., Старинская М.А., Ким О.Т., Неймарк А.Е. Ожирение: оценка и тактика ведения пациентов: коллективная монография. М.: Силиция-Полиграф, 2021. 173 с.
4. Самойлова Ю.Г., Олейник О.А., Саган Е.В., Денисов Н.С., Филиппова Т.А., Подчиненова Д.В. Роль полиненасыщенных жирных кислот в протекции сердечно-сосудистых заболеваний у детей, страдающих ожирением // *Современные проблемы науки и образования*. 2019. N 6. С. 189. <https://doi.org/10.17513/spno.29241>.
5. Castaner O., Goday A., Park Y.M., Lee S.-H., Magkos F., Shiow S.-A.T., et al. The gut microbiome profile in obesity: a systematic review // *International Journal of Endocrinology*. 2018. Vol. 2018. P. 4095789. <https://doi.org/10.1155/2018/4095789>.
6. Angelantonio E.D., Bhupathiraju S.N., Wormser D., Gao P., Kaptoge S., Gonzalez A.B., et al. Body-mass index and all-cause mortality: individual participant-data-meta-analysis of 239 prospective studies in four continents // *Lancet*. 2016. Vol. 388. P. 776–786. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30175-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30175-1).
7. Denke M.A. Dietary prescriptions to control dyslipidemias // *Circulation*. 2002. Vol. 105, no. 2. P. 132–138. <https://doi.org/10.1161/hc0202.103479>.
8. Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Зорин С.Н., Саркисян В.А., Мазо В.К., Кочеткова А.А. Новый функциональный пищевой ингредиент – липидный модуль, источник астаксантина и плазмалогенов // *Вопросы питания*. 2019. Т. 88. N 1. С. 49–56. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10005/>.
9. Погожева А.В. Основы рациональной диетотерапии при сердечно-сосудистых заболеваниях // *Клиническая диетология*. 2004. Т. 1. N 2. С. 17–29.
10. Gaurav R. In-vitro antioxidant properties of lipophilic antioxidant compounds from 3 brown seaweed // *Antioxidants*. 2019. Vol. 12, no. 8. P. 596–603. <https://doi.org/10.3390/antiox8120596>.
11. Gerasimenko N.I., Martyas E.A., Busarova N.G. Composition of lipids and biological activity of lipids and photosynthetic pigments from algae of the families Laminariaceae and Alariaceae // *Chemistry of Natural Compounds*. 2012. Vol. 48. P. 737–741. <https://doi.org/10.1007/s10600-012-0371-5>.
12. Bonet M.L., Canas J.A., Ribot J., Palou A. Carotenoids and their conversion products in the control of adipocyte function, adiposity and obesity // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2015. Vol. 572. P. 112–125. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.02.022>.
13. Jesumani V., Du H., Aslam M., Pei P., Huang N. Potential use of seaweed bioactive compounds in skincare // *Marine Drugs*. 2019. Vol. 12, no. 17. P. 688. <https://doi.org/10.3390/md17120688>.
14. Fernández-García E., Carvajal-Lérida I., Jarén-Galán M., Garrido-Fernández J., Pérez-Gálvez A., Hornero-Méndez D. Carotenoids bioavailability from foods: from plant pigments to efficient biological activities // *Food Research International*. 2012. Vol. 46, no. 2. P. 438–450. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.007>.
15. Sharoni Y., Linnewiel-Hermoni K., Khanin M., Salman H., Veprik A., Danilenko M., et al. Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: a review // *Molecular Nutrition & Food Research*. 2012. Vol. 56, no. 2. P. 259–269. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100311>.
16. Meyers K.J., Mares J.A., Igo R.P., Truitt B., Liu Z., Millen A.E., et al. Genetic evidence for role of carotenoids in age-related macular degeneration in the carotenoids in age-related eye disease study (CAREDS) // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2014. Vol. 55, no. 1. P. 587–599. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-13216>.
17. Seca A.M., Pinto D.C. Overview on the antihypertensive and anti-obesity effects of secondary metabolites from seaweeds // *Marine Drugs*. 2018. Vol. 7, no. 16. P. 237. <https://doi.org/10.3390/md16070237>.
18. Rodriguez-Concepcion M., Avalos J., Bonet M.L., Boronat A., Gomez-Gomez L., Hornero-Mendez D., et al. A global perspective on carotenoids: metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health // *Progress in Lipid Research*. 2018. Vol. 70. P. 62–93. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.04.004>.
19. Mounien L., Tourniaire F., Landrier J.-F. Anti-obesity effect of carotenoids: direct impact on adipose tissue and adipose tissue-driven indirect effects // *Nutrients*. 2019. Vol. 11. P. 1562. <https://doi.org/10.3390/nu11071562>.
20. Takaichi S. Carotenoids in algae: distributions, biosyntheses and functions // *Marine Drugs*. 2011. Vol. 6, no. 9. P. 1101–1118. <https://doi.org/10.3390/md9061101>.
21. Kumar S.R., Hosokawa M., Miyashita K. Fucoxanthin: a marine carotenoid exerting anti-cancer effects by a effecting multiple mechanisms // *Marine*

Drugs. 2013. Vol. 12, no. 11. P. 5130–5147. <https://doi.org/10.3390/md11125130>.

22. Pangestuti R., Siahaan E.A. Seaweed-derived carotenoids // *Bioactive Seaweeds for Food Applications*. Amsterdam: Elsevier, 2018. P. 95–107. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813312-5.00005-4>.

23. Sharifuddin Y., Chin Y.X., Lim P.E., Phang S.M. Potential bioactive compounds from seaweed for diabetes management // *Marine Drugs*. 2015. Vol. 8, no. 13. P. 5447–5491. <https://doi.org/10.3390/md13085447>.

24. Суховеева М.В., Подкорытова А.В. Промысловые водоросли и травы морей Дальнего Востока: биология, распространение, запасы, технология переработки. Владивосток: ТИПРО-центр, 2006. 243 с.

25. Пат. N 2776649, Российская Федерация, A23L 33/105, C11B 1/10. Способ получения ксантофиллов из *Sargassum miyabei* / А.В. Табакаев, О.В. Табакаева; заявитель и патентообладатель Дальневосточный федеральный университет. Заявл. 14.03.2022; опубл. 22.07.2022. Бюл. N 21.

26. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. Carotenoids. Isolation and Analysis. Basel: Birkhäuser Verlag, 1995. Vol. 1A. 328 p.

27. Новак И.С. Количественный анализ методом газовой хроматографии / пер. с англ. К.И. Сакодын-ского. М.: Мир, 1978. 180 с.

28. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of a macro-

scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts // *Journal of Chromatography A*. 1978. Vol. 151, no. 3. P. 384–390. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)88356-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)88356-9).

29. Сизова Н.В., Пикулева И.В., Чикунова Т.М. Жирнокислотный состав масла *Camelina sativa* (L.) Crantz и выбор оптимального антиоксиданта // *Химия растительного сырья*. 2003. N 2. С. 27–31.

30. Пилипенко Т.В., Полушанян А.П., Калиенко Е.А., Мирзоян А.А. Состав и свойства льняного масла как ингредиента косметических средств // *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2014. N 103. С. 687–697.

31. Халипский А.Н., Ведров Н.Г., Рябцев А.А. Жирнокислотный состав растительного масла сортов ярового рапса в условиях Красноярской лесостепи // *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*. 2015. N 3. С. 90–94.

32. Хамракулова М.Х., Иброхимова Ф.Э. Изучение местного рапсового масла для пищевой цели // *Universum: технические науки*. 2021. N 3.

33. Beppu F., Hosokawa M., Niwano Y., Miyashita K. Effects of dietary fucoxanthin on cholesterol metabolism in diabetic/obese KK-A y mice // *Lipids in Health and Disease*. 2012. Vol. 11. P. 112–119. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-112>.

REFERENCES

1. Kelly T., Yang W., Chen C.S., Reynolds K., He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International Journal of Obesity*. 2008;32(9):1431-1437.

2. Balanova Yu.A., Shalnova S.A., Deev A.D., Imaeva A.E., Kontsevaya A.V., Muromtseva G.A., et al. Obesity in russian population – prevalence and association with the non-communicable diseases risk factors. *Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal = Russian Journal of Cardiology*. 2018;23(6):123-130. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2018-6-123-130>. (In Russian).

3. Drapkina O.M., Samorodskaya I.V., Starinskaya M.A., Kim O.T., Neimark A.E. *Obesity: evaluation and management of patients: collective monograph*. Moscow: Silitseya-Poligraf; 2021. 173 p. (In Russian).

4. Samoylova Y.G., Oleynik O.A., Sagan E.V., Denisov N.S., Filippova T.A., Podchinenova D.V. The role of polyunsaturated fatty acids in the pathogenesis of cardiovascular diseases in obese children. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2019;(6):189. (In Russian). <https://doi.org/10.17513/spno.29241>.

5. Castaner O., Goday A., Park Y.M., Lee S.-H., Magkos F., Shiow S.-A.T., et al. The gut microbiome profile in obesity: a systematic review. *International Journal of Endocrinology*. 2018;2018:4095789. <https://doi.org/10.1155/2018/4095789>.

6. Angelantonio E.D., Bhupathiraju Sh.N., Wormser D., Gao P., Kaptoge S., Gonzalez A.B., et al. Body-mass index and all-cause mortality: individual participant-data-meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *Lancet*. 2016;388:776-786. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30175-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30175-1).

7. Denke M.A. Dietary prescriptions to control dys-

lipidemias. *Circulation*. 2002;105(2):132-138. <https://doi.org/10.1161/hc0202.103479>.

8. Sidorova Yu.S., Petrov N.A., Zorin S.N., Sarkisyan V.A., Mazo V.K., Kochetkova A.A. New functional food ingredient – lipid module, source of astaxanthine and plasmalogenes. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2019;88(1):49-56. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10005/>.

9. Pogozheva A.V. Fundamentals of rational diet therapy for cardiovascular diseases. *Klinicheskaya dietologiya*. 2004;1(2):17-29. (In Russian).

10. Gaurav R. In-vitro antioxidant properties of lipophilic antioxidant compounds from 3 brown seaweed. *Antioxidants*. 2019;12(8):596-603. <https://doi.org/10.3390/antiox8120596>.

11. Gerasimenko N.I., Martyyas E.A., Busarova N.G. Composition of lipids and biological activity of lipids and photosynthetic pigments from algae of the families Lamnariaceae and Alariaceae. *Chemistry of Natural Compounds*. 2012;48:737-741. <https://doi.org/10.1007/s10600-012-0371-5>.

12. Bonet M.L., Canas J.A., Ribot J., Palou A. Carotenoids and their conversion products in the control of adipocyte function, adiposity and obesity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2015;572:112-125. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.02.022>.

13. Jesumani V., Du H., Aslam M., Pei P., Huang N. Potential use of seaweed bioactive compounds in skin-care. *Marine Drugs*. 2019;12(17):688. <https://doi.org/10.3390/md17120688>.

14. Fernández-García E., Carvajal-Lérida I., Jarén-Galán M., Garrido-Fernández J., Pérez-Gálvez A., Hornero-Méndez D. Carotenoids bioavailability from foods:

from plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*. 2012;46(2):438-450. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.007>.

15. Sharoni Y., Linnewiel-Hermoni K., Khanin M., Salman H., Veprik A., Danilenko M., et al. Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: a review. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2012;56(2):259-269. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100311>.

16. Meyers K.J., Mares J.A., Igo R.P., Truitt B., Liu Z., Millen A.E., et al. Genetic evidence for role of carotenoids in age-related macular degeneration in the carotenoids in age-related eye disease study (CAREDS). *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2014;55(1):587-599. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-13216>.

17. Seca A.M., Pinto D.C. Overview on the antihypertensive and anti-obesity effects of secondary metabolites from seaweeds. *Marine Drugs*. 2018;7(16):237. <https://doi.org/10.3390/md16070237>.

18. Rodriguez-Concepcion M., Avalos J., Bonet M.L., Boronat A., Gomez-Gomez L., Hornero-Mendez D., et al. A global perspective on carotenoids: metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Progress in Lipid Research*. 2018;70:62-93. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.04.004>.

19. Mounien L., Tourniaire F., Landrier J.-F. Anti-obesity effect of carotenoids: direct impact on adipose tissue and adipose tissue-driven indirect effects. *Nutrients*. 2019;11:1562. <https://doi.org/10.3390/nu11071562>.

20. Takaichi S. Carotenoids in algae: distributions, biosyntheses and functions. *Marine Drugs*. 2011;6(9):1101-1118. <https://doi.org/10.3390/md9061101>.

21. Kumar S.R., Hosokawa M., Miyashita K. Fucoxanthin: a marine carotenoid exerting anti-cancer effects by affecting multiple mechanisms. *Marine Drugs*. 2013;12(11):5130-5147. <https://doi.org/10.3390/md11125130>.

22. Pangestuti R., Siahaan E.A. Seaweed-derived carotenoids. In: *Bioactive Seaweeds for Food Applications*. Amsterdam: Elsevier; 2018, p. 95-107. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813312-5.00005-4>.

23. Sharifuddin Y., Chin Y.X., Lim P.E., Phang S.M. Potential bioactive compounds from seaweed for diabetes management. *Marine Drugs*. 2015;8(13):5447-5491. <https://doi.org/10.3390/md13085447>.

24. Sukhoveeva M.V., Podkorytova A.V. *Commercial algae and grasses of the seas of the Far East: biology, distribution, stocks, processing technology*. Vladivostok: TINRO-tsentr; 2006. 243 p. (In Russian).

25. Tabakaev A.V., Tabakaeva O.V. *Method for obtaining xanthophylls from Sargassum miyabei*. Patent RF, no. 2776649; 2022. (In Russian).

26. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. *Carotenoids. Isolation and Analysis*. Basel: Birkhäuser Verlag; 1995, vol. 1A. 328 p.

27. Novak J.P. Quantitative analysis by gas chromatography; 1975. 218 p. (Russ. ed.: Novak I.S. *Kolichestvennyi analiz metodom gazovoi khromatografii*. Moscow: Mir; 1978. 180 p.).

28. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts. *Journal of Chromatography A*. 1978;151(3):384-390. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)88356-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)88356-9).

29. Sizova N.V., Pikuleva I.V., Chikunova T.M. Fatty acid composition of *Camelina sativa* (L.) Crantz oil and the choice of the optimal antioxidant. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya = Chemistry of plant raw material*. 2003;(2):27-31. (In Russian).

30. Pelipenko T.V., Gyulushanyan H.P., Kalienko E.A., Mirzoyan A.A. The composition and properties of flax oil as a cosmetic ingredient. *Politematicheskii setevoi elektronnyi nauchnyi zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Polythematic Online Scientific Journal of Kuban State Agrarian University*. 2014;(103):687-697. (In Russian).

31. Khalipskiy A.N., Vedrov N.G., Ryabtsev A.A. The vegetable oil fatty-acid composition of the spring rape sorts in the Krasnoyarsk forest-steppe conditions. *Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Bulletin of KSAU*. 2015;(3):90-94. (In Russian).

32. Khamrakulova M., Ibrokhimova F. Studying local rapeseed oil for food purpose. *Universum: tekhnicheskoe nauki*. 2021;(3). (In Russian).

33. Beppu F., Hosokawa M., Niwano Y., Miyashita K. Effects of dietary fucoxanthin on cholesterol metabolism in diabetic/obese KK-A y mice. *Lipids in Health and Disease*. 2012;11:112-119. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-112>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Табакеев Антон Вадимович,
к.т.н., доцент Департамента пищевых наук
и технологий,
Дальневосточный федеральный университет,
690091, г. Владивосток, ул. Мордовцева, 12,
Российская Федерация;
младший научный сотрудник,
Научно-исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии им. Г.П. Сомова,
690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1,
Российская Федерация,
✉tabakaev92@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5658-5069>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Anton V. Tabakaev,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Far Eastern Federal University,
12, Mordovtsev St., Vladivostok, 690091,
Russian Federation;
Junior Researcher,
G.P. Somov Research Institute of Epidemiology
and Microbiology,
1, Sel'skaya St., Vladivostok, 690087,
Russian Federation,
✉tabakaev92@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5658-5069>

Табакеева Оксана Вацлавовна,
д.т.н., доцент, профессор Департамента пищевых
наук и технологий,
Дальневосточный федеральный университет,
690091, г. Владивосток, ул. Мордовцева, 12,
Российская Федерация,
yankovskaya68@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7068-911X>

Щелканов Михаил Юрьевич,
д.б.н., доцент, заведующий базовой кафедрой
эпидемиологии, микробиологии
и паразитологии,
Дальневосточный федеральный университет,
690091, г. Владивосток, ул. Мордовцева, 12,
Российская Федерация;
директор,
Научно-исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии им. Г.П. Сомова,
690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1,
Российская Федерация,
adorob@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8610-7623>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 19.05.2022.
Одобрена после рецензирования 10.12.2022.
Принята к публикации 28.02.2023.

Oksana V. Tabakaeva,
Dr. Sci. (Engineering), Associate Professor, Professor,
Far Eastern Federal University,
12, Mordovtsev St., Vladivostok, 690091,
Russian Federation,
yankovskaya68@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7068-911X>

Mikhail Yu. Shchelkanov,
Dr. Sci. (Biology), Associate Professor,
Head of Basic Department of Epidemiology,
Microbiology and Parasitology,
Far Eastern Federal University,
12, Mordovtsev St., Vladivostok, 690091,
Russian Federation;
Director,
G.P. Somov Research Institute of Epidemiology
and Microbiology,
1, Sel'skaya St., Vladivostok, 690087,
Russian Federation,
adorob@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8610-7623>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 19.05.2022.
Approved after reviewing 10.12.2022.
Accepted for publication 28.02.2023.

Научная статья

УДК 579.66:579.017.8:579.264

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-88-98>



Влияние акрилатных гидрогелей на основные параметры культивирования и антагонистическую активность агрономически полезных бактерий

А.В. Крыжко^{*,**,*}, С.В. Дидович^{***}, А.В. Сорокин^{****,*},
М.С. Лавлинская^{****,*}

^{*}Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, Российская Федерация

^{**}Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма,

г. Симферополь, Российская Федерация

^{***}Воронежский государственный университет инженерных технологий,

г. Воронеж, Российская Федерация

^{****}Воронежский государственный университет, г. Воронеж, Российская Федерация

Аннотация. Целью работы являлось исследование влияния полимерных акрилатных гидрогелей на рост и развитие агрономически полезной микрофлоры – штаммов азотфиксаторов, фосфатмобилизаторов, энтомопатогенов и антагонистов фитопатогенов. Антибактериальное действие гидрогелей изучали методом лунок в чашках Петри по И. Сэги. Культивирование бактерий проводили в ГРМ-бульоне, определение оптической плотности среды осуществляли при 600 нм с периодичностью 1 ч в течение 48 ч. Исследование биопленкообразования вели на среде LB согласно методу O'Toole, Kolter (1998). В стерильную среду вносили образцы гидрогелей в концентрации 200; 100; 50; 25 и 12,5 мг/мл. Установлено, что штаммы *Paenibacillus polymyxa* П, *Agrobacterium tumefaciens* 204 и энтомопатогены *Bacillus thuringiensis* 0271, *B. thuringiensis* 0371 не проявляют признаков угнетения в зоне взаимодействия как с эталонными, так и с экспериментальными гидрогелями, а рост культур штаммов *Azotobacter vinelandii* 10702, *Bradyrhizobium ottawaense* M-8 и *Rhizobium leguminosarum* K-29 был ингибирован во всех вариантах опыта. Исследованные суспензии гидрогелей ГГ1 и ГГ2 в концентрации 200 мг/мл способствовали уменьшению оптической плотности культур как штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1, так и штамма *Lelliottia nimipressurales* 32-3 в среднем на 23,3 и 14,7% к контролю соответственно. Внесение в питательную среду 25–100 мг/мл ГГ2 способствует активному накоплению биомассы культурами *P. polymyxa* П и *A. tumefaciens* 204. Гидрогели способствовали усилению биопленкообразования *B. amyloliquefaciens* 01-1 в концентрации 50–200 мг/мл (ГГ1) и 100–200 мг/мл (ГГ2). Максимальную стимуляцию образования планктонной культуры и биопленки наблюдали при обогащении питательной среды 12,5–100 мг/мл ГГ1 у культуры штамма *P. polymyxa* П, выражавшуюся в увеличении интенсивности прироста бактериальной суспензии в среднем в 8,9 раз к контролю.

Ключевые слова: гидрогель, агрономически полезная микрофлора, штамм, антагонистическая активность

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке программы «Приоритет-2030» Севастопольского государственного университета (стратегический проект № 3, № 121121700318-1).

Для цитирования: Крыжко А.В., Дидович С.В., Сорокин А.В., Лавлинская М.С. Влияние акрилатных гидрогелей на основные параметры культивирования и антагонистическую активность агрономически полезных бактерий // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 88–98. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-88-98>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Effect of acrylate-based hydrogels on basic cultivation parameters and antagonistic activity of soil beneficial bacteria

Anastasiia V. Kryzhko^{*,**,*}, Svetlana V. Didovich^{***}, Andrey V. Sorokin^{****,*},
Maria S. Lavlinskaya^{****,*}

^{*}Sevastopol State University, Sevastopol, Russian Federation

^{**}Research Institute of Agriculture of Crimea, Simferopol, Russian Federation

^{***}Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russian Federation

^{****}Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

Abstract. We study the effect of polymeric acrylate-based hydrogels on the growth and development of soil beneficial microflora, including nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing microorganisms, entomopathogens and phytopathogen

© Крыжко А.В., Дидович С.В., Сорокин А.В., Лавлинская М.С., 2023

antagonists. The antibacterial effect of hydrogels (HG) was studied by the volume displacement method in Petri dishes according to Ye. Sagi. Bacteria were cultured in GRM broth; the optical density of the medium was determined at 600 nm at 1 h intervals for 48 h. The process of biofilm formation was studied in LB medium according to the method of O'Toole and Kolter (1998). HG samples were added to sterile medium at concentrations of 200, 100, 50, 25 and 12.5 mg/ml. The *Paenibacillus polymyxa* P and *Agrobacterium tumefaciens* 204 strains, as well as the *Bacillus thuringiensis* 0271 and *B. thuringiensis* 0371 entomopathogens, showed no signs of inhibition in the interaction zone with both control and experimental HG. At the same time, the culture growth of the *Azotobacter vinelandii* 10702, *Bradyrhizobium ottawaense* M-8 and *Rhizobium leguminosarum* K-29 strains was inhibited in all the experiment variants. The investigated hydrogel suspensions HG1 and HG2 at a concentration of 200 mg/ml contributed to a decrease in the optical density of cultures of both *B. amyloliquefaciens* 01-1 and *Lelliottia nimipressurales* 32-3 by on average 23.3 and 14.7%, respectively, compared to the control. Introduction of HG2 into a nutrient medium in the amount of 25–100 mg/ml promoted active accumulation of biomass by *P. polymyxa* P and *A. tumefaciens* 204. The HG1 and HG2 hydrogels at concentrations of 50–200 mg/ml and 100–200 mg/ml, respectively, enhanced the biofilm formation of *B. amyloliquefaciens* 01-1. The maximum stimulation of plankton culture and biofilm formation was observed when the *P. polymyxa* P strain culture was enriched with 12.5–100 mg/ml of HG1, which increased the intensity of bacterial suspension growth by on average 8.9 times compared to the control.

Keywords: hydrogel, soil beneficial microflora, strain, antagonistic activity

Funding. The research was carried out with the financial support of the «Priority 2030» program of Sevastopol State University (strategic project no. 3, no. 121121700318-1).

For citation: Kryzhko A.V., Didovich S.V., Sorokin A.V., Lavlinskaya M.S. Effect of acrylate-based hydrogels on basic cultivation parameters and antagonistic activity of soil beneficial bacteria. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):88-98. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-88-98>.

ВВЕДЕНИЕ

Эффективность выращивания сельскохозяйственных культур во многом определяется содержанием влаги в почве и наличием удобрений [1]. В настоящее время в агрономии активно применяются суперабсорбирующие полимерные гидрогели для улучшения физико-химических свойств почв, поддержания водного режима [3–5], усиления доступности удобрений [4, 6, 7] благодаря высокой абсорбции и способности аккумулировать огромное количество жидкости (воды, раствора) [8], что позволяет улучшить рост и развитие сельскохозяйственных растений, повысить их продуктивность. Такие суперабсорбенты существенно отличаются от гигроскопичных материалов своей многомерной сетчатой структурой. Они удерживают много воды в своей 3-мерной сети и медленно высвобождают ее вместе с питательными веществами (к примеру, ионами фосфора [9]) для растений в условиях водodefицита [4].

Различают несколько типов гидрогелей: синтетические, натуральные, композитные с определенной степенью набухания (количеством поглощенной воды по отношению к единице массы полимера), проницаемости, диффузии, сырьевого ресурса, механической прочности, эластичности, длительности действия, биодegradации, биосовместимости, экологической безопасности [2].

Высокая способность к адгезии установлена для гидрогелей, состоящих из сополимеризованных наночастиц хитозана и полиакриловой кислоты. В зависимости от модификации синтезированного гидрогеля, наличия в нем ионов меди и полиакрилатов наблюдается в разной степени выраженная антагонистическая активность относительно бактериальных культур *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, дрожжей *Candida albicans* и микромицета *Aspergillus niger* [10]. Устойчивость к акрилатным гидрогелям проявляет *Escherichia coli*, а на культуры *Salmonella typhimurium*, *Salmonella pullorum*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus*

subtilis и *Pseudomonas aeruginosa* гидрогели могут оказывать антибактериальный эффект [11].

Есть сведения о том, что полимерные гидрогели можно использовать в качестве иммобилизатора *Lactobacillus plantarum* для обогащения сока манго пробиотиками и повышения жизнеспособности бактерий в кислой среде при повышенных температурах [12] или для иммобилизации *Saccharomyces bayanus* в процессе получения этанола [13]. В промышленной биотехнологии гидрогели на основе поливинилового спирта в сочетании со спорами *Bacillus coagulans* применяются для получения молочной кислоты [14]. Существуют гидрогели, имеющие выраженные антимикробные свойства [15]. Изучение взаимодействия микроорганизмов и гидрогелей открывает перспективу разработки инновационных технологий очистки сточных вод [7], а в сочетании с соединениями фенотиазина – достижение антибиотического эффекта на патогены человека *S. aureus* и *E. coli* [16]. Используя модифицированные штаммы *Synechococcus elongatus* и *Azotobacter vinelandii*, обладающие выраженными азот- и углеродфиксирующими свойствами, получают биопластиковый полигидроксibuтират [17].

Способность бактерий к адгезии на поверхности гидрогелей и повышенная по сравнению со свободными формами жизнеспособность делает перспективным использование бактериально-гидрогельных композиций в сельском хозяйстве. Особенно важным представляется применение композиций на основе агрономически полезных штаммов азотфиксаторов, фосфатмобилизаторов и антагонистов фитопатогенов.

Перспективным является включение в состав композиции бактерий *Azotobacter vinelandii* [18] или *Bacillus subtilis* в качестве азотфиксатора [19]. Учеными из университета Махатмы Ганди (штат Керала, Индия) разработан полимерный нанокомпозитный гель для капсулирования ризобактерий/бактериальных консорциумов, стимулирующих рост и развитие растений (PGPR) [20]. В таком гидрогелем препарате жизне-

способность микроорганизмов PGPR сохранялась до 60 дней, а бактериализация им существенно улучшала структуру урожая и увеличивала зерновую продуктивность *Vigna unguiculata* L., что, по мнению авторов, позволяет снизить нагрузку применения экологически небезопасных минеральных удобрений при выращивании сельскохозяйственных культур. Таким образом, практическая значимость данного направления неоспорима для регионов с недостаточным влагообеспечением при выращивании сельскохозяйственных культур и экологизации земледелия.

Целью работы являлось исследование влияния полимерных акрилатных гидрогелей на рост и развитие агрономически полезной микрофлоры – штаммов азотфиксаторов, фосфатмобилизаторов, энтомопатогенов и антагонистов фитопатогенов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В исследовании использованы экспериментальные гидрогели, разработанные учеными Воронежского государственного университета инженерных технологий и Воронежского государственного университета. Применяемые в настоящей работе гидрогели представляют собой редкосшитые сополимеры акриловой кислоты, акрилата калия и акриламида [21]. В качестве сшивающего агента использован бифункциональный *N,N*-метилен-бис-акриламид в количестве 0,5% масс. Гидрогели получали осадительной полимеризацией акриламида и акриловой кислоты (1:3 масс.) в присутствии инициатора персульфата калия (1% масс.) в течение 2 ч при температуре 65 °С в водном растворе. По завершении синтеза образовавшийся гель перетирали с раствором гидроксида калия. Мольное соотношение акриловая кислота:гидроксид калия составляло 1:0,7 для образца № 1 (ГГ1), 1:0,5 – для образца № 2 (ГГ2). После этого гидрогели промывали этиловым спиртом и сушили в вакуумном сушильном шкафу до постоянной массы. Внешний вид используемых образцов: ГГ1 – белые кристаллы размером от 1 до 0,5 мм; ГГ2 – кристаллы с желтым оттенком размером от 1 до 0,5 мм.

В качестве контроля использовали два синтетических гидрогеля: ГГNa – полиакрилат натрия порошкообразный (SAP, Германия) и ГГК – полиакриловый суперабсорбент на основе соли калия гранулированный (SAP, Россия). Степень набухания (SR) гидрогелей – 500, pH после набухания – 7,5 (слабощелочная среда).

Антибактериальное действие гидрогелей изучали методом лунок в чашках Петри на элективных агаризованных питательных средах. Набухшие гидрогели вносили в лунки равными дозами по 0,2 мл. Зоны угнетения и стимуляции роста тест-культур оценивали через 48 ч инкубирования при температуре 28 °С [22]. В качестве тест-культур использовали штаммы агрономически полезных микроорганизмов Крымской коллекции¹ разной функциональной направленности: симбиотические азотфиксаторы гороха *Rhizobium leguminosarum* K-29 и сои *Bradyrhizobium ottawaense* M-8, ассоциативный азотфиксатор *Azotobacter vinelandii* 10702, фос-

фатмобилизирующий и стимулирующий рост и развитие растений штамм *Lelliottia nimipressurales* 32-3, антагонисты широкого круга фитопатогенов *Paenibacillus polymyxa* П, *Agrobacterium tumefaciens* 204 и *Bacillus amyloliquefaciens* 01-1, а также энтомопатогенные штаммы *Bacillus thuringiensis* 0371 и *B. thuringiensis* 0271. В контрольном варианте засев микроорганизмов проводили на питательные среды без внесения гидрогелей. На основе данных штаммов в Научно-исследовательском институте сельского хозяйства Крыма разрабатываются микробные препараты земледуобрительного, ростстимулирующего и защитного действия².

Для определения бактериостатической активности проводили культивирование бактерий в ГРМ-бульоне. В стерильную остывшую до 40 °С среду вносили образцы гидрогелей ГГ1 и ГГ2 в концентрации 200; 100; 50; 25 и 12,5 мг/мл. В качестве контроля использовали среду ГРМ-бульона, в которую вместо гидрогеля добавляли эквивалентное количество дистиллированной воды. Для инокуляции питательной среды использовали 24-часовую культуру бактерий, разведенную свежей стерильной питательной средой до оптической плотности (ОП), составившей при длине волны 600 нм 0,01–0,05 опт. ед. Микроорганизмы культивировали в 96-луночном планшете в фотометре SpectroStar NANO (BMG LABTECH, Германия) при температуре 27 °С в режиме постоянного встряхивания. Определение ОП среды проводили при длине волны 600 нм с периодичностью 1 ч в течение 48 ч.

Интенсивность прироста (ИП) бактериальной суспензии определяли при 600 нм по формуле [23, 24]:

$$\text{ИП} = \text{ОП}_{48} : \text{ОП}_0$$

где ОП₄₈ – оптическая плотность суспензии бактерий через 48 ч культивирования; ОП₀ – исходная оптическая плотность. Если показатель был равен 1, прирост отсутствовал, от 1 до 2 – был слабым, больше 2 – значительным.

Определение интенсивности биопленкообразования исследуемых штаммов оценивали методом связывания красителя генцианового фиолетового. В качестве инокулянта использовали 18-часовую культуру бактерий, выращенную на рыбо-пептонном агаре и разведенную питательной средой до ОП, составившей при длине волны 600 нм 0,01–0,05 опт. ед. Тестируемые штаммы инокулировали по 200 мкл в лунку 96-луночного планшета, в качестве контроля использовали стерильный рыбо-пептонный бульон. В стерильную среду вносили образцы контрольных и опытных гидрогелей в концентрации 200; 100; 50; 25 и 12,5 мг/мл. Максимальная концентрация вносимых гидрогелей определялась из такой, при которой образовывался прозрачный раствор, не содержащий комков и глыбок.

Планшеты герметизировали и культивировали при температуре 27 °С в течение 48 ч, затем из лунок удаляли среду с планктонными клетками. Биопленки промывали 1М фосфатно-солевым буфером (PBS, pH = 6,5), окрашивали 5 мин 0,1%-м раствором генциана фиоле-

¹Крымская коллекция микроорганизмов // Научно-технологическая инфраструктура Российской Федерации [Электронный ресурс]. URL: <http://www.ckp-rf.ru/usu/507484/> (08.02.2023).

²Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма [Электронный ресурс]. URL: <https://niishk.site/innovacionnaya-produkciya/mikrobnnye-preparaty/> (08.02.2023).

тового и осторожно промывали водой. Связавшийся с биомассой биопленок краситель растворяли в этаноле и измеряли ОП при длине волны 590 нм [25]. ОП образцов измеряли с помощью фотометра SpectroStar NANO (BMG LABTECH, Германия).

Определение способности к формированию биопленки (ОПк) определяли согласно формуле [26, 27]:

$$\text{ОПк} = X_{\text{ср}} \text{ ОПк} + 3 \cdot \text{СПк},$$

где $X_{\text{ср}}$ ОПк – среднее арифметическое значение оптической плотности, измеренной для контрольных лунок; СПк – среднеквадратичное (стандартное) отклонение контрольных значений.

Интерпретация оценки степени биопленкообразования следующая: ОП ≤ ОПк – отсутствует; ОПк < ОП ≤ 2ОПк – низкая; 2ОПк < ОП ≤ 4ОПк – умеренная; ОП > 4ОПк – значительная.

Эксперименты проводили в 3-кратной биологической повторности. Статистическую обработку данных осуществляли общепринятым методом с использованием коэффициента Стьюдента [28], в таблице и на рисунках представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. Теплокарты были построены с применением пакетов heatmap, gplots, RColorBrewer в среде R [29].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При изучении антибактериального действия гидрогелей на культуры штаммов агрономически полезных бактерий установлено, что штаммы *P. polymyxa* П,

A. tumefaciens 204 и энтомопатогены *B. thuringiensis* 0271, *B. thuringiensis* 0371 показали обильный рост культуры без признаков угнетения вокруг лунок, заполненных как контрольными, так и экспериментальными гидрогелями.

Гидрогели контроля ГГК и ГГNa не оказывали достоверного влияния на рост и развитие культур штаммов *B. amyloliquefaciens* 01-1 и *L. nimipressurales* 32-3. Гидрогель ГГ1 способствовал образованию зоны угнетения роста обоих штаммов (10,5 и 3,5 мм соответственно), а ГГ2 угнетал рост *B. amyloliquefaciens* 01-1 в зоне размером 12,3 мм.

Рост культуры штамма *A. vinelandii* 10702 был ингибирован во всех вариантах опыта (рис. 1). Зона угнетения роста была максимальной в варианте с гидрогелем ГГК и составила 5,2 мм. Исследуемые гидрогели ГГ1 и ГГ2 способствовали образованию меньших по размеру зон ингибирования роста, которые через 48 ч составили соответственно 3,5 и 2,5 мм.

В ходе эксперимента наблюдали негативное действие всех изученных полимерных гидрогелей на культуры штаммов *B. ottawaense* М-8 и *R. leguminosarum* К-29. Угнетение роста культуры *R. leguminosarum* К-29 в зоне взаимодействия с гидрогелями составило в среднем 5,1 мм. Ингибирование культуры штамма *B. ottawaense* М-8 было максимальным в вариантах с ГГ1 и ГГ2 (12,0 и 5,0 мм соответственно), размер зоны угнетения при культивировании с ГГК составил 1,5 мм, а ГГNa негативного влияния на развитие *B. ottawaense* М-8 не оказывал (таблица).

Антибактериальное действие полимерных гидрогелей на бактерии агрономически полезных штаммов микроорганизмов
Antibacterial effect of polymer hydrogels on agronomically useful bacteria

Тест-микроорганизм, штамм	Размер зон взаимодействия полимерных гидрогелей и тест-микроорганизмов, мм			
	ГГК	ГГNa	ГГ1	ГГ2
<i>A. tumefaciens</i> 204	0	0	0	0
<i>A. vinelandii</i> 10702	5,2±0,1	4,8±0,2	3,5±0,3	2,5±0,1
<i>B. amyloliquefaciens</i> 01-1	0	0	10,5±0,7	12,3±0,6
<i>B. ottawaense</i> М-8	1,5±0,1	0	12,0±0,7	5,0±0,3
<i>B. thuringiensis</i> 0271	0	0	0	0
<i>B. thuringiensis</i> 0371	0	0	0	0
<i>L. nimipressurales</i> 32-3	0	0	3,5±0,2	0
<i>P. polymyxa</i> П	0	0	0	0
<i>R. leguminosarum</i> К-29	6,7±0,5	3,4±0,2	5,3±0,3	4,8±0,5

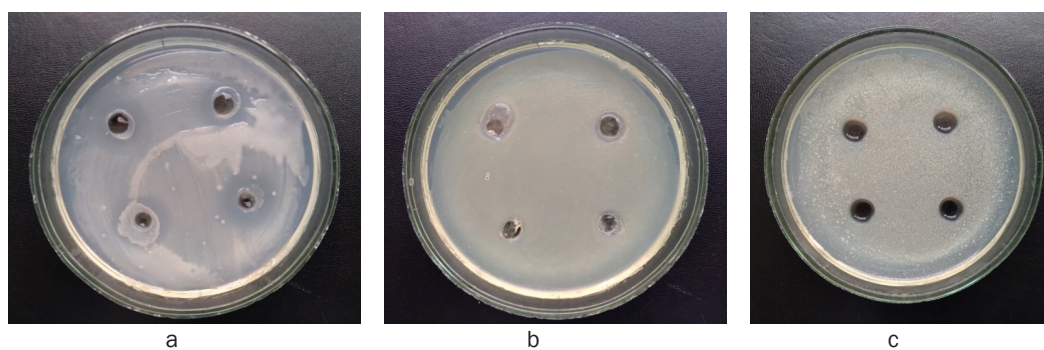


Рис. 1. Подавление роста культуры штамма *Rhizobium leguminosarum* К-29 (а) и штамма *Azotobacter vinelandii* 10702 (б) образцом полимерного гидрогеля ГГ1, отсутствие подавления роста штамма *Azotobacter vinelandii* 10702 в контроле (дистиллированная вода) (с)

Fig. 1. Suppression of *Rhizobium leguminosarum* К-29 (a) and *Azotobacter vinelandii* 10702 (b) culture growth with a sample of polymer hydrogel ГГ1, absence of *Azotobacter vinelandii* strain 10702 growth suppression in the control (distilled water) (c)

Внесение в питательную среду LB экспериментальных гидрогелей ГГ1 и ГГ2 в исследованных концентрациях оказало влияние на накопление биомассы культуры штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1, но при этом не влияло на сроки прохождения фаз развития. Культура штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1 в присутствии гидрогелей синхронно прошла фазы ускорения роста и экспоненциальную фазу, на 9 ч вошла в фазу замедления роста. В варианте с ГГ1 и ГГ2 в концентрации 12,5 мг/мл ОП культуры была минимальной и составила 0,57 опт. ед., что в среднем на 16,6% меньше, чем в контроле. Во всех остальных вариантах отмечали увеличение ОП культуральной жидкости. Максимально ОП культивируемых штаммов увеличивалась в варианте с обогащением питательной среды гидрогелями в концентрации 200 мг/мл в среднем до 0,74, что на 23,3% меньше, чем в контроле. Через 15 ч культивирования культура штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1 достигла стационарной фазы и находилась в ней до конца эксперимента. На 31 ч культивирования во всех опытных вариантах отмечали уменьшение ОП в среднем до 0,41 опт. ед., кроме варианта с добавлением гидрогелей в концентрации 50 мг/мл, ОП составила 0,35 опт. ед., что на 64,4% меньше, чем в контроле.

Динамика развития штамма *L. nimipressurales* 32-3 в среде LB с добавлением полимерных гидрогелей в общих чертах напоминала динамику развития культуры штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1. Через 2 ч после инокуляции культура во всех вариантах синхронно завершала фазу ускорения роста и вступала в фазу экспоненциального развития, завершавшуюся на 5 ч. Значительного влияния добавок на ОП культуры штамма *L. nimipressurales* 32-3 не отмечено. Исключение составил вариант с добавлением гидрогелей в концентрации 200 мг/мл, где наблюдали уменьшение накопления биомассы в среднем на 14,7% к контролю. Угнетение роста культуры в этом варианте продолжалось и в стационарную фазу: максимальное снижение ОП культуры

наблюдали на 14 ч, оно составило 0,56 опт. ед., что на 23,3% меньше, чем в контроле. Достоверного влияния гидрогелей в остальных вариантах опыта на ОП культуры штамма *L. nimipressurales* 32-3 в стационарную фазу не отмечали.

Анализ культивирования штамма *P. polymyxa* П в питательной среде LB, обогащенной полимерными гидрогелями ГГ1 и ГГ2, позволил установить, что культура бактерий в фазе ускорения роста во всех вариантах развивалась синхронно в течение 5 ч (рис. 2). Стимулирующее действие ГГ2 в концентрации 25 мг/мл проявилось в фазу экспоненциального развития и выражалось как в длительной (до 23 ч против 11 ч в контроле) протяженности фазы, так и в активном накоплении биомассы. ОП культуры штамма *P. polymyxa* П в этом варианте достигла 0,86 опт. ед., что в 2,6 раз больше, чем в контроле. На 23–25 ч культивирования наблюдали существенное уменьшение биомассы до 0,53 опт. ед., а на 25 ч культура штамма *P. polymyxa* П вошла в стационарную фазу, характеризовавшуюся высокой ОП, составившую в среднем 0,49 опт. ед., что в 3,1 раз больше, чем в контроле. В целом необходимо отметить, что вне зависимости от концентрации и варианта введенного в питательную среду LB гидрогеля наблюдалась стойкая тенденция к увеличению ОП культуры в стационарной фазе. Наиболее активно плотность биомассы увеличивалась в питательной среде, обогащенной ГГ2 в концентрации 12,5–100 мг/мл (до 0,31–0,14 опт. ед. против 0,15 в контроле). Менее активно на ОП влияло добавление в среду ГГ1 в концентрации 12,5–50 мг/мл, что способствовало увеличению биомассы в среднем в 2,35 раз.

Обогащение питательной среды LB полимерными гидрогелями в исследованных концентрациях оказало стимулирующее влияние как на накопление биомассы культуры штамма *A. tumefaciens* 204, так и на сроки прохождения бактериями основных фаз развития (рис. 3). В фазу ускорения роста культура во всех вариантах опыта развивалась синхронно в течение 11 ч. Однако на 15 ч развития в экспоненциальную фазу наблюдали

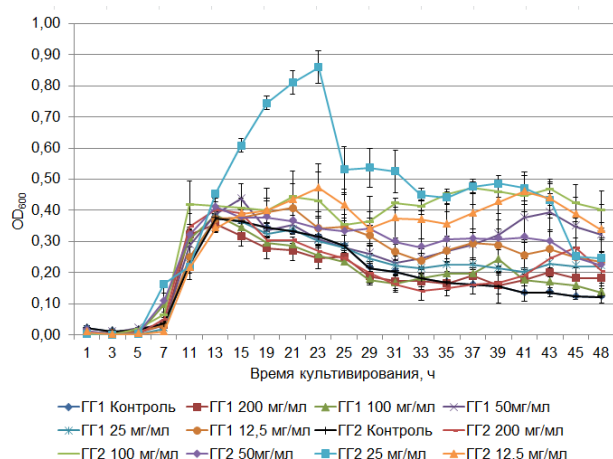


Рис. 2. Накопление биомассы культуры штамма *P. polymyxa* П на питательной среде LB с добавлением полимерных гидрогелей (ГГ1 – образец гидрогеля 1, ГГ2 – образец гидрогеля 2)

Fig. 2. Accumulation of *P. polymyxa* P biomass on LB nutrient medium with polymer hydrogels (ГГ 1 – hydrogel sample 1, ГГ 2 – hydrogel sample 2)

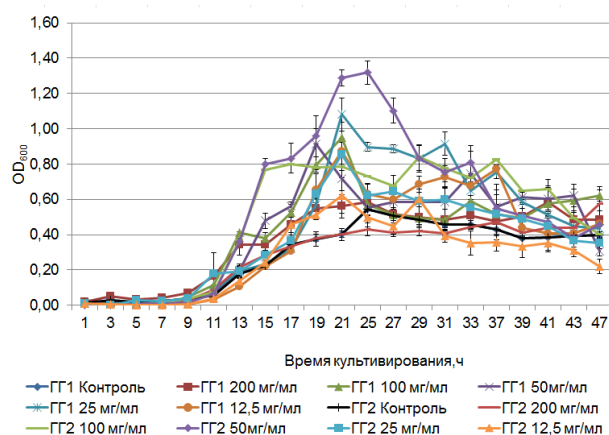


Рис. 3. Накопление биомассы культуры штамма *A. tumefaciens* 204 на питательной среде LB с добавлением акрилатных гидрогелей (ГГ1 – образец гидрогеля 1, ГГ2 – образец гидрогеля 2)

Fig. 3. Accumulation of *A. tumefaciens* 204 biomass on LB nutrient medium with polymer hydrogels (ГГ 1 – hydrogel sample 1, ГГ 2 – hydrogel sample 2)

проявление стимуляции роста биомассы в вариантах с добавлением в питательную среду ГГ2 в концентрации 50–100 мг/мл. ОП культуры составила в среднем 0,78 опт. ед., что в 3,25 раз больше, чем в контроле. В варианте с добавлением ГГ2 в концентрации 50 мг/мл культура проходила экспоненциальную фазу развития за 10 ч, что на 4 ч быстрее, чем в контроле – с 21 по 29 ч (всего 8 ч против 6 ч в контроле), и находилась в фазе замедления роста, накапливая биомассу максимально до 1,32 опт. ед., что в 2,4 раза больше, чем в контроле. Максимальное стимулирующее влияние на рост биомассы культуры штамма *A. tumefaciens* 204 оказал ГГ2 в концентрации 100 мг/мл в стационарную фазу (0,83 опт. ед.), сроки наступления которой соответствовали таковым в контроле. В остальных вариантах опыта отмечено увеличение плотности биомассы культуры в среднем на 47,7% к контролю. Исключение составили только варианты с добавлением в питательную среду гидрогелей ГГ1 и ГГ2 в концентрации 12,5 мг/мл, не оказывавшие достоверного влияния на изменение ОП культуры штамма *A. tumefaciens* 204.

Анализ образования биопленок у микроорганизмов в присутствии полимерных гидрогелей позволил установить, что данный процесс носит штамм-специфичный характер и, по-видимому, зависит от химического состава изучаемого гидрогеля (рис. 4, 5).

При рассмотрении образования планктонной культуры необходимо отметить угнетение роста штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1 в контрольных вариантах с добавлением в питательную среду LB ГГК (в среднем в 9,5 раз к контролю) и ГГNa (в 1,5–4 раза к контролю) во всех испытанных концентрациях. В опытном

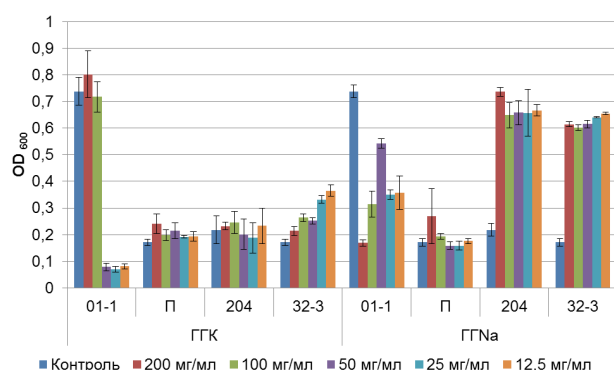


Рис. 4. Образование планктонной культуры штаммов агрономически полезных бактерий на питательной среде LB с добавлением акрилатных гидрогелей (ГГNa – полиакрилат натрия порошкообразный (SAP, Германия) и ГГК – полиакриловый суперабсорбент на основе соли калия гранулированный (SAP, Россия); 32-3 – *L. nimipressurales* 32-3, 204 – *A. tumefaciens* 204, П – *P. polymyxa* П, 01-1 – *B. amyloliquefaciens* 01-1)

Fig. 4. Formation of a planktonic culture of strains of agronomically beneficial bacteria on LB nutrient medium with the addition of acrylate hydrogels (ГГNa is powdered sodium polyacrylate (SAP, Germany) and ГГК is a polyacrylic superabsorbent based on granular potassium salt (SAP, Russia); 32-3 – *L. nimipressurales* 32-3, 204 – *A. tumefaciens* 204, П – *P. polymyxa* П, 01-1 – *B. amyloliquefaciens* 01-1)

варианте с ГГ1 и ГГ2 существенного влияния на интенсивность прироста планктонной культуры не наблюдали.

Штамм *P. polymyxa* П способствует формированию планктонной культуры с ОП суспензии на 15,2–57,2% выше, чем в контроле, лишь в контрольных вариантах с добавлением в питательную среду LB ГГК и ГГNa в концентрации 100–200 мг/мл. Исследуемый полимерный гидрогель ГГ1 в концентрации 12,5–100 мг/мл способствовал увеличению интенсивности прироста бактериальной суспензии в среднем в 8,9 раз к контролю. Гидрогель ГГ2 не оказывал существенного влияния на интенсивность прироста *P. polymyxa* П.

Культура штамма *A. tumefaciens* 204 оказалась способной активно образовывать планктонную культуру в присутствии ГГNa во всех изученных концентрациях в среднем в 3,4 раза больше по сравнению с контролем. Добавление в питательную среду эталонного гидрогеля ГГК и изучаемого ГГ1 достоверного влияния на данный показатель не оказывало, а ГГ2, напротив, проявлял тенденцию к угнетению роста в среднем на 17,2% к контролю вне зависимости от концентрации.

Отмечено, что штамм *L. nimipressurales* 32-3 способен образовывать планктонную культуру как при добавлении к питательной среде ГГК, так и ГГNa. Максимальное увеличение роста культуры наблюдали в варианте с добавлением ГГNa, где ОП культуры увеличивалась в 3,5 раза по сравнению с контролем, при добавлении ГГК – максимально в 2 раза. Изученный гидрогель ГГ1 способствовал увеличению интенсивности прироста бактериальной суспензии *L. nimipressurales* 32-3 в 7,39–11,1 раз к контролю в прямой зависимости от концентрации исследуемого вещества в питательной среде. Гидрогель ГГ2, напротив, способствовал угнетению прироста суспензии на 21,5% к контролю в максимальной исследованной концентрации 200 мг/мл, а в концентрациях менее 100 мг/мл существенного влияния на культуру *L. nimipressurales* 32-3 не оказывал.

Исследовано биопленкообразование у культур

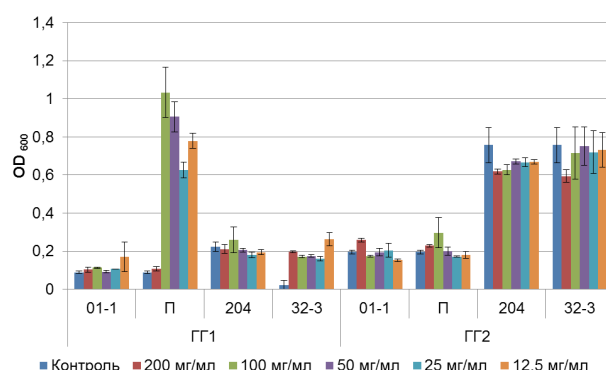


Рис. 5. Образование планктонной культуры штаммов агрономически полезных бактерий на питательной среде LB с добавлением акрилатных гидрогелей (ГГ1 – образец гидрогеля 1, ГГ2 – образец гидрогеля 2)

Fig. 5. Formation of a planktonic culture of strains of agronomically beneficial bacteria on LB nutrient medium with the addition of acrylate hydrogels (ГГ1 – hydrogel sample 1, ГГ2 – hydrogel sample 2)

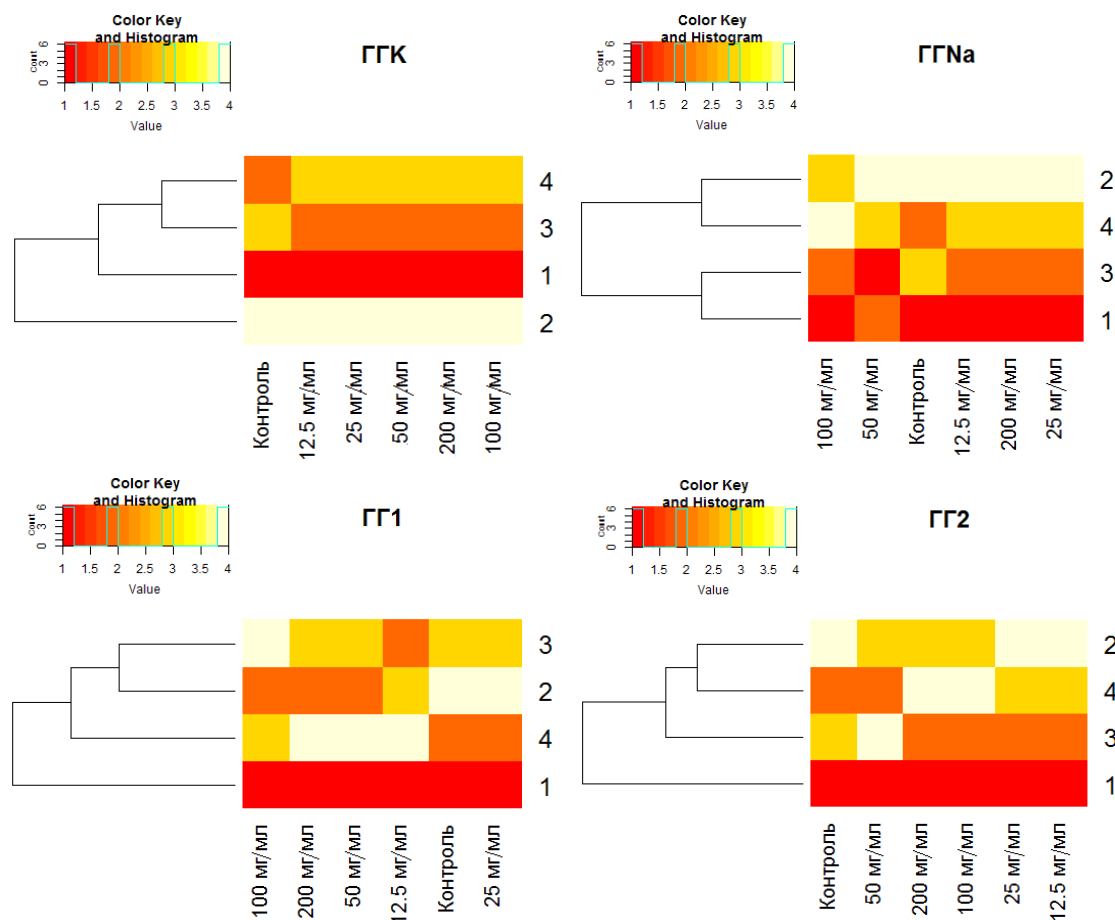


Рис. 6. Степень биопленкообразования штаммов агрономически полезных микроорганизмов в присутствии полимерных гидрогелей (1 – *L. nimipressurales* 32-3, 2 – *A. tumefaciens* 204, 3 – *P. polymyxa* П, 4 – *B. amyloliquefaciens* 01-1)
Fig. 6. Degree of agronomically useful microorganisms strains biofilm formation in the presence of polymer hydrogels (1 – *L. nimipressurales* 32-3, 2 – *A. tumefaciens* 204, 3 – *P. polymyxa* П, 4 – *B. amyloliquefaciens* 01-1)

штаммов агрономически полезных бактерий, полученных на среде LB, обогащенной контрольными (ГГК, ГГNa) и исследуемыми полимерными гидрогелями (ГГ1, ГГ2) (рис. 6). Отмечали максимальное биопленкообразование в культуре штамма *A. tumefaciens* 204 во всех исследованных концентрациях гидрогеля. Минимальное биопленкообразование у эталонных штаммов было отмечено для *L. nimipressurales* 32-3. Рассматривая влияние полимерных гидрогелей на степень биопленкообразования агрономически полезных штаммов, установили, что максимальная стимуляция биопленкообразования была отмечена в варианте с обогащением питательной среды ГГ1 в концентрациях от 12,5 до 25 мг/мл при культивировании штамма *A. tumefaciens* 204. Стимулирующий эффект наблюдали для *B. amyloliquefaciens* 01-1 во всех исследованных концентрациях.

Анализируя полученные для ГГ2 результаты, отметим, что также усиление биопленкообразования наблюдали в варианте с использованием *A. tumefaciens* 204 в концентрациях 12,5 и 25 мг/мл, что соответствовало контролю.

ВЫВОДЫ

Таким образом, в ходе проведенного исследования установлено, что штаммы *P. polymyxa* П,

A. tumefaciens 204 и энтомопатогены *B. thuringiensis* 0271, *B. thuringiensis* 0371 не проявляют признаков угнетения в зоне взаимодействия как с эталонными, так и с экспериментальными гидрогелями, а рост культур штаммов *A. vinelandii* 10702, *B. ottawaense* M-8 и *R. leguminosarum* K-29 был ингибирован во всех вариантах опыта.

Выявлено, что внесение в питательную среду LB экспериментальных гидрогелей ГГ1 и ГГ2 в концентрациях 200; 100; 50; 25 и 12,5 мг/мл способствовало синхронному прохождению фаз развития культур штаммов *B. amyloliquefaciens* 01-1 и *L. nimipressurales* 32-3 во всех вариантах. Однако исследованные суспензии гидрогелей в концентрации 200 мг/мл уменьшали ОП культур как штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1, так и штамма *L. nimipressurales* 32-3 в среднем на 23,3 и 14,7% к контролю соответственно.

Установлено, что максимальное стимулирующее действие на рост и развитие культуры штамма *P. polymyxa* П оказывало внесение в питательную среду ГГ2 в концентрации 25 мг/мл от фазы экспоненциального развития до завершения стационарной фазы, что выражалось как в длительной (до 23 ч против 11 ч в контроле) протяженности фазы, так и в активном накоплении биомассы – в 2,6–3,1 раза

больше, чем в контроле.

Отмечено, что культура штамма *A. tumefaciens* 204 с экспоненциальной до завершения стационарной фазы развития в вариантах с добавлением в питательную среду Г2 в концентрации 50–100 мг/мл характеризовалась стимуляцией роста биомассы в среднем на 47,7% к контролю.

Показано, что образование биопленок у микроорганизмов в присутствии полимерных акрилатных гидрогелей штамм-специфично. Так, гидрогель Г1 во всех исследованных концентрациях и Г2 в концентрации 50–100 мг/мл стимулировал рост планктонной культуры и биопленки культуры штамма *A. tumefaciens* 204 максимально в 3,25 раз к контролю. Гидрогели Г1 и Г2 существенного влияния на интенсивность прироста планктонной культуры штам-

ма *B. amyloliquefaciens* 01-1 не оказывали, однако способствовали усилению биопленкообразования.

Установлено, что максимальную стимуляцию образования планктонной культуры наблюдали при обогащении питательной среды 12,5–100 мг/мл Г1 у культуры штамма *P. polymyxa* П, выражавшуюся в увеличении интенсивности прироста бактериальной суспензии в среднем в 8,9 раз к контролю. Для данного штамма отмечали стимуляцию биопленкообразования.

Выявлено, что добавление в питательную среду гидрогелей Г1 и Г2 способствовало усилению роста планктонной культуры в 2–3,5 раза, но существенного влияния на биопленкообразование отмечено не было.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Rodrigues S.H., Lima I.S., Neris L.M.L., Silva A.S., Santos N., Ariane M.S., et al. Superabsorbent hydrogels based to polyacrylamide/cashew tree gum for the controlled release of water and plant nutrients // *Molecules*. 2021. Vol. 26, no. 9. P. 119–128. <https://doi.org/10.3390/molecules26092680>.
2. Sabyasachi B., Prakash M. Superabsorbent polymers in agriculture and other applications: a review // *Polymer-Plastics Technology and Materials*. 2019. Vol. 59, no. 6. P. 1–16. <http://dx.doi.org/10.1080/25740881.2019.1647239>.
3. Рабаданов Р.Г. Абсорбционные свойства сильно набухающих полимерных гидрогелей, используемых в сельском хозяйстве // *Аграрная Россия*. 2017. N 6. С. 2–7. <http://dx.doi.org/10.30906/1999-5636-2017-6-15-18>.
4. Rizwan M., Rubina G.S., Iqbal D.A., Naseem S. Materials diversity of hydrogel: synthesis, polymerization process and soil conditioning properties in agricultural field // *Journal of Advanced Research*. 2021. Vol. 33. P. 15–40. <http://doi.org/10.1016/j.jare.2021.03.007>.
5. Наумов П.В., Щербаклова Л.Ф., Околелова А.А. Оптимизация влагообеспеченности почв с помощью полимерных гидрогелей // *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование*. 2011. N 4. С. 77–81.
6. Guilherme M.R., Aouada F.A., Fajardo A.R., Martins A.F., Paulino A.T., Davi M.F.T., et al. Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: a review // *European Polymer Journal*. 2015. Vol. 72. P. 365–385. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.04.017>.
7. Mehrotra T., Zaman M.N., Prasad B.B., Shukla A., Aggarwal S., Singh R. Rapid immobilization of viable *Bacillus pseudomycoides* in polyvinyl alcohol/glutaraldehyde hydrogel for biological treatment of municipal wastewater // *Environmental Science and Pollution Research*. 2020. Vol. 27, no. 9. P. 9167–9180. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07296-z>.
8. Du X., Zhou J., Shi J., Xu B. Supramolecular hydrogelators and hydrogels: from soft matter to molecular biomaterials // *Chemical Reviews*. 2015. Vol. 115, no. 24. P. 13165–13307. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00299>.
9. Lipowczan A., Trochimczuk A.W. Phosphates-containing interpenetrating polymer networks (IPNs) acting as slow release fertilizer hydrogels (SRFHs) suitable for agricultural applications // *Materials*. 2021. Vol. 14, no. 11. P. 2893. <https://doi.org/10.3390/ma14112893>.
10. Abd El-Aziz M.E., Morsi S.M.M., Salama D.M., Abdel-Aziz M.S., Abd Elwahed M.S., Shaaban E.A., et al. Preparation and characterization of chitosan/polyacrylic acid/copper nanocomposites and their impact on onion production // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. Vol. 123. P. 856–865. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.155>.
11. Allcock H.R., Pucher S.R., Fitzpatrick R.J., Rashid K. Antibacterial activity and mutagenicity studies of water-soluble phosphazene high polymers // *Biomaterials*. 1992. Vol. 13, no. 12. P. 857–862. [https://doi.org/0142-9612\(92\)90179-R](https://doi.org/0142-9612(92)90179-R).
12. Praepanitchai O.A., Noomhorm A., Anal A.K. Survival and behavior of encapsulated probiotics (*Lactobacillus plantarum*) in calcium-alginate-soy protein isolate-based hydrogel beads in different processing conditions (pH and temperature) and in pasteurized mango juice // *BioMed Research International*. 2019. P. 9768152. <https://doi.org/10.1155/2019/9768152>.
13. Inal M., Yigitoglu M. Improvement of bioethanol productivity of immobilized *Saccharomyces bayanus* with using sodium alginate-graft-poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) matrix // *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2012. Vol. 168, no. 2. P. 266–278. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9770-0>.
14. Rosenberg M., Rebros M., Kristofikova L., Malatova K. High temperature lactic acid production by *Bacillus coagulans* immobilized in LentiKats // *Biotechnology Letters*. 2005. Vol. 27, no. 23-24. P. 1943–1947. <https://doi.org/10.1007/s10529-005-3907-y>.
15. Yang K., Han Q., Chen B., Zheng Y., Zhang K., Li Q., et al. Antimicrobial hydrogels: promising materials for medical application // *International Journal of Nanomedicine*. 2018. Vol. 13. P. 2217–2263. <https://doi.org/10.2147/IJN.S154748>.
16. Spagnul C., Greenman J., Wainwright M., Kamil Z., Boyle R.W. Synthesis, characterization and biological evaluation of a new photoactive hydrogel against gram-positive and gram-negative bacteria // *Journal of Materials Chemistry B*. 2016. Vol. 4, no. 8. P. 1499–

1509. <https://doi.org/10.1039/C5TB02569A>.

17. Smith M.J., Francis M.B. Methods for generating microbial cocultures that grow in the absence of fixed carbon or nitrogen // *Methods in Molecular Biology*. 2018. Vol. 1772. P. 45–60.

18. Grumezescu A.M., Holban A.M. Materials for biomedical engineering. Hydrogels and polymer-based scaffolds. Amsterdam: Elsevier, 2019. 562 p.

19. Kretschmer M., Lieleg O. Chelate chemistry governs ion-specific stiffening of *Bacillus subtilis* B-1 and *Azotobacter vinelandii* biofilms // *Biomaterials Science*. 2020. Vol. 8, no. 7. P. 1923–1933. <https://doi.org/10.1039/C9BM01763A>.

20. Snigdha S., Kalarikkal N., Thomas S., Radhakrishnan E.K. Laponite clay/poly(ethylene oxide) gel beads for delivery of plant growth-promoting rhizobacteria // *Bulletin of Materials Science*. 2021. Vol. 44, no. 2. P. 215–228. <https://doi.org/10.1007/s12034-021-02383-9>.

21. Лавлинская М.С., Сорокин А.В. Разработка технологии получения суперабсорбента на основе отходов растениеводства // *Материалы китайско-российского конкурса инноваций и предпринимательства – 2020. Воронеж, 2021. С. 34–37.*

22. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии / пер. с венг. И.Ф. Куренного. М.: Колос, 1983. 296 с.

23. Анганова Е.В., Савилов Е.Д., Ушкарева О.А., Аблов А.М., Духанина А.В. Способность патогенных и условнопатогенных энтеробактерий к формированию

биопленок // *Acta Biomedica Scientifica*. 2014. N 5. С. 34–37.

24. Савилов Е.Д., Маркова Ю.А., Немченко У.М., Носкова О.А., Чемезова Н.Н., Кунгурцева Е.А. [и др.]. Способность к биопленкообразованию у возбудителей инфекций, выделенных от пациентов крупного многопрофильного детского стационара // *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020. Т. 1. С. 32–35.

25. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis // *Molecular Microbiology*. 1998. Vol. 28, no. 3. P. 449–461. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>.

26. Ярец Ю.И., Шевченко Н.И. Новый метод анализа бактериальной биопленки // *Наука и инновации*. 2016. Т. 10. С. 64–68.

27. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of *Staphylococci* to medical devices // *Journal of Clinical Microbiology*. 1985. Vol. 22, no. 6. P. 996–1006.

28. Хайлафян А.А. Современные статистические методы медицинских исследований. М.: ЛЕНАРД, 2014. 320 с.

29. Luke D.A. A User's guide to network analysis in R. Springer, 2015. P. 94–95. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23883-8_2.

REFERENCES

1. Rodrigues S.H., Lima I.S., Neris L.M.L., Silva A.S., Santos N., Ariane M.S., et al. Superabsorbent hydrogels based to polyacrylamide/cashew tree gum for the controlled release of water and plant nutrients. *Molecules*. 2021;26(9):119–128. <https://doi.org/10.3390/molecules26092680>.

2. Sabyasachi B., Prakash M. Superabsorbent polymers in agriculture and other applications: a review. *Polymer-Plastics Technology and Materials*. 2019;59(6):1–16. <http://dx.doi.org/10.1080/25740881.2019.1647239>.

3. Rabadanov R.G. Absorption properties of highly swelling polymeric hydrogels used in agriculture. *Agrar-naya Rossiya*. 2017;(6):2–7. (In Russian). <http://dx.doi.org/10.30906/1999-5636-2017-6-15-18>.

4. Rizwan M., Rubina G.S., Iqbal D.A., Naseem S. Materials diversity of hydrogel: synthesis, polymerization process and soil conditioning properties in agricultural field. *Journal of Advanced Research*. 2021;33:15–40. <http://doi.org/10.1016/j.jare.2021.03.007>.

5. Naumov P.V., Shcherbakova L.F., Okolelova A.A. Soil moisture optimization using polymer hydrogels. *Izvestiya nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee professional'noe obrazovanie = Proceedings of Lower Volga Agro-University Complex: Science and Higher Education*. 2011;(4):77–81. (In Russian).

6. Guilherme M.R., Aouada F.A., Fajardo A.R., Martins A.F., Paulino A.T., Davi M.F.T., et al. Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: a review. *European Polymer Journal*. 2015;72:365–385. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.04.017>.

7. Mehrotra T., Zaman M.N., Prasad B.B., Shukla A., Aggarwal S., Singh R. Rapid immobilization of viable *Bacillus pseudomyces* in polyvinyl alcohol/glutaraldehyde hydrogel for biological treatment of municipal wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020;27(9):9167–9180. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07296-z>.

8. Du X., Zhou J., Shi J., Xu B. Supramolecular hydrogelators and hydrogels: from soft matter to molecular biomaterials. *Chemical Reviews*. 2015;115(24):13165–13307. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00299>.

9. Lipowczan A., Trochimczuk A.W. Phosphates-containing interpenetrating polymer networks (IPNs) acting as slow release fertilizer hydrogels (SRFHs) suitable for agricultural applications. *Materials*. 2021;14(11):2893. <https://doi.org/10.3390/ma14112893>.

10. Abd El-Aziz M.E., Morsi S.M.M., Salama D.M., Abdel-Aziz M.S., Abd Elwahed M.S., Shaaban E.A., et al. Preparation and characterization of chitosan/polyacrylic acid/copper nanocomposites and their impact on onion production. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;123:856–865. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.155>.

11. Allcock H.R., Pucher S.R., Fitzpatrick R.J., Rashid K. Antibacterial activity and mutagenicity studies of water-soluble phosphazene high polymers. *Biomaterials*. 1992;13(12):857–862. [https://doi.org/0142-9612\(92\)90179-R](https://doi.org/0142-9612(92)90179-R).

12. Praepanitchai O.A., Noomhorm A., Anal A.K. Survival and behavior of encapsulated probiotics (*Lactobacillus plantarum*) in calcium-alginate-soy protein isolate-based hydrogel beads in different processing con-

ditions (pH and temperature) and in pasteurized mango juice. *BioMed Research International*. 2019;9768152. <https://doi.org/10.1155/2019/9768152>.

13. Inal M., Yigitoglu M. Improvement of bioethanol productivity of immobilized *Saccharomyces bayanus* with using sodium alginate-graft-poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) matrix. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2012;168(2):266-278. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9770-0>.

14. Rosenberg M., Rebros M., Kristofikova L., Malatova K. High temperature lactic acid production by *Bacillus coagulans* immobilized in LentiKats. *Biotechnology Letters*. 2005;27(23-24):1943-1947. <https://doi.org/10.1007/s10529-005-3907-y>.

15. Yang K., Han Q., Chen B., Zheng Y., Zhang K., Li Q., et al. Antimicrobial hydrogels: promising materials for medical application. *International Journal of Nanomedicine*. 2018;13:2217-2263. <https://doi.org/10.2147/IJN.S154748>.

16. Spagnul C., Greenman J., Wainwright M., Kamil Z., Boyle R.W. Synthesis, characterization and biological evaluation of a new photoactive hydrogel against gram-positive and gram-negative bacteria. *Journal of Materials Chemistry B*. 2016;4(8):1499-1509. <https://doi.org/10.1039/C5TB02569A>.

17. Smith M.J., Francis M.B. Methods for generating microbial cocultures that grow in the absence of fixed carbon or nitrogen. *Methods in Molecular Biology*. 2018;1772:4560.

18. Grumezescu A.M., Holban A.M. *Materials for biomedical engineering. Hydrogels and polymer-based scaffolds*. Amsterdam: Elsevier; 2019. 562 p.

19. Kretschmer M., Lieleg O. Chelate chemistry governs ion-specific stiffening of *Bacillus subtilis* B-1 and *Azotobacter vinelandii* biofilms. *Biomaterials Science*. 2020;8(7):1923-1933. <https://doi.org/10.1039/C9B-M01763A>.

20. Snigdha S., Kalarikkal N., Thomas S., Radhakrishnan E.K. Laponite clay/poly(ethylene oxide) gel beads for delivery of plant growth-promoting rhizobacteria. *Bulletin of Materials Science*. 2021;44(2):215-228.

<https://doi.org/10.1007/s12034-021-02383-9>.

21. Lavlinskaya M.S., Sorokin A.V. Development of technology for obtaining superabsorbent based on crop waste. *Materialy kitaisko-rossiiskogo konkursa innovatsii i predprinimatel'stva – 2020 = Materials of the Chinese-Russian Innovation and Entrepreneurship Competition – 2020*. Voronezh, 2021; p. 34-37. (In Russian).

22. Szegi J. Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek; 1979. (Russ. ed.: Segi I. *Metody pochvennoi mikrobiologii*. Moscow: Kolos; 1983. 296 p.). (In Russian).

23. Anganova E.V., Savilov E.D., Ushkareva O.A., Ablov A.M., Dukhanina A.V. The ability of pathogenic and opportunistic enterobacteria to form biofilms. *Acta Biomedica Scientifica*. 2014;(5):34-37.

24. Savilov E.D., Markova Y.A., Nemchenko U.M., Noskova O.A., Chemezova N.N., Kungurtseva E.A., et al. The ability to biofilm formation in pathogens isolated from patients of a large multidisciplinary children's hospital. *Tikhookeanskii meditsinskii zhurnal = Pacific Medical Journal*. 2020;1:32-35. (In Russian).

25. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Molecular Microbiology*. 1998;28(3):449-461. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>.

26. Yarets Yu.I., Shauchenka N.I. A new method for the bacterial biofilms analysis in medicine. *Nauka i innovatsii*. 2016;10:64-68. (In Russian).

27. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of *Staphylococci* to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*. 1985;22(6):996-1006.

28. Khailafyan A.A. *Modern statistical methods of medical research*. Moscow: LENARD; 2014. 320 p. (In Russian).

29. Luke D.A. *A User's guide to network analysis in R*. Springer; 2015, p. 94-95. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23883-8_2.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

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

Дидович Светлана Витальевна,
к.с.-х.н., ведущий научный сотрудник,
Научно-исследовательский институт сельского
хозяйства Крыма,
295453, г. Симферополь, ул. Киевская, 150,
Российская Федерация,
sv-alex.68@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6569-0602>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

Svetlana V. Didovich,
Cand. Sc. (Agriculture), Leading Researcher,
Research Institute of Agriculture of Crimea,
150, Kievskaya St., Simferopol, 295493,
Russian Federation,
sv-alex.68@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6569-0602>

Сорокин Андрей Викторович,
младший научный сотрудник лаборатории
метагеномики и пищевых биотехнологий,
Воронежский государственный университет
инженерных технологий,
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 19,
Российская Федерация;
младший научный сотрудник кафедры биофизики
и биотехнологии,
Воронежский государственный университет,
394018, г. Воронеж, Университетская пл., 1,
Российская Федерация;
младший научный сотрудник НИЛ «Биоресурсный
потенциал приморской территории»,
Севастопольский государственный университет,
299053, г. Севастополь, ул. Студенческая, 33,
Российская Федерация,
andrew.v.sorokin@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5268-9557>

Лавлинская Мария Сергеевна,
старший научный сотрудник лаборатории
метагеномики и пищевых биотехнологий,
Воронежский государственный университет
инженерных технологий,
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 19,
Российская Федерация;
старший научный сотрудник кафедры биофизики
и биотехнологии,
Воронежский государственный университет,
394018, г. Воронеж, Университетская пл., 1,
Российская Федерация;
старший научный сотрудник НИЛ «Биоресурсный
потенциал приморской территории»,
Севастопольский государственный университет,
299053, г. Севастополь, ул. Студенческая, 33,
Российская Федерация,
maria.lavlinskaya@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9058-027X>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 09.10.2022.
Одобрена после рецензирования 27.01.2023.
Принята к публикации 28.02.2023.

Andrey V. Sorokin,
Junior Researcher,
Metagenomics and Food Biotechnologies Laboratory,
Voronezh State University of Engineering Technologies,
19, Revolutsii Ave., Voronezh, 394036,
Russian Federation;
Junior Researcher,
Biophysics and Biotechnology Department,
Voronezh State University,
1, Universitetskaya Sq., Voronezh, 394018,
Russian Federation;
Junior Researcher,
Bioresource Potential of the Seaside Territory
Laboratory,
Sevastopol State University,
33, Studencheskaya St., Sevastopol, 299053,
Russian Federation,
andrew.v.sorokin@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5268-9557>

Maria S. Lavlinskaya,
Senior Researcher,
Metagenomics and Food Biotechnologies Laboratory,
Voronezh State University of Engineering Technologies,
19, Revolutsii Ave., Voronezh, 394036,
Russian Federation;
Senior Researcher,
Biophysics and Biotechnology Department,
Voronezh State University,
1, Universitetskaya Sq., Voronezh, 394018,
Russian Federation;
Senior Researcher,
Bioresource Potential of the Seaside Territory
Laboratory,
Sevastopol State University,
33, Studencheskaya St., Sevastopol, 299053,
Russian Federation,
maria.lavlinskaya@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9058-027X>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 09.10.2022.
Approved after reviewing 27.01.2023.
Accepted for publication 28.02.2023.



Possibility the use biopreparations from coniferous raw materials in artificial reforestation of Scots pine

Elena M. Andreeva*✉, Svetlana K. Stetsenko*, Gennady G. Terekhov*,
Tatyana V. Khurshkainen**, Alexander V. Kutchin**

*Institute Botanic Garden Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

**Institute of Chemistry Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Science,
Syktyvkar, Russian Federation

Abstract. Ecologically safe biopreparations for agriculture are obtained from the waste of natural raw materials – greenery (needles), which remains after large-scale logging operations. These products (fir extract and spruce extract) contain natural triterpene acids, plant phenolic compounds and flavonoids. Although the growth regulators with similar characteristics are used in forest nurseries, there is still no data about the seedlings growth that were obtained under the influence of these preparations and then planted in the forest. The goal was to study the effect of biological preparations on the Scotch pine growth when it grown in a forest nursery, and then, in the forest culture. The experiments with pre-sowing treatment of pine seeds and its planting were conducted in the forest nursery. Seeds were soaked in preparation solutions (doses of 0.1 and 0.25 ml/kg of seeds) for 6 h. After growing of pine trees in the nursery, plot with cultures from these seedlings was created in the forest. Before planting in the forest, the seedlings were measured (stem height, root collar diameter). Measurements of pine trees were also taken three years in a row in the forest plot (stem height, root collar diameter, increment). Shown that a once seeds treatment by biostimulants ensured high survival and adaptation of pine when it was transplanted into the forest. The biometric characteristics of young trees were higher in the third year than in the ones from the control variant. Concluded that biostimulants obtained from coniferous raw materials are recommended for Scots pine growing in nurseries and increasing the forest cultures sustainability.

Keywords: biopreparation, *Pinus sylvestris*, coniferous raw, forest cultures, plant biostimulants, pine seedlings

Funding. This work was performed within the State program of the Botanical garden of the Urals branch of RAS and the Institute of chemistry of FRC Komi science center of the Ural Branch of RAS. The study of a biological product from spruce extract was supported by Russian Science Foundation (grant no. 21-73-20091).

For citation: Andreeva E.M., Stetsenko S.K., Terekhov G.G., Khurshkainen T.V., Kutchin A.V. Possibility the use biopreparations from coniferous raw materials in artificial reforestation of Scots pine. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):99-106. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-99-106>.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 630*173/174:631.811.98

Возможности использования биопрепаратов, полученных из древесной зелени хвойных пород, в искусственном лесовосстановлении сосны обыкновенной

Е.М. Андреева*✉, С.К. Стеценко*, Г.Г. Терехов*, Т.В. Хуршкайнен**, А.В. Кучин**

*Ботанический сад УрО РАН, г. Екатеринбург, Российская Федерация

**Институт химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар, Российская Федерация

Аннотация. Экологически безопасные биопрепараты для сельского хозяйства получают из отходов природного сырья – древесной зелени хвойных растений, которая остается после масштабных лесозаготовительных работ. Эти биопрепараты (экстракт пихты и экстракт ели) содержат натуральные тритерпеновые кислоты, растительные фенольные соединения и флавоноиды. Хотя в лесных питомниках используются регуляторы роста с аналогичными характеристиками, до сих пор нет данных о росте сеянцев, полученных под влиянием этих препаратов и затем высаженных в лесу. Цель работы – изучить влияние биопрепаратов на рост сосны обыкновенной при выращивании ее в лесном питомнике, а затем, после пересадки, – в лесных культурах. Опыты с

предпосевной обработкой семян сосны и их посевом проводились в лесном питомнике. Семена замачивали в растворах препаратов (дозы 0,1 и 0,25 мл/кг семян) в течение 6 ч. После выращивания сосны в питомнике в лесу был создан участок с культурами из этих семян. Перед посадкой в лес у них измеряли следующие показатели: высоту стволика и диаметр корневой шейки. Промеры деревьев сосны также проводились 3 года подряд на лесном участке (высота ствола, диаметр корневой шейки, прирост). Показано, что однократная обработка семян биостимуляторами обеспечила высокую приживаемость и адаптацию сосны при пересадке в лес. Биометрические характеристики молодых деревьев на 3-й год были выше, чем у контрольного варианта. Сделан вывод о том, что биостимуляторы, полученные из хвойного сырья, могут быть рекомендованы для выращивания сосны обыкновенной в питомниках и повышения устойчивости лесных культур.

Ключевые слова: биопрепарат, биостимуляторы растений, сосна обыкновенная, хвойное сырье, лесные культуры, семена сосны

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Ботанического сада УрО РАН и Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН. Исследование биопрепарата из экстракта ели проведено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-73-20091).

Для цитирования: Андреева Е.М., Стеценко С.К., Терехов Г.Г., Хуршайнен Т.В., Кучин А.В. Возможности использования биопрепаратов, полученных из древесной зелени хвойных пород, в искусственном лесовосстановлении сосны обыкновенной // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 99–106. (In English). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-99-106>.

INTRODUCTION

Large-tonnage logging waste – coniferous tree greens – is a raw material for obtaining biologically active extracts, which can be the basis for the development of plant growth regulators [1–3]. These preparations are environmentally friendly, have a multifunctional effect, have low toxicity to humans, and can be widely introduced to agricultural and forest farms [4]. Preparations with a growth-stimulating effect are currently actively used in the cultivation of coniferous seedlings, which makes it possible to increase seed germination, increase biometric characteristics and seedling resistance when growing planting material in nurseries [5–7]. We found only a few studies that examined the fate of seedlings grown with the use of such biostimulants and subsequently transferred to forest sites [8].

However, the success in survival (preservation) and the active growth of conifers trees at the first years after transplanting to the forest environment is a very important aspect in the formation of a sustainable and productive artificial plantation.

A new biological product requires approbation not only in the laboratory, but also in the field experiments. Two preparations obtained by the emulsion extraction method from fir (fir extract) and spruce (spruce extract) tree greens using an aqueous alkaline solution as an extractant. This method makes it possible to simultaneously extract a complex of lipophilic and hydrophilic compounds with different polarity without the use of organic solvents [9].

The preparations were successfully tested for agricultural plants and received state registration¹ [4, 10]. Fir extract contains the natural triterpene acids, spruce extract – plant phenolic compounds and flavonoids. Currently, studies of these preparations for coniferous plant species are being carried out [11].

The goal was to study the effect of biological preparations on the Scotch pine growth when it grown in a forest nursery, and then, in the forest culture.

MATERIALS AND METHODS

Growing of pine seedlings (*Pinus sylvestris* L.) was carried out in the Berezovsky forest nursery (Sverdlovsk region). Pine seeds of the first quality class, collected in the Sverdlovsk region, were given by the Yekaterinburg Forest Seed Station Department of the Forest Protection Center of the Chelyabinsk Region. Experience was performed out in 5 variants: 1 – control and 4 – experimental (with biological products of fir extract (FE) and spruce extract (SE). Before sowing, the seeds were soaked in solutions of the preparations with doses of 0.1 and 0.25 ml/kg for 6 h. The seeds of the control variant were treated only with distilled water.

The size of the experimental and control sites in the nursery is 1×1 m, the repetition of each variant is three times. The seeding corresponded of the requirements for forest nurseries in the Ural region and was 1.5 g per running meter².

Agrotechnical care for plants was made according to the recommendations for growing seedlings in the nursery². The pine seedlings have grown for two years. At the end of the second vegetation season, some part of seedlings was dug up for measuring biometric parameters: stem height, root collar diameter (at least 50 seedlings); the safety of seedlings was carried out (number per 1 running meter).

The remaining seedlings in the next year spring were planted to the forestry area in the vicinity of Berezovskii city. Seedlings were planted in the control – 177 copies, with FE 0.1 – 118 ones, with FE 0.25 – 129 ones, with SE 0.1 – 158 ones, SE 0.25 – 118 ones. Every year at the end of the growing season in each variant the safety

¹Gosudarstvennyy katalog pestitsidov i agrokhimikatov, razreshennykh k primeneniyu na territorii Rossiyskoy Federatsii = State catalogue of pesticides and agrochemicals permitted for use on the territory of the Russian Federation. 2022. (In Russian). URL: www.agroxxi.ru/goshandbook (11.12.2022).

²Guidelines for the cultivation of tree and shrub planting material in forest nurseries of the Ural region. Moscow, 1998. 172 p. (In Russian).

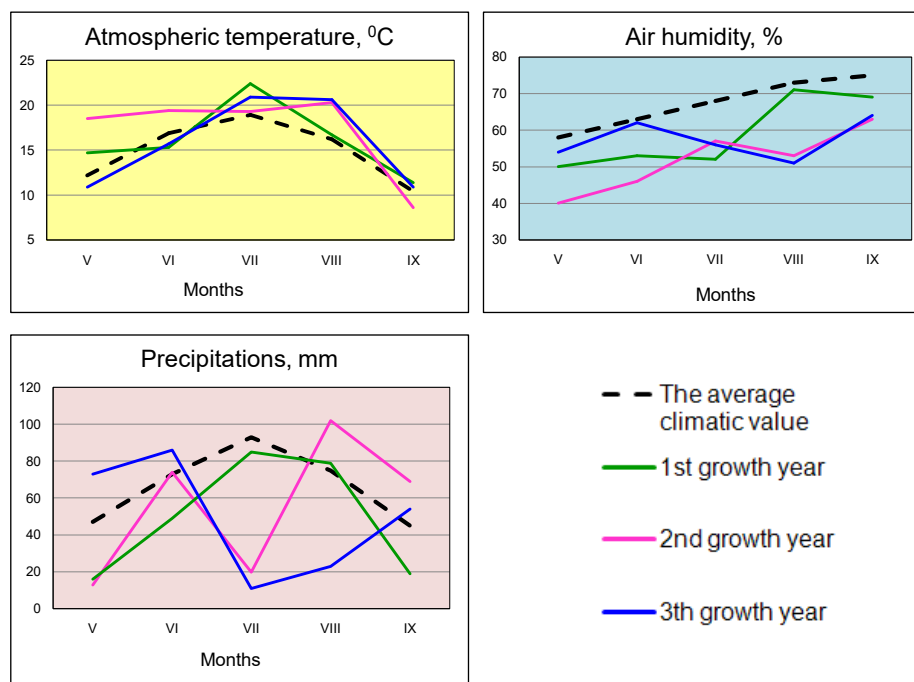


Fig. 1. The growing seasons weather characteristics on the researching plots in the experimental period^{3,4}

Рис. 1. Погодные характеристики вегетационного периода на исследуемых площадках в экспериментальный период^{3,4}

of the planted seedlings was fixed (number of survivors seedling from of the original ones, %), and also the diameter and height of the stems for all seedlings were measured.

The characteristics of the main weather factors affecting the growth of trees during the growing seasons at the study period are shown in Fig. 1.

As can be seen, the weather characteristics had deviations from the average climatic values – the some increasing of atmospheric temperature and a lack of humidity were noted.

Measurements of pine trees were also taken three years in a row in the forest plot (stem height, root collar diameter, increment). Also, there was counted the survival of cultures (the number of living trees remaining from planted ones, %).

Statistical data analysis was performed in the program Statistica 6.0. Arithmetic averages and standard errors are calculated for the obtained metric features. The reliability of the differences in the averages is established with the t-test.

RESULTS AND DISCUSSION

Pine seedlings in different variants at the end of the second year of growth in the nursery did not have significant differences in the root collar diameter (Table). Only variant with spruce extract, 0.1 ml/kg was thicker of control on 13.6%. The greatest height of the seedlings was noted in the variants using the studied biostimulants in small doses – fir extract, 0.1 and spruce extract, 0.1 (by 9.2 and 17.2% compared with the control, respectively).

Safety and averages (Mean + SE) of growth characteristics 2-year-old pine seedlings in nursery

Сохранность и показатели роста (среднее + SE) у 2-летних сеянцев сосны, выращенных в питомнике

Variant	Safety of seedlings, pcs/running m	Root collar diameter, mm	Stem height, sm
Control	120.6	2.2±0.08	8.7±0.30
Fir extract, 0,1	126.4	2.1±0.05	9.5±0.26
Fir extract, 0,25	134.3	2.1±0.07	8.0±0.29
Spruce extract, 0,1	121.3	2.5±0.07	10.2±0.36
Spruce extract, 0,25	137.7	2.2±0.07	8.3±0.30

³Archive weather in Yekaterinburg. URL: https://rp5.ru/Archive_weather_in_Yekaterinburg (11.12.2022).

⁴Klimaticheskie tablicy. Dannye dlja Ekaterinburga = Climate tables. Data for Yekaterinburg. (In Russian). URL: <http://www.pogodaiklimat.ru/climate/28440.htm> (11.12.2022).

The safety of seedlings in the experimental variants was at the control level or slightly higher, especially in the variants with the use of the spruce and fir extracts with a dose of 0.25.

The safety of pine seedlings a month after planting on the forest area was 91.1–100% in different variants. The survival of forest cultures was more in the first two years of growth, a slight decrease occurred in the third after planting (Fig. 2). Perhaps the influence of weather factors affected, because, all years of pine trees growth were accompanied by rather hot and dry weather with low precipitation in summer (Fig. 1). It should also be taken into account that the site on which the pine was planted is located in the outskirts of the city, near the private houses, so the influence of recreational load, including trampling, is not excluded. Generally, at the end of the third year of cultures growth, pine in the experimental variants had a 9–31.5% greater survival (with the exception of the FE, 0.25 ml/kg), compared to the control.

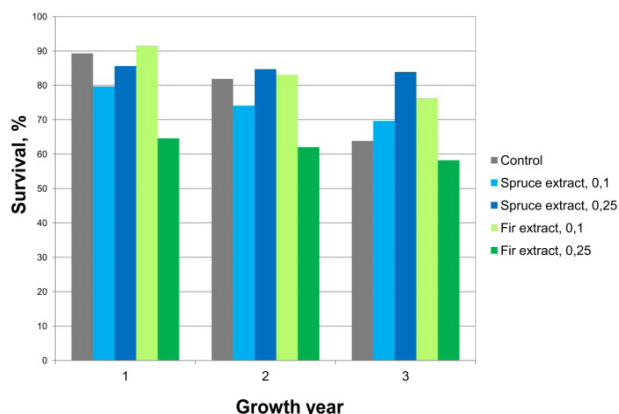


Fig. 2. The survival of pine trees in forest cultures at the first three growth year

Рис. 2. Приживаемость сосны в лесных культурах в первые 3 года роста

As well as when the growth of seedlings in the nursery, higher value of the pine stem height, compared with the control, was noted in the variants with the use of small doses of preparations (0.1 ml/kg) at the first two years of trees growth (Fig. 3). At the third year, the increase of height in all experimental variants was larger than the control: by using high doses of biostimulants by 24.3–26.1%, small doses – by 38.4–42.3%. Thus, the activity of biopreparations most likely helped to overcome the difficult conditions of drought for the pine in the experimental variants. At the end of the growing season, the largest value of the stem height significantly exceeded the control indicator in the variant with fir extract, 0.1 ml/kg by 35%, in the spruce extract variant, 0.1 ml/kg – by 25%.

Also, in experimental variants, the stem height exceeded the control values by 4.6% in the variant with fir extract (0.25 ml/kg) and by 11% with spruce extract (0.25 ml/kg), but the differences were not reliable.

The root collar diameter was significantly larger than the control values in the variants where small doses of biopreparations were applied (Fig. 4); in the fir extract

variant, 0.25 ml/kg was slightly more than the control (by 10.7%), there were no differences from the control in the spruce extract variant, 0.25 ml/kg.

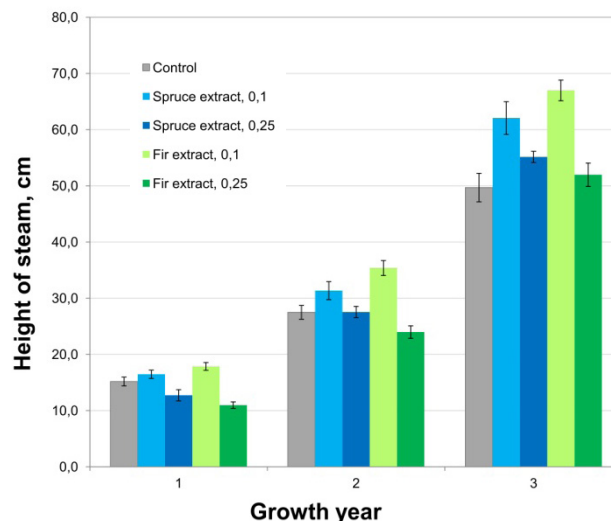


Fig. 3. The stem height of pine trees in forest cultures

Рис. 3. Высота стволика деревьев сосны в лесных культурах

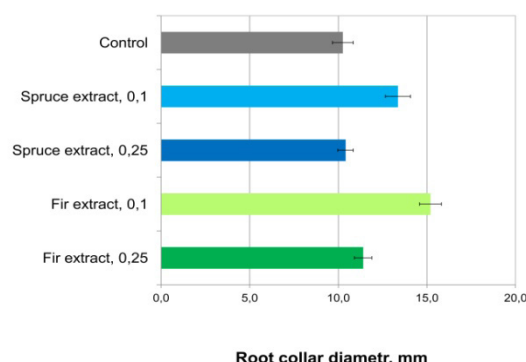


Fig. 4. The root collar diameter of pine trees in forest cultures at the third growth year

Рис. 4. Диаметр стволика сосны в лесных культурах на 3-й год роста

Since the biostimulants that we used in this experiment are based on extracts of plant materials, they are organic products consisting of a whole complex of various components [12, 13]. The conversion to a large-scale use of natural compounds instead of artificially synthesized stimulants in the agro-industrial sector has begun relatively recently, so the composition and mechanism of action of these preparations is under study. Metabolic reactions of plants, leading to an increase in linear sizes, are also being studied – this is either stretching and an increase in the volume of plant cells, or an increase in their number due to more active synthesis. The latter case for long-growing conifers is more preferable, since a denser cellular structure ensures that the mechanical strength of growing trees is maintained. The pine response to the use of stimulants is supported by scientific data that the triterpene glycosides contained in the fir extract (which are one of the main active ingredients of this preparation) are able to

stimulate the most important biochemical processes in germinating wheat seeds (hydrolysis of storage starch, biosynthesis protein), which form the basis of active plant growth [14]. In addition, an increase in the dry weight of pine due to an increase in the content of macro elements under the influence of a coniferous preparation containing natural terpenoids was found [5]. The biological preparation from spruce extract is also a complex product introduced into agricultural practice later by fir extract, and its full composition and mechanism of action on plant metabolism is under study. However, it is already known that spruce phenolic compounds play an important role in growth and protection, including inhibition due to abiotic stresses [15]. In any case, the main factor that determines the study and practical use of such stimulants is their wide effectiveness, which is not inferior to the level of artificially synthesized products impact, their undoubted environmental safety, as well as their contribution to the development of resource-saving technologies in the timber industry.

The creation of forest cultures often occurs at the reason to the impossibility of restoring forest trees site in a natural way due to the lack of seed source trees or with difficult soil conditions. The experimental plot was located on the outskirts of the city, where there was no possibility of a quick forest restoration, although the place was characterized by optimal conditions for the growth of pine [16]. At the same, the faster growth of weedy herbaceous vegetation could cause the suppression of slower growing pine during its adaptation to the forest area. At the experiment, the planting of pine seedlings on the forest area was carried out in moist soil and in cool weather. This had a positive effect on the survival rate of seedlings after their transplantation into the forest. However, during the following years of trees growth, there were periods when the atmospheric temperature significantly exceeded the long-term average, and there was little precipitation. Observations at the first three years made it possible to establish that the biostimulants provided the more active young trees growth and helped to overcome negative abiotic factors affecting the survival of pine seedlings during their growth in the forest area. At the end of the third growing season, the pine parameters in the variants with fir extract and spruce extract exceeded the control ones, which may indicate a positive effect of the this biostimulants on pine growth.

Last time research on the use of biological preparations from the needles of fir, spruce, pine, larch for growing seedlings in nurseries has been actively conducted.

These works are carried out in laboratories and field conditions in nurseries, where their influence on seed germination, growth and safety of seedlings, resistance to fungal diseases is studied [5, 6, 17–19].

According to the results of many years of research conducted in the nurseries of the Sverdlovsk region, the authors proposed a method “Method for stimulating the growth rate of Scotch pine seedlings” [20].

Obtaining of high quality planting material for the main forest-forming coniferous species is only the initial stage in the process of reforestation. The next important stage is the transplantation of seedlings into the forest environment, where the conditions are more stringent than in the nursery. Planting forest cultures from seedlings grown with the use of biostimulants is a pioneer work, especially in the Middle Urals conditions. Based on the results of further observations of the Scotch pine forest plantations, recommendations will be given for the use of these preparations for growing seedlings and forest plantations in other regions.

CONCLUSIONS

Ecologically safe preparations of fir extract and spruce extract, produced from fir and spruce tree greens, were once used for pre-sowing treatment of Scots pine seeds. Two-year pine seedlings grown in the nursery had higher stem heights in experimental variants with the applying of biostimulants in small doses.

Such growth trends persisted after the planting of seedlings to the silvicultural area for the first two years. At the end of third year, the highest values were noted in the experimental variants, where fir extract and spruce extract was used in the dose 0.1 ml/kg (+35 and +25% compared to the control, respectively).

The increased safety and biometric characteristics in the experimental variants, compared with the control ones, at the end of the third growing season, allow us to say that the survival rate and adaptation of the pine grown with the use of biostimulants in the forest area was successful. Concluded, there are the positive effect of fir extract and spruce extract plant growth regulators for obtaining Scots pine seedlings in nurseries and the subsequent applying of these plants for the forest cultures creation.

At further experiments, it is necessary to expand the range of applied doses of biostimulants in order to clarify their optimal doses for Scots pine. Also, it is necessary to study the effect of biopreparations not only on pine, but also on other widespread coniferous trees – spruce, larch, fir, etc.

REFERENCES

1. Calvo P., Nelson L., Kloepper J.W. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*. 2014;383:3-41. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>.
2. Ryabchinskaya T.A., Zimina T.V. Regulators of plant growth and development in modern technologies of crop production. *Agrokimiya = Eurasian Soil Science*. 2017;12:62-92. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0002188117120092>.
3. Metsämuuronen S., Siren H. Antibacterial compounds in predominant trees in Finland: review. *Jour-*

nal of Bioprocessing and Biotechniques. 2014;4(5). <https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000167>.

4. Chukicheva I.Yu., Hurshkainen T.V., Kutchin A.V. Natural plant growth regulators from coniferous raw materials. *Innovatika i jekspertiza: nauchnye trudy*. 2018;(3):93-99. (In Russian).

5. Egorova A.V., Chernobrovkina N.P., Robonen E.V. Effects of application of a conifer-derived chemical on the growth and elemental composition of *Pinus sylvestris* L. seedlings in a forest nursery. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2017;2:171-180. (In Russian). <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017021720>.

6. Kirienko M.A., Goncharova I.A. The prolonged influence of growth stimulants on morphometric indicators of three-year seedlings of main forest forming species of Central Siberia. *Sibirskiy lesnoy zhurnal*. 2018;(1):65-70. (In Russian). <https://doi.org/10.15372/SJFS20180107>.

7. Grodnitskaya I.D., Polyakova G.G., Senashova V.A., Pashkeeva O.E., Pashenova N.V., Antonov G.I., et al. Treatment of scots pine seeds by biological preparations as a way of improving the planting material quality in forest nurseries of Krasnoyarsk krai. *Sibirskiy lesnoy zhurnal*. 2021;(3):3-16. (In Russian). <https://doi.org/10.15372/SJFS20210301>.

8. Saltsevich Y.V., Ageev A.A., Buryak L.V., Achikolova I.S. Use of organic biostimulant for growing siberian spruce seedlings. *Earth and Environmental Science*. 2021;875:012084. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/875/1/012084>.

9. Nikonova N.N., Hurshkainen T.V., Shevchenko O.G., Kuchin A.V. "Green technology" processing of pine (*Pinus sylvestris* L.) and larch (*Larix sibirica* Ledeb.) wood greenery to produce bioactive extracts. *Holzforschung*. 2022;76(3):276-284. <https://doi.org/10.1515/hf-2021-0122>.

10. Khurshkaynen T.V., Kutchin A.V. Woodchemistry for innovation in agriculture. *Izvestiya Komi nauchnogo tsentra UrO RAN = Proceedings of the Komi Science Centre of the Ural Division of the Russian Academy of Sciences*. 2011;(1):17-23. (In Russian).

11. Khurshkainen T.V., Stetsenko S.K., Andreeva E.M., Terekhov G.G., Kutchin A.V. The effectiveness

of natural growth stimulants in the cultivation of seedlings of *Picea obovata* Ledeb. *Khimiya rastitel'nogo Syr'ya*. 2021;(3):329-333. (In Russian). <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021038854>.

12. Gorbyleva E.L., Borovskii G.B. Growth and stability biostimulators for plants containing terpenoids and other biologically-active compounds. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2018;8(4):32-41. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-32-41>.

13. Du Jardin P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*. 2015;196:3-14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>.

14. Davidyants E.S. Effect of triterpenoid glycosides on α - and β -amylase activity and total protein content in wheat seedlings. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2011;47(5):480-486. <https://doi.org/10.1134/S0003683811050048>.

15. Hammerbacher A., Wright L.P., Gershenzon J. Spruce phenolics: biosynthesis and ecological functions. In: *The Spruce Genome*. NY: Springer; 2020, p. 193-214.

16. Mamaev S.A. Conifer species in the Urals and their use in landscaping. Sverdlovsk: USC AN USSR, 1983. 112 p. (In Russian).

17. Panjushkina N.V., Karasev V.N., Karaseva M.A., Brodnikov S.N. Method of stimulating germination rate of Scots pine seeds. Patent RF, no. 2569017; 2015. (In Russian).

18. Ostroshenko V.Yu., Ostroshenko L.Yu., Ostroshenko V.V., Inshakov S.V., Railko S.P. Growth stimulator "Pichtorost" ("Fir Growl"). Patent RF, no. 2701512; 2019. (In Russian).

19. Tyukavina O.N., Demina N.A. Practice of improving scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seeds and european spruce (*Picea abies* L.) progeny. *Lesnoy vestnik = Forestry Bulletin*. 2022;26(6):75-91. (In Russian). <https://doi.org/10.18698/2542-1468-2022-6-75-91>.

20. Khurshkainen T.V., Kuchin A.V., Stetsenko S.K., Andreeva E.M., Terekhov G.G. Method for stimulating the growth rate of Scotch pine seedlings. Patent RF, no. 2790667; 2023. (In Russian).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Calvo P., Nelson L., Kloepper J.W. Agricultural uses of plant biostimulants // *Plant and Soil*. 2014. Vol. 383. P. 3-41. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>.

2. Рябчинская Т.А., Зими́на Т.В. Средства, регулирующие рост и развитие растений, в агротехнологиях современного растениеводства // *Агрохимия*. 2017. Т. 12. С. 62-92. <https://doi.org/10.7868/S0002188117120092>.

3. Metsämuuronen S., Siren H. Antibacterial compounds in predominant trees in Finland: review // *Journal of Bioprocessing and Biotechniques*. 2014. Vol. 4, no. 5. <https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000167>.

4. Чукичева И.Ю., Хуршкайнен Т.В., Кучин А.В. Природные регуляторы роста растений из хвойного сырья // *Иноватика и экспертиза: научные труды*. 2018. N 3. С. 93-99.

5. Егорова А.В., Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В. Влияние хвойного препарата на рост и эле-

ментный состав семян *Pinus sylvestris* L. в условиях лесного питомника // *Химия растительного сырья*. 2017. N 2. С. 171-180. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017021720>.

6. Кириенко М.А., Гончарова И.А. Пролонгированное влияние стимуляторов роста на морфометрические показатели трехлетних семян основных лесобразующих видов Средней Сибири // *Сибирский лесной журнал*. 2018. N 1. С. 65-70. <https://doi.org/10.15372/SJFS20180107>.

7. Гродницкая И.Д., Полякова Г.Г., Сенашова В.А., Пашкеева О.Э., Пашенова Н.В., Антонов Г.И. [и др.]. Влияние обработки семян сосны обыкновенной биопрепаратами на повышение качества посадочного материала в лесных питомниках Красноярского края // *Сибирский лесной журнал*. 2021. N 3. С. 3-16.

8. Saltsevich Y.V., Ageev A.A., Buryak L.V., Achikolova I.S. Use of organic biostimulant for growing

siberian spruce seedlings. *Earth and Environmental Science*. 2021. Vol. 875. P. 012084. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/875/1/012084>.

9. Nikonova N.N., Hurshkainen T.V., Shevchenko O.G., Kuchin A.V. "Green technology" processing of pine (*Pinus sylvestris* L.) and larch (*Larix sibirica* Ledeb.) wood greenery to produce bioactive extracts // *Holzfor-schung*. 2022. Vol. 76, no. 3. P. 276–284. <https://doi.org/10.1515/hf-2021-0122>.

10. Хуршайнен Т.В., Кучин А.В. Лесохимия для инноваций в сельском хозяйстве // *Известия Коми научного центра УРО РАН*. 2011. N 1. С. 17–23.

11. Хуршайнен Т.В., Стеценко С.К., Андреева Е.М., Терехов Г.Г., Кучин А.В. Эффективность природных стимуляторов роста при выращивании сеянцев *Picea obovata* Ledeb. // *Химия растительного сырья*. 2021. N 3. С. 329–333. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021038854>.

12. Горбылева Е.Л., Боровский Г.Б. Биостимуляторы роста и устойчивости растений терпеноидной природы и другие биологически активные соединения, полученные из хвойных пород // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2018. Т. 8. N 4. С. 32–41. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-32-41>.

13. Du Jardin P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation // *Scientia Horticulturae*. 2015. Vol. 196. P. 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>.

14. Davidyants E.S. Effect of triterpenoid glycosides on α - and β -amylase activity and total protein content in wheat seedlings // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2011. Vol. 47, no. 5. P. 480–486. <https://doi.org/10.1134/S0003683811050048>.

15. Hammerbacher A., Wright L.P., Gershenzon J. Spruce phenolics: biosynthesis and ecological functions // *The Spruce Genome*. NY: Springer, 2020. P. 193–214.

16. Мамаев С.А. Виды хвойных на Урале и их использование в озеленении. Свердловск: Уральский Научный Центр АН СССР, 1983. 112 с.

17. Пат. N 2569017, Российская Федерация, А01С 1/06. Способ стимуляции скорости прорастания семян сосны обыкновенной / Н.В. Панюшкина, В.Н. Карасев, М.А. Карасева, С.Н. Бродников; заявитель и патентообладатель Поволжский государственный технологический университет. Заявл. 05.06.2014; опубл. 20.11.2015. Бюл. N 32.

18. Пат. N 2701512, Российская Федерация, А01N 65/00, А01N 33/00, А01Р 21/00. Стимулятор роста растений «Пихторост» / В.Ю. Острошенко, Л.Ю. Острошенко, В.В. Острошенко, С.В. Иншаков, С.П. Раилко; заявитель и патентообладатель Приморская государственная сельскохозяйственная академия. Заявл. 24.01.2019; опубл. 20.11.2015. Бюл. N 32.

19. Тюкавина О.Н., Демина Н.А. Практика повышения посевных качеств семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели европейской (*Picea abies* L.) // *Лесной вестник*. 2022. Т. 26. N 6. С. 75–91. <https://doi.org/10.18698/2542-1468-2022-6-75-91>.

20. Пат. N 2790667, Российская Федерация, А01С 1/06. Способ стимуляции скорости роста сеянцев сосны обыкновенной / Т.В. Хуршайнен, А.В. Кучин, С.К. Стеценко, Е.М. Андреева, Г.Г. Терехов; заявитель и патентообладатель Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук; Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук. Заявл. 19.04.2022; опубл. 28.02.2023. Бюл. N 7.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Elena M. Andreeva,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Botanical Garden, Ural Branch of Russian Academy
of Sciences,
202a, 8 Marta St., Ekaterinburg,
Russian Federation,
e_m_andreeva@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2651-2541>

Svetlana K. Stetsenko,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Botanical Garden, Ural Branch of Russian Academy
of Sciences,
202a, 8 Marta St., Ekaterinburg,
Russian Federation,
stets_s@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4885-3817>

Gennady G. Terekhov,
Dr. Sci. (Agriculture), Leading Researcher,
Botanical Garden, Ural Branch of Russian Academy
of Sciences,
202a, 8 Marta St., Ekaterinburg,
Russian Federation,
terekhov_g_g@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2312-9224>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Елена Михайловна Андреева,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Ботанический сад УрО РАН,
620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202а,
Российская Федерация,
e_m_andreeva@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2651-2541>

Светлана Карленовна Стеценко,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Ботанический сад УрО РАН,
620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202а,
Российская Федерация,
stets_s@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4885-3817>

Геннадий Григорьевич Терехов,
д.с.-х.н., ведущий научный сотрудник,
Ботанический сад УрО РАН,
620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202а,
Российская Федерация,
terekhov_g_g@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2312-9224>

Tatyana V. Khurshkainen,
Cand. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,
Institute of Chemistry, FRC Komi Science Center,
Ural Branch of RAS,
48, Pervomayskaya St., 167000 Syktyvkar,
Russian Federation,
hurshkainen@chemi.komisc.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2710-243X>

Alexander V. Kutchin,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Academician
of the Russian Academy of Sciences,
Institute of Chemistry, FRC Komi Science Center
of the Ural Branch of RAS,
48, Pervomayskaya St., 167000 Syktyvkar,
Russian Federation,
kutchin-av@chemi.komisc.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4322-7961>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

*The article was submitted 27.01.2023.
Approved after reviewing 15.02.2023.
Accepted for publication 28.02.2023.*

Татьяна Владимировна Хуршкайнен,
к.х.н., старший научный сотрудник,
Институт химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
167000, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 48,
Российская Федерация,
hurshkainen@chemi.komisc.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2710-243X>

Александр Васильевич Кучин,
д.х.н., заведующий лабораторией,
академик РАН, профессор,
Институт химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
167000, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 48,
Российская Федерация,
kutchin-av@chemi.komisc.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4322-7961>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

*Поступила в редакцию 27.01.2023.
Одобрена после рецензирования 15.02.2023.
Принята к публикации 28.02.2023.*

Научная статья

УДК 631.86, 632.937

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-107-114>



Перспективы применения модифицированного биофунгицида на основе *Trichoderma viride* для оздоровления почв

Н.И. Кириллова, И.А. Дегтярева✉, Е.А. Прищепенко

Татарский научно-исследовательский институт агрохимии и почвоведения – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», г. Казань, Российская Федерация

Аннотация. Препарат Триходермин на основе *Trichoderma viride* предназначен для обработки семян зерновых, овощных, плодово-ягодных культур и для внесения в почву. Новое направление в исследованиях связано с применением природных минералов – цеолита (0,2 и 0,04 мм), диатомита, глауконита и сапропеля. В лабораторных экспериментах установлено, что природные минералы не угнетают развитие *T. viride*. Только глауконит и диатомит, стимулируя ее рост, приводят к быстрому спороношению. Цеолит в обеих фракциях (0,20 и 0,04 мм) оказывает пролонгирующее действие на рост *T. viride*. Сапропель удлинняет срок развития микромицета в меньшей степени, чем цеолит в обеих фракциях. Исследования продолжены в полевом опыте, где после внесения биопрепарата Триходермин проведена оценка микромицетного состава серой лесной почвы Лаишевского муниципального района Республики Татарстан. Биофунгицид на основе микромицета *T. viride* (доза 3 кг/га) внесен в почву совместно с вышеперечисленными природными минералами (доза внесения каждого 0,5 т/га). Отбор проб почвы для количественной и качественной характеристики микромицетного сообщества проведен в фазы всхожести и кущения озимой пшеницы сорта Султан. Установлено, что применение препарата Триходермин способствует значительному увеличению в почве представителей рода *Trichoderma*. Отмечено преобладание этого рода (74–100%) по сравнению с остальными микроскопическими грибами (pp. *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*). Выявлена ингибирующая активность *Trichoderma* в отношении патогенных грибов. Фитопатогенные грибы рода *Fusarium* отсутствуют только в вариантах с добавлением цеолита (0,04 мм) и диатомита. Применение диатомита и цеолита совместно с препаратом Триходермин является перспективным приемом для улучшения фитосанитарного состояния почв сельскохозяйственного назначения.

Ключевые слова: *Trichoderma viride*, биофунгицид, диатомит, глауконит, сапропель, цеолит, почва, микромицеты

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № FMEG-2021-0003, регистрационный номер 121021600147-1.

Для цитирования: Кириллова Н.И., Дегтярева И.А., Прищепенко Е.А. Перспективы применения модифицированного биофунгицида на основе *Trichoderma viride* для оздоровления почв // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 107–114. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-107-114>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Prospects of a modified biofungicide based on *Trichoderma viride* for soil health improvement

Nadezhda I. Kirillova, Irina A. Degtyareva✉, Elena A. Prishchepencko

Scientific Institution Tatar Scientific Research Institute of Agricultural Chemistry and Soil Science – Subdivision of the Federal State Budgetary Institution of Science «Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences», Kazan, Russian Federation

Abstract. *Trichodermin* biopreparations isolated from *Trichoderma viride* are widely used for treating seed, vegetable, fruit and berry crops, as well as for soil application. A promising research direction consists in the simultaneous use of *Trichodermin* biopreparations and natural minerals, such as zeolite (0.2 and 0.04 mm), diatomite, glauconite and sapropel. Our laboratory experiments showed that these minerals do not inhibit the development of *T. viride*. While promoting *T. viride* growth, glauconite and diatomite application lead to its rapid sporulation. Zeolite in both fractions (0.20 and 0.04 mm) has a long-acting effect on *T. viride* growth. Sapropel prolongs the period of micromycete development to a lesser extent than zeolite in both fractions does. The studies were continued in a field experiment, where the micromycete composition of gray forest soils of Laishevsky district of the Republic of Tatarstan was evaluated after the application of a *Trichodermin* biopreparation. A biofungicide based on *T. viride* (at a dose of 3 kg/ha) was introduced into the soil together

© Кириллова Н.И., Дегтярева И.А., Прищепенко Е.А., 2023

with the above natural minerals (at a dose of 0.5 t/ha each). Soil sampling for a quantitative and qualitative analysis of the micromycete community was carried out in the phases of germination and tillering of winter wheat (Sultan variety). *Trichodermin* contributed to a significant increase in the amount of *T. viride* in the soil. This genus was the dominant (74–100%) among other microscopic fungi present in the soil (*p. Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*). *T. viride* was found to exhibit inhibitory activity against pathogenic fungi. Phytopathogenic fungi of the *Fusarium* genus were absent only in variants with the addition of zeolite (0.04 mm) and diatomite. The use of diatomite and zeolite together with *Trichodermin* preparations is a promising technique for improving the phytosanitary state of agricultural soils.

Keywords: *Trichoderma viride*, biofungicide, diatomite, glauconite, sapropel, zeolite, soil, micromycetes

Funding. The work is carried out within the framework of the state task no. FMEG-2021-0003, registration number 121021600147-1.

For citation: Kirillova N.I., Degtyareva I.A., Prishchepenko E.A. Prospects of a modified biofungicide based on *Trichoderma viride* for soil health improvement. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):107-114. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-107-114>.

ВВЕДЕНИЕ

Рациональное природопользование – одно из приоритетных направлений развития науки и технологий в Российской Федерации. Актуальным элементом системы защиты растений от болезней является применение биотехнологий и биосредств. Это одна из самых быстрорастущих высокотехнологичных областей в мире.

Подавляющее количество возбудителей болезней растений относится к фитопатогенным грибам (более 80%). При этом потери урожая возделываемых культур от грибных болезней в разные годы составляют 5–30% и могут достигать до 50% и более в эпифитотийные годы, когда степень поражения культур болезнями значительно превосходит среднестатистические показатели¹.

В повышении плодородия почв значительный интерес представляет разработка экологически безопасных фунгицидов, т.к. внесение в почву препаратов на основе микроорганизмов-антагонистов существенно снижает количество фитопатогенных грибов в ризосфере растений и способствует оздоровлению почвы [1]. На сегодняшний день на рынке существует огромное количество разнообразных биопрепаратов. Для обработки семян в борьбе с фитопатогенами рекомендованы бактериальные препараты на основе штаммов *Bacillus subtilis* (Интеграл, Фитоспорин, Бактофит), штаммов *Pseudomonas fluorescens* (Биограм), штаммов *Pseudomonas aureofaciens* (Псевдобактерин-2), грибной препарат на основе штаммов *Trichoderma lignorum*, *Trichoderma viride* (Триходермин). Данные препараты менее токсичны по сравнению с химическими фунгицидами и более доступны для большинства сельхозтоваропроизводителей из-за относительно низкой стоимости². Именно благодаря биометодам возможно сокращение числа химических обработок и восстановление численности природных популяций.

В сельском хозяйстве применяются биопрепараты на основе микромицета рода *Trichoderma*, который характеризуется быстрым ростом, высоким конидиальным спороношением и способностью образовывать склероции при неблагоприятных условиях [2]. Использование грибов рода *Trichoderma* является основой для

реализации экологически безопасных, экономичных и долговременных методов борьбы с патогенными микроорганизмами почвы [3, 4].

Trichoderma играет важную роль в повышении плодородия почвы. Она является антагонистом по отношению к ряду патогенных грибов родов *Fusarium*, *Phytophthora*, *Alternaria*, *Phythium*, *Botrytis*, *Phoma* [5, 6], подавляя их развитие [7, 8]. *Trichoderma* характеризуется высокой приживаемостью и конкурентоспособностью благодаря развитой системе ферментативного аппарата. Микромицет *Trichoderma* синтезирует физиологически активные вещества, влияющие на биохимические процессы, протекающие в растениях, оказывает положительное действие на ростовые процессы и влияет на продуктивность растений [9–11].

На основе штамма *Trichoderma viride* создан биопрепарат Триходермин, который оказывает стимулирующее действие на развитие растений, влияет на изменение структуры почвы, улучшает ее плодородие [12, 13]. При внесении этого препарата в почву развивается мицелий, выделяющий антибиотики (глиотоксин, виридин, алалицин и др.), которые оказывают защитное действие более чем от 40 возбудителей болезней, в том числе и от корневых гнилей [14].

Широкое использование биологических методов позволяет кардинально изменить ситуацию в растениеводстве, а именно успешно решать вопросы не только производства качественной растениеводческой продукции, но в целом охраны природы и здоровья населения.

С учетом вызовов современности, связанных с санкциями против России, и современных тенденций развития сельского хозяйства (повышение цен на минеральные удобрения, снижение почвенного плодородия, поиск альтернативы пестицидам и др.) необходимы новые и модифицированные биофунгициды на основе местной микрофлоры и минерального сырья, применяемого в качестве пролонгаторов роста микроорганизмов.

Цель исследования – изучение микромицетного состава почвы в полевых условиях при внесении модифицированного препарата Триходермин.

¹Сокирко В.П., Горьковенко В.С., Зазимко М.И. Фитопатогенные грибы (морфология и систематика): учеб. пособие. Краснодар: КубГАУ, 2014. 178 с.

²Минаева О.М., Акимова Е.Е., Зюбанова Т.И., Терещенко Н.Е. Биопрепараты для защиты растений: оценка качества и эффективности: учеб. пособие. Томск: ТГУ, 2018. 130 с.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Биопрепарат Триходермин был создан на основе микроскопического гриба *T. viride* (получен в филиале ФГБУ «Россельхозцентр» по Республике Татарстан (РТ), титр – не менее $1,5 \cdot 10^9$ КОЕ/г). Вносили несколько природных минералов: цеолит Татарско-Шатрашанского месторождения РТ, диатомит Инзенского месторождения Ульяновской области РФ, глауконит Сюндюковского месторождения РТ, сапропель месторождения оз. Белое РТ [15].

Работа состояла из нескольких этапов: лабораторные эксперименты и исследования в полевом опыте. В лабораторных экспериментах проверяли совместимость и сохранность *T. viride* с природными минералами. Для оценки совместимости в среде Чапека добавляли природные минералы в концентрации 1 г/л. Затем в агаризованную модифицированную среду проводили посев *T. viride* штрихом и уколом, инкубируя затем в термостате при температуре 28 °С. За ростом *T. viride* наблюдали в динамике (на 4, 7 и 10 сутки культивирования) по размеру колоний. Для проверки сохранности проводили культивирование *T. viride* на органическом субстрате с внесением исследуемых минералов (в соотношении 1:10) с последующим определением численности микромицета.

Полевой опыт был заложен на серой лесной среднесуглинистой почве Лаишевского муниципального района РТ по схеме: 1) фон ($N_{60}P_{60}K_{60}$); 2) фон + Триходермин; 3) фон + Триходермин + цеолит 0,2 мм; 4) фон + Триходермин + цеолит 0,04 мм; 5) фон + Триходермин + диатомит; 6) фон + Триходермин + глауконит; 7) фон + Триходермин + сапропель. Доза внесения препарата Триходермин – 3 кг/га. Площадь делянки – 18 м², повторность 3-кратная, размещение делянок рандомизированное.

Серая лесная среднесуглинистая почва имела следующую агрохимическую характеристику: гумус – 3,2%; $pH_{\text{сол.}}$ – 6,0; N_r – 0,8 мг-экв/100 г; $S_{\text{по}}$ – 21,2 мг-экв/100 г; $N_{\text{щел}}$ – 119,0 мг/кг; P_{2O_5} – 92,0 мг/кг; K_2O – 162,0 мг/кг. В полевом опыте выращивали озимую пшеницу сорта Султан.

Отбор проб почвы проводили в соответствии с требованиями ГОСТ 17.4.3.01-83³ в фазы всходов и кущения озимой пшеницы. Посев почвенных образцов осуществляли на среду Чапека в чашки Петри методом предельных разведений⁴. Инкубацию проводили в термостате при температуре 27 °С. Подсчет выросших колоний микромицетов осуществляли на 3 сут. культивирования. Микрокопирование мицелия проводили с помощью инвертированного биологического микроскопа НИБ (ООО «ЛОМО-Микроанализ», Россия). Определение до рода осуществляли по определителю⁵.

Все параметры измеряли не менее чем в 3-кратной повторности. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью электронных таблиц Excel и программы Origin 4.1.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Препарат Триходермин на основе *T. viride* предназначен и для обработки семян зерновых, овощных, плодово-ягодных культур, и для внесения в почву. Новое направление в исследованиях связано с применением природных минералов в качестве пролонгаторов роста микромицетов рода *Trichoderma*. Для создания модифицированных препаратов на основе *T. viride* необходимо комплексное изучение ее совместимости с минералами.

Рост *T. viride* изучен в динамике при посеве на среду Чапека с добавлением в нее природных минералов (рис. 1, 2).

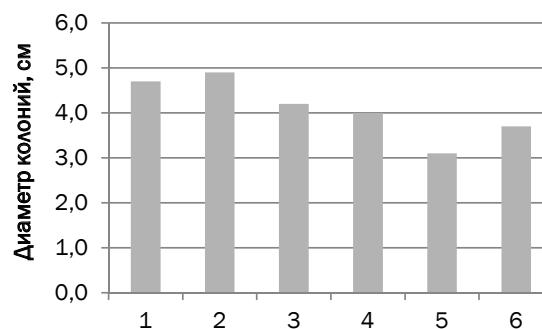


Рис. 1. Диаметр колоний *Trichoderma viride* с природными минералами по состоянию на 4 сутки: 1 – *T. viride* (контроль); 2 – *T. viride* + диатомит; 3 – *T. viride* + глауконит; 4 – *T. viride* + сапропель; 5 – *T. viride* + цеолит (0,04 мм); 6 – *T. viride* + цеолит (0,20 мм)

Fig. 1. Diameter of *Trichoderma viride* colonies with natural minerals as of day 4: 1 – *T. viride* (control); 2 – *T. viride* + diatomite; 3 – *T. viride* + glauconite; 4 – *T. viride* + sapropel; 5 – *T. viride* + zeolite (0.04 mm); 6 – *T. viride* + zeolite (0.20 mm)

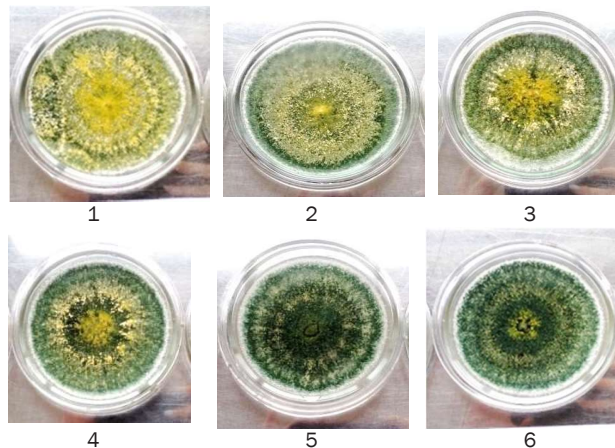


Рис. 2. Рост *Trichoderma viride* с природными минералами по состоянию на 7 сутки: 1 – *T. viride* (контроль); 2 – *T. viride* + диатомит; 3 – *T. viride* + глауконит; 4 – *T. viride* + сапропель; 5 – *T. viride* + цеолит (0,04 мм); 6 – *T. viride* + цеолит (0,20 мм)

Fig. 2. Growth of *Trichoderma viride* with natural minerals on day 7: 1 – *T. viride* (control); 2 – *T. viride* + diatomite; 3 – *T. viride* + glauconite; 4 – *T. viride* + sapropel; 5 – *T. viride* + zeolite (0.04 mm); 6 – *T. viride* + zeolite (0.20 mm)

³ГОСТ 17.4.3.0-83. Охрана природы (ССОП). Почвы. Общие требования к отбору проб. М.: Стандартинформ, 2008. 3 с.

⁴Нетрусов А.И., Котова И.Б. Общая микробиология: учебник для студ. М.: Академия, 2007. 288 с.

⁵Пидопличко Н.М. Грибы-паразиты культурных растений: определитель в 3-х т. Т. 2. Грибы несовершенные. Киев: Наукова думка, 1977. 301 с.

Установлено, что природные минералы не угнетают развитие *T. viride*. Только глауконит и диатомит, стимулируя ее рост, приводят к быстрому спороношению. Цеолит в обеих фракциях (0,20 и 0,04 мм) оказывает более длительное пролонгирующее действие на рост *T. viride*. Сапропель удлиняет срок развития микромицета в меньшей степени, чем цеолит в обеих фракциях. Следовательно, применение практически всех исследованных природных минералов способствует удлинению развития *T. viride* и оттягиванию сроков спороношения, что увеличивает сохранность и активность микромицета в составе биопрепарата (см. рис. 2).

При изучении действия различных минералов на рост и сохранность жизнеспособности *T. viride* установлено, что цеолит, диатомит, глауконит и сапропель не ингибируют рост *T. viride* [16].

Исследования продолжены в полевом опыте. Разнообразие почвенных микромицетов в опытных вариантах представлено родами *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium*. Установлено, что внесение препарата Триходермин способствует значительному увеличению численности грибов рода *Trichoderma* в почве во всех вариантах по сравнению с другими выявленными родами (рис. 3).

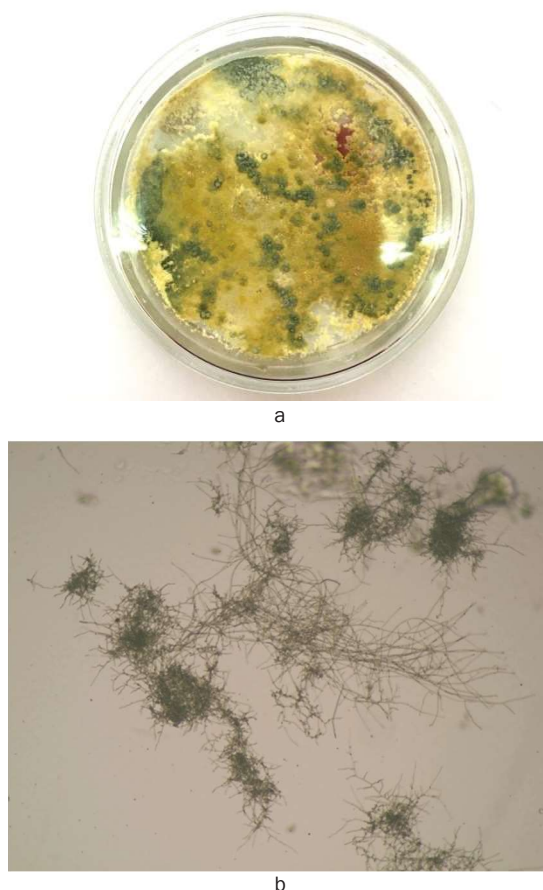


Рис. 3. Рост рода *Trichoderma* из образца почвы на среде Чапека (а) и микроскопическое изображение мицелия (инвертированный биологический микроскоп НИБ, увеличение x40) (b)

Fig. 3. Growth of the genus *Trichoderma* from a soil sample on Czapek's medium (a) and microscopic image of the mycelium (NIB inverted biological microscope, x40 magnification) (b)

В исходной почве обнаружены патогенные грибы и отсутствуют микромицеты рода *Trichoderma*. В фазе всходов озимой пшеницы микромицетный состав иной. На рис. 4 представлен количественный и качественный состав микромицетов в исследуемых образцах почвы и процентное содержание рода *Trichoderma* относительно общего количества микроскопических грибов.

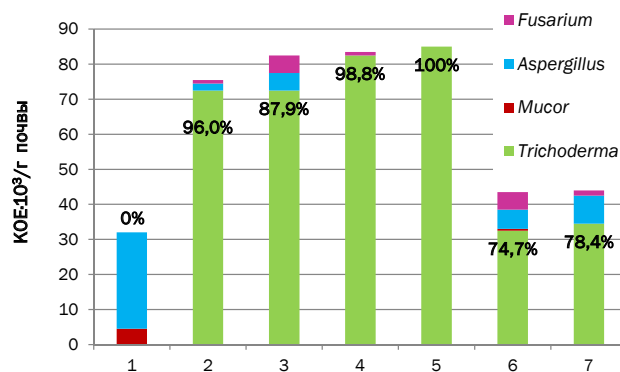


Рис. 4. Почвенное микромицетное сообщество при внесении биопрепарата Триходермин в фазе всходов: 1 – фон (NPK); 2 – фон + Триходермин; 3 – фон + Триходермин + цеолит 0,2 мм; 4 – фон + Триходермин + цеолит 0,04 мм; 5 – фон + Триходермин + диатомит; 6 – фон + Триходермин + глауконит; 7 – фон + Триходермин + сапропель

Fig. 4. Soil micromycete community after application of Trichodermin biopreparation in the seedling phase: 1 – background (NPK); 2 – background + Trichodermin; 3 – background + Trichodermin + zeolite 0.2 mm; 4 – background + Trichodermin + zeolite 0.04 mm; 5 – background + Trichodermin + diatomite; 6 – background + Trichodermin + glauconite; 7 – background + Trichodermin + sapropel

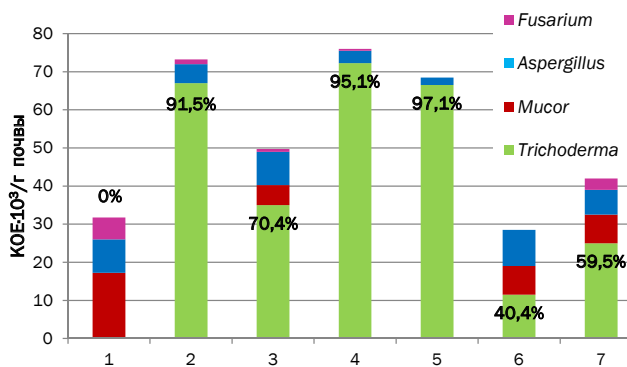


Рис. 5. Почвенное микромицетное сообщество при внесении биопрепарата Триходермин в фазе кущения: 1 – фон (NPK); 2 – фон + Триходермин; 3 – фон + Триходермин + цеолит 0,2 мм; 4 – фон + Триходермин + цеолит 0,04 мм; 5 – фон + Триходермин + диатомит; 6 – фон + Триходермин + глауконит; 7 – фон + Триходермин + сапропель

Рис. 5. Soil micromycete community after application of Trichodermin biopreparation in the tillering phase: 1 – background (NPK); 2 – background + Trichodermin; 3 – background + Trichodermin + zeolite 0.2 mm; 4 – background + Trichodermin + zeolite 0.04 mm; 5 – background + Trichodermin + diatomite; 6 – background + Trichodermin + glauconite; 7 – background + Trichodermin + sapropel

Установлено, что внесение биофунгицида Триходермин способствует значительному преобладанию рода *Trichoderma* по сравнению с другими микроскопическими грибами. В вариантах с применением препарата Триходермин и биофунгицида совместно с природными минералами, такими как диатомит и цеолит, содержание рода *Trichoderma* максимальное ($8,0 \cdot 10^4$ КОЕ/г почвы) и составляет 87,9–100,0%. При внесении биофунгицида Триходермин с глауконитом и сапропелем также отмечено преобладание рода *Trichoderma* (74,7 и 78,4% соответственно), но количество несколько ниже – $3,25 \cdot 10^4$ и $3,45 \cdot 10^4$ КОЕ/г почвы соответственно.

Спустя месяц (в фазе кущения) был произведен второй отбор проб почвы (рис. 5).

В этой фазе онтогенеза озимой пшеницы также наблюдается высокое процентное содержание рода *Trichoderma* в вариантах с внесением Триходермина – Триходермин + цеолит (0,04 мм) и Триходермин + диатомит (91,5; 95,1 и 97,1% соответственно). В варианте Триходермин + цеолит (0,2 мм) отмечено снижение численности микромицета рода *Trichoderma* в 2,1 раза по сравнению с отбором в фазе всходов. Следует отметить вариант с внесением глауконита, который характеризуется наименьшим содержанием рода *Trichoderma* (40,4%) и количеством ($1,2 \cdot 10^4$ КОЕ/г почвы), что в 2,8 раз меньше, чем в фазе всходов. Патогенные грибы рода *Fusarium* отсутствуют в вариантах с применением цеолита (0,04 мм) и диатомита.

Полученные данные согласуются с исследованиями, в которых показано, что взаимодействие *Trichoderma* с почвой вызывает существенные изменения в ее микробном сообществе [11, 17, 18]. Эффективность внесения биопрепаратов на основе рода *Trichoderma* в почву подтверждается в публикации Р.А.А. Хан и соавторов, где отмечено, что микромицеты рода *Trichoderma* вступают в сложные взаимоотношения с аборигенной почвенной микрофлорой, в процессе которых может происходить подавление роста, стимуляция развития микроорганизмов либо нейтральное отношение к присутствию рода *Trichoderma* [19].

Благодаря своим ростовым особенностям, физи-

ологическим свойствам и спектру экзо- и эндометаболитов представители рода *Trichoderma* обладают высокой приспособленностью, выживаемостью и конкурентоспособностью в экологической нише [12]. Искусственно внесенные в почву микрогрибы рода *Trichoderma* вступают в сложные взаимоотношения с аборигенной почвенной микрофлорой [19].

В работах С. Кесвани с соавторами и Ф.К. Алимовой описана фунгистатическая активность *Trichoderma* по отношению к фитопатогенным микроорганизмам (*Penicillium* и *Aspergillus*), а также ее стимулирующее действие на развитие полезных бактерий (дiazотрофных бактерий, актинобактерий) [12]. Важную роль микроорганизмов-антагонистов в фитосанитарной оптимизации агроэкосистем отмечают И.И. Новикова, Л.Е. Колесников с соавторами и др. [1, 20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение практически всех исследованных природных минералов способствует удлинению развития *T. viride* и оттягиванию сроков спороношения. Использование препарата Триходермин совместно с природными минералами улучшает фитосанитарное состояние почвы в полевом опыте с озимой пшеницей. Отмечено преобладание рода *Trichoderma* по сравнению с остальными выявленными почвенными микромицетами (pp. *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*). При этом внесение препарата Триходермин способствует значительному увеличению в почве *T. viride*, которая проявляет ингибирующую активность в отношении патогенных грибов. Особо значимым является то, что фитопатогенные грибы рода *Fusarium* отсутствуют в вариантах с добавлением цеолита (0,04 мм) и диатомита.

Считаем, что, несмотря на существующие удобрения, необходимы более эффективные способы улучшения свойств почвы и растений. Повышение продуктивности культур можно достигнуть за счет применения природных минералов и органоминеральных соединений, способствующих более эффективному усвоению элементов питания растениями и стимуляции внутренних резервов сельскохозяйственных культур.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Новикова И.И. Биологическое обоснование создания и применения полифункциональных биопрепаратов на основе микробов-антагонистов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем // Вестник защиты растений. 2017. N 3. С. 16–23.
2. Strakowska J., Błaszczak L., Chełkowski J. The significance of cellulolytic enzymes produced by *Trichoderma* in opportunistic lifestyle of this fungus // Journal of Basic Microbiology. 2014. Vol. 54, no. S1. P. S2–S13. <https://doi.org/10.1002/jobm.201300821>.
3. Mendoza-Mendoza A., Clouston A., Li J.H., Nieto-Jacobo M.F., Cummings N., Steyaert J., et al. Isolation and mass production of *Trichoderma* // Microbial-based biopesticides. New York: Humana Press, 2016. P. 13–20. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6367-6_2.
4. Rahnema K. Mass production of *Trichoderma* spp. and application // International Research Journal of Applied and Basic Sciences. 2012. Vol. 3, no. 2. P. 292–298.
5. Al-Ani L.K.T., Singh H.B., Keswani C., Reddy M.S., Sansinenea E., García-Estrada C. Bioactive secondary metabolites of *Trichoderma* spp. for efficient management of phytopathogens // Secondary metabolites of plant growth promoting rhizomicroorganisms. Singapore: Springer, 2019. P. 125–143. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5862-3_7.
6. Штерншис М.В., Джабаров Ф.С.-У., Андреева И.В., Томилова О.Г. Биологическая защита растений. М.: КолосС, 2004. 264 с.
7. Потехина Р.М. Морфологические изменения полевых изолятов рода *Trichoderma* после приме-

нения гербицидов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2021. Т. 246. N 2. С. 166–171. <https://doi.org/10.31588/2413-4201-1883-246-2-166-171>.

8. Mohsenzadeh F., Shahrokhi F. Biological removing of cadmium from contaminated media by fungal biomass of *Trichoderma* species // *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. 2014. Vol. 12, no. 1. P. 102. <https://doi.org/10.1186/2052-336X-12-102>.

9. Vicente I., Baroncelli R., Hermosa R., Monte E., Vannacci G., Sarrocco S. Role and genetic basis of specialised secondary metabolites in *Trichoderma* eco-physiology // *Fungal Biology Reviews*. 2022. Vol. 39. P. 83–99. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.12.004>.

10. Голованова Т.И., Гаевский Н.А., Валиуллина А.Ф., Литовка Ю.А. Влияние спор *Trichoderma asperellum* и метаболитов *Fusarium sporotrichioides* на ростовые процессы и фотосинтетический аппарат пшеницы // *Микология и фитопатология*. 2020. Т. 54. N 2. С. 134–142. <https://doi.org/10.31857/S0026364820020038>.

11. Сейкетов Г.Ш. Грибы рода *Trichoderma* и их использование в практике. Алма-Ата: Наука, 1982. 248 с.

12. Keswani C., Singh H.B., Hermosa R., García-Estrada C., Caradus J., He Y.H., et al. Antimicrobial secondary metabolites from agriculturally important fungi as next biocontrol agents // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019. Vol. 103. P. 9287–9303. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10209-2>.

13. Зуев П. Как получать и хранить Триходермин // *Микология и фитопатология*. 1971. Т. 5. N 6. С. 44.

14. Ямалиева А.М., Апаева Н.Н. Применение биопрепаратов при возделывании яровой пшеницы // *Вестник Марийского государственного университета*. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономиче-

ские науки. 2019. Т. 5. N 4. С. 432–439. <https://doi.org/10.30914/2411-9687-2019-5-4-432-439>.

15. Яппаров А.Х., Алиев Ш.А., Яппаров И.А., Дегтярева И.А., Ежкова А.М., Ежков В.О. [и др.]. Научное обоснование получения наноструктурных и нанокompatных материалов и технологии их использования в сельском хозяйстве: монография. Казань: Центр инновационных технологий, 2014. 304 с.

16. Кириллова Н.И., Прищепенко Е.А., Дегтярева И.А., Кошпаева Т.В., Новичков В.А. Разработка метода хранения биопрепарата Триходермин // *Агрохимический вестник*. 2022. N 3. С. 60–64. <https://doi.org/10.24412/1029-2551-2022-3-011>.

17. Горшков В.Ю. Бактериозы растений: молекулярные основы формирования растительно-микробных патосистем. Казань: Изд-во Сергея Бузукина, 2017. 301 с.

18. Matarese F., Sarrocco S., Gruber S., Seidl-Seiboth V., Vannacci G. Biocontrol of *Fusarium* head blight: interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium* // *Microbiology*. 2012. Vol. 158. P. 98–106. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052639-0>.

19. Khan R.A.A., Najeeb S., Hussain S., Xie B., Li Y. Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against Phytopathogenic Fungi // *Microorganisms*. 2020. Vol. 8, no. 6. P. 817. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060817>.

20. Колесников Л.Е., Попова Э.В., Новикова И.И., Прияткин Н.С., Архипов М.В., Колесникова Ю.Р. [и др.]. Совместное использование штаммов микроорганизмов и хитозановых комплексов для повышения урожайности пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // *Сельскохозяйственная биология*. 2019. Т. 54. N 5. С. 1024–1040. <https://doi.org/10.15389/agrobiologia.2019.5.1024rus>.

REFERENCES

1. Novikova I.I. Biological substantiation of the use and polyfunctional biological products based on antagonist microbes for a phytosanitary effective agroecosystem. *Vestnik zashchity rastenii*. 2017;(3):16-23. (In Russian).

2. Strakowska J., Błaszczuk L., Chetkowski J. The significance of cellulolytic enzymes produced by *Trichoderma* in opportunistic lifestyle of this fungus. *Journal of Basic Microbiology*. 2014;54(S1):S2-S13. <https://doi.org/10.1002/jobm.201300821>.

3. Mendoza-Mendoza A., Clouston A., Li J.H., Nieto-Jacobo M.F., Cummings N., Steyaert J., et al. Isolation and mass production of *Trichoderma*. In: *Microbial-based biopesticides*. New York: Humana Press; 2016, p. 13-20. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6367-6_2.

4. Rahnema K. Mass production of *Trichoderma* spp. and application. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*. 2012;3(2):292-298.

5. Al-Ani L.K.T., Singh H.B., Keswani C., Reddy M.S., Sansinenea E., García-Estrada C. Bioactive secondary metabolites of *Trichoderma* spp. for efficient man-

agement of phytopathogens. In: *Secondary metabolites of plant growth promoting rhizomicroorganisms*. Singapore: Springer; 2019, p. 125-143. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5862-3_7.

6. Shternshis M.V., Dzhailov F.S.-U., Andreeva I.V., Tomilova O.G. *Biological plant protection*. Moscow: KolosS; 2004. 264 p. (In Russian).

7. Potekhina R.M. Morphological changes of field isolates of the genus *Trichoderma* to herbicides. *Uchenye zapiski Kazanskoi gosudarstvennoi akademii veterinarnoi meditsiny im. N.E. Baumana*. 2021;246(2):166-171. (In Russian). <https://doi.org/10.31588/2413-4201-1883-246-2-166-171>.

8. Mohsenzadeh F., Shahrokhi F. Biological removing of cadmium from contaminated media by fungal biomass of *Trichoderma* species. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. 2014;12(1):102. <https://doi.org/10.1186/2052-336X-12-102>.

9. Vicente I., Baroncelli R., Hermosa R., Monte E., Vannacci G., Sarrocco S. Role and genetic basis of specialised secondary metabolites in *Trichoderma* eco-

physiology. *Fungal Biology Reviews*. 2022;39:83-99. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.12.004>.

10. Golovanova T.I., Gaevsky N.A., Valiulina A.F., Litovka Yu.A. The influence of *Trichoderma asperellum* spores and metabolites of *Fusarium sporotrichioides* on wheat growth processes and photosynthetic apparatus. *Mikologiya i fitopatologiya = Mycology and Phytopathology*. 2020;54(2):134-142. (In Russian). <https://doi.org/10.31857/S0026364820020038>.

11. Seiketov G.Sh. *Mushrooms of the genus Trichoderma and their use in practice*. Alma-Ata: Nauka; 1982. 248 p. (In Russian).

12. Keswani C., Singh H.B., Hermosa R., García-Estrada C., Caradus J., He Y.H., et al. Antimicrobial secondary metabolites from agriculturally important fungi as next biocontrol agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019;103:9287-9303. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10209-2>.

13. Zuev P. How to get and store Trichodermin. *Mikologiya i fitopatologiya = Mycology and Phytopathology*. 1971;5(6):44. (In Russian).

14. Yamaliev A.M., Apaeva N.N. Application of biological preparations in the cultivation of spring wheat. *Vestnik Mariiskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Sel'skokhozyaistvennyye nauki. Ekonomicheskie nauki = Vestnik of Mari State University. Chapter: Agriculture. Economics*. 2019;5(4):432-439. <https://doi.org/10.30914/2411-9687-2019-5-4-432-439>. (In Russian).

15. Yapparov A.Kh., Aliev Sh.A., Yapparov I.A., Degtyareva I.A., Ezhkova A.M., Ezhkov V.O., et al. *Scientific*

substantiation of obtaining nanostructured and nanocomposite materials and technology of their use in agriculture: monograph. Kazan': Tsentr innovatsionnykh tekhnologii; 2014. 304 p. (In Russian).

16. Kirillova N.I., Prishchepenko E.A., Degtyareva I.A., Koshpaeva T.V., Novichkov V.L. Development of a storage method for the biological product Trichodermin. *Agrokhimicheskii vestnik = Agrochemical Herald*. 2022;(3):60-64. <https://doi.org/10.24412/1029-2551-2022-3-011>. (In Russian).

17. Gorshkov V.Yu. *Plant bacterioses: molecular basis for the formation of plant-microbial pathosystems*. Kazan': Izd-vo Sergeya Buzukina; 2017. 301 p. (In Russian).

18. Matarese F., Sarrocco S., Gruber S., Seidl-Seiboth V., Vannacci G. Biocontrol of *Fusarium* head blight: interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium*. *Microbiology*. 2012;158:98-106. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052639-0>.

19. Khan R.A.A., Najeeb S., Hussain S., Xie B., Li Y. Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against Phytopathogenic Fungi. *Microorganisms*. 2020;8(6):817. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060817>.

20. Kolesnikov L.E., Popova E.V., Novikova I.I., Priyatkin N.S., Arkhipov M.V., Kolesnikova Yu.R., et al. Joint use of strains of microorganisms and chitosan complexes to increase the yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya. 2019;54(5):1024-1040*. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.5.1024rus>. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кириллова Надежда Игоревна,
младший научный сотрудник,
Татарский научно-исследовательский институт
агрохимии и почвоведения – обособленное
структурное подразделение Федерального
государственного бюджетного учреждения
науки «Федеральный исследовательский центр
«Казанский научный центр Российской академии
наук»,
420059, г. Казань, ул. Оренбургский тракт, 20А,
Российская Федерация,
Nadyakirillova13@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-8316-5780>

Дегтярева Ирина Александровна,
д.б.н., доцент, главный научный сотрудник,
Татарский научно-исследовательский институт
агрохимии и почвоведения – обособленное
структурное подразделение Федерального
государственного бюджетного учреждения
науки «Федеральный исследовательский центр
«Казанский научный центр Российской академии
наук»,
420059, г. Казань, ул. Оренбургский тракт, 20А,
Российская Федерация,
peace-1963@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1575-8493>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nadezhda I. Kirillova,
Junior Researcher,
Scientific Institution Tatar Scientific Research
Institute of Agricultural Chemistry and Soil Science –
Subdivision of the Federal State Budgetary Institution
of Science «Kazan Scientific Center of the Russian
Academy of Sciences»,
20A, Orenburg trakt St., 420059, Kazan,
Russian Federation,
Nadyakirillova13@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-8316-5780>

Irina A. Degtyareva,
Dr. Sci. (Biology), Associate Professor,
Chief Researcher,
Scientific Institution Tatar Scientific Research
Institute of Agricultural Chemistry and Soil Science –
Subdivision of the Federal State Budgetary Institution
of Science «Kazan Scientific Center of the Russian
Academy of Sciences»,
20A, Orenburg trakt St., 420059, Kazan,
Russian Federation,
peace-1963@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1575-8493>

Прищепенко Елена Александровна,
к.с.-х.н., руководитель,
Татарский научно-исследовательский институт
агрохимии и почвоведения – обособленное
структурное подразделение Федерального
государственного бюджетного учреждения
науки «Федеральный исследовательский центр
«Казанский научный центр Российской академии
наук»,
420059, г. Казань, ул. Оренбургский тракт, 20А,
Российская Федерация,
pea77@list.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9068-3014>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 21.11.2022.
Одобрена после рецензирования 31.01.2023.
Принята к публикации 28.02.2023.

Elena A. Prishchepenko,
Cand. Sci. (Agriculture), Director,
Scientific Institution Tatar Scientific Research
Institute of Agricultural Chemistry and Soil Science –
Subdivision of the Federal State Budgetary Institution
of Science «Kazan Scientific Center of the Russian
Academy of Sciences»,
20A, Orenburg trakt St., 420059, Kazan,
Russian Federation,
pea77@list.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9068-3014>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 21.11.2022.
Approved after reviewing 31.01.2023.
Accepted for publication 28.02.2023.

Научная статья

УДК 664.34, 631.95

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-115-123>



Токсиколого-биохимическая модель оценки экологической чистоты сельскохозяйственной продукции

А.Д. Цикуниб[✉], Ю.А. Демченко

Адыгейский государственный университет, г. Майкоп, Российская Федерация

Аннотация. В настоящее время общемировой тенденцией является формирование рынков экологически чистой продукции, развитие которых сопряжено с целым рядом трудностей, связанных не только с недостаточностью знаний и практической подготовки в области экологического сельского хозяйства, но и с необходимостью совершенствования и развития методологической базы. Использование биотестов, основанных на ферментативных методах в токсиколого-биохимическом мониторинге сельскохозяйственной продукции, является одним из наиболее перспективных направлений. Цель работы заключалась в разработке токсиколого-биохимической модели оценки экологической чистоты сельскохозяйственной продукции на примере масличных культур. Разработанная токсиколого-биохимическая модель оценки экологической чистоты сельскохозяйственной продукции представляет собой единую систему, включающую тест-объект, стандартизованный по ключевым физико-химическим показателям, тест-маркер и тест-реакцию, а также методику выполнения качественной оценки, имеющую свой критериальный аппарат оценки воздействия факторов среды в соответствии с выбранными методами детекции. В качестве исследуемого объекта выбраны семена подсолнечника. Установлен органоспецифический фермент – липаза, для которой определены оптимальные условия для протекания тест-реакции, а также характер и условия влияния тест-субъектов. Разработан метод определения экологической чистоты семян подсолнечника на основе изменения активности органоспецифического фермента в сравнении с референтной величиной. Определены его аналитические характеристики. Предлагаемая нами модель имеет ряд инновационных подходов и отличительных особенностей, таких как использование исследуемого объекта (целостного растения, семян, плодов и т.д.) в качестве тест-объекта, содержащего тест-маркер со специфической тест-реакцией; экстраполяция понятия «референтная величина» в область токсиколого-биохимической оценки безопасности пищевого сырья; введение показателя «динамика изменения активности органоспецифического фермента» относительно референтной величины, позволяющего характеризовать продукцию как экологически чистую.

Ключевые слова: активность липазы, референтная величина, семена подсолнечника, токсиколого-биохимическая модель

Благодарности. Авторы работы выражают благодарность ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур им. В.С. Пустовойта» (г. Краснодар) за предоставление сортовых проб семян подсолнечника для проведения исследований.

Для цитирования: Цикуниб А.Д., Демченко Ю.А. Токсиколого-биохимическая модель оценки экологической чистоты сельскохозяйственной продукции // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 115–123. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-115-123>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

A toxicological and biochemical model for assessing the ecological quality of agricultural products

Aminet D. Tsikunib[✉], Yulia A. Demchenko

Adyghe State University, Maykop, Russian Federation

Abstract. The development of organic agricultural markets is associated with a number of difficulties, including the lack of theoretical and practical knowledge in the field of organic farming. The application of enzymatic biotests in the toxicological and biochemical monitoring of agricultural products seems to be a promising direction. In this work, we develop a toxicological and biochemical model for assessing the ecological quality of agricultural products on the example of oilseed crops. The developed unified model includes a test-object, which is standardized according to the key physical and chemical parameters, a test-marker and a test-reaction, as well as a qualitative assessment technique. The latter is based on criteria for evaluating the impact of environmental factors in accordance with the selected detection methods. The developed model was tested on sunflower seeds. For lipase, which was established to be an organ-specific enzyme, the optimum conditions for a test reaction were determined, as well as the nature and conditions of the influence of

© Цикуниб А.Д., Демченко Ю.А., 2023

test subjects. A method for determining the ecological quality of sunflower seeds based on changes in the activity of the organ-specific enzyme in comparison with the reference value was developed. The main analytical characteristics of the method were determined. The proposed model is characterized by a number of innovative features. Among them are the use of the object under study (an entire plant, seeds, fruits, etc.) as a test-object containing a test-marker with a specific test reaction; introduction of the 'reference value' concept into the field of toxicological and biochemical assessment of agricultural products; introduction of the indicator 'the dynamics of the activity of an organ-specific enzyme' relative to the reference value, which allows products to be characterized in terms of their ecological purity.

Keywords: lipase activity, reference value, sunflower seeds, toxicological and biochemical model

Acknowledgements. The authors express their gratitude to the All-Russian Research Institute of Oilseeds named after V.S. Pustovoit (Krasnodar), for the provision of varietal samples of sunflower seeds for research.

For citation: Tsikunib A.D., Demchenko Yu.A. A toxicological and biochemical model for assessing the ecological quality of agricultural products. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):115-123. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-115-123>.

ВВЕДЕНИЕ

Продвижение идей здорового питания среди населения всех развитых стран является современной тенденцией и активно поддерживается не только государством, но и бизнесом, наукой, производством, а также самими потребителями. В качестве нового вектора устойчивого развития страны в последние годы выступает зеленая экономика [1, 2], направленная на производство экологически чистой и безопасной продукции, являющейся основой для обеспечения здоровья населения [3–6]. В официальном документе под названием «Основы государственной политики в области экологического развития Российской Федерации на период до 2030 года», утвержденном Президентом Российской Федерации 30 апреля 2012 года, в качестве одной из приоритетных задач намечено формирование рынка экологичной продукции, технологий и оборудования, позволяющего производить экологически чистую продукцию. Однако переход на такого рода производство, несмотря на растущий спрос, сопряжен с целым рядом трудностей, связанных не только с недостаточностью знаний и практической подготовки в области экологического сельского хозяйства, но и с необходимостью совершенствования и развития методологической базы для оценки соответствия показателей качества пищевой продукции [7, 8], что особенно подчеркивается в «Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года», принятой Распоряжением Правительства РФ от 29 июня 2016 года № 1364-р. В системе экологического мониторинга объектов окружающей среды (воды, почвы, воздуха) для комплексной оценки экологической безопасности наработан определенный опыт использования различных биотестов (биомаркеров), основанных на ферментативных реакциях [9–12], в то же время такой методологический подход для сельскохозяйственного сырья практически не применяется. Вместе с тем использование ферментативных методов в токсиколого-биохимическом мониторинге является одним из наиболее перспективных направлений благодаря высокой каталитической активности и специфичности действия биокатализаторов. Изменение ферментативной активности представляет собой ключевой сигнал в комплексе реакций живых организмов в ответ на воздействие химических загрязнителей различной природы [13].

Целью работы явилась разработка токсиколо-

го-биохимической модели оценки экологической чистоты сельскохозяйственной продукции на примере масличных культур.

Под предлагаемым нами термином «токсиколого-биохимическая модель» (ТБМ) оценки экологической чистоты сельскохозяйственной продукции понимается единая система, включающая тест-объект, стандартизованный по ключевым физико-химическим показателям, тест-маркер и тест-реакцию, а также методику выполнения качественной оценки, имеющую свой критериальный аппарат оценки воздействия факторов среды в соответствии с выбранными методами детекции.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Тест-объектом выступили семена подсолнечника ($n = 75$) из коллекции Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур им. В.С. Пустовойта, представленные следующими сортами: Орешек, СПК, Юбилейный-60, Лакомка, Пионер, пробы с реперных точек агрохимцентра Республики Адыгея, заводские смеси, а также подсолнечник, выращенный на почве, пригодной для посадки однолетних масличных культур без применения химической обработки для борьбы с сорняками, вредителями и без внесения синтетических удобрений. Отбор проб проводили по ГОСТ 10852-86 в период с 2016 по 2019 гг. Оценка основных физико-химических показателей качества и безопасности семян подсолнечника проводили согласно следующим нормативным документам: кислотное число – по ГОСТ 10858-77, влажность – по ГОСТ 10856-96, масличная и сорная примесь – по ГОСТ 10854-2015, засоренность вредителями – по ГОСТ 10853-88, тяжелые металлы – по МУК 4.1.986-00 для кадмия и свинца, МУК 4.1.1472-2003 для ртути, ГОСТ Р 51766-2001 для мышьяка, пестициды – по МУК 6129-91, афлатоксин В1 – по ГОСТ 31748-2012. Активность липазы определяли общепринятым титриметрическим методом [14].

Определение тяжелых металлов проводили на приборе Квант-З.ЭТА (ООО «Кортэк», Россия), пестициды и микотоксины – на приборе Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies Inc., США).

Контаминацию ядер семян подсолнечника тяжелыми металлами в модельных условиях осуществляли аликвотами водных растворов (5 мл) хлоридов ртути,

свинца, кадмия и мышьяка на уровне 0,5; 1,0; 2,0 и 4,0 предельно допустимых концентраций (ПДК) и их сочетаниями. Согласно ТР ТС 015/2011, ПДК свинца в семенах подсолнечника составляет 1,0 мг/кг, мышьяка – 0,3 мг/кг, ртути – 0,05 мг/кг, кадмия – 0,1 мг/кг.

Сообразно цели исследования и в соответствии с критериями ГОСТ 22391-2015 пробы семян подсолнечника были разделены на две группы: высококачественные (ВКСП) и экологически чистые (ЭЧСП). Критериями включения в группу ВКСП явились следующие параметры: влажность – не менее 6,5% и не более 8%; кислотное число – не более 0,8 мг КОН; сорная и маслянистая примеси – не более 1,5 и 3,5% соответственно; отсутствие пестицидов, радионуклидов, микотоксинов; уровень контаминации тяжелыми металлами не превышает 0,25 ПДК по каждому элементу. В группу ЭЧСП включены семена с такими же показателями качества и безопасности, но выращенные на экологически чистой территории без применения пестицидов.

За окончательный результат в расчетах принимали

среднее арифметическое значение результатов пяти измерений, полученных в условиях повторяемости. Проверку дисперсии на однородность, статистические разбросы метода выполняли по критерию Фишера с использованием программного обеспечения Excel 2016 и Statistica 6.1.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ТБМ оценки экологической чистоты сельскохозяйственной продукции включает в себя 7 этапов (рис. 1).

I этап. Выбор анализируемого объекта и тест-объекта. В качестве анализируемого объекта выбраны семена масличных культур, в частности семена подсолнечника, как основное сырье для получения растительного масла, выступающего в качестве одного из ключевых компонентов здорового питания [15]. Выбор семян подсолнечника основывается на широкой распространенности данной культуры во многих регионах Российской Федерации, в том числе Республики Адыгея (рис. 2).



Рис. 1. Токсиколого-биохимическая модель оценки экологической чистоты сельскохозяйственного сырья

Fig. 1. Toxicological and biochemical model for assessing the ecological purity of agricultural raw materials

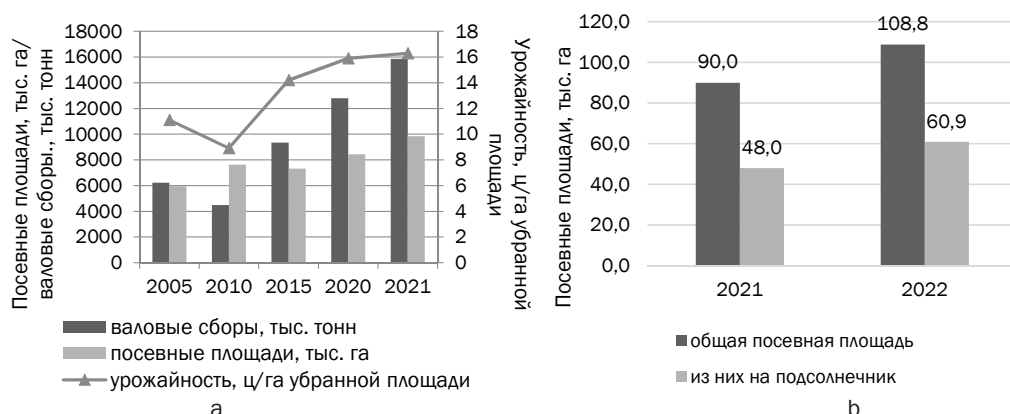


Рис. 2. Корреляция показателей валовых сборов, посевных площадей и урожайности подсолнечника в России в 2001–2021 гг.¹ (a); динамика роста посевных площадей в Республике Адыгея в 2021–2022 гг.² (b)

Fig. 2. Correlation of gross yields, cultivated areas and sunflower yield in Russia в 2001–2021 (a); growth dynamics of cultivated areas in the Republic of Adygea in в 2021–2022 (b)

¹Бюллетень «Валовые сборы и урожайность сельскохозяйственных культур в Российской Федерации в 2021 году» // Федеральная служба государственной статистики [Электронный ресурс]. URL: <https://rosstat.gov.ru/compendium/document/13277> (08.02.2023).

²В Адыгее посевы подсолнечника для производства растительного масла увеличили почти на 30% // ТАСС [Электронный ресурс]. URL: <https://tass.ru/ekonomika/14961921> (08.02.2023).

Уникальные биохимические свойства семян, которые на протяжении определенного времени сохраняют ключевые свойства живых объектов, позволяют рассматривать их не только как анализируемый объект, но и в качестве релевантных тест-объектов для оценки химического воздействия в экотоксикологии и биотестировании. Под термином «тест-объект» мы понимаем объект, обладающий чувствительностью к определенному фактору внешней среды либо к их комплексу, проявляющий достоверно измеряемую тест-реакцию. Выбранный нами тест-объект работает по аналогии с синтетическими биосенсорами, которые сохраняют селективность биорецептора к специфичному целевому аналиту даже при наличии других веществ в пробе [13].

II этап. Выбор тест-маркера со специфической тест-реакцией. Важнейшим условием при использовании того или иного тест-объекта является подбор специфичного и чувствительного биомаркера (тест-маркера). Под тест-маркером понимается органоспецифический фермент, характерный для тест-объекта, позволяющий оценить характер взаимодействия между биологической системой и фактором внешней среды (химическим, физическим или биологическим), а его функциональной характеристикой является способность к формированию специфического «ответа» на биохимическом уровне, который может обеспечить прямое доказательство воздействия стрессового фактора посредством тест-реакции. Важным параметром тест-реакции является возможность ее определения количественными методами, не требующими дорогого оборудования, реактивов и больших временных затрат. В предлагаемой нами модели тест-маркером выступает липаза, а тест-реакцией – динамика изменения активности липазы в условиях *in situ* в ответ на воздействие тест-субъекта.

Выбор тест-маркера основывался на мета-анализе научных данных о ферментных системах семян

масличных культур, который показал, что при хранении и переработке семян подсолнечника наиболее важными с точки зрения их влияния на качество получаемых продуктов являются гидролитические ферменты, в первую очередь липазы. Активность и характер действия липазы имеет большое значение как в процессе хранения, так и переработки масличных семян, поскольку липаза, расщепляя триацилглицеролы, может привести к увеличению показателей кислотного числа масла в семенах, сокращению сроков хранения и ухудшению качества сырья [16].

III этап. Установление оптимальных условий протекания тест-реакции. Поскольку выбранный тест-маркер представляет собой сложно устроенную биологическую систему, то протекание тест-реакции будет зависеть от целого ряда факторов. Для семян сельскохозяйственных культур они определены, научно обоснованы и регламентированы в соответствующих нормативных документах. Так, важнейшими физико-химическими показателями для семян подсолнечника являются влажность, кислотное число, перекисное число, сорная и масличная примеси, засоренность вредителями. На основании проведенных нами исследований выявлена следующая закономерность: в семенах подсолнечника с влажностью не более 7,5% и масличной примесью не более 2,5% в течение месяца исходная активность липазы и кислотное число остаются стабильными (рис. 3).

При увеличении влажности на фоне засоренности масличной примесью более 2,5% активизируются гидролитические процессы и возрастает кислотное число тем больше, чем выше уровень влажности и масличной примеси. Установлено, что активность липазы находится в тесной обратно пропорциональной корреляционной зависимости от уровня масличной примеси и влажности, о чем свидетельствуют величины коэффициентов корреляции $r = -0,96$ и $r = -0,90$ соответственно.

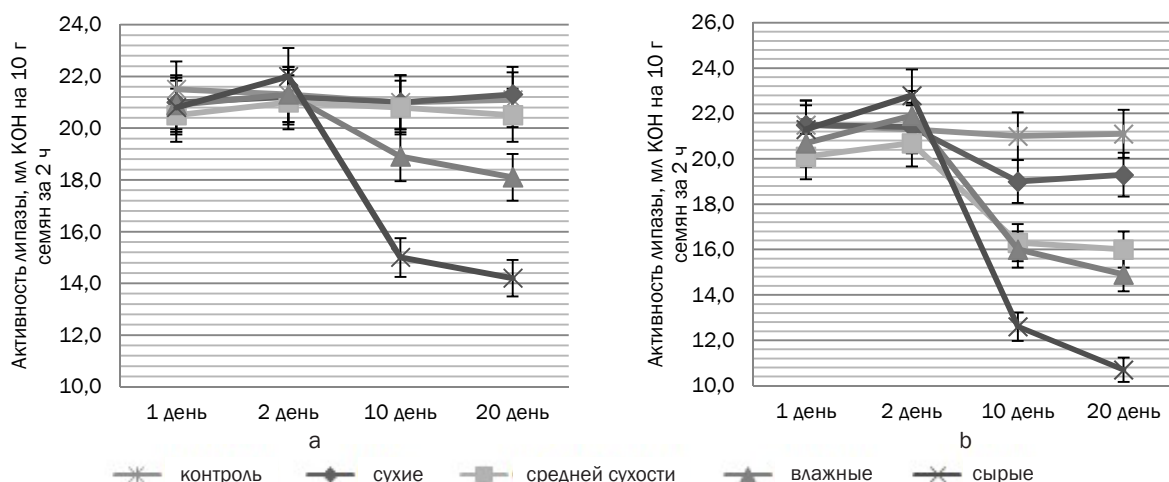


Рис. 3. Динамика активности липазы в семенах подсолнечника с различной масличной примесью в зависимости от продолжительности хранения и влажности: а – при 2,5%; б – при 7,5%

Fig. 3. Relationship between lipase activity in sunflower seeds with various oilseeds and storage duration and humidity: а – at 2.5%; б – at 7.5%

IV этап. Выбор тест-субъекта. В токсиколого-экологических исследованиях в качестве тест-субъекта принято выделять внешнее воздействие, обусловленное влиянием разного рода поллютантов, способных вызвать индикаторную реакцию с тест-маркером [17]. Наиболее активные и распространенные загрязняющие агенты установлены и регламентированы в разделе показателей безопасности по каждому виду сельскохозяйственной продукции. Тест-субъектами для семян масличных культур являются тяжелые металлы, микотоксины и пестициды. Анализ литературных данных, а также наши исследования показывают, что на выбранный нами тест-маркер наибольшее влияние оказывают тяжелые металлы, что связано с их способностью блокировать сульфидрильные группы, находящиеся в активном центре фермента, и, как следствие, подавлять липолитическую активность. В наших исследованиях, проведенных в модельных условиях, токсичные элементы, такие как Pb, Hg, As, Cd, в концентрациях от 1,0 ПДК и выше показали обратно пропорциональную зависимость между содержанием токсичных элементов и активностью липазы с наибольшим ингибирующим эффектом ионов Hg^{++} [18]. Также установлено, что липаза дает выраженную тест-реакцию при суммарном содержании нескольких тяжелых металлов на уровне менее 1,0 ПДК. Так, суммарное присутствие в модельной пробе 2-х различных исследуемых металлов на уровне менее 0,5 ПДК каждого в большинстве случаев оказывает синергетический ингибирующий эффект на липазу в широком диапазоне (от 30 до 95% в зависимости от типа сочетаний ионов) [18] (рис. 4).

Проведенные ранее исследования показывают, что при инфицировании плесневым грибом *Aspergillus flavus*, продуцирующим афлатоксины, происходит активизация липолитических процессов в семенах масличных культур преимущественно за счет продуцируемой грибным мицелием липазы, активность которой начинает превышать собственную липолитическую активность семян, что

приводит к быстрому росту кислотного числа масла [19–21]. В нашем примере эффект действия данного тест-субъекта выявляется на этапе установления физико-химических показателей качества масличного сырья, и такие пробы квалифицируются как нестандартные.

В соответствии с нормативными документами в семенах подсолнечника нормируется содержание пестицидов как запрещенных к применению (ГХЦГ, ДДТ и их изомеры), так и целого ряда разрешенных к применению пестицидов нового поколения [22, 23]. Определение остаточного количества пестицидов является одной из самых сложных аналитических задач в контроле экологической безопасности сельскохозяйственной продукции, что обусловлено рядом причин:

- большой и ежегодно расширяющийся ассортимент пестицидов (более 1000 наименований), каждый из которых имеет свои физико-химические свойства и токсикологические характеристики, требующие постоянного обновления, усовершенствования и оптимизации методов исследования;
- лаборатории, осуществляющие контроль за содержанием остаточных количеств пестицидов, оснащены оборудованием, позволяющим проводить исследования по принципу «вопрос-ответ», т.е. определяется конкретный пестицид. Таким образом, отсутствие полной и достоверной информации в сопроводительных документах об их применении, проведение дорогостоящих инструментальных исследований становится бессмысленным и неинформативным.

В предлагаемой нами модели важная задача – установить, какие из пестицидов могут повлиять на тест-объект, в соответствии с этим подбирается чувствительный тест-маркер. Для масличных культур среди всего многообразия пестицидов использование десикантов создает наибольший риск контакта с тест-маркером, поскольку их применение проводится в период физической спелости семян. Нами было установлено, что в семенах подсолнечника, подвер-

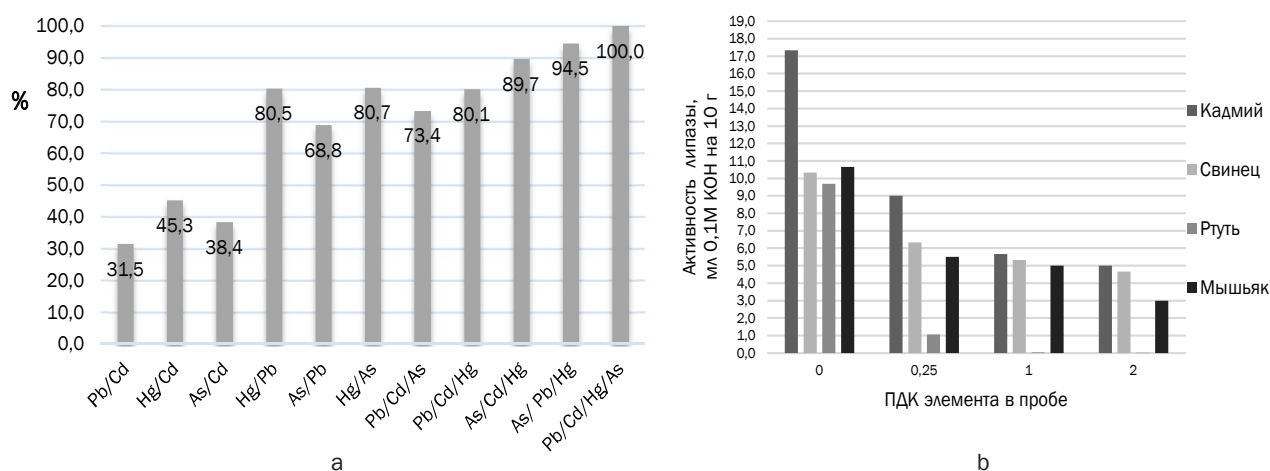


Рис. 4. Динамика активности липазы в зависимости от сочетаний токсичных элементов (а) и концентрации металла (б)

Fig. 4. Relationship between lipase activity and combinations of toxic elements (a) and metal concentration (b)

гнутых десикации глифосатом, активность липазы оказалась на уровне $10,6 \pm 0,3$ мл КОН/10 г за 1 ч (таблица).

Как видно из таблицы, у семян, обработанных глифосатом, активность липазы и кислотное число существенно ниже, чем у семян, не подвергнутых десикации, в 1,7 и 3,8 раз соответственно, что может быть связано с тем, что в незрелом обработанном подсолнечнике еще не завершились анаболические процессы, в том числе синтез органоспецифических ферментов и нейтрального жира.

V этап. Установление референтной величины активности тест-маркера. В качестве специфического критерия оценки сельскохозяйственного сырья как экологически чистого мы предлагаем ввести новый показатель – «референтная величина активности тест-маркера». По аналогии с подходами, принятыми в клинической биохимии для оценки состояния живых организмов [24], понятие референтной величины экстраполировано на значения маркерного органоспецифического фермента, характеризующего высокий уровень качества и безопасности тест-объекта, т.е. «здоровья», тест-объект рассматривается как «живой организм», в котором продолжают осуществляться биохимические процессы, напрямую влияющие на качественные показатели и функциональное состояние семян.

Показатель «референтная величина» впервые экспериментально рассчитан и применен по отношению к растительному ферменту. Установление референтной величины активности липазы проводили на группах ВКСР и ЭЧСР, соответствующих критериям ГОСТ 22391-89 и имеющих дополнительные ограничения по содержанию токсичных элементов и кислотному числу. На основании анализа полученных результатов было установлено значение референтной величины активности липазы в виде референтного предела не менее $15,2$ мл КОН/10 г за 1 ч [25].

VI этап. Разработка биохимического метода оценки экологической чистоты сельскохозяйственной продукции. На основе установленного референтного предела для изучаемого тест-маркера на данном этапе предполагается разработка методики оценки экологической безопасности сельскохозяйственного сырья. В нашем примере в качестве такого метода выступает определение активности собственной липазы *in situ* (АСЛ-метод), т.е. установление уровня контаминации семян подсолнечника поллютантами, основанное на сопоставлении активности тест-маркера в сравнении с установленным значением референтного предела, т.е. по степени и характеру изменения активности липазы судят об уровне внешнего воздействия на тест-объект [26].

VII этап. Оценка критериальной валидности метода.

На данном этапе проводится оценка аналитических характеристик метода и проверка валидности. Апробация АСЛ-метода проводилась на заводских смесях семян подсолнечника, прошедших определение физико-химических показателей: кислотного числа, влажности, сорной и масличной примеси. После оценки содержания уровня токсичных веществ АСЛ-методом в тех же пробах проводили количественное определение тяжелых металлов, пестицидов и микотоксинов, предусмотренных нормативными документами.

Полученные результаты подвергали анализу путем расчета аналитических характеристик: аналитическая чувствительность, аналитическая специфичность, предсказательная ценность отрицательного результата, предсказательная ценность положительного результата. Метрологический анализ показал, что АСЛ-метод характеризуется высокими показателями аналитической чувствительности и предсказательной ценности отрицательного результата (86,2 и 89,5%), что позволяет рекомендовать метод для скрининговых исследований. Относительная погрешность метода составляет $\pm 10,6\%$, погрешность сходимости – 14,8%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Скрининговая интегральная оценка экологической чистоты семян масличных культур на основании ТБМ не заменяет количественный химический анализ, но существенно его дополняет и может его предварять благодаря низкой стоимости, получению быстрого ответа на токсическое воздействие, возможности оценки большого числа проб, простоты лабораторного оборудования, работы с небольшими объемами проб, портативности, а также возможности большого выбора тест-объектов.

Предлагаемая нами ТБМ оценки экологической чистоты сельскохозяйственной продукции включает ряд инновационных подходов:

- оценка влияния негативных экологических факторов на объекты окружающей среды, в частности на воду, почву и др. (исследуемые объекты), предполагает использование или тест-объекта, или выделенного тест-маркера со специфической тест-реакцией. В нашем случае, когда речь идет об оценке экологической чистоты сельскохозяйственной продукции, исследуемый объект (целостное растение, семена, плоды и т.д.) сам выступает в качестве тест-объекта, содержащего тест-маркер со специфической тест-реакцией;
- экстраполяция понятия «референтная величина» из предметной области клинической биохимии в область токсиколого-биохимической оценки безопасности пищевого сырья;
- введение показателя «динамика изменения активности органоспецифического фермента» относительно референтной величины, характеризующего продукцию

Влияние десикации на активность липазы и кислотное число семян подсолнечника

Effect of desiccation on lipase activity and acid number of sunflower seeds

Показатель	Пробы	
	Семена, подвергнутые десикации	Семена без использования десиканта
Активность липазы, мл КОН/10 г за 1 ч	$10,6 \pm 0,3$	$18,3 \pm 0,2$
Кислотное число, мл КОН/г	2,3	0,6

как экологически чистую, и разработка экспресс-метода определения данного показателя, основанного на регистрации тест-реакции количественным методом,

не требующим дорогого оборудования, реактивов и больших временных затрат.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Девлет-Гельды Г.К., Голиков В.Д. Зеленая экономика: новый вектор государственно-частного партнерства в прорывном развитии России // Экономика и бизнес: теория и практика. 2019. N 2. С. 28–34. <https://doi.org/10.24411/2411-0450-2019-10360>.
2. Pan W., Hu C., Tu H., Zhao C., Yu D., Zheng G. Assessing the green economy in China: an improved framework // Journal of Cleaner Production. 2019. Vol. 209. P. 680–691. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.267>.
3. Елисеева Л.Г., Махотина И.А., Калачев С.Л. Обеспечение государственного контроля за безопасностью пищевой продукции в России // Национальная безопасность / Nota Bene. 2019. N 2. С. 1–14. <https://doi.org/10.7256/2454-0668.2019.2.29063>.
4. Казанцева А.Н. Государственная политика формирования и развития рынка экологически чистой продукции: выбор инструментария // Известия Санкт-Петербургского государственного экономического университета. 2020. N 3. С. 138–142.
5. Золотухина Г.В. Экологически чистые натуральные продукты собственного производства, влияние их на здоровье и продолжительность жизни местного населения (на примере Республики Абхазия) // 21 век: фундаментальная наука и технологии. 2019. С. 44–50.
6. Belyakova Z.Yu., Makeeva I.A., Stratonova N.V., Pryanichnikova N.S., Bogatyrev A.N., Friedhelm D., et al. The role of organic products in implementing the state policy of healthy nutrition in the Russian Federation // Foods and Raw Materials. 2018. Vol. 6, no. 1. P. 4–13. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-1-4-13>.
7. Сковрцова Г.Г., Григорьева В.В. Проблемы обеспечения качества и безопасности пищевой продукции // Экономика и управление предприятиями, отраслями и комплексами на современном этапе глобализации: сб. науч. тр. V Междунар. науч.-практ. конф. (г. Тверь, 11 декабря 2019 г.). Тверь: ТГТУ, 2020. Ч. 2. С. 167–170.
8. Оганесянц Л.А., Хуршудян С.А., Галстян А.Г. Мониторинг качества пищевых продуктов – базовый элемент стратегии // Контроль качества продукции. 2018. N 4. С. 56–59.
9. Akkilic N., Geschwindner S., Höök F. Single-molecule biosensors: recent advances and applications // Biosensors and Bioelectronics. 2020. Vol. 151. P. 111944. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111944>.
10. Колосова Е.М., Сутормин О.С., Есимбекова Е.Н., Лоншакова-Мукина В.И., Кратасюк В.А. Комплексный ферментативный биотест для оценки загрязнения почвы // Доклады Академии наук. 2019. T. 489. С. 103–107. <https://doi.org/10.31857/S0869-56524891103-107>.
11. Janicki T., Długoński A., Felczak A., Długoński J., Krupiński M. Ecotoxicological estimation of 4-cumylphenol, 4-t-octylphenol, nonylphenol, and volatile leachate phenol degradation by the microscopic fungus *Umbelopsis isabellina* using a battery of biotests // International Journal of Environmental Research and Public Health. 2022. Vol. 19. N 7. P. 4093. <https://doi.org/10.3390/ijerph19074093>.
12. Dincer C., Bruch R., Costa-Rama E., Fernández-Abedul M.T., Merkoçi A., Manz A., et al. Disposable sensors in diagnostics, food, and environmental monitoring // Advanced Materials. 2019. Vol. 31, no. 30. P. 1806739. <https://doi.org/10.1002/adma.201806739>.
13. Esimbekova E.N., Torgashina I.G., Kalyabina V.P., Kratasyuk V.A. Enzymatic biotesting: scientific basis and application // Contemporary Problems of Ecology. 2021. Vol. 14. P. 290–304. <https://doi.org/10.1134/S1995425521030069>.
14. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. Л.: Колос, 1987. 456 с.
15. Тутельян В.А., Никитюк Д.Б., Шарафетдинов Х.Х. Здоровое питание – основа здорового образа жизни и профилактики хронических неинфекционных заболеваний // Здоровье молодежи: новые вызовы и перспективы. Воронеж: Научная книга, 2019. T. 3. С. 203–227.
16. Жакова К.И., Бабодей В.Н., Пчельникова А.В. Масложировая отрасль. Обзор фундаментальных исследований // Пищевая промышленность: наука и технологии. 2021. T. 14. N 2. С. 60–73. [https://doi.org/10.47612/2073-4794-2021-14-2\(52\)-60-73](https://doi.org/10.47612/2073-4794-2021-14-2(52)-60-73).
17. Шилов В.В., Маркова О.Л., Кузнецов А.В. Биомониторинг воздействия вредных химических веществ на основе современных биомаркеров. Обзор литературы // Гигиена и санитария. 2019. T. 98. N 6. С. 591–596. <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-6-591-596>.
18. Дьяченко Ю.А., Цикуниб А.Д. Влияние тяжелых металлов на активность липаз семян подсолнечника *in situ* // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2016. N 1. С. 64–68.
19. Цикуниб А.Д., Белоглазова Л.К. Микрофлора рапса и ее влияние на липидный комплекс семян // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 1991. N 4-6. С. 20–22.
20. Ghafarifarsani H., Imani A., Niewold T.A., Pietsch-Schmied C., Moghanlou K.S. Synergistic toxicity of dietary aflatoxin B1 (AFB1) and zearalenone (ZEN) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is attenuated by anabolic effects // Aquaculture. 2021. Vol. 541. P. 736793. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736793>.
21. Khaledi N., Dehshiri A., Hassani F., Zare L. Evaluation of effect of seed-borne fungi on germination, health and quality of native Fennel seed populations // Iranian Journal of Seed Sciences and Research. 2021. Vol. 8, no. 2. P. 129–147. <https://doi.org/10.22124/JMS.2021.5215>.
22. Марущак Е.С., Алексеев А.Л. Контроль содержания пестицидов в продуктах питания. Химическая

безопасность продуктов питания // Теории, школы и концепции устойчивого развития науки в современных условиях. 2021. С. 51–55.

23. Qin S., Lü X. Do large-scale farmers use more pesticides? Empirical evidence from rice farmers in five Chinese provinces // *Journal of Integrative Agriculture*. 2020. Vol. 19, no. 2. P. 590–599. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62864-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62864-9).

24. Камышников В.С. Дифференциация состояний «норма–патология». Методология установления референтных величин, диагностической и предсказательной информативности показателей лабораторных тестов: принципы оценки // *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2018. Т. 7. N 1. С. 9–25.

25. Дьяченко Ю.А., Цикуниб А.Д. Активность липазы как показатель высокого качества и экологической чистоты семян подсолнечника // *Техника и технология пищевых производств. Стандартизация, сертификация, качество и безопасность*. 2017. Т. 44. N 1. С.118–124.

26. Дьяченко Ю.А., Цикуниб А.Д. Использование в системе химико-экологического мониторинга и технологического контроля АСЛ-метода определения содержания токсичных элементов в семенах подсолнечника // *Перспективы науки – 2016: IV Международный конкурс научно-исследовательских работ*. Казань: Научно-образовательный центр «Знание», 2016. С. 36–40.

REFERENCES

1. Devlet-Geldy G.K., Golikov V.D. Green economy: new vector of public-private partnership in Russia's breakthrough development. *Ekonomika i biznes: teoriya i praktika = Economy and Business: Theory and Practice*. 2019;(2):28-34. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/2411-0450-2019-10360>.

2. Pan W., Hu C., Tu H., Zhao C., Yu D., Zheng G. Assessing the green economy in China: an improved framework. *Journal of Cleaner Production*. 2019;209:680-691. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.267>.

3. Eliseeva L.G., Makhotina I.A., Kalachev S.L. Ensuring government control over food safety in Russia. *Natsional'naya bezopasnost' / Nota Bene*. 2019;(2):1-14. (In Russian). <https://doi.org/10.7256/2454-0668.2019.2.29063>.

4. Kazantseva A.N. State policy for the formation and development of the ecologically pure product market: choice of tools. *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo ekonomicheskogo universiteta*. 2020;(3):138-142. (In Russian).

5. Zolotukhina G.V. Ecologically clean natural products of own production, impact on the health and life expectancy of the population of the environment (on the territory of the Republic of Abkhazia). *21 vek: fundamental'naya nauka i tekhnologii*. 2019;44-50. (In Russian).

6. Belyakova Z.Yu., Makeeva I.A., Stratonova N.V., Pryanichnikova N.S., Bogatyrev A.N., Friedhelm D., et al. The role of organic products in implementing the state policy of healthy nutrition in the Russian Federation. *Foods and Raw Materials*. 2018;6(1):4-13. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-1-4-13>.

7. Skvortsova G.G., Grigoreva V.V. Problems of ensuring the quality and safety of food products. In: *Ekonomika i upravlenie predpriyatiyami, otraslyami i kompleksami na sovremennom etape globalizatsii: sbornik nauchnykh trudov V Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Economics and management of enterprises, industries and complexes at the present stage of globalization: a collection of scientific papers in the V International Scientific and Practical Conference*. 11 December 2019, Tver'. Tver': TGTU; 2020, vol. 2, p. 167-170. (In Russian).

8. Oganesyants L.A., Khurshudyan S.A., Galstyan A.G. Food quality monitoring is a basic element of the strategy. *Kontrol' kachestva produktsii = Production Quality Control*. 2018;(4):56-59. (In Russian).

9. Akkilic N., Geschwindner S., Höök F. Single-

molecule biosensors: recent advances and applications. *Biosensors and Bioelectronics*. 2020;151:111944. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111944>.

10. Kolosova E.M., Sutormin O.S., Esimbekova E.N., Lonshakova-Mukina V.I., Kratasyuk V.A. Set of enzymatic bioassays for assessment of soil contamination. *Doklady Akademii nauk = Doklady Biological Sciences*. 2019;489:103-107. (In Russian). <https://doi.org/10.31857/S0869-56524891103-107>.

11. Janicki T., Długoński A., Felczak A., Długoński J., Krupiński M. Ecotoxicological estimation of 4-cumylphenol, 4-t-octylphenol, nonylphenol, and volatile leachate phenol degradation by the microscopic fungus *Umbelopsis isabellina* using a battery of biotests. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(7):4093. <https://doi.org/10.3390/ijerph19074093>.

12. Dincer C., Bruch R., Costa-Rama E., Fernández-Abedul M.T., Merkoçi A., Manz A., et al. Disposable sensors in diagnostics, food, and environmental monitoring. *Advanced Materials*. 2019;31(30):1806739. <https://doi.org/10.1002/adma.201806739>.

13. Esimbekova E.N., Torgashina I.G., Kalyabina V.P., Kratasyuk V.A. Enzymatic biotesting: scientific basis and application. *Contemporary Problems of Ecology*. 2021;14:290-304. <https://doi.org/10.1134/S1995425521030069>.

14. Ermakov A.I. (ed.) *Methods of biochemical research of plants*. Leningrad: Kolos; 1987. 456 p. (In Russian).

15. Tutel'yan V.A., Nikityuk D.B., Sharafetdinov Kh.Kh. Healthy nutrition is the basis of a healthy lifestyle and prevention of chronic non-communicable diseases. In: *Zdorov'e molodezhi: novye vyzovy i perspektivy = Youth health: new challenges and perspectives*. Voronezh: Nauchnaya kniga; 2019, vol. 3, p. 203-227. (In Russian).

16. Zhakova K.I., Babodey V.N., Pchelnikova A.V. Oil and food industry. Review of fundamental research. *Pishchevaya promyshlennost': nauka i tekhnologii = Food Industry: Science and Technology*. 2021;14(2):60-73. (In Russian). [https://doi.org/10.47612/2073-4794-2021-14-2\(52\)-60-73](https://doi.org/10.47612/2073-4794-2021-14-2(52)-60-73).

17. Shilov V.V., Markova O.L., Kuznetsov A.V. Biomonitoring of influence of harmful chemicals on the basis of the modern biomarkers. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*. 2019;98(6):591-596. (In

Russian). <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2019-98-6-591-596>.

18. Dyachenko Y.A., Tsikunib A.D. Effect of heavy metals on activity of lipase sunflower seeds *in situ*. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya* = *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2016;(1):64-68. (In Russian).

19. Tsikunib A.D., Beloglazova L.K. Rape microflora and its effect on the lipid complex of seeds. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Pishchevaya tekhnologiya* = *Izvestia Vuzov. Food Technology*. 1991;(4-6):20-22. (In Russian).

20. Ghafarifarsani H., Imani A., Niewold T.A., Pietsch-Schmied C., Moghanlou K.S. Synergistic toxicity of dietary aflatoxin B1 (AFB1) and zearalenone (ZEN) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is attenuated by anabolic effects. *Aquaculture*. 2021;541:736793. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736793>.

21. Khaledi N., Dehshiri A., Hassani F., Zare L. Evaluation of effect of seed-borne fungi on germination, health and quality of native Fennel seed populations. *Iranian Journal of Seed Sciences and Research*. 2021;8(2):129-147. <https://doi.org/10.22124/JMS.2021.5215>.

22. Marushchak E.S., Alekseev A.L. Monitoring the content of pesticides in food. Chemical safety of food. *Teorii, shkoly i kontseptsii ustoichivogo razvitiya nauki v sovremennykh usloviyakh*. 2021;51-55. (In Russian).

23. Qin S., Lü X. Do large-scale farmers use more pesticides? Empirical evidence from rice farmers in five Chinese provinces. *Journal of Integrative Agriculture*. 2020;19(2):590-599. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62864-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62864-9).

24. Kamyshnikov V.S. Differentiation of states "norm-pathology". Methodology for establishing reference values, diagnostic and predictive information content of laboratory test indicators: assessment principles. *Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa* = *Laboratory Diagnostics Eastern Europe*. 2018;7(1):9-25. (In Russian).

25. Dyachenko Yu.A., Tsikunib A.D. Lipase activity as factor of high quality and ecological purity of sunflower seeds. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv. Standartizatsiya, sertifikatsiya, kachestvo i bezopasnost'* = *Food Processing: Techniques and Technology*. 2017;44(1):118-124. (In Russian).

26. Dyachenko Yu.A., Tsikunib A.D. Use in the system of chemical-ecological monitoring and technological control of the ASL method for determining the content of toxic elements in sunflower seeds. In: *Perspektivy nauki – 2016: IV Mezhdunarodnyi konkurs nauchno-issledovatel'skikh rabot* = *Perspectives of Science – 2016: IV International Competition of Research Papers*. Kazan': Nauchno-obrazovatel'nyi tsentr "Znanie"; 2016, p. 36-40. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Цикуниб Аминет Джахфаровна,
д.б.н., профессор, заведующая лабораторией
нутрициологии, экологии и биотехнологии,
Адыгейский государственный университет,
385000, г. Майкоп, ул. Первомайская, 208,
Российская Федерация,
✉cikunib58@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-7491-0539>

Демченко Юлия Александровна,
к.т.н., эксперт-биохимик,
Адыгейский государственный университет,
385000, г. Майкоп, ул. Первомайская, 208,
Российская Федерация,
jesi-001@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3033-1145>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 22.11.2022.
Одобрена после рецензирования 31.01.2023.
Принята к публикации 28.02.2023.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Aminet D. Tsikunib,
Dr. Sci. (Biology), Professor,
Head of the Laboratory of Nutritionology,
Ecology and Biotechnology,
Adyghe State University,
208, Pervomaiskaya St., Maykop, 385000,
Russian Federation,
✉cikunib58@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-7491-0539>

Yulia A. Demchenko,
Cand. Sci. (Engineering), Expert Biochemist,
Adyghe State University,
208, Pervomaiskaya St., Maykop, 385000,
Russian Federation,
jesi-001@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3033-1145>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 22.11.2022.
Approved after reviewing 31.01.2023.
Accepted for publication 28.02.2023.

Научная статья
УДК 54.056; 54.061

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-124-132>



Структура и сорбционная активность коры лиственницы после обработки зелеными реагентами

С.И. Цыганова✉, А.В. Левданский, А.М. Скрипников, О.П. Таран

Институт химии и химической технологии СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
г. Красноярск, Российская Федерация

Аннотация. В статье рассматривается структура и сорбционная активность коры лиственницы после обработки зелеными реагентами. Целью данного исследования является получение сорбентов из коры лиственницы путем обработки химическими методами. Проведено сравнение влияния нетоксичных и малотоксичных экстрагентов и реагентов, таких как вода, гексан, этанол и пероксид водорода, на структуру, сорбционные свойства обработанной коры, а также на состав выделяемых экстрактивных веществ. Установлено, что в процессе экстракции коры происходит трансформация основных ее компонентов, что приводит к формированию упорядоченных структур дальнего порядка. Наибольшие структурные изменения наблюдаются для коры, обработанной последовательно этанолом и пероксидом водорода, в основном за счет разложения гемицеллюлоз. Выявлено, что обработка коры таким способом способствует формированию мезопористой структуры. Сорбционная активность обработанной коры по метиленовому синему повышается в 6,5 раз по сравнению с сорбционной активностью исходной коры. Исследования экстрактивных веществ методами ИК-спектроскопии и ГХ-МС показали близкий состав экстрактов коры лиственницы, полученных при водной и этанольной обработках, которые содержат в основном фенольные и спиртовые соединения. Этанол-пероксидный раствор помимо них содержит сложные эфиры и производные карбоновых кислот. Выявлено, что гексановый экстракт коры лиственницы имеет в своем составе в основном терпены и их производные, которые широко применяются в качестве ценных компонентов в медицине и имеют большой потенциал как источник биосырья для зеленых полимеров.

Ключевые слова: кора лиственницы, экстракция, структура, состав, сорбционная активность

Благодарности. Авторы выражают благодарность д.х.н. Кузнецову Б.Н. за полезное обсуждение полученных результатов, а также к.х.н. Бондаренко Г.Н., к.х.н. Мазуровой Е.В. и к.х.н. Елсуфьеву Е.В. за помощь в проведении физико-химических исследований образцов. Авторы благодарят за предоставление научного оборудования Красноярский региональный центр коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Правительства Красноярского края и краевого фонда науки (грант № 20-43-242904) в рамках государственного задания Института химии и химической технологии СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН (проект 0287-2021-0017).

Для цитирования: Цыганова С.И., Левданский А.В., Скрипников А.М., Таран О.П. Структура и сорбционная активность коры лиственницы после обработки зелеными реагентами // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 124–132. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-124-132>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Structure and sorption activity of larch bark treated with green reagents

Svetlana I. Tsyganova✉, Alexander V. Levdansky, Andrey M. Skripnikov, Oxana P. Taran

Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS, FRC KSC SB RAS,
Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. The paper describes the structure and sorption activity of larch bark following treatment with green reagents. The aim was to obtain sorbents from larch bark by means of chemical treatment. The study compared the effect of non-toxic and low-toxic extraction agents and reagents, such as water, hexane, ethanol and hydrogen peroxide, on the structure, sorption properties of the treated bark, as well as on the composition of the extracted substances. It was established that the process of bark extraction involves

the transformation of its main components, leading to the formation of long-range ordered structures. The greatest structural changes were observed for the bark treated consecutively with ethanol and hydrogen peroxide, mainly due to the decomposition of hemicelluloses. Such treatment of the bark was revealed to contribute to the formation of a mesoporous structure. The methylene blue sorption of the treated bark is 6.5 times higher than that of the original bark. Studies of extracted substances using IR spectroscopy and GC-MS showed a similar composition of larch bark extracts obtained by aqueous and ethanol treatment, which contain mainly phenolic and alcohol compounds. In addition, the ethanol-peroxide solution contains esters and carboxylic acid derivatives. The hexane extract of larch bark was found to contain mainly terpenes and their derivatives, which are widely used as valuable components in medicine and have great potential as a source of biomaterials for green polymers.

Keywords: larch bark, extraction, structure, composition, sorption activity

Acknowledgements. The authors would like to thank Dr. Sci. B.N. Kuznetsov for useful discussion of the results, as well as Cand. Sci. G.N. Bondarenko, Cand. Sci. E.V. Mazurova and Cand. Sci. E.V. Elsufiev for their help in carrying out physicochemical studies of the samples. The authors express their gratitude for the provision of scientific equipment to the Krasnoyarsk Regional Center for Collective Use of the FRC KSC SB RAS.

Funding. This work was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research, the Government of the Krasnoyarsk Territory, and the Regional Science Fund (grant no. 20-43-242904) within the framework of the State Assignment of the Institute of Chemical Technology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, FRC KSC SB RAS (project 0287-2021-0017).

For citation: Tsyganova S.I., Levdansky A.V., Skripnikov A.M., Taran O.P. Structure and sorption activity of larch bark treated with green reagents. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):124-132. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-124-132>.

ВВЕДЕНИЕ

Кора лиственницы является многотоннажным и малоутилизируемым отходом лесоперерабатывающей промышленности [1, 2]. Несмотря на богатый химический состав лиственничной коры, в которой содержатся танины, камеди, пектины, липиды и другие ценные экстрактивные вещества [3, 4], большая ее часть уходит в отходы, создавая серьезные проблемы пожароопасности и загрязнения окружающей среды [5, 6]. По этой причине актуален поиск способов химической переработки коры лиственницы в востребованные продукты.

При создании новых экстракционных методов переработки коры основное внимание уделяется повышению выходов экстрагируемых веществ и регулированию их состава [7–9]. В то же время изучение трансформации структуры коры под действием различных растворителей позволяет не только целенаправленно осуществлять выделение определенных компонентов экстрактивных веществ, но и регулировать характер пористой структуры проэкстрагированного остатка. Целенаправленное управление морфологией отработанной коры дает потенциальную возможность ее использования в качестве возобновляемого сырья для получения сорбентов и композиционных материалов [10–12].

Известно, что для извлечения экстрактивных веществ используют широкий спектр растворителей, включая достаточно токсичные реагенты (диэтиловый эфир, хлороформ, толуол и другие) [13–15]. Поэтому интерес представляет исследование влияния нетоксичных и малотоксичных растворителей и реагентов (вода, этанол, гексан и пероксид водорода) на трансформацию структуры коры и состав экстрагированных веществ. На наш взгляд, сравнительный комплексный анализ структурных

характеристик коры, экстрагированной различными растворителями с использованием различных методик, и состава полученных экстрактов позволит разработать оптимальные методики экстракции коры лиственницы.

Цель настоящей работы – установить состав, строение и сорбционную активность отработанной коры лиственницы, а также состав экстрактивных веществ при использовании нетоксичных (вода) и малотоксичных растворителей и реагентов (гексан, этанол, пероксид водорода).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве исходного сырья использовали измельченную (фракция менее 2 мм) кору лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.). Материал выдерживали в дистиллированной воде в течение одних суток и затем сушили при температуре 80 °С.

Гексановый экстракт из коры выделяли следующим образом: измельченную кору и гексан (х.ч., ЗАО «Химреактивснаб», Россия) в весовом отношении 1:10 загружали в колбу, снабженную обратным холодильником, и кипятили в течение 2–3 ч на водяной бане с последующим фильтрованием. Отфильтрованную кору сушили до постоянного веса при температуре 80 °С.

Этанольная обработка включала предварительное обессмоливание опилок коры гексаном, кипячение обессмоленной коры в 96%-м этаноле (весовое отношение 1:10) в течение 3 ч на водяной бане и последующее фильтрование. Твердый остаток коры промывали дистиллированной водой до нейтральной реакции и высушивали до постоянного веса при температуре 50 °С.

Обработку проэкстрагированной коры лиственницы пероксидом водорода осуществляли в металлическом реакторе объемом 2000 мл. В реактор

загружали 1000 г проэкстрагированной этанолом коры лиственницы, добавляли 1500 мл 35%-го пероксида водорода, 100 мл 98%-й серной кислоты и 3400 мл воды. Полученную смесь нагревали при перемешивании до температуры 80 °С и выдерживали при этой температуре в течение 2-х ч. Кору отфильтровывали, промывали дистиллированной водой до нейтральной реакции и высушивали до постоянного веса при температуре 50 °С.

Для дальнейшего исследования использовали следующие образцы коры лиственницы (КЛ): после водной обработки (КЛ-Н₂O); после обработки гексаном (КЛ-С₆H₁₄); после обработки этанолом (КЛ-С₂H₅ОН); после обработки этанолом и пероксидом водорода (КЛ-С₂H₅ОН-Н₂O₂).

Содержание целлюлозы, лигнина и гемицеллюлоз в исходной и обработанной коре определяли согласно методике [16].

Образцы коры и высушенных экстрактов исследованы с помощью ИК-спектроскопии. Для съемки ИК-спектров готовили таблетки в матрице бромистого калия. Условия приготовления образцов (время перемешивания с бромистым калием, давление прессования, время вакуумирования) одинаковы. Регистрацию ИК-спектров образцов осуществляли с использованием ИК-Фурье спектрометра Tensor 27 (Bruker, Германия) в области 4000–400 см⁻¹ (разрешение 4 см⁻¹, количество сканов 50). Обработка спектральной информации проведена с помощью программы OPUS 5.0.

Идентификацию кристаллических фаз в образцах проводили на основе анализа дифракционной картины, регистрируемой дифрактометром ДРОН-3 (АО «Буревестник», Россия).

Морфологию поверхности изучали на сканирующем электронном микроскопе Hitachi TM4000 Plus (Hitachi, Япония) с приставкой для энергодисперсионного микроанализа, предназначенного для измерений линейных размеров элементов микрорельефа и электронно-зондового рентгеноспектрального качественного и количественного микроанализа состава образца. Наблюдения тонкой структуры поверхности образца проводили за счет увеличения и отображения на экране информации, полученной в обратнорассеянных и вторичных электронах.

Адсорбционную активность образцов определяли по сорбции йода¹ и по сорбции метиленового синего².

Высушенный гексановый экстракт анализировали на газовом хроматографе Agilent 7890A с квадрупольным масс-детектором Agilent 7000A (Agilent Technologies, США) с использованием капиллярной колонки HP-5ms 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм в токе гелия (V_{He} = 1 см³/мин). Температурная программа: начальная температура колонки – 50 °С, изотерма в течение 2-х мин, скорость подъема – 4 °С/мин до 300 °С и выдержка при конечной температуре 5 мин. В качестве растворителя использован гексан. Весовое отношение сухой экстракт к растворителю 1:100. Идентификацию соединений

проводили на основе сравнения масс-спектров с использованием библиотеки NIST MS Search 2.3, а также атласа масс-спектров и линейных индексов удерживания.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Химический анализ исходной и обработанной коры лиственницы (табл. 1) показал, что заметное изменение состава основных компонентов коры происходит после ее последовательной обработки этанолом и пероксидом водорода: содержание целлюлозы и лигнина повышается примерно на 10%, а содержание гемицеллюлоз уменьшается на 20%.

Таблица 1. Содержание лигнина, целлюлозы и гемицеллюлоз в исходной и обработанной коре лиственницы

Table 1. Content of lignin, cellulose and hemicelluloses in the original and treated larch bark

Образец	Химический состав, масс.%		
	Целлюлоза	Лигнин	Гемицеллюлозы
КЛ	27,6	30,6	24,1
КЛ-Н ₂ O	27,3	31,1	23,8
КЛ-С ₆ H ₁₄	27,9	31,1	24,3
КЛ-С ₂ H ₅ ОН	27,7	30,2	24,3
КЛ-С ₂ H ₅ ОН-Н ₂ O ₂	30,1	35,3	17,5

СЭМ-изображения исходной коры после ее экстракции, представленные на рис. 1, характеризуют текстуру обработанной коры как более рыхлую, пористую по сравнению с необработанной корой.

При рентгенографических исследованиях образцов на дифрактограммах (рис. 2) появляются характерные дифракционные максимумы в области углов

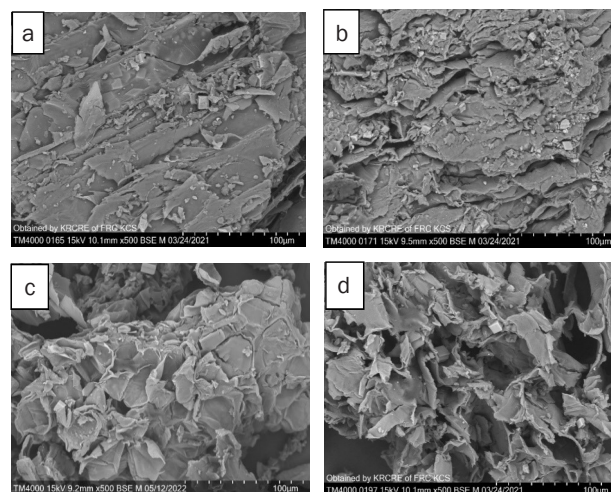


Рис. 1. СЭМ-изображения образцов исходной коры (а), после ее экстракции водой (b), гексаном (с) и смесью этанола с пероксидом водорода (d)

Fig. 1. SEM images of the initial bark (a), after bark extraction with water (b), hexane (c), and the mixture of ethanol and hydrogen peroxide (d)

¹ГОСТ 33618-2015. Уголь активированный. Стандартный метод определения йодного числа. М.: Стандартинформ, 2019. 9 с.

²ГОСТ 4453-74. Уголь активный осветляющий древесный порошкообразный. М.: Изд-во стандартов, 1993. 22 с.

рассеяния 2θ $15-16^\circ$ и $22,5^\circ$, свидетельствующие о наличии аморфно-кристаллической структуры целлюлозы [17, 18]. Интенсивность основного рефлекса отражения (002) на дифрактограмме образца коры, экстрагированной гексаном, заметно ниже, чем в спектрах других образцов, что указывает на частичную аморфитизацию структуры целлюлозы.

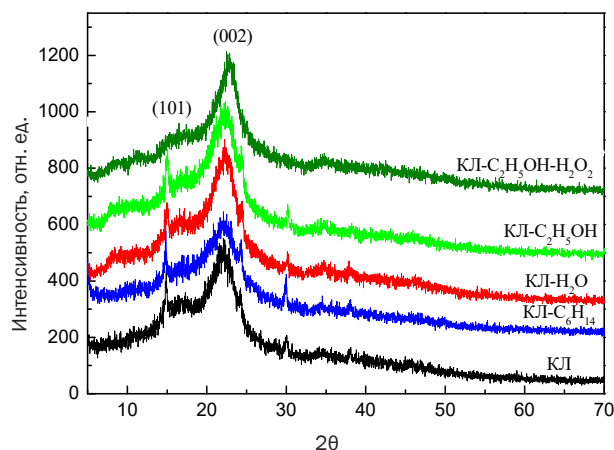


Рис. 2. Дифрактограммы исходной коры лиственницы и коры лиственницы после экстракции H_2O , C_6H_{14} , C_2H_5OH , $C_2H_5OH-H_2O_2$

Fig. 2. X-ray diffraction patterns of the initial larch bark and after extraction with H_2O , C_6H_{14} , C_2H_5OH , $C_2H_5OH-H_2O_2$

Более того, в спектрах коры после ее экстракции наблюдается уменьшение межплоскостного расстояния кристаллической структуры целлюлозы, о чем свидетельствует смещение рефлекса отражения (002) в сторону больших углов, а наличие гало в малоугловой области ($8-10^\circ$) в этих спектрах может быть связано с образованием кристаллоподобных структур дальнего порядка, имеющих большие межплоскостные расстояния. Отсутствие интенсивного рефлекса в направлении [101] на дифрактограмме образца $KL-C_2H_5OH-H_2O_2$, определяющего линейные размеры и форму поперечного сечения элементарных фибрилл кристаллической решетки целлюлозы, скорее всего, связано с глубоким разложением лигноцеллюлозной массы, особенно гемицеллюлоз, под действием H_2O_2 . По мнению авторов работ [19, 20], пероксид водорода активно взаимодействует с боковой карбонильной группой и углерод-углеродной двойной связью в структуре гемицеллюлоз.

Таким образом, в процессе экстракции коры происходит «мягкая» трансформация структуры коры с формированием более упорядоченных структур дальнего порядка. Наибольшая структурная трансформация характерна для образца, обработанного последовательно этанолом и пероксидом водорода, за счет разложения гемицеллюлозных структур.

Для детального описания функционального состава коры до и после экстракции водой, гексаном, этанолом и пероксидом водорода на рис. 3 представлены данные ИК спектрального анализа. В ИК-спектрах образцов коры лиственницы присутствуют полосы поглощения, характерные для целлюлозы, лигнина и гемицеллюлоз³

[21]. Широкая полоса поглощения в области 3600 см^{-1} связана с валентными колебаниями OH-групп, вовлеченными в образование водородных связей. Полоса 2900 см^{-1} относится к C-H валентным колебаниям, а полоса при 1450 см^{-1} характеризует различные C-H-колебания метильных, метиленовых, метоксильных групп лигнина, гемицеллюлоз и целлюлозы. Интенсивные полосы при 1738 , 1625 и 1125 см^{-1} можно отнести к карбоксильным, карбонильным, ароматическим и сложноэфирным группам.

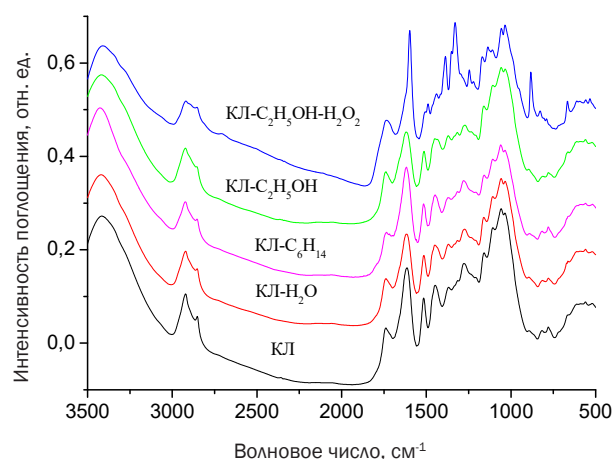


Рис. 3. ИК-спектры образцов коры лиственницы до и после экстракции реагентами (H_2O , C_6H_{14} , C_2H_5OH и $C_2H_5OH-H_2O_2$)

Fig. 3. IR spectra larch bark before and after extraction with reagents (H_2O , C_6H_{14} , C_2H_5OH and $C_2H_5OH-H_2O_2$)

Заметное уменьшение интенсивностей полос наблюдается при 1738 и 1625 см^{-1} в спектрах коры после экстракции образцов водой и этанолом, что, по-видимому, связано с селективным взаимодействием этих молекул с карбоксильными, карбонильными и сложноэфирными группами лигнина и гемицеллюлоз, приводящим к частичному удалению последних. Интересно отметить, что последовательная экстракция коры этанолом и пероксидом водорода приводит к усилению в спектре полосы при 1738 см^{-1} , а также к проявлению типичных для целлюлозы полос при 898 , 1625 , 1370 и 1125 см^{-1} , что еще раз подтверждает существенное влияние пероксида водорода на основные компоненты коры.

Общий характер спектров экстрактивных веществ (рис. 4) указывает на основное поглощение связанной OH-группы в спирте и феноле (R-OH-групп). Интенсивная полоса в области $3600-3000\text{ см}^{-1}$ характеризует наличие нескольких видов гидроксильных групп, включенных в межмолекулярные водородные связи, и наличие полимерных ассоциатов. Интенсивная полоса в области $1600-1650\text{ см}^{-1}$ указывает на присутствие ароматических групп. Важно отметить, что интенсивность полос поглощения в спектре этанольной фракции заметно выше, чем в спектре водного экстракта, что косвенно указывает на большее содержание спиртовых и фенольных соединений в растворе.

Спектр этанол-пероксидной фракции заметно отличается от выше представленных. Помимо слабых

³Базарнова Н.Г., Карпова Е.В., Катраков И.Б., Маркин В.И., Микушина И.В., Ольхов Ю.А. [и др.]. Методы исследования древесины и ее производных. Барнаул, 2002. 160 с.

полос в области $3400\text{--}2900\text{ см}^{-1}$, наблюдаются интенсивные полосы 1717 , 1136 , 1024 , 870 см^{-1} , которые характеризуют валентные колебания $\text{C}=\text{O}$ в сложных эфирах, валентные колебания карбонильной группы, колебания гидроксильной группы и $\text{C}-\text{O}$ -связей в карбоновых кислотах, т.е. окисление коры пероксидом водорода дает достаточно богатый состав экстракта.

Таким образом, спектральная картина экстрактивных веществ показывает близкий состав экстрактов коры лиственницы, полученных при использовании водной и этанольной обработок, содержащих в основном фенольные и спиртовые соединения. Этанол-пероксидный экстракт помимо них содержит сложные эфиры и производные карбоновых кислот, что хорошо согласуется с функциональным составом экстрагированной коры.

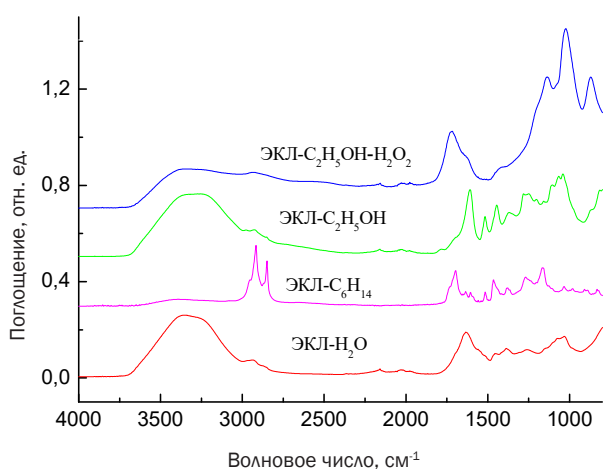


Рис. 4. ИК-спектры экстрактивных веществ, полученных при обработке коры лиственницы различными реагентами (H_2O , C_6H_{14} , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}-\text{H}_2\text{O}_2$)

Fig. 4. IR spectra of extractives obtained by larch bark treating with various reagents (H_2O , C_6H_{14} , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ and $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}-\text{H}_2\text{O}_2$)

Отдельно следует отметить, что ИК-спектры гексанового экстракта типичны для гексана, что не позволяет выявить основные составляющие экстракта. Поэтому анализ состава этого экстракта проведен газохроматографическим методом. На рис. 5 представлена хроматограмма, на которой выявлены 67 соединений, содержащихся в гексановом экстракте. Основными соединениями являются терпены и их производные (табл. 2).

Наибольшее содержание ($59,4\text{ отн.}\%$) наблюдалось для дитерпенов и дитерпеноидов, из которых

Таблица 2. Состав гексанового экстракта, определенного методом ГХ-МС

Table 2. Composition of hexane extract determined by GC-MS method

Класс соединений	Содержание, отн. %
Монотерпены и монотерпеноиды	7,0
Дитерпены и дитерпеноиды	59,4
Тритерпены и тритерпеноиды	21,1
Итого:	87,5

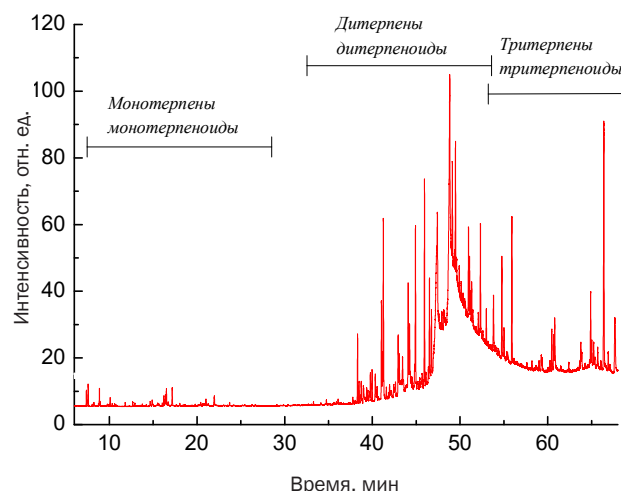


Рис. 5. Хроматограмма гексанового экстракта коры лиственницы

Fig. 5. Chromatogram of larch bark hexane extract

трициклические дитерпеновые кислоты составляют $13,6\text{ отн.}\%$, включая абиетиную кислоту ($12,9\text{ отн.}\%$). На долю тритерпеноидов приходится $21,1\text{ отн.}\%$, причем основным соединением является ситостенон – $9,2\text{ отн.}\%$. Помимо веществ терпенового ряда, в экстрактах присутствуют длинноцепочечные кислоты и их эфиры ($6,3\text{ отн.}\%$): пальмитиновая кислота, этиловый эфир докозановой

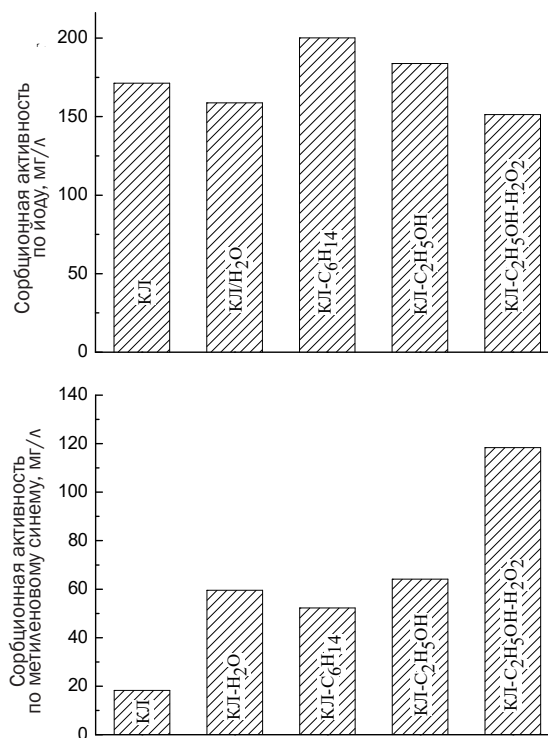


Рис. 6. Сорбционная активность образцов коры лиственницы до и после экстракции водой, гексаном, этанолом и пероксидом водорода

Fig. 6. Sorption activity of larch bark samples before and after extraction with water, hexane, ethanol, and hydrogen peroxide

кислоты, метиловый эфир тетракозановой кислоты и другие. Таким образом, состав гексановой фракции содержит терпены и их производные, которые применяются как основные компоненты смол, бальзамов, эфирных масел и т.п. [22].

Исходную и обработанную кору испытывали на сорбционную активность по йоду и метиленовому синему. Известно, что сорбция по йоду характеризует наличие микропор в образце, а сорбция по метиленовому синему в основном указывает на содержание мезопор.

На рис. 6 приведены результаты сорбционной активности образцов исходной и обработанной коры. Сорбционная активность по йоду образцов коры лиственницы до и после экстракции достаточно высокая и составляет более 150 мг/г. Наиболее микропористыми являются образцы, обработанные гексаном, их сорбционная активность по йоду достигает 200 мг/г. Кора после экстракции проявляет заметную сорбционную активность по метиленовому синему по сравнению с необработанной корой. При этом максимальная сорбционная активность по метиленовому синему наблюдается для коры, полученной после экстракции этанолом и пероксидом водорода. Можно предположить, что

формирование мезопористой структуры в основном связано с удалением гемицеллюлозных фрагментов, содержащихся в коре.

ВЫВОДЫ

Показана возможность получения мезопористых сорбентов и ценных экстрактивных веществ путем обработки коры малотоксичными экстрагентами и реагентами. Установлено, что образованию мезопористой структуры наилучшим образом способствует последовательная экстракция коры этанолом и пероксидом водорода.

Выявлены наиболее реакционноспособные функциональные группы в структуре коры, к которым относятся карбоксильные, карбонильные и сложноэфирные группы, содержащиеся в лигнине и гемицеллюлозах. Наиболее существенные изменения функционального состава коры и экстрактивных веществ наблюдаются при последовательной обработке этанолом и пероксидом водорода.

С помощью газохроматографического анализа определен состав гексановой фракции, полученной из коры лиственницы, который содержит до 60 отн.% дитерпенов и дитерпеноидов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Pásztor Z., Mohácsiné I.R., Gorbacheva G., Börösök Z. The utilization of tree bark // *Bioresources*. 2016. Vol. 11, no. 3. P. 7859–7888. <https://doi.org/10.15376/biores.11.3.Pasztor>.
2. Svoynin F., Birman A., Bacherikov I., Mater O., Bozhov V. Perspectives of bark dump recycling at wood processing enterprises // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2020. Vol. 817. P. 012033. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/817/1/012033>.
3. Rhazi N., Hannache H., Sesbou A., Charrier B., Pizzi A., Charrier F., et al. Green extraction process of tannins obtained from Moroccan *Acacia mollissima* barks by microwave: modeling and optimization of the process using the response surface methodology RSM // *Arabian Journal of Chemistry*. 2019. Vol. 12, no. 8. P. 2668–2684. <https://doi.org/10.1016/j.arabj.2015.04.032>.
4. Veprikova E.V., Kuznetsova S.A., Chesnokov N.V., Kuznetsov B.N. Obtaining of organomineral fertilizers on the basis of wood bark (review) // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. 2016. Vol. 4, no. 9. P. 414–429. <https://doi.org/10.17516/1998-2836-2016-9-4-414-429>.
5. Kain G., Lienbacher B., Barbu M.-C., Richter K., Petutschnigg A. Larch (*Larix decidua*) bark insulation board: interactions of particle orientation, physical–mechanical and thermal properties // *European Journal of Wood and Wood Products*. 2018. Vol. 76. P. 489–498. <https://doi.org/10.1007/s00107-017-1271-y>.
6. Tudor E.M., Barbu M.C., Petutschnigg A., Réh R., Krišt'ák L. Analysis of larch-bark capacity for formaldehyde removal in wood adhesives // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020. Vol. 17, no. 3. P. 764. <https://doi.org/10.3390/ijerph17030764>.
7. Ravber M., Knez Ž., Škerget M. Isolation of phenolic compounds from larch wood waste using pressurized hot water: extraction, analysis and economic evaluation // *Cellulose*. 2015. Vol. 22, no. 5. P. 3359–3375. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0719-7>.
8. Faggian M., Bernabè G., Ferrari S., Francescato S., Baratto G., Castagliuolo I., et al. Polyphenol-rich *Larix decidua* bark extract with antimicrobial activity against respiratory-tract pathogens: a novel bioactive ingredient with potential pharmaceutical and nutraceutical applications // *Antibiotics*. 2021. Vol. 10, no. 7. P. 789. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070789>.
9. Bianchi S., Krosłakova I., Janzon R., Mayer I., Saake B., Pichelin F. Characterization of condensed tannins and carbohydrates in hot water bark extracts of European softwood species // *Phytochemistry*. 2015. Vol. 120. P. 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.10.006>.
10. Matsumae T., Horito M., Kurushima N., Yazaki Y. Development of bark-based adhesives for plywood: utilization of flavonoid compounds from bark and wood // *Journal of Wood Science*. 2019. Vol. 65. Article number: 9. <https://doi.org/10.1186/s10086-019-1780-x>.
11. Ighalo J.O., Adeniyi A.G. Adsorption of pollutants by plant bark derived adsorbents: an empirical review // *Journal of Water Process Engineering*. 2020. Vol. 35, no. 3. P. 101228. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101228>.
12. Цыганова С.И., Веприкова Е.В., Левданский А.В., Мазурова Е.В., Таран О.П. Влияние экстракции на структуру и сорбционную активность коры лиственницы // *Вестник Томского государственного университета. Химия*. 2021. N 23. С. 6–18. <https://doi.org/10.17223/24135542/23/1>.
13. Сафина А.В., Тимербаев Н.Ф., Зиатдинова Д.Ф., Арсланова Г.Р. Экстракция ценных компонентов из лесосечных отходов // *Известия высших учебных заведений. Лесной журнал*. 2018. N 1. С. 109–119. <https://vuzbiochemi.elpub.ru/jour>

doi.org/10.17238/issn0536-1036.2018.1.109.

14. Акопян В.Б., Давидов Е.Р., Овешников И.Н., Пашинин А.Е., Рухман А.А., Ступин А.Ю. Экстракция смолы из сосновых опилок // Биотехнология. 2010. N 2. С. 65–69.

15. Schwanninger M., Hinterstoisser B. Comparison of the classical wood extraction method using a Soxhlet apparatus with an advanced extraction method // European Journal of Wood and Wood Products. 2002. Vol. 60, no. 5. P. 343–346. <https://doi.org/10.1007/s00107-002-0312-2>.

16. Sluiter A., Hames B., Ruiz R., Scarlata C., Sluiter J., Templeton D., Crocker D. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP), 2012. 15 p.

17. Ahvenainen P., Kontro I., Svedström K. Comparison of sample crystallinity determination methods by X-ray diffraction for challenging cellulose I materials // Cellulose. 2016. Vol. 23, no. 2. P. 1073–1086. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-0881-6>.

18. Алешина Л.А., Власова Е.Н., Грунин Л.Ю., Гру-

нин Ю.Б., Гуртов В.А., Коновалова К.А. [и др.]. Структура и физико-химические свойства целлюлоз и нанокмпозитов на их основе: монография. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2014. 240 с.

19. Wu Y., Wu J., Yang F., Tang C., Huang Q. Effect of H₂O₂ bleaching treatment on the properties of finished transparent wood // Polymers. 2019. Vol. 11, no. 5. P. 776. <https://doi.org/10.3390/polym11050776>.

20. Wang L., Ouyang T., Dai X., Lu X., Liang H., Deng R., et al. Preparation of transparent cellulose membrane by hydrogen peroxide bleaching of cellulose-rich materials // Forest Engineering. 2018. Vol. 34, no. 1. P. 41–45.

21. Hubbe M.A., Rojas O.J., Lucia L.A., Sain M. Cellulosic nanocomposites: a review // BioResources. 2008. Vol. 3, no. 3. P. 929–980.

22. Das A.K., Islam Md.N., Faruk Md.O., Ashaduz-zaman Md., Dungani R. Review on tannins: extraction processes, applications and possibilities // South African Journal of Botany. 2020. Vol. 135. P. 58–70. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.008>.

REFERENCES

1. Pásztor Z., Mohácsiné I.R., Gorbacheva G., Börcsök Z. The utilization of tree bark. *Bioresources*. 2016;11(3):7859–7888. <https://doi.org/10.15376/biores.11.3.Pasztor>.

2. Svoynkin F., Birman A., Bacherikov I., Mater O., Bozhbov V. Perspectives of bark dump recycling at wood processing enterprises. In: *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2020;817:012033. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/817/1/012033>.

3. Rhazi N., Hannache H., Sesbou A., Charrier B., Pizzi A., Charrier F., et al. Green extraction process of tannins obtained from Moroccan *Acacia mollissima* barks by microwave: modeling and optimization of the process using the response surface methodology RSM. *Arabian Journal of Chemistry*. 2019;12(8):2668–2684. <https://doi.org/10.1016/j.arabjoc.2015.04.032>.

4. Veprikova E.V., Kuznetsova S.A., Chesnokov N.V., Kuznetsov B.N. Obtaining of organomineral fertilizers on the basis of wood bark (review). *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. 2016;4(9):414–429. <https://doi.org/10.17516/1998-2836-2016-9-4-414-429>.

5. Kain G., Lienbacher B., Barbu M.-C., Richter K., Petutschnigg A. Larch (*Larix decidua*) bark insulation board: interactions of particle orientation, physical–mechanical and thermal properties. *European Journal of Wood and Wood Products*. 2018;76:489–498. <https://doi.org/10.1007/s00107-017-1271-y>.

6. Tudor E.M., Barbu M.C., Petutschnigg A., Réh R., Krišt'ák L. Analysis of larch-bark capacity for formaldehyde removal in wood adhesives. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020;17(3):764. <https://doi.org/10.3390/ijerph17030764>.

7. Ravber M., Knez Ž., Škerget M. Isolation of phenolic compounds from larch wood waste using pressurized hot water: extraction, analysis and economic evaluation. *Cellulose*. 2015;22(5):3359–3375. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0719-7>.

8. Faggian M., Bernabè G., Ferrari S., Francescato S., Baratto G., Castagliuolo I., et al. Polyphenol-rich *Larix decidua* bark extract with antimicrobial activity against

respiratory-tract pathogens: a novel bioactive ingredient with potential pharmaceutical and nutraceutical applications. *Antibiotics*. 2021;10(7):789. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070789>.

9. Bianchi S., Krosiakova I., Janzon R., Mayer I., Saake B., Pichelin F. Characterization of condensed tannins and carbohydrates in hot water bark extracts of European softwood species. *Phytochemistry*. 2015;120:53–61. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.10.006>.

10. Matsumae T., Horito M., Kurushima N., Yazaki Y. Development of bark-based adhesives for plywood: utilization of flavonoid compounds from bark and wood. *Journal of Wood Science*. 2019;65. Article number: 9. <https://doi.org/10.1186/s10086-019-1780-x>.

11. Ighalo J.O., Adeniyi A.G. Adsorption of pollutants by plant bark derived adsorbents: an empirical review. *Journal of Water Process Engineering*. 2020;35(3):101228. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101228>.

12. Tsyganova S.I., Veprikova E.V., Levitsky A.V., Mazurova E.V., Taran O.P. Effect of extraction on the structure and sorption activity of larch bark. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Himiya = Tomsk State University Journal of Chemistry*. 2021;(23):6–18. (In Russian). <https://doi.org/10.17223/24135542/23/1>.

13. Safina A.V., Timerbaev N.F., Ziatdinova D.F., Arslanova G.R. Extraction of valuable components from logging residues. *Izvestiya vysshih uchebnyh zavedenij. Lesnoy zhurnal = Bulletin of Higher Educational Institutions. Russian Forestry Journal*. 2018;(1):109–119. (In Russian). <https://doi.org/10.17238/issn0536-1036.2018.1.109>.

14. Akopjan V.B., Davidov E.R., Ovshnikov I.N., Pashinin A.E., Ruhman A.A., Stupin A.Ju. Extraction of resin from pine saws. *Biotehnologiya = Biotechnology*. 2010;(2):65–69. (In Russian).

15. Schwanninger M., Hinterstoisser B. Comparison of the classical wood extraction method using a Soxhlet apparatus with an advanced extraction method. *European Journal of Wood and Wood Products*. 2002;60(5):343–346. <https://doi.org/10.1007/s00107-002-0312-2>.

16. Sluiter A., Hames B., Ruiz R., Scarlata C., Sluiter J., Templeton D., Crocker D. *Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass*. Laboratory Analytical Procedure (LAP); 2012. 15 p.

17. Ahvenainen P., Kontro I., Svedström K. Comparison of sample crystallinity determination methods by X-ray diffraction for challenging cellulose I materials. *Cellulose*. 2016;23(2):1073-1086. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-0881-6>.

18. Aleshina L.A., Vlasova E.N., Grunin L.Ju., Grunin Ju.B., Gurtov V.A., Konovalova K.A., et al. *Structure and physicochemical properties of celluloses and nanocomposites based on them: monograph*. Petrozavodsk: Izd-vo PetrGU; 2014. 240 p. (In Russian).

19. Wu Y., Wu J., Yang F., Tang C., Huang Q. Effect of

H₂O₂ bleaching treatment on the properties of finished transparent wood. *Polymers*. 2019;11(5):776. <https://doi.org/10.3390/polym11050776>.

20. Wang L., Ouyang T., Dai X., Lu X., Liang H., Deng R., et al. Preparation of transparent cellulose membrane by hydrogen peroxide bleaching of cellulose-rich materials. *Forest Engineering*. 2018;34(1):41-45.

21. Hubbe M.A., Rojas O.J., Lucia L.A., Sain M. Cellulosic nanocomposites: a review. *BioResources*. 2008;3(3):929-980.

22. Das A.K., Islam Md.N., Faruk Md.O., Ashaduz-zaman Md., Dungani R. Review on tannins: extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*. 2020;135:58-70. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.008>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Цыганова Светлана Ивановна,
к.х.н., доцент, старший научный сотрудник,
Институт химии и химической технологии
СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/24,
Российская Федерация,
✉light@icct.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1815-8450>

Левданский Александр Владимирович,
к.х.н., научный сотрудник,
Институт химии и химической технологии
СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/24,
Российская Федерация,
alexander.l@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5309-849X>

Скрипников Андрей Михайлович,
младший научный сотрудник,
Институт химии и химической технологии
СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/24,
Российская Федерация,
and-skripnikov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1574-8700>

Таран Оксана Павловна,
д.х.н., профессор, директор,
Институт химии и химической технологии
СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/24,
Российская Федерация,
taran.op@icct.krasn.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9452-5902>

Вклад авторов

С.И. Цыганова – приготовление образцов, анализ и обсуждение результатов исследований, написание статьи;
А.В. Левданский – проведение процесса экстракции коры, определение состава основных компонентов

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Svetlana I. Tsyganova,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Senior Researcher,
Institute of Chemistry and Chemical Technology
SB RAS, FRC KSC SB RAS,
50/24, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036,
Russian Federation,
✉light@icct.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1815-8450>

Alexander V. Levdansky,
Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
Institute of Chemistry and Chemical Technology
SB RAS, FRC KSC SB RAS,
50/24, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036,
Russian Federation,
alexander.l@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5309-849X>

Andrey M. Skripnikov,
Junior Researcher,
Institute of Chemistry and Chemical Technology
SB RAS, FRC KSC SB RAS,
50/24, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036,
Russian Federation,
and-skripnikov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1574-8700>

Oxana P. Taran,
Dr. Sci.(Chemistry), Professor, Director,
Institute of Chemistry and Chemical Technology
SB RAS, FRC KSC SB RAS,
50/24, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036,
Russian Federation,
taran.op@icct.krasn.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9452-5902>

Contribution of the authors

Svetlana I. Tsyganova – sample preparation, analysis and discussion of research results, writing the article;
Alexander V. Levdansky – carrying out the bark extraction process, determining the composition of the main components of the samples, discussing

приготовленных образцов, обсуждение результатов, написание методики процесса экстракции;
А.М. Скрипников – проведение анализа жидких продуктов после экстракции коры газохроматографическим методом, обсуждение результатов;
О.П. Таран – постановка задачи исследования, обсуждение полученных результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 22.11.2022.

Одобрена после рецензирования 26.02.2023.

Принята к публикации 28.02.2023.

the results, description the extraction process methodology;

Andrey M. Skripnikov – gas chromatographic analysis of liquid products after the bark extraction, discussion of the results;

Oxana P. Taran – problem statement, discussion of the obtained results.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 22.11.2022.

Approved after reviewing 26.02.2023.

Accepted for publication 28.02.2023.

Научная статья

УДК 665.7.038.3

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-133-141>



Улучшение эксплуатационных свойств автобензинов за счет оптимизации коэффициента распределения детонационной стойкости

Е.Б. Ковалева*✉, С.Г. Дьячкова*, А.А. Ганина**, Ж.Н. Артемьева**,
И.Е. Кузора**, Т.Н. Гершпигель**, Д.А. Олейник**

*Иркутский национальный исследовательский технический университет,
г. Иркутск, Российская Федерация

**АО «Ангарская нефтехимическая компания», г. Ангарск, Российская Федерация

Аннотация. В последнее время наряду с ростом потребления автобензинов наблюдается тенденция к ужесточению эксплуатационных и экологических требований к их качеству. Весьма существенным требованием автобензина является не только высокая детонационная стойкость бензина в целом, но и равномерное распределение октанового числа по фракциям. Это свойство имеет большое значение для обеспечения нормальной работы двигателя на переменных режимах. Вместе с тем большинство из используемых в настоящее время оксигенатов и присадок на их основе имеют узкий интервал температур кипения и неравномерно распределены по фракциям топлива. Объектами исследования являлись промышленно доступные оксигенаты: метил-трет-бутиловый эфир, изобутиловый спирт и смесь насыщенных углеводородов, получаемых в процессе сернокислотного алкилирования олефинов (алкилат). Предложен состав композиционной смеси при соотношении следующих компонентов: алкилат – 50–70% масс., метил-трет-бутиловый эфир – 15–25% масс., изобутиловый спирт – 15–25% масс. соответственно, позволяющий в равной мере увеличить октановое число узких низкокипящих и высококипящих фракций, входящих в состав бензиновой смеси, т.е. значение коэффициента распределения детонационной стойкости, близко к максимуму – 1. В результате исследования влияния 3-компонентной смеси на эксплуатационные характеристики при вовлечении в автомобильные бензины установлено, что применение 3-компонентной смеси в качестве высокооктанового кислородсодержащего компонента в составе топлива в интервале концентраций от 25,0 до 45,5% масс. обеспечивает равномерное распределение детонационной стойкости по фракциям и способствует повышению энергоэффективности топлива за счет увеличения удельной теплоты сгорания.

Ключевые слова: коэффициент распределения детонационной стойкости, энергоэффективность, оксигенаты, легкие углеводороды, автомобильные бензины

Для цитирования: Ковалева Е.Б., Дьячкова С.Г., Ганина А.А., Артемьева Ж.Н., Кузора И.Е., Гершпигель Т.Н., Олейник Д.А. Улучшение эксплуатационных свойств автобензинов за счет оптимизации коэффициента распределения детонационной стойкости // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 133–141. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-133-141>.

CHEMICAL TECHNOLOGY

Original article

Improving the performance of motor gasolines by optimizing their knock resistance distribution factor

Ekaterina B. Kovaleva*✉, Svetlana G. D'yachkova*, Anna A. Ganina**,
Zhanna N. Artemyeva**, Igor E. Kuzora**, Tatiana N. Gerspiegel**, Daniil A. Oleinik**

*Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

**SC "Angarsk Petrochemical Company", Angarsk, Russian Federation

Abstract. The growth of gasoline consumption worldwide is imposing stricter operational and environmental requirements on fuel quality. These requirements include not only a high knock resistance of gasoline, but also a uniform distribution of the octane number by fractions. The latter property is of great importance for reliable operation of the engine at variable modes. At the same time, most of the currently used oxygenates and additives produced on their basis exhibit a narrow boiling point range and are unevenly distributed over the fuel fractions. In this work, we study industrially available oxygenates, including methyl-tert-butyl ether, isobutyl alcohol, and a mixture of saturated hydrocarbons obtained in the process of sulfuric acid alkylation of olefins (alkylate). A composite

mixture of alkylate, methyl tert-butyl ether, and isobutyl in the ratio of 50–70 wt%, 15–25 wt%, and 15–25 wt%, respectively, is proposed. This composition allows an equal increase in the octane number of narrow low-boiling and high-boiling fractions in the gasoline mixture, with the factor of knock resistance distribution being close to the maximum value of 1. The effect of the studied three-component mixture on the performance of respective motor gasolines was investigated. It was found that the addition of the studied mixture as a high-octane oxygen-containing fuel component in the concentration range from 25.0 to 45.5 wt% provides for a uniform distribution of knock resistance over the fractions and improves the energy efficiency of the fuel by increasing its specific heat of combustion.

Keywords: distribution coefficient of detonation resistance, energy efficiency, oxygenates, light hydrocarbons, motor gasolines

For citation: Kovaleva E.B., D'yachkova S.G., Ganina A.A., Artemyeva Zh.N., Kuzora I.E., Gerspiegel T.N., Oleinik D.A. Improving the performance of motor gasolines by optimizing their knock resistance distribution factor. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):133-141. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-133-141>.

ВВЕДЕНИЕ

Важной задачей российской нефтепереработки, повышающей ее конкурентоспособность, является доведение эксплуатационных и экологических свойств автомобильных бензинов до требований мирового уровня. Растет потребность в моторных топливах с октановым числом (ОЧ) 95 и выше [1, 2]. В последнее время особое значение в производстве высокооктановых бензинов экологического класса приобрели многофункциональные добавки, в том числе оксигенаты [3–9], обеспечивающие увеличение детонационной стойкости и полноту сгорания моторных топлив. При этом не всегда достигается равномерное распределение ОЧ в узких бензиновых фракциях [10–12], определяемое как коэффициент распределения детонационной стойкости (КРДС). Этому показателю отводится важная роль, т.к. от него зависит стабильность (бесперебойность) и надежность работы двигателя внутреннего сгорания (ДВС) от такта впрыска топлива в цилиндры ДВС до такта выпуска продуктов сгорания с учетом в 4-тактных ДВС тактов сжатия и рабочего хода. КРДС определяется как отношение полученных по исследовательскому методу октановых чисел (ИОЧ) фракций бензина, выкипающих в пределах: температура начала кипения (НК) – 100 °С и 100 °С – температура конца кипения (КК)¹. Стоит отметить, что по техническим характеристикам и эксплуатационным свойствам, экономичному расходу и экологичности применения с точки зрения полноты сгорания (снижения выброса в атмосферу продуктов неполного сгорания) лучшим моторным топливом является бензин, у которого КРДС равен 1 [13]. Так, в настоящее время в качестве антидетонационной присадки как самостоятельно, так и в смеси с другими октаноповышающими веществами используется метил-трет-бутиловый эфир (МТБЭ) [14–19], обладаю-

щий высокой детонационной стойкостью, октановое число смешения которого может достигать до 135 ед. в зависимости от углеводородов, входящих в бензин [14, 20]. Однако более низкая, чем у углеводородов, теплота сгорания (38220 кДж/кг) является недостатком МТБЭ². Многоатомным продуктом отечественной промышленности, применяющимся в качестве октаноповышающей добавки, являются бутиловые спирты [21–23]. Согласно ТР ТС 013/2011, изобутанол может вовлекаться в автомобильные бензины до 10% об.³ Вместе с тем установлено⁴, что использование индивидуальных оксигенатов в приготовлении автобензинов приводит к неравномерности распределения детонационной стойкости по фракциям и к снижению общей теплоты сгорания топлива, что ведет к увеличению расхода топлива. Одним из высокооктановых компонентов автобензинов является алкилат – смесь насыщенных углеводородов, получаемых в процессе сернокислотного алкилирования олефинов. Алкилат – идеальный компонент бензина, поскольку имеет высокие ОЧ по исследовательскому (не ниже 95,0) и моторному (не ниже 92,0) методам, не содержит ароматических соединений, олефинов и серы, имеет широкий фракционный состав [24], однако значения ОЧ алкилата ниже по сравнению с оксигенатами. В связи с этим решением проблемы производства автобензинов, отвечающих мировым стандартам, в том числе по КРДС, будет являться разработка композиционных смесей, способных за счет компонентов, входящих в их состав, равномерно распределяться в узких фракциях, улучшая тем самым эксплуатационные характеристики моторных топлив.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оценка качественных эксплуатационных характеристик топливных композиций проводилась согласно

¹ГОСТ 26370-84. Бензины автомобильные. Метод оценки распределения детонационной стойкости по фракциям: гос. стандарт союза ССР; введен в действие постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 19.12.1984 г. N 4651.

²Метилтретбутиловый эфир [Электронный ресурс]. URL: <https://e-him.ru/?page=dynamic§ion=33&article=233> (03.02.2022).

³Решение Комиссии Таможенного союза от 18 октября 2011 г. N 826 «О принятии технического регламента Таможенного союза «О требованиях к автомобильному и авиационному бензину, дизельному и судовому топливу, топливу для реактивных двигателей и мазуту».

⁴Капустин В.М. Технология производства автомобильных бензинов. М.: Химия, 2015. 256 с.

государственным стандартам с применением стандартизированных методик и средств измерений.

Объектами настоящего исследования являлись промышленно доступные оксигенаты отечественного производства: МТБЭ; изобутиловый спирт (ИБС); смесь насыщенных углеводородов, получаемых в процессе сернокислотного алкилирования олефинов (алкилат); бензин неэтилированный марок АИ-95-К5 и АИ-98-К5.

Октановое число по ИОЧ определяли по ГОСТ 8226-2015⁵, по моторному методу (МОЧ) – по ГОСТ 511-2015⁶. В качестве стандартного одноцилиндрового двигателя использовали установки отечественного производства типа УИТ-85. Октановое число по ИОЧ устанавливали по результатам сравнения стандартной интенсивности детонации образца испытуемого бензина в стандартных двигателях (CFR или типа УИТ) при стандартных условиях и степени сжатия с интенсивностью детонации первичной эталонной топливной смеси (ПЭТС). В ходе испытаний регулировали соотношение топливо–воздух для образца испытуемого топлива и для каждой из ПЭТС для достижения максимальной интенсивности детонации. Далее определяли состав ПЭТС, стандартная интенсивность детонации которой при испытании с той же степенью сжатия, что и образец испытуемого топлива, имеет то же октановое число. Октановое число этой ПЭТС принимали за октановое число испытуемого образца топлива.

КРДС по фракциям определяли по ГОСТ 26370-84⁷. КРДС характеризует равномерное распределение детонационной стойкости по узким фракциям и определяется как отношение ИОЧ полученных разгон-

кой фракций испытуемого образца бензина, выкипающих в пределах: НК – 100 °С, 100 °С – КК. Идеальным КРДС считается значение близкое к 1 [10, 11].

Отбор проб нефтепродуктов осуществляли согласно требованиям ГОСТ 2517-2012⁷.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В качестве объектов исследования нами были выбраны промышленно доступные оксигенаты (МТБЭ и ИБС) и смесь насыщенных углеводородов (алкилат), автомобильные бензины экологического класса 5, типовая базовая основа которых имеет следующий состав (табл. 1).

В ходе исследования образец базовой основы был разделен на узкие фракции с последующим определением для каждой из них октановых чисел по ИОЧ и МОЧ (табл. 2).

Определение ОЧ узких фракций базовой основы (см. табл. 2) показало неравномерность распределения детонационной стойкости ($KPDC_{\text{баз}} = 0,72$). Наибольшим ОЧ обладают фракции 100^{баз} °С – КК (см. табл. 2), что обусловлено наличием в высококипящих фракциях базовой основы ароматических углеводородов тяжелого риформата, а также изопарафинов и олефинов бензина каталитического крекинга.

С целью оптимизации значения КРДС к составу базовой основы необходимо добавить соединения, имеющие температуру кипения ≤100 °С, обладающие достаточно высокой детонационной стойкостью и не запрещенные нормативными документами по содержанию в бензинах. В качестве таких соединений нами были выбраны промышленно доступные оксигенаты (МТБЭ и ИБС) и смесь насыщенных угле-

Таблица 1. Состав базовой основы бензина экологического класса 5

Table 1. Composition of the base of 5 ecological class gasoline

Наименование	Массовая доля, % масс.	Интервал температур кипения (Тнк – Ткк), °С
Тяжелый риформат	50	101–204
Изомеризат	25	30–70
Защелоченный гидрогенизат фракции бензина каталитического крекинга	25	130–210

Таблица 2. Октановые числа узких бензиновых фракций базовой основы бензина

Table 2. Octane numbers of narrow gasoline fractions of the gasoline base

Пределы выкипания фракции, °С	Октановые числа	
	моторный метод	исследовательский метод
н.к. – 80	82,0	83,4
80–100	63,4	65,5
100–120	87,6	98,6
120–150	89,3	103,1
150–180	101,8	106,9

⁵ГОСТ 8226-2015. Топливо для двигателей. Исследовательский метод определения октанового числа: межгосуд. стандарт; введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 11.12.2015 г. N 2152-ст.

⁶ГОСТ 511-2015. Топливо для двигателей. Моторный метод определения октанового числа: межгосуд. стандарт; введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 11.12.2015 г. N 2151-ст.

⁷ГОСТ 2517-2012. Нефть и нефтепродукты. Методы отбора проб: межгосуд. стандарт; введен в действие Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 24 октября 2012 г. N 52).

Таблица 3. Физико-химические характеристики индивидуальных компонентов

Table 3. Physico-chemical characteristics of individual components

Наименование показателя качества	Компонент	Алкилат	Метил-трет-бутиловый эфир	Изобутиловый спирт
Октановое число по исследовательскому методу		96,5	116,0	110,0
Фракционный состав:				
Температура начала кипения, °С		31,0	55,0	108,0
Объемная доля испарившегося образца, % при температуре: 70 °С		15,0	100,0	0,0
100 °С		34,0	100,0	0,0
150 °С		95,0	100,0	100,0
Конец кипения, °С		191,5	–	–
Остаток в колбе, % об.		1,0	–	–
Давление насыщенных паров, кПа		62,7	72,6	3,3

водородов (алкилат), в табл. 3 представлены их показатели качества.

Анализ фракционного состава компонентов показал, что 34% об. алкилата перегоняется при температуре 100 °С, 95% об. – при температуре 150 °С, что позволяет предположить об относительно равномерном распределении различных углеводородов по фракциям. Вместе с тем алкилат практически полностью состоит из изопарафинов, обладающих высоким октановым числом по исследовательскому методу⁸, выкипающих в пределах 60–110 °С, что дает возможность получения автомобильных бензинов с равномерной антидетонационной характеристикой [25]. Введение в автомобильные бензины высокооктановой добавки в виде эфиров – МТБЭ, который имеет ОЧ порядка 116 единиц, а температуру кипения – 55 °С, позволит существенно улучшить антидетонационные свойства легкокипящих составляющих бензина (фракции НК – 100 °С)⁹, ИБС, напротив, является высококипящим кислородсодержащим органическим соединением и имеет температуру кипения выше 100 °С. Его применение в качестве высокооктановой добавки к бензинам приведет к повышению ОЧ фракции при температуре 100 °С – КК. Бутиловые спирты по сравнению с МТБЭ имеют ряд преимуществ. В частности они обладают низким давлением насыщенных паров [26], оказывая стабильность качественных характеристик при хранении товарного топлива. Основываясь на физико-химических характеристиках индивидуальных компонентов, предполагаем, что создание 3-компонентной смеси с большим содержанием насыщенных парафинов

приведет к равномерному распределению детонационной стойкости в автомобильных бензинах.

Для установления оптимального состава 3-компонентной смеси варьировалось соотношение компонентов: алкилат, МТБЭ, ИБС. Оценочным показателем к оптимизации служил КРДС по фракциям, полученный в лабораторных условиях для образцов бензина с вовлечением 3-компонентной смеси. Для этого с помощью программного пакета Aspen PIMS Program¹⁰ (Process Industry Modeling System¹¹) был смоделирован состав автомобильных бензинов с вовлечением 3-компонентной смеси в АИ-95-К5 в количестве 25,0% масс. и в АИ-98-К5 – 45,5% масс., при соотношении компонентов: алкилат – 40÷80% масс., МТБЭ – 10÷30% масс., ИБС – 10÷30% масс. Полученным образцам топливных композиций была проведена оценка распределения детонационной стойкости по фракциям. Для этого образцы автомобильных бензинов АИ-95-К5 и АИ-98-К5 в лабораторных условиях были разделены на узкие фракции НК – 100 °С и 100 °С – КК (ГОСТ 26370) с последующим определением для каждой из них ОЧ исследовательским методом (ГОСТ 8226). На основе полученных данных был рассчитан КРДС (табл. 4).

Из приведенных в таблице 4 данных видно, что оптимальное и эффективное соотношение 3-компонентной смеси следующее: алкилат – 50÷70% масс., МТБЭ – 15÷25% масс., ИБС – 15÷25% масс. соответственно, позволяющее в равной мере увеличить ОЧ узких низкокипящих и высококипящих фракций, входящих в состав бензиновой смеси, т.е. значение КРДС близко к максимуму – 1.

⁸Шириязданов Р.Р. Научно-прикладные основы процесса алкилирования изобутана олефинами на цеолитсодержащих катализаторах: дис. ... д-ра тех. наук. Уфа, 2017. 412 с.

⁹Капустин В.М. Технология производства автомобильных бензинов. М.: Химия, 2015. 256 с.

¹⁰Aspen PIMS Program (Process Industry Modeling System) [Электронный ресурс]. URL: <https://www.aspentech.com/en/resources/brochure/aspen-pims-family> (24.04.2019).

¹¹PIMS (экономико-технологическая система моделирования нефтепереработки) – инструмент построения методом линейного программирования (ЛП) моделей планирования процессов нефтепереработки для создания оптимальных планов, включая оценку альтернатив сырой нефти, промежуточного сырья, сырья, получаемого за границами рассматриваемой установки, технологий, продуктов и рынков.

Таблица 4. Показатели качества топливных композиций на базе автомобильных бензинов и 3-компонентной смеси

Table 4. Quality indicators of fuel compositions based on motor gasoline and a three-component mixture

Наименование показателя	Топливная композиция									
	АИ-95-К5 + 25,0% масс. 3-компонентной смеси					АИ-98-К5 + 45,5% масс. 3-компонентной смеси				
Соотношение компонентов алкилат/метил-трет-бутиловый эфир/изобутиловый спирт, % масс.	(40/30/30)	(50/25/25)	(60/20/20)	(70/15/15)	(80/10/10)	(40/30/30)	(50/25/25)	(60/20/20)	(70/15/15)	(80/10/10)
Исследовательский метод октановых чисел фракции НК – 100 °С	91,5	91,9	92,2	92,8	93,1	97,9	97,0	97,9	98,5	99,1
Исследовательский метод октановых чисел фракции 100 °С – КК	104,2	98,9	98,4	97,5	100,8	103,9	99,2	99,2	99,0	101,7
Коэффициент распределения детонационной стойкости	0,88	0,93	0,94	0,95	0,92	0,94	0,98	0,99	0,99	0,97

В результате применения 3-компонентной смеси в диапазоне содержания компонентов: алкилат – 50÷70% масс., МТБЭ – 15÷25% масс., ИБС – 15÷25% масс. в качестве высокооктанового кислородсодержащего компонента (ВОК) в составе топлива показано, что он обеспечивает более равномерное распределение ОЧ по фракциям, равное для образца автобензина АИ-95-К5 – 0,95, для АИ-98-К5 – 0,99 (рис. 1), по сравнению со значениями 0,90 и 0,96 соответственно для бензинов без вовлечения ВОК.

Не менее важный эксплуатационный показатель

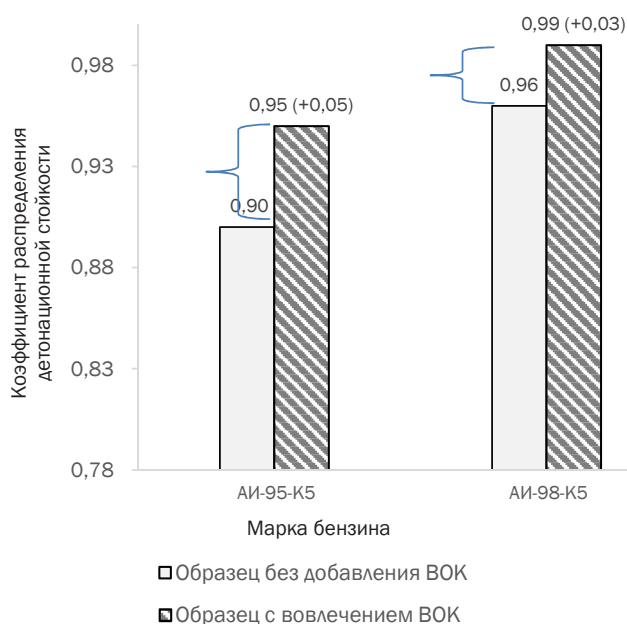


Рис. 1. Коэффициент распределения детонационной стойкости по фракциям образцов бензина с добавлением высокооктанового кислородсодержащего компонента

Fig. 1. Knock resistance distribution coefficient for gasoline fractions with the addition of high-octane oxygen component

двигателя – расход топлива, на который оказывает значительное влияние его теплота сгорания. Для 3-компонентной смеси с соотношением компонентов – алкилат – 50÷70% масс., МТБЭ – 15÷25% масс., ИБС – 15÷25% масс. – была рассчитана удельная теплота сгорания (рис. 2). Показано, что удельная теплота сгорания 3-компонентной смеси на 19% больше по сравнению с индивидуальными оксигенатами, использование данного компонента в составе автобензинов позволит повысить энергоэффективность топлива.

Установлено, что вовлечение в автомобильные бензины, имеющие типовой базовый состав (см. табл. 1), ВОК в диапазоне содержания компонентов – алкилат – 50÷70 % масс., МТБЭ – 15÷25% масс., ИБС – 15÷25% масс. соответственно – в процессе компаундирования бензинов в интервале концентраций от 25,0 до 45,5% масс. обеспечивает равномерное распределение детонационной стойкости по фракциям (образцы 2–6) и повышение энергоэффек-

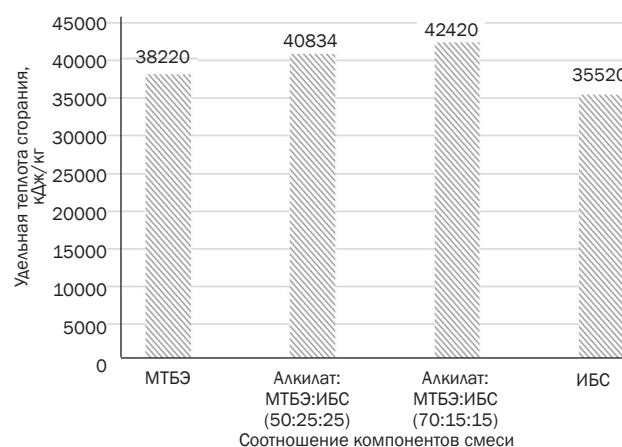


Рис. 2. Теплота сгорания индивидуальных оксигенатов и 3-компонентных смесей

Fig. 2. Combustion heat of individual oxygenates and three-component mixtures

Таблица 5. Эксплуатационные показатели образцов бензинов с вовлечением высокооктанового кислородсодержащего компонента

Table 5. Performance characteristics of gasoline samples with the involvement of a high-octane oxygen-containing component

Наименование показателя	Норма по ГОСТ 32513	Значения, полученные для образцов бензина						
Номер образца		1	2	3	4	5	6	7
Массовая доля компонента, % масс.	–	23,0	25,0	30,5	35,5	40,5	45,5	47,5
Содержание кислорода в бензине, % масс.	не более 2,7	2,0	2,2	2,5	2,4	2,5	2,7	2,8
Октановое число по исследовательскому методу	не менее 95,0	94,0	95,2	95,9	96,5	97,2	98,0	98,5
Коэффициент распределения детонационной стойкости	–	0,90	0,95	0,96	0,96	0,97	0,99	0,95
Увеличение удельной теплоты сгорания относительно базовой основы, кДж/кг	–	+9391	+10208	+12454	+14496	+16537	+18579	+19396

тивности топлива за счет увеличения удельной теплоты сгорания (табл. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложено использование в качестве компонента автобензинов ВОК, представляющего собой 3-компонентную смесь – алкилат:МТБЭ:ИБС в соотношениях (% масс.): (50–70):(15–25):(15–25) соответственно.

Установлено, что автомобильные бензины марок АИ-95-К5 и АИ-98-К5, приготовленные с вовлечением нового ВОК, соответствуют требованиям нормативных документов и обладают улучшенными эксплуатационными свойствами: высокий КРДС по фракциям и высокая энергоэффективность за счет увеличения удельной теплоты сгорания.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Сафина Т.А. Анализ предпочтений потребителей на рынке автомобильного бензина // Статистика и экономика. 2014. N 4. С. 174–178. <https://doi.org/10.21686/2500-3925-2014-4-174-178>.
2. Чиркова Ю.Н., Архипов И.В. Современные требования к автомобильному бензину // Аллея науки. 2018. N 5. С. 401–407.
3. Царев А.В., Карпов С.А. Повышение экологических и эксплуатационных характеристик автомобильных бензинов введением оксигенатов // Химическая технология. 2007. N 7. С. 324–329.
4. Ганина А.А. Современные автомобильные бензины с присадками на основе отечественного сырья // Мир нефтепродуктов. Вестник нефтяных компаний. 2017. N 10. С. 42–48.
5. Ганина А.А., Дьячкова С.Г., Деркач Д.С. Современные автомобильные бензины с присадками на основе отечественного сырья // Актуальные проблемы развития нефтегазового комплекса России: XII Всероссийская научно-техническая конференция (г. Москва, 12-14 февраля 2018 г.). М.: РГУНГ, 2018. С. 220–224.
6. Дубровский Д.А., Семёнов И.А., Кузора И.Е., Старикова О.В., Артемьева Ж.Н., Дьячкова С.Г. [и др.]. Расширение ассортимента присадок к базовым топливам в АО «АНХК». Проблемы и перспективы // Мир нефтепродуктов. Вестник нефтяных компаний. 2018. N 12. С. 4–13.
7. McCormick R.L., Ratcliff M.A., Christensen E.D., Fouts L., Luecke J., Chupka G.M., et al. Properties of oxygenates found in upgraded biomass pyrolysis oil as components of spark and compression ignition engine fuels // Energy & Fuels. 2015. Vol. 29, no. 4. P. 2453–2461. <https://doi.org/10.1021/ef502893g>.
8. Abdellatief T.M.M., Ershov M.A., Kapustin V.M., Chernysheva E.A., Savelenko V.D., Abdelkareem M.A., et al. Uniqueness technique for introducing high octane environmental gasoline using renewable oxygenates and its formulation on fuzzy modeling // Science of the Total Environment. 2022. Vol. 802. P. 149863. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149863>.
9. Ershov M.A., Savelenko V.D., Makhova U.A., Kapustin V.M., Abdellatief T.M.M., Potanin D.A., et al. New insights on introducing modern multifunctional additives into motor gasoline // Science of the Total Environment. 2022. Vol. 808. P. 152034. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152034>.
10. Емельянов В.Е., Крылов И.Ф. Все о топливе. Автомобильный бензин и другие виды топлива: свойства, ассортимент, применение. М.: Астрель, 2003. 79 с.
11. Costa D.R. Gasoline octane number determination // Combustion. 1968. Vol. 39, no. 9. P. 18.

12. Abdellatief T.M.M., Ershov M.A., Kapustin V.M., Ali Abdelkareem M., Olabi A.G., Kamil M. Recent trends for introducing promising fuel components to enhance the anti-knock quality of gasoline: a systematic review // *Fuel*. 2021. Vol. 291. P. 120112.

13. Хамидуллин Р.Ф., Харлампиди Х.Э., Никулин Р.М., Пучкова Т.А., Бадрутдинова А.Р., Галиуллина М.М. [и др.]. Технологичность, экологичность и экономичность оксигенатных добавок к моторному топливу // *Neftegaz*. 2015.

14. Микишев В.А., Трухина А.А., Андриянов М.В., Глазкова М.С. Промышленный опыт работы установок синтеза МТБЭ в АО «АНХК» // *Мир нефтепродуктов. Вестник нефтяных компаний*. 2015. N 9. С. 29–31.

15. Пат. N 1838383, СССР, C10L 1/185, C10L 1/18. Композиция углеводородного топлива / О.А. Бурмистров, С.Р. Лебедев, Л.Н. Кузнецова, Г.П. Хотулев, Е.А. Платковский, В.П. Белянский, Г.А. Лесовой, В.В. Бевз, Р.Ш. Саримов; заявитель и патентообладатель Государственный научно-исследовательский институт по химмотологии. Заявл. 17.01.1992; опубл. 30.08.1993. Бюл. N 32.

16. Пат. N 2620083, Российская Федерация, C10L 1/185, C10L 1/182, C10L 10/10, C10L 1/00. Способ получения антидетонационной добавки к автомобильным бензинам и топливная композиция, содержащая добавку, полученную разработанным способом / М.А. Ершов, Д.А. Потанин, В.М. Капустин, Е.В. Александрова, Р.В. Хакимов; заявитель и патентообладатель АО «Всероссийский научно-исследовательский институт по переработке нефти». Заявл. 29.06.2016; опубл. 23.05.2017. Бюл. N 15.

17. Пат. N 2616606, Российская Федерация, C10L 1/06, C10L 1/18, C10L 1/182, C10L 1/185, C10L 1/16. Высокооктановый автомобильный бензин и антидетонационная добавка для его получения / М.А. Ершов, Г.Н. Романова, Е.В. Александрова, Д.А. Потанин; заявитель и патентообладатель АО «Всероссийский научно-исследовательский институт по переработке нефти». Заявл. 14.04.2016; опубл. 18.04.2017. Бюл. N 11.

18. Георгиева Э.Ю., Сундунов А.В. Изучение возможности применения спиртов в качестве высокооктанового компонента бензина каталитического кре-

кинга // *Аллея Науки*. 2018. N 6. С. 220–224.

19. Nikulin R.M., Kharlampidi Kh.E., Khamidullin R.F., Sitalo A.V., Sharaf F.A. Synergistic blend based on glycol ethers as antiknock additives to motor // *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 2017. Vol. 52, no. 6. P. 762–772.

20. Стряхилева М.Н., Крымова Г.Н., Чаплиц Д.Н., Павлова И.П., Баунов А.М. Производство метил-трет-алкиловых эфиров – высокооктановых компонентов бензинов. М.: ЦНИИТЭНефтехим, 1988. 72 с.

21. Пат. N 2473670, Российская Федерация, C10L 1/182, C10L 1/185, C10L 1/19, C10L 1/223. Комплексная добавка к автомобильным бензинам / С.А. Галактионов, К.П. Черняев, С.А. Еровиченков, В.В. Чубриков, С.И. Киреев, А.Н. Пономарев, И.А. Строков; заявитель и патентообладатель С.А. Галактионов, К.П. Черняев, С.А. Еровиченков, В.В. Чубриков, С.И. Киреев, А.Н. Пономарев, И.А. Строков. Заявл. 28.10.2011; опубл. 27.01.2013. Бюл. N 3.

22. Пат. N 2603644, Российская Федерация, C10L 1/18, C10L 1/182, C10L 10/10. Октаноповышающая добавка к автомобильным бензинам и топливная композиция, ее содержащая / М.А. Ершов, Е.В. Григорьева, В.Е. Емельянов, М.А. Брыксина, Л.А. Смирнова; заявитель и патентообладатель АО «Всероссийский научно-исследовательский институт по переработке нефти». Заявл. 21.10.2015; опубл. 27.11.2016. Бюл. N 33.

23. Ecklund E.E., Parker A.J., Timbario T.J., Mecallum P.W. Use of alcohol-based fuels // *Energy Converse*. 1978. Vol. 1. P. 226–232.

24. Дмитриченко О.И., Березин В.А., Бородин Е.В., Перин В.Н. Алкилат – идеальный компонент современных автомобильных бензинов // *Нефтепереработка и нефтехимия. Научно-технические достижения и передовой опыт*. 2010. N 7. С. 18–19.

25. Ахмадова Х.Х., Магомадова М.Х., Ахмадова А.Р. Алкилат – основной компонент высокооктановых бензинов // *Вестник ГГНТУ. Технические науки*. 2019. T. 15. N 4. С. 49–59. <https://doi.org/10.34708/GSTOU.2019.18.4.006>.

26. Ершов М.А., Емельянов Е.В., Климова Т.А. Биобутанол в сравнении с другими оксигенатами // *Мир нефтепродуктов. Вестник нефтяных компаний*. 2012. N 2. С. 3–6.

REFERENCES

1. Safina T.A. Analysis of consumer preferences on the market automobile gasoline. *Statistika i ekonomika = Statistics and Economics*. 2014;(4):174-178. (In Russian). <https://doi.org/10.21686/2500-3925-2014-4-174-178>.

2. Chirkova Yu.N., Arkhipov I.V. Modern requirements for motor gasoline. *Alleya nauki*. 2018;(5):401-407. (In Russian).

3. Tsarev A.V., Karpov S.A. Improving the environmental and performance characteristics of motor gasoline by the introduction of oxygenates. *Khimicheskaya tekhnologiya = Chemical Technology*. 2007;(7):324-329. (In Russian).

4. Ganina A.A. Modern motor gasolines with additives based on domestic raw materials. *Mir nefteproduktov. Vestnik neftyanykh kompanii = World of Petroleum Products*. 2017;(10):42-48. (In Russian).

5. Ganina A.A., D'yachkova S.G., Derkach D.S. Modern motor gasolines with additives based on domestic raw materials. In: *Aktual'nye problemy razvitiya neftegazovogo kompleksa Rossii: XII Vserossiiskaya nauchno-tekhnicheskaya konferentsiya = Actual problems of development of the oil and gas complex of Russia: XII All-Russian Scientific and Technical Conference*. 12–14 February, 2018, Moscow. Moscow; 2018, p. 220-224. (In Russian).

6. Dubrovskiy D.A., Semenov I.A., Kuzora I.E., Starikova O.V., Artem'eva Z.N., Dyachkova S.G. Expansion of the range of additives for the base fuel of angarsk petrochemical company. Problems and prospects. *Mir nefteproduktov. Vestnik neftyanykh kompanii = World of Petroleum Products*. 2018;(12):4-13. (In Russian).

7. McCormick R.L., Ratcliff M.A., Christensen E.D., Fouts L., Luecke J., Chupka G.M., et al. Properties of oxygenates found in upgraded biomass pyrolysis oil as

components of spark and compression ignition engine fuels. *Energy & Fuels*. 2015;29(4):2453-2461. <https://doi.org/10.1021/ef502893g>.

8. Abdellatif T.M.M., Ershov M.A., Kapustin V.M., Chernysheva E.A., Savelenko V.D., Abdelkareem M.A., et al. Uniqueness technique for introducing high octane environmental gasoline using renewable oxygenates and its formulation on fuzzy modeling. *Science of the Total Environment*. 2022;802:149863. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149863>.

9. Ershov M.A., Savelenko V.D., Makhova U.A., Kapustin V.M., Abdellatif T.M.M., Potanin D.A., et al. New insights on introducing modern multifunctional additives into motor gasoline. *Science of the Total Environment*. 2022;808:152034. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152034>.

10. Emel'yanov V.E., Krylov I.F. *All about fuel. Automobile gasoline and other types of fuel: properties, range, application*. Moscow: Astrel'; 2003, 79 p. (In Russian).

11. Costa D.R. Gasoline octane number determination. *Combustion*. 1968;39(9):18.

12. Abdellatif T.M.M., Ershov M.A., Kapustin V.M., Ali Abdelkareem M., Olabi A.G., Kamil M. Recent trends for introducing promising fuel components to enhance the anti-knock quality of gasoline: a systematic review. *Fuel*. 2021;291:120112.

13. Khamidullin R.F., Kharlampidi Kh.E., Nikulin R.M., Puchkova T.L., Badrutdinova A.R., Galiullina M.M. Manufacturability, environmental friendliness and efficiency of oxygenate additives to motor fuel. *Neftgaz*. 2015. (In Russian).

14. Mikishev V.A., Trukhina A.A., Andriyanov M.V., Glazkova M.S. The industrial experience the unit of synthesis mtbe in the JSC "Angarsk petrochemical company". *Mir nefteproduktov. Vestnik neftyanykh kompanii = World of Petroleum Products*. 2015;(9):29-31. (In Russian).

15. Burmistrov O.A., Lebedev S.R., Kuznetsova L.N., Khotulev G.P., Platkovskii E.A., Belyanskii V.P., Lesovoi G.A., Bezv V.V., Sarimov R.Sh. *Composition of hydrocarbon fuel*. Patent RF, no. 1838383; 1993. (In Russian).

16. Ershov M.A., Potanin D.A., Kapustin V.M., Aleksandrova E.V., Khakimov R.V. *A method for producing an anti-knock additive for motor gasoline and a fuel*

composition containing an additive obtained by the developed method. Patent RF, no. 2620083; 2017. (In Russian).

17. Ershov M.A., Romanova G.N., Aleksandrova E.V., Potanin D.A. *High-octane motor gasoline and anti-knock additive for production thereof*. Patent RF, no. 2616606; 2017. (In Russian).

18. Georgieva E.Yu., Sundurov A.V. Study of the possibility of using alcohols as a high-octane component of catalytic cracking gasoline. *Alleya Nauki*. 2018;(6):220-224. (In Russian).

19. Nikulin R.M., Kharlampidi Kh.E., Khamidullin R.F., Sitalo A.V., Sharaf F.A. Synergistic blend based on glycol ethers as antiknock additives to motor. *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 2017;52(6):762-772.

20. Stryakhileva M.N., Krymova G.N., Chaplits D.N., Pavlova I.P., Baunov A.M. *Production of methyl tert-alkyl ethers – high-octane components of gasoline*. Moscow: TsNIITENeftekhim; 1988. 72 p. (In Russian).

21. Galaktionov S.A., Chernyaev K.P., Erovinchenkov S.A., Chubrikov V.V., Kireev S.I., Ponomarev A.N., Stokov I.A. *Complex gasoline additive*. Patent RF, no. 2473670; 2013. (In Russian).

22. Ershov M.A., Grigor'eva E.V., Emel'yanov V.E., Bryksina M.A., Smirnova L.A. *Octane booster additive to motor gasolines and containing it fuel composition*. Patent RF, no. 2603644; 2016. (In Russian).

23. Ecklund E.E., Parker A.J., Timbario T.J., Mecalum P.W. Use of alcohol-based fuels. *Energy Converse*. 1978;1:226-232.

24. Dmitrichenko O.I., Berezin V.A., Borodin E.V., Perin V.N. Alkylate is an ideal component of modern motor gasolines. *Neftepererabotka i neftekhimiya. Nauchno-tekhnicheskie dostizheniya i peredovoi opyt*. 2010;(7):18-19. (In Russian).

25. Ahmadova Kh.Kh., Magomadova M.H., Akhmadova A.R. Alkylate – main component high octane gasoline. *Vestnik GGNTU. Tekhnicheskie nauki = Herald of GSTOU. Engineering Sciences*. 2019;15(4):49-59. (In Russian). <https://doi.org/10.34708/GSTOU.2019.18.4.006>.

26. Ershov M.A., Emel'yanov V.E., Klimova T.A. Comparison biobutanol to other oxygenates. *Mir nefteproduktov. Vestnik neftyanykh kompanii = World of Petroleum Products*. 2012;(2):3-6. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ковалева Екатерина Борисовна,
аспирант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
✉KOvalevaEB@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7996-9812>

Дьячкова Светлана Георгиевна,
д.х.н., заведующая кафедрой химической технологии,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
dyachkova@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-6091-3077>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina B. Kovaleva,
Postgraduate Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., 664074, Irkutsk,
Russian Federation,
✉KOvalevaEB@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7996-9812>

Svetlana G. D'yachkova,
Dr. Sci. (Chemistry), Head of the Department
of Chemical Technology,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., 664074, Irkutsk,
Russian Federation,
dyachkova@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-6091-3077>

Ганина Анна Александровна,
к.т.н., главный специалист по нефтехимии,
АО «Ангарская нефтехимическая компания»,
665830, г. Ангарск, ул. Промзона АНХК,
объект 1445,
GaninaAA@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9140-9431>

Артемяева Жанна Николаевна,
к.т.н., начальник Испытательного центра –
управления контроля качества,
АО «Ангарская нефтехимическая компания»,
665830, г. Ангарск, ул. Промзона АНХК,
объект 1445,
ArtemevaZN@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3371-5785>

Кузора Игорь Евгеньевич,
к.т.н., заместитель начальника ИЦ-УКК
по новым технологиям,
АО «Ангарская нефтехимическая компания»,
665830, г. Ангарск, ул. Промзона АНХК,
объект 1445,
KuzoralE@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7039-2017>

Гершпигель Татьяна Николаевна,
начальник отдела технологического контроля,
АО «Ангарская нефтехимическая компания»,
665830, г. Ангарск, ул. Промзона АНХК,
объект 1445,
GershpiGelTN@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4387-9054>

Олейник Даниил Александрович,
инженер-лаборант,
АО «Ангарская нефтехимическая компания»,
665830, г. Ангарск, ул. Промзона АНХК,
объект 1445,
DA_Oleynik@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8124-0652>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 13.03.2022.
Одобрена после рецензирования 27.10.2022.
Принята к публикации 28.02.2023.

Anna A. Ganina,
Cand. Sci. (Engineering), Chief Specialist in Petrochemistry,
SC "Angarsk petrochemical company",
1445 object, Industrial zone APCC St.,
665830, Angarsk, Russian Federation,
GaninaAA@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9140-9431>

Zhanna N. Artemyeva,
Cand. Sci. (Engineering), Head of the Testing Center –
Quality Control Department,
SC "Angarsk petrochemical company",
1445 object, Industrial zone APCC St.,
665830, Angarsk, Russian Federation,
ArtemevaZN@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3371-5785>

Igor E. Kuzora,
Cand. Sci. (Engineering), Deputy Chief
of the TC-QCD on New Technologies,
SC "Angarsk petrochemical company",
1445 object, Industrial zone APCC St.,
665830, Angarsk, Russian Federation,
KuzoralE@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7039-2017>

Tatiana N. Gerspiegel,
Head of Technological Control Department,
SC "Angarsk petrochemical company",
1445 object, Industrial zone APCC St.,
665830, Angarsk, Russian Federation,
GershpiGelTN@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4387-9054>

Daniil A. Oleinik,
Laboratory Engineer,
SC "Angarsk petrochemical company",
1445 object, Industrial zone APCC St.,
665830, Angarsk, Russian Federation,
DA_Oleynik@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8124-0652>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 13.03.2022.
Approved after reviewing 27.10.2022.
Accepted for publication 28.02.2023.

Научная статья

УДК 544.723.21

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-142-151>



Кинетические кривые сорбции нефтепродуктов прокаленным сорбентом из золошлаковых отходов теплоэнергетики

Т.Г. Короткова✉, С.А. Бушумов

Кубанский государственный технологический университет,
г. Краснодар, Российская Федерация

Аннотация. Выполнены экспериментальные исследования динамической сорбции модельных смесей, содержащих нефтепродукты. В качестве сорбента исследованы высушенные и прокаленные золошлаковые отходы, накопленные методом гидрозолоудаления на золоотвале Новочеркасской ГРЭС (г. Новочеркасск, Ростовская область, Россия). Навеска прокаленного сорбента для каждого модельного раствора являлась фиксированной и составляла 5,0 г. Модельные растворы пропускали через колонку, заполненную прокаленным сорбентом. На первом этапе проведены экспериментальные исследования по оптимизации расхода фильтрата в диапазоне от 0,05 до 2,5 дм³/мин с шагом 0,05 дм³/мин. Через колонку, содержащую 5 г прокаленного сорбента, пропускали модельные водные растворы с водородным показателем pH=7,5, содержащие по 100 мг/дм³ нефтепродуктов. Оптимальный расход фильтрата составил 0,1 дм³/мин при максимальной эффективности извлечения нефтепродуктов из раствора 84%. На втором этапе построены кинетические зависимости сорбционной емкости и концентрации нефтепродуктов в фильтрате. Для этого проведены экспериментальные исследования по насыщению сорбента нефтепродуктами путем пропускания порций модельного водного раствора, содержащего 10000 мг/дм³ по 0,05 дм³, через колонку, заполненную прокаленным сорбентом в количестве 5 г, с отбором фильтрата 0,1 дм³/мин. Максимальное значение сорбционной емкости составило 560 мг/г при эффективности извлечения нефтепродуктов из раствора 85%. На основе анализа результатов экспериментальных исследований предложен подход к математическому описанию кинетики сорбции нефтепродуктов. Вычисление концентрации нефтепродуктов в фильтрате разбито на два этапа. На первом этапе повышение концентрации нефтепродуктов в фильтрате происходит при насыщении сорбента нефтепродуктами до максимального значения сорбционной емкости, на втором – при максимальном значении сорбционной емкости. Приведены уравнения кинетики для расчета сорбционной емкости и концентрации нефтепродуктов в фильтрате. Получено хорошее качественное согласование экспериментальных и расчетных данных.

Ключевые слова: золошлак, теплоэнергетика, нефтепродукты, сорбент, кинетика сорбции, математическое описание кинетики сорбции

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-20.1/57 (грант КНФ).

Для цитирования: Короткова Т.Г., Бушумов С.А. Кинетические кривые сорбции нефтепродуктов прокаленным сорбентом из золошлаковых отходов теплоэнергетики // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 142–151. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-142-151>.

CHEMICAL TECHNOLOGY

Original article

Kinetic curves of oil products sorption by calcined sorbent from ash and slag wastes of thermal power engineering

Tatyana G. Korotkova✉, Svyatoslav A. Bushumov

Kuban State Technological University, Krasnodar, Russian Federation

Abstract. Experimental research into dynamic sorption of model mixtures containing oil products was carried out. As a sorbent, dried and calcined ash and slag wastes accumulated by hydraulic ash removal at the ash disposal site of Novocherkassk State District Power Plant (Novocherkassk, Rostov Oblast, Russia) were investigated. The weighted portion of calcined sorbent for each model solution was fixed and amounted to 5.0 g. Model solutions were passed through a column filled with calcined sorbent. At the first stage, investigations were carried out to optimize the filtrate flow rate in the range from 0.05 to 2.5 dm³/min in increments of 0.05 dm³/min. Model aqueous solutions with pH=7.5 and containing 100 mg/dm³ of oil products were passed through the column containing 5 g of calcined sorbent. The optimum filtrate flow rate was 0.1 dm³/min at a maximum efficiency of oil products extraction from the solution of 84%. At the second stage, kinetic dependencies of sorption capacity and oil product concentration in the

© Короткова Т.Г., Бушумов С.А., 2023

filtrate were plotted. To this end, experimental investigations into sorbent saturation with oil products by means of passing portions of model aqueous solution containing $10,000 \text{ mg/dm}^3$ by 0.05 dm^3 through the column filled with calcined sorbent in a quantity of 5 g and a filtrate withdrawal rate of $0.1 \text{ dm}^3/\text{min}$ were performed. The maximum value of sorption capacity was found to comprise 560 mg/g under the efficiency of oil products extraction from the solution of 85%. Following an analysis of the obtained experimental results, an approach to the mathematical description of the kinetics of oil products sorption was proposed. According to this approach, the concentration of oil products in the filtrate is calculated in two stages. At the first stage, the increase in the concentration of oil products in the filtrate occurs when the sorbent is saturated with oil products up to the maximum value of its sorption capacity. At the second stage, this increase is observed at the maximum value of sorption capacity. Kinetic equations for calculating sorption capacity and the concentration of oil products in the filtrate are provided. A satisfactory qualitative agreement between the experimental and calculated data was obtained.

Keywords: ash and slag, heat power engineering, oil products, sorbent, sorption kinetics, mathematical description of sorption kinetics

Funding. The research was carried out with the financial support of the Kuban Science Foundation in the framework of the scientific project MFI-20.1/57.

For citation: Korotkova T.G., Bushumov S.A. Kinetic curves of oil products sorption by calcined sorbent from ash and slag wastes of thermal power engineering. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):142-151. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-142-151>.

ВВЕДЕНИЕ

В Российской Федерации золошлакоотвалы занимают огромные территории. На ТЭС, ТЭЦ и ГРЭС при использовании каменного угля образуются летучая зола (зола уноса) и твердые шлаковые отходы. Накопленные по схеме гидрозолоудаления золошлаковые отходы (ЗШО) приводят не только к отчуждению территории, но и оказывают негативное воздействие на окружающую среду и жилые районы, расположенные вблизи теплоэлектростанций [1, 2]. Проблемы и перспективы утилизации ЗШО ТЭЦ освещены в исследовании [2].

Применяемые в практике очистки сточных вод активированные угли относятся к дорогостоящим сорбентам. ЗШО являются дешевыми, негорючими и невзрывоопасными. Проведенные нами исследования показали, что полученные по схеме гидрозолоудаления ЗШО имеют 5 класс опасности [3], что согласуется с результатами, изложенными в работе [4]. Одним из направлений исследований утилизации ЗШО является изучение их сорбционных свойств по отношению к различным компонентам для очистки воды.

В работе [5] авторы применяли образцы золошлака, полученного на установке по сжиганию угля в Корею, в качестве сорбента для очистки воды от свинца. Образцы золошлака исследовали на фракционный состав, а также изучали количественный химический состав каждой фракции. Для 3-х фракций золошлака (первая – размер частиц менее 1,19 мм, вторая – размер частиц от 1,19 до 2,00 мм и третья – размер частиц от 2,00 до 4,75 мм) исследовали зависимость содержания свинца в образцах сорбента от времени контакта с водным раствором, содержащим свинец. В результате образец сорбента с более мелкой фракцией насыщался свинцом за период времени порядка 1500 мин, в то время как образец с более крупной фракцией имел максимум насыщения при времени контакта порядка 4500 мин. Содержание свинца в образцах сорбента имело максимальное значение около $0,05 \text{ мг/г}$. Для описания механизма адсорбции применили уравнение Елович. Изотермы равновесия

представлены в виде уравнений Ленгмюра, Фрейндлиха и Дубинина-Радускевича. Получено хорошее согласование экспериментальных и расчетных данных.

Индонезийские ученые также подтверждают наличие сорбционных свойств золы уноса от сжигания угля, образованной в городе Моджосонго провинции Центральная Ява, в качестве составной части сорбента для очистки вод от свинца [6]. Образцы сорбента получали путем смешения в разных пропорциях золы уноса и природных цеолитов. Исследовали сорбционные свойства образцов сорбента на растворах с содержанием свинца, которое варьировали от 2 до 12 ppm, путем перемешивания в течение различного времени при pH от 1 до 6 ед. Наиболее выражены сорбционные свойства (сорбционная емкость $0,5433 \text{ мг/г}$) у образца сорбента, в состав которого входит зола уноса и природных цеолитов в массовом соотношении 75:25. Оптимальное значение pH раствора для сорбции составило 5 ед., при этом сорбционная емкость образца достигла $0,567 \text{ мг/г}$. Наиболее оптимальным временем контакта является 60 мин, при этом сорбционная емкость составила $0,577 \text{ мг/г}$. На основе экспериментальных данных построены изотермы Ленгмюра и Фрейндлиха, значения коэффициентов аппроксимации – 0,9661 и 0,8873 соответственно. По теории Ленгмюра определили значение предельной насыщаемости сорбента, равное $0,983 \text{ мг/г}$.

В исследовании [7] авторы применяли летучую золу (золу уноса) с известным химическим составом в качестве сорбента для очистки воды от ионов никеля. Фракционный анализ показал, что 91,12% частиц сорбента имеют размер менее 75 мкм. Для исследований использовали модельный раствор исходного состава ионов никеля с массовой концентрацией 500 мг/дм^3 в бидистиллированной воде. Анализ на содержание ионов никеля осуществляли методом атомно-абсорбционного анализа с пламенной атомизацией. Одна серия экспериментов проведена в условиях перемешивания при 150 об/мин с применением раствора ионов никеля с массовой концентрацией 20 мг/дм^3 при постоянном количестве (дозе)

сорбента из расчета 10 г на 100 см³ раствора. Степень извлечения ионов никеля при времени контакта свыше 175 мин достигала порядка 40%. Экспериментальные данные представлены с использованием кинетики моделей псевдопервого и псевдovторого порядка и модели внутричастичной диффузии. Экспериментальные данные о процессе адсорбции согласуются с теоретическими. Обнаружено, что кинетическая модель псевдovторого порядка описывает процесс сорбции с высоким коэффициентом корреляции ($R_2 = 0,998$) лучше, чем другие кинетические модели. Сорбционная емкость ионов Ni^{2+} при равновесии составила 0,0714 мг/г.

Китайские ученые исследовали летучую золу электростанции в городе Нанкин для очистки сточных вод от ионов меди [8]. Образцы сорбента готовили путем смешения в различных пропорциях золы уноса, стального шлака, активированного белого клея (алюмосиликатный клей) и связующего агента (кремне-содержащий отвердитель 525R), получили 4 группы образцов сорбента с различным составом. Изучили сорбционные свойства каждой группы образцов по результатам взаимодействия сорбента с модельным раствором, содержащим ионы меди в концентрации 100 мг/дм³. Наиболее эффективным (степень извлечения ионов меди составила 81,52%) оказался образец, содержащий золу уноса, стальной шлак, активированный белый клей и связующий агент в массовом соотношении 6:1:2:1. Установили оптимальное значение дозы сорбента массой, равной 5 г на 150 см³ очищаемой воды. Исследовали кинетику сорбции при температурах раствора 15, 25 и 35 °С, для описания которой применили уравнения Ленгмюра и Фрейндлиха. Для обеих моделей значение коэффициента аппроксимации превышало 0,95, что говорит о согласованности практических данных с теорией. На основе экспериментальных исследований определили термодинамические параметры сорбции.

Сорбционные свойства летучей золы, полученной на электростанции, расположенной в городе Мехильонес (Чили), подтверждены чилийскими и канадскими исследователями [9]. Степень извлечения ионов меди составила 66%. Построена изотерма Фрейндлиха, характеризующаяся линейной зависимостью со значением коэффициента аппроксимации, равным 0,93734, что свидетельствует о согласовании теории и экспериментальных данных.

Исследователи [10] применяли золошлак (лигнит от сжигания бурого угля) и летучую золу в качестве сорбента для очистки воды от фосфатов. Сорбцию проводили на модельных растворах, содержащих фосфаты, путем взаимодействия в течение 24 ч образцов, порцию которых рассчитывали из соотношения масс твердого образца и жидкости 1:10. Степень извлечения фосфатов варьировалась от 0,1 до 7% и от 17 до 27% для образцов золы уноса и лигнита соответственно. По влиянию pH раствора сделан вывод о наличии взаимосвязи между pH раствора и способностью образца удерживать фосфаты. Оптимальным в процессе сорбции определено значение pH около 2.

Индийские ученые [11] через фильтр с золой уноса пропускали образец сточной воды со значением биохимического потребления кислорода (БПК)

178 мг/дм³ и химического потребления кислорода (ХПК) 110 мг/дм³. После очистки значения содержания БПК и ХПК в фильтрате составили 96 и 40 мг/дм³ соответственно.

В работе [12] приведены исследования фильтрующей установки с тремя слоями фильтрационного материала. Толщина среднего слоя золы уноса составляла 10, 20, 30 и 40 мм, заключенного между слоями гальки (нижний слой) и песка (верхний слой) толщиной по 40 мм. Изучали зависимость степени очистки сточных вод от толщины слоя золы уноса в фильтрующей установке. Пропускали сточную воду с массовой концентрацией взвешенных веществ 3500 мг/дм³, сухого остатка 2000 мг/дм³, ХПК 300 мг/дм³, растворенного кислорода 2,75 мг/дм³ и значением pH, равным 7,58. Наиболее эффективным оказался слой с толщиной золы уноса, равной 10 мм. Значения массовых концентраций исследуемых показателей в фильтрате после очистки сточной воды составили: взвешенные вещества – 80, сухой остаток – 700 мг/дм³, ХПК – 80 мг/дм³, растворенный кислород – 12 мг/дм³ и 5,6 ед. pH водородного показателя.

Золошлак и летучую золу от сжигания угля, собранные в промышленной зоне Тан Тао г. Хошимин (Вьетнам), применили в качестве сорбента для извлечения метиленового синего из водного раствора [13]. Образцы сорбента с размером частиц порядка 245 мкм высушивали при температуре 105 °С в течение 24 ч. Высушенные образцы модифицировали растворами силиката натрия и гидроксида натрия в различном массовом соотношении. Модельные растворы содержали метиленовый синий в концентрации 1000 мг/дм³. Растворы перемешивали с модифицированным сорбентом в течение различного времени и определяли степень извлечения метиленового синего. Авторам удалось достигнуть степени извлечения метиленового синего из раствора порядка 36% при времени контакта 180 мин.

Сорбцию летучей золой от сжигания угля, образованной на ТЭС в городе Бокаро (штат Джхаркханд, Индия), проводили на модельных растворах, содержащих красители кристаллический фиолетовый и розанилина гидрохлорид, путем взаимодействия образцов сорбента массой 1,0 г с 50 см³ раствора, содержащего от 10⁻⁵ до 10⁻⁴ моль/дм³ красителя, при перемешивании в конических колбах объемом 100 см³. Оптимальное значение pH раствора, содержащего розанилина гидрохлорид, экспериментально определено как 6,0 и 8,0 ед. pH для раствора, содержащего кристаллический фиолетовый. На следующем этапе изучали процесс сорбции в зависимости от температуры растворов в термостате с установленными постоянными значениями температуры 10, 25 и 40 °С. На основе экспериментальных данных построена зависимость равновесной концентрации красителей от времени контакта, описываемая законом Лагергрена [14].

В Казанском государственном энергетическом университете проведен лабораторный эксперимент, воспроизводящий работу аэротенка-смесителя и вторичного отстойника, в котором биологическая очистка совмещена с адсорбционной. В качестве адсорбента использовали высушенный карбонатный шлам ТЭС.

Результаты анализа очищенной воды показали снижение ХПК в среднем на 91%, БПК₅ – на 98%, аммонийного азота – на 94% при дозе шлама 0,6 мг/дм³ с размером фракции от 0,09 мм до 0,50 мм [15].

Очистка бытовых сточных вод при использовании в качестве сорбента летучей золы проведена в исследованиях [16, 17]. Результаты экспериментов показали значительное снижение значения БПК с 385 до 45–55 мг/л, ХПК с 680 до 110–150 мг/л, pH с 8,4 до 6,9 и общего содержания растворенных веществ с 715 до 250–300 мг/л после обработки сорбентом [17].

Таким образом, применение золошлака и летучей золы в качестве сорбента для очистки воды подтверждено многочисленными исследованиями ученых различных стран мира.

Нами не обнаружены публикации по исследованию ЗШО теплоэнергетики в качестве сорбента для очистки сточных вод от нефтепродуктов (НП). В связи с этим цель работы заключалась в проведении экспериментальных исследований по насыщению НП прокаленного сорбента из ЗШО теплоэнергетики, построении кинетических кривых сорбции НП и математическом описании кинетики сорбции НП.

Стандартные методы решения известных кинетических моделей адсорбции приведены в работах [18, 19].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объект исследования. Золошлак, накопленный по схеме гидрозолоудаления, отобранный с 3-й секции золоотвала Новочеркасской ГРЭС (г. Новочеркасск, Ростовская область). Навеску золошлака гомогенизировали и выдерживали в сушильном шкафу при температуре 110 °С в течение 30 мин. Высушенную навеску комкообразной формы прокаливали в муфельной печи при температуре 600 °С в течение 30 мин. Получали сыпучий материал, названный прокаленным сорбентом. Исследования физико-химических свойств прокаленного сорбента приведены нами в работе [20]: насыпная плотность – 0,666 г/см³, зольность – менее 5 млн⁻¹, суммарный объем пор – 0,506 см³/г, истираемость – 8,5%, влажность – менее 1%. На основе гранулометрического анализа определено, что фракция от 0,25 до 0,5 мм составляет 95,2% от массы прокаленного сорбента.

Оборудование. Для просушивания реактивов и образцов, подготовки лабораторной посуды использовали шкаф сушильный серии LOIP LF-60/350-GG1 (ЗАО «Лабораторное оборудование и приборы», Россия), поддерживающий температурный режим от 50 до 350 °С, аттестованный на рабочую температуру (105,0±1,0) °С. Прокаливание образцов проводили в электропечи лабораторной (муфельной печи) LM-312.11 (Veb Elektro Bad Frankenhauzen, Германия), поддерживающей температурный режим от 50 до 1200 °С. Оптимизацию скорости фильтрования осуществляли с помощью установки вакуумного фильтрования с регулируемой глубиной вакуума.

Концентрирование. Все эксперименты проводились в динамических условиях при комнатной температуре. Содержание НП в отобранных пробах определяли на концентратометре КН-3 (ООО «Производствен-

но-экологическое предприятие «СИБЭКОПРИБОР», Россия). Для этого в соответствии с ПНДФ 14.1:2:4.5-95 (издание 2011 г.) проводили экстракцию НП из водных растворов на экстракционной вращательной установке ES-8000 (ООО «Экохим», Россия).

Содержание НП в пробах X, мг/дм³, рассчитывали по выражению:

$$X = \frac{C_{\text{изм}} \cdot B \cdot K}{V}, \quad (1)$$

где $C_{\text{изм}}$ – измеренное количество НП в экстракте, мг/дм³; B – объем элюата, дм³ (равен 0,030 дм³); K – коэффициент разбавления элюата; V – объем пробы раствора, взятой на анализ, дм³.

Сорбционную емкость прокаленного сорбента A , мг/г, (величину избыточной гиббсовской адсорбции) по отношению к НП рассчитывали по уравнению:

$$A = \frac{(C_0 - C_k)V}{m}, \quad (2)$$

где C_0 – начальная концентрация НП в растворе, мг/дм³; C_k – концентрация НП в фильтрате после сорбции (конечная), мг/дм³; V – объем пропускаемого через колонку раствора, дм³; m – масса сорбента в колонке, г.

Скорость фильтрования, см³/(см²·мин), определяли как отношение расхода фильтрата, см³/мин, к площади поперечного сечения колонки, см², диаметром 1,25 см.

Продолжительность сорбции, мин, вычисляли путем отношения объема раствора, дм³, к расходу фильтрата, дм³/мин.

Эффективность извлечения НП E , %, определяли по выражению:

$$E = \frac{C_0 - C_k}{C_0} \cdot 100. \quad (3)$$

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для оптимизации скорости фильтрования очищаемой воды через прокаленный сорбент было приготовлено 5 модельных водных растворов с водородным показателем pH=7,5, содержащих по 100 мг/дм³ НП. Результаты определения оптимального значения pH при динамической сорбции прокаленного сорбента изложены нами в работе [21]. В вialу вместимостью 8 см³ с завинчивающейся крышкой вносили 2,70 см³ изookтана х.ч., 2,40 см³ гексадекана х.ч. и 1,40 см³ бензола х.ч., закрывали вialу крышкой и перемешивали смесь путем встряхивания. Таким образом получили смесь НП, содержащую изookтан, гексадекан и бензол в массовом соотношении 3:3:2. Навеску полученной смеси массой 0,1000 г (100,0 мг) переносили в мерную колбу вместимостью 1,0 дм³ с дистиллированной водой объемом около 0,9 дм³ и доводили значение pH раствора до 7,5 ед. путем внесения раствора 0,01 моль/дм³ гидроксида натрия. Смесь диспергировали путем интенсивного встряхивания в течение 15 мин, доводили объем раствора до метки на колбе дистиллированной водой и тщательно перемешивали. Полученный раствор содержал НП в концентрации 100 мг/дм³.

Таблица 1. Оптимизация расхода фильтрата

Table 1. Filtrate flow optimization

Экспериментальные данные		Расчетные данные			
Расход фильтрата, дм ³ /мин	Концентрация нефтепродуктов в фильтрате, мг/дм ³	Продолжительность фильтрования, мин	Скорость фильтрования, см ³ /(см ² ·мин)	Динамическая емкость, мг/г	Эффективность извлечения, %
0,05	16	20,00	40,76	16,8	84,04
0,10	16	10,00	81,53	16,8	84,04
0,15	16	6,67	122,29	16,8	84,04
0,20	17	5,00	163,06	16,6	83,04
0,25	22	4,00	203,82	15,6	78,06

Примечание. Объем исходного раствора – 1 дм³; концентрация нефтепродуктов в исходном растворе – 100 мг/дм³; удельный поровый объем прокаленного сорбента – 0,506 см³/г; масса прокаленного сорбента – 5 г.

Состав модельного раствора НП соответствует требованиям п. Б 1 Приложения Б ПНД Ф 14.1:2.4.5-95. Такой же состав по соотношению веществ имеет ГСО 7248-96, применяемый для градуировки концентратометра при определении концентрации НП.

Приготовленные растворы были отфильтрованы через стеклянную хроматографическую колонку с закрепленным в ней слоем прокаленного сорбента массой 5,0 г на вакуумной установке с регулируемой глубиной вакуума при поддержании постоянного расхода фильтрата. Расход фильтрата исследовали в диапазоне от 0,05 до 2,5 дм³/мин с шагом 0,05 дм³/мин. Экспериментальные данные оптимизации расхода фильтрата приведены в табл. 1.

Кривая зависимости концентрации НП в фильтрате от расхода фильтрата приведена на рис. 1. Оптимальный расход фильтрата составил от 0,15 до 0,20 дм³/мин, свыше 0,20 дм³/мин концентрация НП в фильтрате резко возросла.

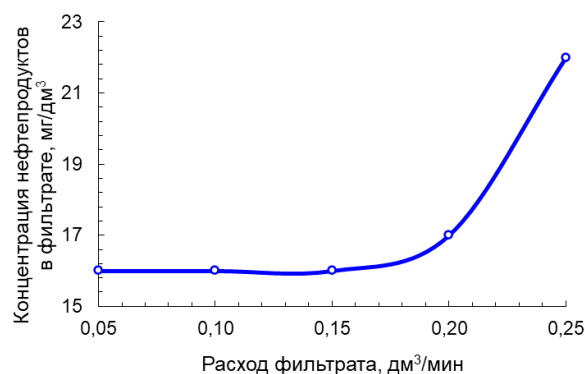


Рис. 1. Зависимость концентрации нефтепродуктов в фильтрате от расхода фильтрата

Fig. 1. Relationship between the oil products concentration in the filtrate on the flow rate of the filtrate

Зависимость динамической емкости от продолжительности фильтрования приведена на рис. 2. Насыщение сорбента НП достигается при 6–7 мин фильтрования, при этом динамическая емкость составляет 16,8 мг/г.

На рис. 3 приведены кривые зависимости концентрации НП в фильтрате и эффективности извлечения НП от продолжительности фильтрования. Насыщение сорбента НП достигается при 6–7 мин фильтрования, максимальная эффективность извлечения НП составляет 84%.

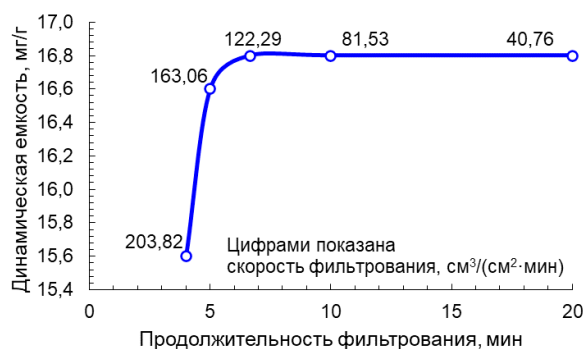


Рис. 2. Зависимость динамической емкости от продолжительности фильтрования

Fig. 2. Relationship between the dynamic capacity and the duration of filtration

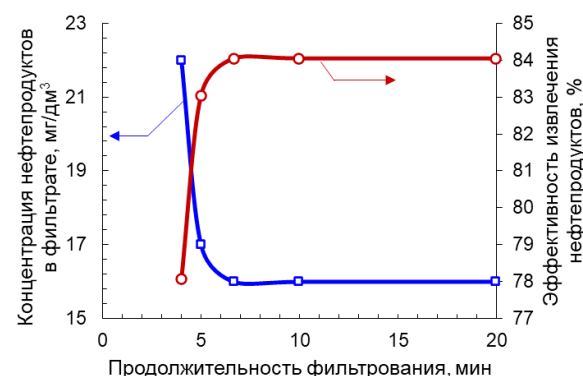


Рис. 3. Зависимость концентрации нефтепродуктов в фильтрате и эффективности извлечения нефтепродуктов от продолжительности фильтрования

Fig. 3. Relationship between the oil products concentration in the filtrate, the extraction efficiency and the duration of filtration

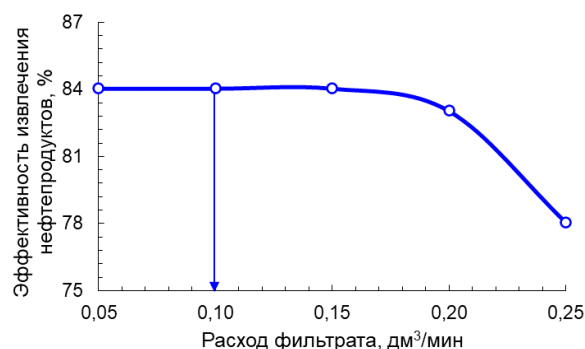


Рис. 4. Зависимость эффективности извлечения нефтепродуктов от расхода фильтрата
Fig. 4. Relationship between the extraction efficiency of oil products and filtrate consumption

Анализ изменения эффективности извлечения от расхода фильтрата (рис. 4) и результатов исследований, приведенных на рис. 1–3, показал, что для насыщения прокаленного сорбента НП оптимальным является расход фильтрата $0,1 \text{ дм}^3/\text{мин}$.

Для построения кинетических зависимостей изменения сорбционной емкости и концентрации НП в фильтрате от продолжительности сорбции НП сорбентом приготовили серию модельных растворов. Навеску смеси изооктана, гексадекана и бензола с массовым соотношением 3:3:2 массой $0,5000 \text{ г}$ ($500,0 \text{ мг}$) переносили в мерную колбу вместимостью 50 см^3 с дистиллированной водой объемом около 40 см^3 и доводили значение pH раствора до 7,5 ед. путем внесения раствора $0,01 \text{ моль}/\text{дм}^3$ гидроксида натрия. Смесь диспергировали путем интенсивного встряхивания в течение 15 мин, довели объем раствора до метки на колбе дистиллированной водой и тщательно перемешивали. Полученный раствор содержал НП в концентрации $10000 \text{ мг}/\text{дм}^3$. Модельные растворы объемом по 50 см^3 ($0,050 \text{ дм}^3$) последовательно пропускали через колонку, заполненную прокаленным сорбентом в количестве $5,0 \text{ г}$, с расходом фильтрата $0,1 \text{ дм}^3/\text{мин}$. Полученный фильтрат собирали в стеклянную кол-

бу с притертой крышкой вместимостью 100 см^3 . После окончания фильтрования каждой порции на концентратометре КН-3 (ООО «Производственно-экологическое предприятие «СИБЭКОПРИБОР», Россия) определяли концентрацию НП в полученном фильтрате. Результаты исследований приведены в табл. 2.

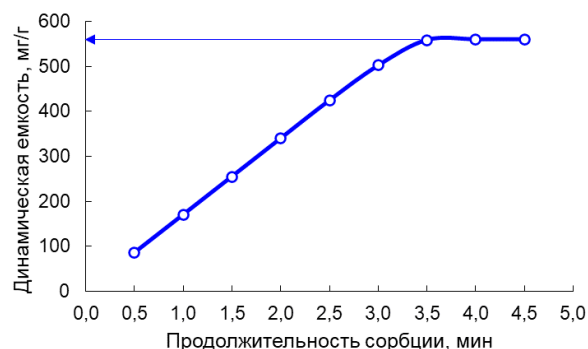


Рис. 5. Изменение динамической емкости от продолжительности сорбции
Fig. 5. Dynamic capacity versus the duration of sorption

На рис. 5 приведено изменение динамической емкости от продолжительности сорбции. При объеме исходного раствора от $0,5$ до $3,5 \text{ дм}^3$ наблюдается линейная зависимость вплоть до максимального значения сорбционной емкости прокаленного сорбента, равного $560 \text{ мг}/\text{г}$.

Изменение эффективности извлечения НП от динамической емкости приведено на рис. 6. При значении сорбционной емкости $560 \text{ мг}/\text{г}$ эффективность извлечения НП из раствора составляет 85%. При дальнейшем насыщении прокаленного сорбента НП эффективность извлечения по НП резко падает.

Рассмотрим математическое описание процесса сорбции НП.

Анализ экспериментальных данных (см. рис. 5, 6) показывает, что сорбционная емкость сорбента до-

Таблица 2. Изменение сорбционной емкости и концентрации нефтепродуктов в фильтрате от продолжительности сорбции нефтепродуктов сорбентом

Table 2. Changes in the sorption capacity and oil products concentration in the filtrate depending on the duration of oil products sorption

Объем исходного раствора, дм^3	Концентрация нефтепродуктов в фильтрате, $\text{мг}/\text{дм}^3$	Динамическая емкость, $\text{мг}/\text{г}$	Продолжительность сорбции, мин	Эффективность извлечения, %
0,05	1468	85,32	0,50	86,06
0,10	1500	170,00	1,00	85,38
0,15	1508	254,76	1,50	85,17
0,20	1509	339,64	2,00	85,10
0,25	1517	424,15	2,50	84,98
0,30	1635	501,90	3,00	83,79
0,35	2021	558,53	3,50	79,94
0,40	3001	559,92	4,00	70,18
0,45	3778	559,98	4,50	62,43

Примечание. Концентрация нефтепродуктов в исходном растворе – $10000 \text{ мг}/\text{дм}^3$; удельный поровый объем прокаленного сорбента – $0,506 \text{ см}^3/\text{г}$; масса прокаленного сорбента – 5 г ; расход фильтрата – $0,1 \text{ дм}^3/\text{мин}$.

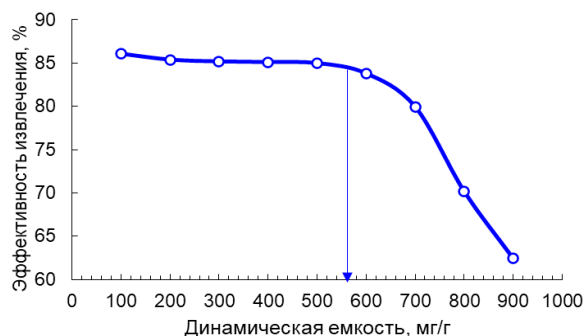


Рис. 6. Зависимость эффективности извлечения нефтепродуктов от динамической емкости сорбента

Fig. 6. Relationship between the oil products extraction efficiency and the dynamic capacity of the sorbent

стигает своего максимального значения в интервале от 3 до 3,5 мин, причем от 0,5 до 3 мин резко возрастает практически по линейному закону. Очевидно, что при дальнейшем проведении сорбции с исходной концентрацией НП в растворе 10000 мг/дм³ при постоянном расходе фильтрата 0,1 дм³/мин сорбционная емкость прокаленного сорбента будет оставаться постоянной, равной 560 мг/г, а концентрация НП в фильтрате начнет резко возрастать и стремиться к величине исходной концентрации, т.е. к 10000 мг/дм³.

Определим время сорбции τ^* , при котором сорбционная емкость становится равной максимальной $A_{max} = 560$ мг/г. Для этого найдем среднее значение концентрации НП в фильтрате в диапазоне от 1468 до 1635 мг/дм³ (табл. 2), которое составило $C_k^* = 1523$ мг/дм³. Уравнение (2) для расчета величины адсорбции запишем в виде

$$A_{max} = (C_0 - C_k^*) \frac{Q\tau^*}{m}, \quad (4)$$

где $V = Q\tau^*$ ($Q = 0,1$ дм³/мин – расход фильтрата, $m = 5$ г – масса сорбента).

Тогда время сорбции составляет $\tau^* = 3,303$ мин:

$$\tau^* = \frac{A_{max}m}{(C_0 - C_k^*)Q}. \quad (5)$$

Это означает, что после времени сорбции, равной 3,303 мин, концентрация НП в фильтрате будет определяться по выражению:

$$C_k = C_0 - \frac{A_{max}m}{Q\tau}. \quad (6)$$

Положение экспериментальных точек (см. рис. 5) соответствует изотерме Ленгмюра. Определение постоянных коэффициентов изотермы Ленгмюра путем линеаризации экспериментальных данных в координатах привело к значительной расходимости между экспериментальными и расчетными данными:

$$\frac{C_k}{A} = f(C_k). \quad (7)$$

В этой связи обработку экспериментальных данных проведем следующим образом. В качестве уравнения аппроксимации примем нелинейную зависимость, подобную изотерме Ленгмюра

$$A = \frac{aC_k}{1 + bC_k}, \quad (8)$$

где a и b – искомые коэффициенты.

Поиск коэффициентов a и b проведем по двум точкам: $A = 85,32$ мг/г, $C_k = 1468$ мг/дм³ (см. табл. 2) и $A = 560$ мг/г, $C_k = 1523$ мг/дм³. Два уравнения с двумя неизвестными решены аналитически, получены следующие значения искомых коэффициентов: $a = 0,0025$; $b = -0,0006521$.

Найдем зависимость концентрации НП в фильтрате от времени $C_k = f(\tau)$. Для этого решим совместно два уравнения

$$\begin{cases} A = \frac{aC_k}{1 + bC_k}; \\ A = (C_0 - C_k) \frac{Q\tau}{m} \end{cases} \quad (9)$$

Получим

$$dC_k^2 + fC_k - e = 0 \quad (10)$$

$$C_k = \frac{-f \mp \sqrt{f^2 - 4de}}{2d} \quad (11)$$

где

$$d = \frac{bQ}{m}\tau; \quad f = a + \frac{Q}{m}\tau - bC_0\frac{Q}{m}\tau; \quad e = -C_0\frac{Q}{m}\tau.$$

Полученное уравнение (11) имеет два корня. Если в числителе знак «минус», то полученные значения C_k значительно превышают C_0 (параметр d является отрицательной величиной), что противоречит физике процесса сорбции, и, следовательно, не подлежат учету. При знаке «плюс» в числителе получены адекватные значения C_k .

Уравнение (11) позволяет рассчитать концентрацию НП в фильтрате C_k от 0 до τ^* , а уравнение (6) – при дальнейшей продолжительности сорбции. Сорбционную емкость A прокаленного сорбента по НП можно вычислить по уравнению (9) для временного интервала сорбции от 0 до τ^* , при дальнейшей сорбции $A = A_{max}$. Уравнения (6), (9), (11) представляют собой математическое описание кинетики сорбции НП прокаленным сорбентом для режима постоянной скорости фильтрования.

Сопоставление экспериментальных данных и расчетных графических зависимостей изменения концентрации НП в фильтрате и сорбционной емкости от продолжительности сорбции приведено на рис. 7 и 8.

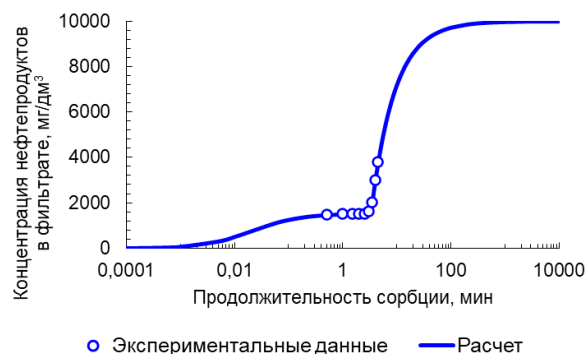


Рис. 7. Зависимость концентрации нефтепродуктов в фильтрате от продолжительности сорбции

Fig. 7. Relationship between the oil products concentration in the filtrate and the duration of sorption

Продолжительность сорбции отложена по оси абсцисс в логарифмической системе координат.

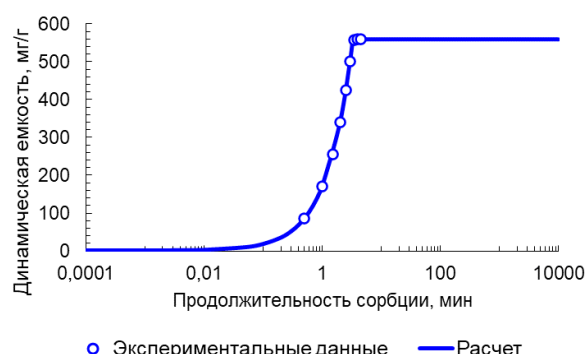


Рис. 8. Изменение динамической емкости от продолжительности сорбции

Fig. 8. Dynamic capacity versus the duration of sorption

Получено хорошее качественное согласование экспериментальных данных и расчетных зависимостей на основе предложенного подхода к математическому описанию кинетики сорбции НП прокаленным сорбентом.

ВЫВОДЫ

На основе анализа результатов экспериментальных исследований по насыщению сорбента НП при динамической сорбции предложен подход к математическому описанию кинетики сорбции НП. Вычисление концентрации НП в фильтрате разбито на два этапа. На первом этапе повышение концентрации НП в фильтрате происходит при насыщении сорбента НП до максимального значения сорбционной емкости, на втором – при максимальном значении сорбционной емкости. Приведены уравнения кинетики для расчета сорбционной емкости и концентрации НП в фильтрате. Получено хорошее качественное согласование экспериментальных и расчетных данных.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Черенцова А.А., Олесик С.М. Оценка золошлаковых отходов как источник загрязнения окружающей среды и как источник вторичного сырья // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2013. N S3. С. 230–243.
2. Подгорецкий Г.С., Горбунов В.Г., Агапов Е.А., Ерохов Т.В., Козлова О.Н. Проблемы и перспективы утилизации золошлаковых отходов ТЭЦ. Часть 1 // Известия высших учебных заведений. Черная металлургия. 2018. Т. 61. N 6. С. 439–446. <https://doi.org/10.17073/0368-0797-2018-6-439-446>.
3. Korotkova T.G., Bushumov S.A., Ksandopulo S.Yu., Istoshina N.Yu. Determination of the hazard class of ash-and-slag from a thermal power plant accumulated on ash dumps under the scheme hydraulic ash removal // International Journal of Mechanical Engineering and Technology. 2018. Vol. 9, no. 10. P. 715–723.
4. Черенцова А.А. Эколого-технологическая оценка состава и свойств золошлаковых отходов (на примере Хабаровской ТЭЦ-3) // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. 2014. Т. 19. N 5. С. 1733–1736.
5. Gorme J.B., Maniquiz M.C., Kim S.S., Son Y.G., Kim Y.-T., Kim L.-H. Characterization of bottom ash as an adsorbent of lead from aqueous solutions // Environmental Engineering Research. 2010. Vol. 15, no. 4. P. 207–213. <https://doi.org/10.4491/eer.2010.15.4.207>.
6. Pranoto, Martini T., Sunardi B.M.W., Anandita E.P. Optimization of the use of fly ash and natural zeolite activated as composite for an adsorbent of lead heavy metal (Pb) // Materials Science and Engineering. 2019. Vol. 578. P. 012022. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/578/1/012022>.
7. Agarwal A.K., Kadu M.S., Pandhurnekar C.P., Muthreja I.L. Kinetics study on the adsorption of Ni²⁺ ions onto fly ash // Journal of Chemical Technology and Metallurgy. 2015. Vol. 50, no. 5. P. 601–605.
8. Liu Y., Chen Q., Singh R.P. Low-cost RSAC and adsorption characteristics in the removal of copper ions from wastewater // Applied Sciences. 2022. Vol. 12, no. 11. P. 5612. <https://doi.org/10.3390/app12115612>.
9. Pizarro J., Castillo X., Jara S., Ortiz C., Navarro P., Cid H., et al. Adsorption of Cu²⁺ on coal fly ash modified with functionalized mesoporous silica // Fuel. 2015. Vol. 156. P. 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.04.030>.
10. Kirk D.W., Jia C.Q., Yan J., Torrenueva A.L. Wastewater remediation using coal ash // Journal of Material Cycles and Waste Management. 2003. Vol. 5, no. 1. P. 0005–0008. <https://doi.org/10.1007/s101630300001>.
11. Arun A., Varunnraj D., Sutharsan T., Bhoopesh T., Rajan M.S. Domestic wastewater treatment using fly ash // International Journal of Research in Engineering, Science and Management. 2021. Vol. 4, no. 5. P. 184–186.
12. Ganapathy C., Nivetha K., Kumar K.O., Pratheep T. Wastewater treatment using fly ash // International Research Journal of Engineering and Technology. 2018. Vol. 5, no. 2. P. 680–683.
13. Nguyen K.D., My Q.N.V., Kim A.P.T., Tran P.T., Kim D.H.T., Kim O.L.T. Coal fly ash-slag and slag-based geopolymer as an absorbent for the removal of methylene blue in wastewater // Science & Technology Development Journal. 2022. Vol. 25, no. 1. P. 2215–2223. <https://doi.org/10.32508/stdj.v25i1.3421>.
14. Mohan D., Singh K.P., Singh G., Kumar K. Removal of dyes from wastewater using flyash, a low-cost adsorbent // Industrial & Engineering Chemistry Research. 2002. Vol. 41, no. 15. P. 3688–3695. <https://doi.org/10.1021/ie010667+>.
15. Николаева Л.А., Лаптев А.Г., Исхакова Р.Я. Повышение эффективности биологической очистки сточных вод на предприятиях химической промышленности // Водные ресурсы. 2018. Т. 45. N 2. С. 196–202. <https://doi.org/10.7868/S0321059618020098>.
16. Singh P., Tripathi P., Chauhan S., Mishra A. Domestic waste water treatment using fly ash alone or in combined form // Journal of Electrical and Electronics Engineering. 2016. Vol. 11, no. 3. P. 34–39. <https://doi.org/10.9790/1676-1103033439>.
17. Saravanakumar P., Gopalakrishnan P., Sivaka-

midevi M., Archana E.S. Domestic wastewater treatment using flyash as adsorbent // *International Journal of Engineering and Advanced Technology*. 2019. Vol. 8, no. 5. P. 1465–1468.

18. Wang J., Guo X. Adsorption kinetic models: physical meanings, applications, and solving methods // *Journal of Hazardous Materials*. 2020. Vol. 390. P. 122156. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122156>.

19. Смирнов А.Д. Сорбционная очистка воды. Л.: Химия, 1982. 168 с.

20. Bushumov S.A., Korotkova T.G. Determination of physical and chemical properties of the modified

sorbent from ash-and-slag waste accumulated on ash dumps by hydraulic ash removal // *Rasayan Journal of Chemistry*. 2020. Vol. 13, no. 3. P. 1619–1626. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1335454>.

21. Korotkova T.G., Bushumov S.A., Ksandopulo S.Yu., Solonnikov N.V. Studying the efficiency of treatment model mixtures of petroleum products with the modified sorbent made of ash-and-slag during dynamic sorption // *Journal of Ecological Engineering*. 2019. Vol. 20, no. 11. P. 202–209. <https://doi.org/10.12911/22998993/113582>.

REFERENCES

1. Cherencova A.A., Olesik S.M. Evaluation of ash waste as a source of pollution and a source of secondary raw materials. *Gornyi informatsionno-analiticheskii byulleten' (nauchno-tekhnicheskii zhurnal) = Mining Information and Analytical Bulletin (Scientific and Technical Journal)*. 2013;(S3):230-243. (In Russian).

2. Podgorodetskiy G.S., Gorbunov V.B., Agapov E.A., Erokhov T.V., Kozlova O.N. Processing ash and slag wastes from thermal power stations. Part 1. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Chernaya metallurgiya = Izvestiya. Ferrous Metallurgy*. 2018;61(6):439-446. (In Russian). <https://doi.org/10.17073/0368-0797-2018-6-439-446>.

3. Korotkova T.G., Bushumov S.A., Ksandopulo S.Yu., Istoshina N.Yu. Determination of the hazard class of ash-and-slag from a thermal power plant accumulated on ash dumps under the scheme hydraulic ash removal. *International Journal of Mechanical Engineering and Technology*. 2018;9(10):715-723.

4. Cherentsova A.A. Ecological and technological evaluation of composition and properties of ash waste (for example, Khabarovsk heat and power). *Vestnik Tambovskogo universiteta. Seriya: Estestvennye i tekhnicheskie nauki*. 2014;19(5):1733-1736. (In Russian).

5. Gorme J.B., Maniquiz M.C., Kim S.S., Son Y.G., Kim Y.-T., Kim L.-H. Characterization of bottom ash as an adsorbent of lead from aqueous solutions. *Environmental Engineering Research*. 2010;15(4):207-213. <https://doi.org/10.4491/eer.2010.15.4.207>.

6. Pranoto, Martini T., Sunardi B.M.W., Anandita E.P. Optimization of the use of fly ash and natural zeolite activated as composite for an adsorbent of lead heavy metal (Pb). *Materials Science and Engineering*. 2019;578:012022. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/578/1/012022>.

7. Agarwal A.K., Kadu M.S., Pandhurnekar C.P., Muthreja I.L. Kinetics study on the adsorption of Ni²⁺ ions onto fly ash. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*. 2015;50(5):601-605.

8. Liu Y., Chen Q., Singh R.P. Low-cost RSAC and adsorption characteristics in the removal of copper ions from wastewater. *Applied Sciences*. 2022;12(11):5612. <https://doi.org/10.3390/app12115612>.

9. Pizarro J., Castillo X., Jara S., Ortiz C., Navarro P., Cid H., et al. Adsorption of Cu²⁺ on coal fly ash modified with functionalized mesoporous silica. *Fuel*. 2015;156:96-102. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.04.030>.

10. Kirk D.W., Jia C.Q., Yan J., Torrenueva A.L. Wastewater remediation using coal ash. *Journal of Material*

Cycles and Waste Management. 2003;5(1):0005-0008. <https://doi.org/10.1007/s101630300001>.

11. Arun A., Varunraj D., Sutharsan T., Bhoopesh T., Rajan M.S. Domestic wastewater treatment using fly ash. *International Journal of Research in Engineering, Science and Management*. 2021;4(5):184-186.

12. Ganapathy C., Nivetha K., Kumar K.O., Pratheep T. Wastewater treatment using fly ash. *International Research Journal of Engineering and Technology*. 2018;5(2):680-683.

13. Nguyen K.D., My Q.N.V., Kim A.P.T., Tran P.T., Kim D.H.T., Kim O.L.T. Coal fly ash-slag and slag-based geopolymer as an absorbent for the removal of methylene blue in wastewater. *Science & Technology Development Journal*. 2022;25(1):2215-2223. <https://doi.org/10.32508/stdj.v25i1.3421>.

14. Mohan D., Singh K.P., Singh G., Kumar K. Removal of dyes from wastewater using flyash, a low-cost adsorbent. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2002;41(15):3688-3695. <https://doi.org/10.1021/ie010667+>.

15. Nikolaeva L.A., Laptev A.G., Iskhakova R.Y. Improving the efficiency of wastewater biological treatment at chemical plants. *Vodnye resursy = Water Resources*. 2018;45(2):196-202. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0321059618020098>.

16. Singh P., Tripathi P., Chauhan S., Mishra A. Domestic waste water treatment using fly ash alone or in combined form. *Journal of Electrical and Electronics Engineering*. 2016;11(3):34-39. <https://doi.org/10.9790/1676-1103033439>.

17. Saravanakumar P., Gopalakrishnan P., Sivakamidevi M., Archana E.S. Domestic wastewater treatment using flyash as adsorbent. *International Journal of Engineering and Advanced Technology*. 2019;8(5):1465-1468.

18. Wang J., Guo X. Adsorption kinetic models: physical meanings, applications, and solving method. *Journal of Hazardous Materials*. 2020;390:122156. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122156>.

19. Smirnov A.D. Sorption water treatment. *Leninograd: Khimiya*; 1982. 168 p. (In Russian).

20. Bushumov S.A., Korotkova T.G. Determination of physical and chemical properties of the modified sorbent from ash-and-slag waste accumulated on ash dumps by hydraulic ash removal. *Rasayan Journal of Chemistry*. 2020;13(3):1619-1626. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1335454>.

21. Korotkova T.G., Bushumov S.A., Ksandopulo S.Yu.,

Solonnikova N.V. Studying the efficiency of treatment model mixtures of petroleum products with the modified sorbent made of ash-and-slag during dynamic sorption.

Journal of Ecological Engineering. 2019;20(11):202-209. <https://doi.org/10.12911/22998993/113582>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Короткова Татьяна Германовна,
д.т.н., доцент, профессор кафедры безопасности жизнедеятельности,
Кубанский государственный технологический университет,
350072, г. Краснодар, ул. Московская, 2,
Российская Федерация,
[✉korotkova1964@mail.ru](mailto:korotkova1964@mail.ru)
<https://orcid.org/0000-0001-9278-871X>

Бушумов Святослав Андреевич,
младший научный сотрудник,
Кубанский государственный технологический университет,
350072, г. Краснодар, ул. Московская, 2,
Российская Федерация,
bushumov@list.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7227-0614>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 22.12.2022.
Одобрена после рецензирования 15.02.2023.
Принята к публикации 28.02.2023.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Tatyana G. Korotkova,
Dr. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Kuban State Technological University,
2, Moskovskaya St., Krasnodar, 350072,
Russian Federation,
[✉korotkova1964@mail.ru](mailto:korotkova1964@mail.ru)
<https://orcid.org/0000-0001-9278-871X>

Svyatoslav A. Bushumov,
Junior Researcher,
Kuban State Technological University,
2, Moskovskaya St., Krasnodar, 350072,
Russian Federation,
bushumov@list.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7227-0614>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

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

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

Information about the article

The article was submitted 22.12.2022.
Approved after reviewing 15.02.2023.
Accepted for publication 28.02.2023.

Уважаемые читатели!

Приглашаем Вас к активному творческому сотрудничеству по научным направлениям:

- Химические науки
- Физико-химическая биология
- Химическая технология

Журнал «Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология» включен в перечень рецензируемых научных изданий (Перечень ВАК) и следующие базы данных: Russian Science Citation Index (RSCI), Web of Science (ESCI), Chemical Abstracts Service (CAS), EBSCO Publishing Databases, European Reference Index for the Humanities and the Social Sciences (ERIH PLUS), 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 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 13 N 1 (44) 2023

12+

PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
Applied chemistry and biotechnology
Volume 13 No. 1 (44) 2023

Редактор Л.М. Щепина
Перевод на английский язык: М.В. Стрелецкая, Н.Г. Попова,
Anastasia Stocis, Thomas Beavitt, Е.А. Привалова

Верстка В.В. Макаров

Дата выхода в свет 31.03.2023. Формат 60 x 90 / 8.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. л. 19.
Тираж 500 экз. Зак. 19. Поз. плана 5н.

Отпечатано в типографии издательства
ФГБОУ ВО «ИРНИТУ»
Адрес типографии:
664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 81/12А

Издание распространяется бесплатно
ФГБОУ ВО «ИРНИТУ»,
664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83