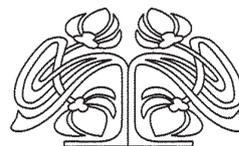




Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского»

ИЗВЕСТИЯ

САРАТОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА
Новая серия



Научный журнал
2019 Том 19

ISSN 1816-9775 (Print)

ISSN 2541-8971 (Online)

Издается с 2005 года

Серия Химия. Биология. Экология, выпуск 1

Продолжение «Известий Императорского Николаевского Университета» 1910–1918, «Ученых записок СГУ» 1923–1962,
«Известий Саратовского университета. Новая серия» 2001–2004

СОДЕРЖАНИЕ

Научный отдел

Химия

- Кулапина Е. Г., Чанина В. В.** Экспрессное определение цефазолина в малых объемах проб с применением планарных потенциометрических сенсоров 4
- Демахин А. Г., Акчурин С. В., Федоров В. А.** Применение арсенита натрия гидролизного для получения чистой мышьяксодержащей продукции 11
- Макушова Г. Н.** Иминодисукцинаты редкоземельных элементов 18
- Фомина В. И., Солонина Н. А., Шиповская А. Б.** Ионная агрегация макромолекул как причина кинетической (не)стабильности физико-химических свойств растворов хитозана 22
- Панкратов А. Н., Цивилева О. М., Цымбал О. А., Древо Я. Б., Тумский Р. С., Маракаева А. В.** Выяснение возможности взаимодействия органических селенидов и соли дигидроселенохромилия с дифенилпикрилгидразилом 39

Биология

- Агранович И. М., Хороводов А. П., Мамедова А. Т., Шнитенкова А. А., Шиманова В. Э., Наволокин Н. А., Ващенко Т. С., Каневский М. В., Галицкая А. А., Коннова С. А., Борисова Е. Г., Семьякина-Глушковская О. В.** Фотодинамическая диагностика рака желудка 50
- Петрухина Д. И.** Низкотемпературная консервация видов *Cyanophyta* (*Spirulina*, *Arthrospira*) 58
- Кулеватова Т. Б., Злобина Л. Н., Бекетова Г. А., Старичкова Н. И.** Влияние предшественника на показатели качества зерна яровой мягкой пшеницы 64
- Тарасов М. А., Поршаков А. М., Казакова Л. В., Кресова У. А., Романов Р. А., Слудский А. А.** Современный кадастр видов носителей туляремийного микроба в очагах разных типов на территории России 70
- Бондорина И. А., Кабанов А. В., Мамаева Н. А., Хохлачева Ю. А., Бумбеева Л. И.** Современное состояние коллекционного фонда лаборатории декоративных растений ГБС РАН 79
- Уткин Д. В., Булгакова Е. Г., Ерохин П. С., Кузнецов О. С., Куклев В. Е., Осина Н. А.** Исследование морфологических особенностей клеток бактерий *Yersinia pestis*, выращенных при различных температурных условиях, методом атомно-силовой микроскопии 87
- Вережкина Н. А., Медведева О. А., Королев В. А., Шевченко А. В., Калущий П. В.** Влияние пробиотика «Бифидумбактерин» на состояние микробиоты толстой кишки, активность антиоксидантной системы и процессов перекисного окисления липидов в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза и аномальных характеристик магнитного поля 94

Экология

- Гильдебрант А. В., Кушнарева Д. Н., Каплина А. В., Мозговая А. И., Сазыкин И. С., Сазыкина М. А.** Влияние загрязняющих веществ на интенсивность образования биопленки штаммом *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 103
- Полянская Т. А., Сулейманова Г. Ф.** Экологическая характеристика местообитаний ковыля перистого (*Stipa pennata* L.) в разных частях ареала 112

Приложения

Personalia

- Юбилей Штыкова Сергея Николаевича 120

Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (группы научных специальностей: 02.00.00 – химические науки; 03.01.00 – физико-химическая биология; 03.02.00 – общая биология; 03.03.00 – физиология)

Зарегистрировано в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций.
Свидетельство о регистрации СМИ ПИ № ФС77-56123 от 15 ноября 2013 года

Индекс издания в объединенном каталоге «Пресса России» 36013, раздел 30 «Научно-технические издания. Известия РАН. Известия вузов». Журнал выходит 4 раза в год

Директор издательства
Бучко Ирина Юрьевна

Редактор
Каргин Игорь Анатольевич

Художник
Соколов Дмитрий Валерьевич

Редактор-стилист
Кочкаева Инна Анатольевна

Верстка
Ковалева Наталья Владимировна

Технический редактор
Каргин Игорь Анатольевич

Корректор
Кочкаева Инна Анатольевна

Адрес учредителя, издателя и редакции:
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83
Тел.: (845-2) 51-45-49, 52-26-89
E-mail: izvestiya@info.sgu.ru

Подписано в печать 28.02.19.
Формат 60×84 1/8.
Усл. печ. л. 14,41 (15,5).
Тираж 500 экз. Заказ 28-Т.

Отпечатано в типографии
Саратовского университета.
Адрес типографии:
410012, Саратов, Б. Казачья, 112А

© Саратовский университет, 2019



ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал публикует научные статьи по аналитической химии, органической химии, физической химии, биофизике, биохимии, биотехнологии (в том числе бионанотехнологии), ботанике, зоологии, микробиологии, экологии, энтомологии.

Объем публикуемой статьи не должен превышать 16 страниц в формате MS Word для Windows.

Статья должна быть оформлена строго в соответствии с требованиями журнала и тщательно отредактирована.

Для публикации статьи автору необходимо представить в редакцию следующие материалы и документы:

– текст статьи в электронном виде;

– два экземпляра подписанного Лицензионного договора на право использования научного произведения.

Структура подачи материала:

– на русском языке: индекс УДК, название статьи, имена, отчества и фамилии авторов, сведения об авторах (ученая степень, должность, место работы/учебы (структурное подразделение, организация, почтовый адрес), город, страна, e-mail), аннотация, ключевые слова, текст статьи, благодарности и источники финансирования работы (если есть), список литературы;

– на английском языке: название статьи, имена (полностью), отчества и фамилии авторов, сведения об авторах (ORCID, место работы/учебы (организация, почтовый адрес организации), e-mail); аннотация, ключевые слова, благодарности и источники финансирования работы (если есть).

Требования к аннотации и библиографическому списку:

– аннотация не должна содержать сложных формул, ссылок на список литературы, по содержанию повторять название статьи, быть насыщена общими словами, не излагающими сути исследования; оптимальный объем 150–200 слов;

– в списке литературы должны быть указаны только процитированные в статье работы; ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

Образцы оформления различных источников приведены в правилах для авторов по адресу: <http://www.ichbe.sgu.ru/ru/ru/dlya-avtorov>.

Датой поступления статьи считается дата поступления ее окончательного варианта. Возвращенная на доработку статья должна быть прислана в редакцию не позднее чем через 3 месяца. Возвращение статьи на доработку не означает, что статья будет опубликована, после переработки она вновь будет рецензироваться. Материалы, отклоненные редколлегией, не возвращаются.

Адреса для переписки с редколлегией серии: ichbe-sgu@yandex.ru; 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, биологический факультет, ответственному секретарю журнала «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология». Website: <http://ichbe.sgu.ru>

CONTENTS

Scientific Part

Chemistry

Kulapina E. G., Chanina V. V. Express Method for Cefazolin Determination in Small Samples Sensors Planar Potentiometric 4

Demakhin A. G., Akchurin S. V., Fedorov V. A. Application of the Sodium Arsenite Hydrolysed for Obtaining Pure Arsenic Products 11

Makushova G. N. Rare Earth Metal Iminodisuccinates 18

Fomina V. I., Solonina N. A., Shipovskaya A. B. Ionic Aggregation of Macromolecules as the Cause of the Kinetic (Non)Stability of Physicochemical Properties of Chitosan Solutions 22

Pankratov A. N., Tsvileva O. M., Tsybal O. A., Drevko Ya. B., Tumskii R. S., Marakaeva A. V. Exploration of Possibilities for Organic Selenides and Dihydroseleochromilium Salt Interaction with Diphenylpicrylhydrazyl 39

Biology

Agranovich I. M., Khorovodov A. P., Mamedova A. T., Shnitnikova A. A., Shimanova V. E., Navolokin N. A., Vaschenko T. S., Kanevsky M. V., Galitskaya A. A., Konnova S. A., Borisova E. G., Semyachkina-Glushkovskaya O. V. Photodynamic Diagnostics of Stomach Cancer 50

Petrukhina D. I. Low Temperature Preservation of an Economically Important Cyanophyta Species (*Spirulina, Arthrospira*) 58

Kulevatova T. B., Zlobina L. N., Beketova G. A., Starichkova N. I. Impact of the Predator on Quality Indicators Grain of Soft Wheat 64

Tarasov M. A., Porshakov A. M., Kazakova L. V., Kresova U. A., Romanov R. A., Sludsky A. A. Modern Cadastre of Species of Tularemia Microbe Carriers Habitant in Tularemia Foci of Different Types, Situated in the Territory of Russia 70

Bondorina I. A., Kabanov A. V., Mamaeva N. A., Khokhlicheva Ju. A., Bumbeeva L. I. Current Status of the Collection Fund of the Laboratory of Ornamental Plants of the Russian Academy of Sciences 79

Utkin D. V., Bulgakova E. G., Erokhin P. S., Kuznetsov O. S., Kuklev V. E., Osina N. A. Study of the Morphological Features of the Cells of the Bacteria *Yersinia pestis*, Grown at Different Temperatures by Atomic Force Microscopy 87

Verevkin A. A., Medvedeva O. A., Korolev V. A., Shevchenko A. V., Kalutsky P. V. Influence of Probiotic "Bifidumbacterin" on the State of Large Intestine Microbiocenosis, Activity of the Antioxidant System and Processes of Lipid Peroxidation in the Conditions of Gentamycin-Associated Disbiozsis and Anomalous Characteristics of the Magnetic Field 94

Ecology

Gildebrant A. V., Kushnareva D. N., Kaplina A. V., Mozgovaya A. I., Sazykin I. S., Sazykina M. A. The Effect of Pollutants on the Intensity of Biofilm Formation by the Strain *Vibrio aquamarinus* VKPM B-11245 103

Polianskaya T. A., Suleymanova G. F. Ecological Characteristic of Feather Grass Habitat (*Stipa pennata* L.) in Various Parts of the Range 112

Appendices

Personalia

Anniversary of Shtykov Sergey Nikolaevich 120



**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА
«ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА. НОВАЯ СЕРИЯ.
СЕРИЯ: ХИМИЯ. БИОЛОГИЯ. ЭКОЛОГИЯ»**

Главный редактор

Шляхтин Геннадий Викторович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Заместитель главного редактора

Федотова Ольга Васильевна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Ответственный секретарь

Глинская Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент (Саратов, Россия)

Члены редакционной коллегии:

Аникин Василий Викторович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Берберова Надежда Титовна, доктор химических наук, профессор (Астрахань, Россия)
Богатырев Владимир Александрович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Гаркушин Иван Кириллович, доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, действительный член РАЕН (Самара, Россия),
Горбунов Олег Григорьевич, доктор биологических наук, профессор (Москва, Россия)
Горячева Ирина Юрьевна, доктор химических наук, доцент (Саратов, Россия)
Дыкман Лев Абрамович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Ерошенко Галина Александровна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник (Саратов, Россия)
Захаров Владимир Михайлович, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН (Москва, Россия)
Золотухин Вадим Викторович, доктор биологических наук, доцент (Ульяновск, Россия)
Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Кулагин Алексей Юрьевич, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ и Республики Башкортостан (Уфа, Россия),
Кулиш Елена Ивановна, доктор химических наук, доцент (Уфа, Россия)
Максимов Георгий Владимирович, доктор биологических наук, профессор (Москва, Россия)
Никитина Валентина Евгеньевна, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Опарин Михаил Львович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Позднякова Наталия Николаевна, доктор биологических наук (Саратов, Россия)
Ревин Виктор Васильевич, доктор биологических наук, профессор (Саранск, Россия)
Розенберг Геннадий Самуилович, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН (Тольятти, Россия)
Шиповская Анна Борисовна, доктор химических наук, доцент (Саратов, Россия)
Штыков Сергей Николаевич, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)
Щеголев Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)
Юдакова Ольга Ивановна, доктор биологических наук, доцент (Саратов, Россия)

**EDITORIAL BOARD OF THE JOURNAL
«IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY. NEW SERIES.
SERIES: CHEMISTRY. BIOLOGY. ECOLOGY»**

Editor-in-Chief – Gennady V. Shlyakhtin (Saratov, Russia)

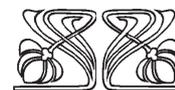
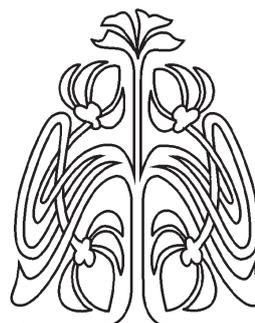
Deputy Editor-in-Chief – Olga V. Fedotova (Saratov, Russia)

Executive Secretary – Elena V. Glinskay (Saratov, Russia)

Members of the Editorial Board:

Vasili V. Anikin (Saratov, Russia)
Nadezhda T. Berberova (Astrakhan, Russia)
Vladimir A. Bogatyrev (Saratov, Russia)
Ivan K. Garkushin (Samara, Russia)
Oleg G. Gorbunov (Moscow, Russia)
Irina Ju. Goryacheva (Saratov, Russia)
Lev A. Dykman (Saratov, Russia)
Galina A. Eroshenko (Saratov, Russia)
Vladimir M. Zacharov (Moscow, Russia)
Vadim V. Zolotuhin (Ulyanovsk, Russia)
Alexandr S. Kashin (Saratov, Russia)
Svetlana A. Konnova (Saratov, Russia)

Alexey Yu. Kulagin (Ufa, Russia)
Elena I. Kulish (Ufa, Russia)
Georgy V. Maksimov (Moscow, Russia)
Valentina E. Nikitina (Saratov, Russia)
Michail L. Oparin (Saratov, Russia)
Natalia N. Pozdnyakova (Saratov, Russia)
Viktor V. Revin (Saransk, Russia)
Gennady S. Rozenberg (Toliatty, Russia)
Anna B. Shipovskay (Saratov, Russia)
Sergey N. Shtykov (Saratov, Russia)
Sergey Ju. Shchyogolev (Saratov, Russia)
Olga I. Yudakova (Saratov, Russia)



**РЕДАКЦИОННАЯ
КОЛЛЕГИЯ**





ХИМИЯ

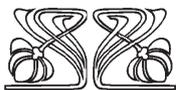
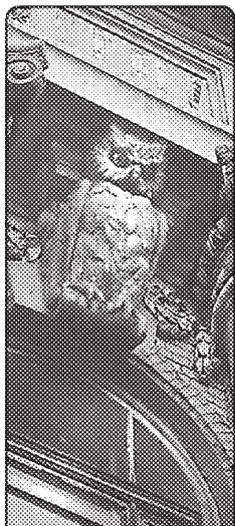
УДК 543:615.33

Экспрессное определение цефазолина в малых объемах проб с применением планарных потенциометрических сенсоров

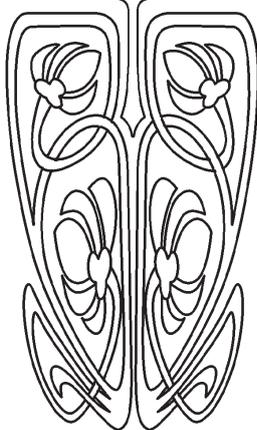
Е. Г. Кулапина, В. В. Чанина

Кулапина Елена Григорьевна, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, kulapinaeg@mail.ru

Чанина Виктория Викторовна, студент Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, vika.chanina@bk.ru



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ



Созданы планарные немодифицированные и модифицированные полианилином и наночастицами планарные потенциометрические сенсоры на основе ассоциатов тетрадециламония с комплексом серебро (I) – цефазолин. Установлены оптимальные соотношения компонентов в углеродсодержащих чернилах: 30–32% порошка углерода, 16–18% поливинилхлорида, 48–50% дибутилфталата, 1–3% электродноактивного соединения (ЭАС). Исследованы планарные сенсоры двух типов: электродноактивные компоненты, или ЭАС, и модификаторы вносились в углеродсодержащие чернила. В качестве модификаторов использовали полианилин (0,3–1,0%), наночастицы NiZnFeO и их бинарные смеси. Оценены электроаналитические и операционные характеристики немодифицированных и модифицированных планарных сенсоров в растворах цефазолина. Наиболее эффективным модификатором оказались наночастицы NiZnFeO. Показано, что введение наночастиц NiZnFeO в углеродсодержащие чернила приводит к увеличению угловых коэффициентов электродных функций (с 48 ± 4 до 57 ± 3), уменьшению времени отклика (с 20–25 до 5–10 с), снижению дрейфа потенциала (с 6–9 до 3–4 мВ/сут). При этом интервалы линейности электродных функций и пределы обнаружения цефазолина идентичны для немодифицированных и модифицированных (ПАНИ, наночастицами) сенсоров. Показано применение планарных сенсоров для определения цефазолина в модельных водных растворах и ротовой жидкости. **Ключевые слова:** цефазолин, планарные потенциометрические сенсоры, полианилин, наночастицы, водные среды.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-4-10>

Введение

Цефазолин-цефалоспориновый антибиотик I поколения проявляет активность против грамположительных микроорганизмов [1].

В последнее время создают сенсоры для определения веществ в различных объектах. С помощью технологии трафаретной печати можно изготовить планарные сенсоры, которые обладают такими достоинствами, как низкая стоимость, простота изготовления, возможность миниатюризации, использование в режиме online, возможность анализа микрообъемов проб, что важно при изучении биологических объектов. На электрохимические характеристики сенсоров влияют способы изготовления и составы мембран. В зависимости от материала для изготовления подложек и модификаторов поверх-



ности можно конструировать планарные сенсоры для определения неорганических и органических соединений в различных объектах [2–4].

Для создания планарных сенсоров используют углеродсодержащие чернила, которые состоят из частиц углерода, полимерного компонента и различных добавок. Чернила обеспечивают однородность, возможность равномерного нанесения и закрепления электрода на подложке [5, 6].

Для уменьшения дрейфа потенциала, снижения предела обнаружения поверхность сенсоров модифицируют токопроводящими полимерами – полианилином или поли(3-октилтиофеном) [7, 8]. Наибольшей проводимостью обладают протонированные формы и соли полианилина [9]. Полианилин используют для стабилизации электродного потенциала твердоточных потенциометрических сенсоров, чувствительных к цефазолину [10].



Раствор цефазолина $1 \cdot 10^{-2}$ М готовили путем растворения навески препарата в дистиллированной воде. Рабочие растворы с концентрациями $5 \cdot 10^{-3}$; $1 \cdot 10^{-3}$; $5 \cdot 10^{-4}$; $1 \cdot 10^{-4}$ М готовили последовательным разбавлением исходных растворов.

Раствор хлорида натрия $1 \cdot 10^{-1}$ М готовили растворением 0,5850 г навески хлорида натрия в 100 мл дистиллированной воды. Раствор с концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ М получали разбавлением исходного раствора.

Тетрадециламмоний бромид $[(C_{10}H_{21})N]Br$ (ТДА) $C = 1 \cdot 10^{-2}$ М готовили растворением навески массой 0,0329 г в 5 мл хлороформа.

В качестве электродноактивного соединения (ЭАС) использованы ионные ассоциаты тетрадециламмония с комплексными соединениями серебро(I) – цефазолин $[Ag(Cef)_2]TDA^+$; $C_{ЭАС} = 2\%$.

Изготовление мембран и синтез ЭАС рассмотрены в работе [10].

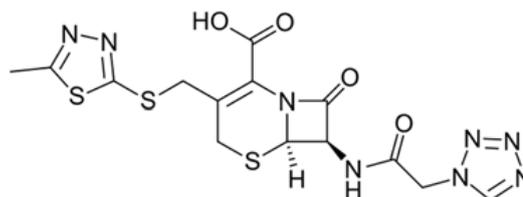
Электроды представляют собой подложку с графитовыми чернилами, содержащими электродноактивное вещество, и токоотвод (рис. 1).

Перед началом работы рабочую поверхность подложки смазывали изолятором, в качестве которого выступал клей, изготовленный из ПВХ, дибутилфталата и циклогексанона. После высыхания на подложку кисточкой наносили слой токопроводящих чернил, закрепляли металлический токоотвод, который изолировали тремя

В настоящей работе предложены планарные потенциометрические сенсоры для экспрессного определения цефазолина в малых объемах проб.

Материалы и методы

- Цефазолин – цефалоспориновый антибиотик I поколения. Коммерческое название препарата «Цефазолин»; производство ОАО «Биосинтез» (г. Пенза).



- Полианилин («Эмеральдин. Турция»); наночастицы NiZnFeO; бинарные смеси.

слоями чернил. Вся поверхность полимерной подложки, кроме рабочей поверхности диаметром 5 мм, изолировалась полимерным составом на основе ПВХ.

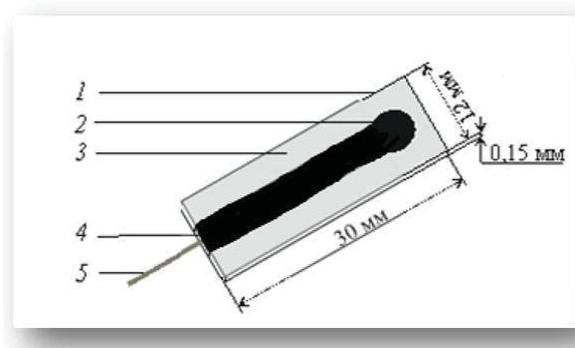


Рис. 1. Конструкция планарного сенсора: 1 – полимерная подложка; 2 – рабочая область; 3 – изоляционный слой; 4 – графитовые чернила; 5 – токоотвод

Для приготовления изолятора в стеклянный бюкс с 5 мл растворителя помещали 0,7665 г пластификатора и постепенно порциями добавляли 0,2555 г ПВХ. Смесь перемешивали на магнитной мешалке при небольшом нагревании до полного растворения компонентов и состояния полной гомогенизации. В качестве растворителя использовалась смесь циклогексанона и ацетона в соотношении 1:1.



Приготовление и нанесение углеродсодержащих чернил. Углеродсодержащие чернила готовили, помещая в стеклянный бюкс 0,3627 г пластификатора – дибутилфталата, 0,6166 г порошка углерода, 0,0399 г электродноактивного соединения. Бюкс помещали на магнитную мешалку и при небольшом нагревании добавляли 2 мл растворителя (смесь ацетона и циклогексана в соотношении 1:1) и постепенно навеску ПВХ 1,0156 г. Смесь перемешивали до состояния однородной гомогенизации. Оптимальное соотношение компонентов углеродсодержащих чернил: 30–32% порошка углерода, 16–18% ПВХ, 48–50% пластификатора, 2–5% ЭАС [11].

Для снижения сопротивления углеродсодержащие чернила модифицировали полианетин (ПАНИ) (0,3–1,0%), наночастицами NiZnFeO и их бинарными смесями.

Сенсоры перед началом работы кондиционировали в течение суток в $1 \cdot 10^{-3}$ М растворе цефазолина.

Электрохимические характеристики изучали методом ЭДС с использованием элементов с переносом:

$\text{Ag, AgCl/KCl}_{\text{нас}} // \text{исслед. раствор/мембрана/графит}$

$\text{Ag, AgCl/KCl}_{\text{нас}} // \text{исслед. раствор/мембрана/модификатор/графит}$

Контакт между полуэлементами осуществляют с помощью солевого мостика, заполненного насыщенным раствором хлорида калия; электрод сравнения – хлоридсеребряный ЭВЛ-1МЗ. ЭДС цепи измеряли на иономере И-160 М при температуре $20 \pm 3^\circ\text{C}$ (погрешность измерения ЭДС ± 1 мВ).

Время установления стационарного потенциала сенсоров определяли при скачкообразном изменении концентраций на порядок. Измерения проводили в растворах с концентрацией $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-2}$ М.

Для удаления белковых компонентов из смешанной слюны доноров использовали центрифугу ПЭ-6906.

Результаты и их обсуждение

В настоящей работе исследовали немодифицированные и модифицированные планарные потенциометрические сенсоры I а, б типов:

I, а – электродноактивные компоненты вносились в углеродсодержащие чернила;

I, б – электродноактивные компоненты и модификаторы вносились в углеродсодержащие чернила.

Исследования проведены в водных и биологических средах.

Немодифицированные планарные сенсоры. Для построения электродных функций использовали $1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-5}$ М стандартные растворы цефазолина, которые готовили из $1 \cdot 10^{-2}$ М раствора последовательным разбавлением в мерных колбах вместимостью 25 мл.

На рис. 2 представлены электродные функции немодифицированных планарных сенсоров в растворах цефазолина. Видно, что исследуемые сенсоры на основе $\text{Ag}(\text{Cef})_2$ -ТДА обладают чувствительностью к цефазолину в широком концентрационном интервале.

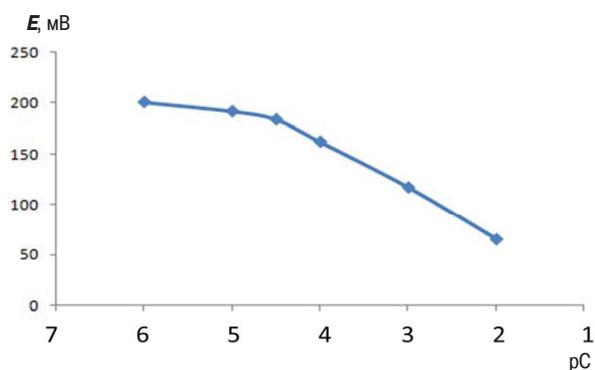


Рис. 2. Электродные функции немодифицированных планарных сенсоров в растворах цефазолина

Потенциалоопределяющей является реакция ионного обмена на границе мембрана/раствор (с предварительно происходящей диссоциацией ионообменника в фазе мембраны) [10]. По зависимости $E = f(C_{\text{cef}})$ определен предел обнаружения цефазолина. Дрейф потенциала составил 6–9 мВ/сут (водные среды).

Показано, что сенсоры обладают стабильными электрохимическими и операционными характеристиками в течение 1 месяца.

В табл. 1 представлены электрохимические характеристики планарных немодифицированных сенсоров в водных растворах цефазолина.

Таблица 1

Электрохимические характеристики немодифицированных планарных сенсоров в водных растворах цефазолина ($n = 3, p = 0,95$)

$E = f(C), \text{M}$	$(S \pm \Delta S) \text{ мВ/рС}$	$\tau, \text{с}$	C_{min}, M	$\Delta E, \text{мВ/сут}$
$1 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-5}$	48 ± 4	20–35	$3 \cdot 10^{-5}$	6–9

Сенсоры проявляют чувствительность к цефтриаксону ($\alpha = 17 \pm 2$) и цефотаксиму ($\alpha = 51 \pm 4$); электродные функции выполняются в $1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-4}$ М растворах антибиотиков.



Модифицированные планарные сенсоры, чувствительные к цефазолину. На рис. 3 представлены электродные функции модифици-

рованных полианилином (1), наночастицами (2), полианилином и наночастицами (3) планарных сенсоров в водных растворах цефазолина.

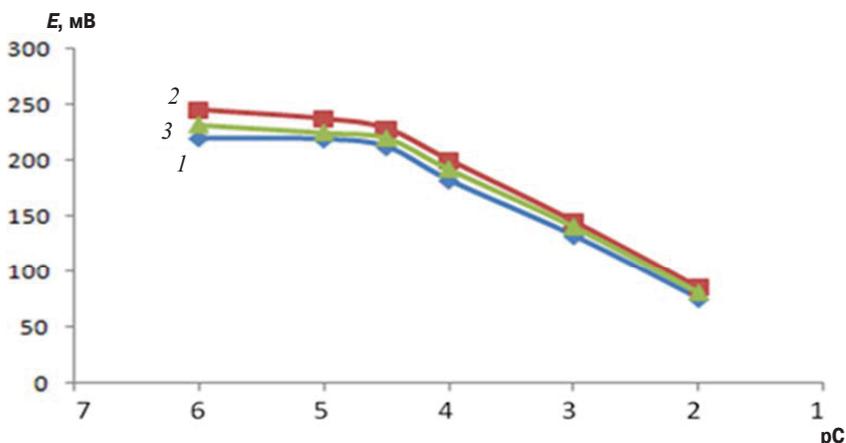


Рис. 3. Электродные функции модифицированных планарных сенсоров в водных растворах цефазолина: 1 – полианилином, 2 – наночастицами, 3 – полианилином и наночастицами

Из рис. 3 видно, что исследуемые сенсоры на основе $\text{Ag}(\text{Cef})_2$ -ТДА обладают чувствительностью к цефазолину в широком концентрационном интервале. Угловые коэффициенты электродных функций соответствуют теоретическим для однозарядных ионов (табл. 2).

Показано, что введение модификаторов в мембраны сенсоров приводит к стабилизации их потенциалов, к увеличению интервала линейности и угловых коэффициентов электродных функций, снижению предела обнаружения антибиотиков, уменьшению времени отклика и дрейфа потенциала.

Таблица 2

Электрохимические характеристики планарных модифицированных сенсоров в водных растворах цефазолина ($n = 3, p = 0,95$)

Модификатор	$E = f(C), \text{M}$	$S \pm \Delta S, \text{mB/pC}$	τ, c	C_{\min}, M	$\Delta E, \text{mB/сут}$	Срок службы, мес.
Полианилин	$1 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-5}$	54 ± 3	10–15	$2 \cdot 10^{-5}$	5–6	1,5
Наночастицы	$1 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-5}$	57 ± 3	5–10	$2 \cdot 10^{-5}$	3–4	1,5
Наночастицы и полианилин	$1 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-5}$	55 ± 3	10–15	$2 \cdot 10^{-5}$	4–6	1,5

Применение немодифицированных и модифицированных сенсоров для определения цефазолина в водных средах. Планарные сенсоры были использованы для определения цефазолина в модельных водных растворах.

Используя градуировочные графики (см. рис. 2, 3), были проведены расчеты по нахождению неизвестных концентраций цефазолина в модельных водных растворах (табл. 3). Относительные стандартные отклонения не превышают 0,08.

Таблица 3

Результаты потенциметрического определения цефазолина в модельных водных растворах ($V = 10,0 \text{ мл}$), $n = 3, p = 0,95$

Введено		Найдено								
$C, \text{моль/л}$	$m, \text{мг}$	$C^*, \text{моль/л}$	$m, \text{мг}$	S_p	$C^{**}, \text{моль/л}$	$m, \text{мг}$	S_p	$C^{***}, \text{моль/л}$	$m, \text{мг}$	S_p
$5 \cdot 10^{-3}$	23,8	$4,8 \cdot 10^{-3}$	$22,7 \pm 1,1$	0,02	$4,9 \cdot 10^{-3}$	$23,1 \pm 1,0$	0,02	$5,1 \cdot 10^{-3}$	$24,3 \pm 0,9$	0,02
$3 \cdot 10^{-3}$	14,2	$3,2 \cdot 10^{-3}$	$15,3 \pm 1,0$	0,03	$3,2 \cdot 10^{-3}$	$15,0 \pm 0,9$	0,03	$3,1 \cdot 10^{-3}$	$14,9 \pm 0,8$	0,02
$2 \cdot 10^{-3}$	9,52	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$8,57 \pm 0,7$	0,03	$1,9 \cdot 10^{-3}$	$8,85 \pm 0,6$	0,03	$1,9 \cdot 10^{-3}$	$9,04 \pm 0,6$	0,03
$5 \cdot 10^{-4}$	2,38	$5,2 \cdot 10^{-4}$	$2,47 \pm 0,5$	0,08	$5,2 \cdot 10^{-4}$	$2,47 \pm 0,3$	0,05	$5,1 \cdot 10^{-4}$	$2,44 \pm 0,4$	0,07
$3 \cdot 10^{-4}$	1,42	$3,2 \cdot 10^{-4}$	$1,51 \pm 0,2$	0,05	$3,2 \cdot 10^{-4}$	$1,50 \pm 0,1$	0,03	$2,9 \cdot 10^{-4}$	$1,38 \pm 0,1$	0,03
$2 \cdot 10^{-4}$	0,95	$2,2 \cdot 10^{-4}$	$1,05 \pm 0,1$	0,04	$2,1 \cdot 10^{-4}$	$1,00 \pm 0,1$	0,04	$2,1 \cdot 10^{-4}$	$1,00 \pm 0,1$	0,04

Примечание. C^* – немодифицированные; C^{**} – модифицированные полианилином; C^{***} – модифицированные наночастицами.



Определение цефазолина в биологических средах. Планарные немодифицированные и модифицированные сенсоры на основе $Ag(Cef)_2$ -ТДА были использованы для определения цефазолина на фоне жидкости ротовой полости (ЖРП). Растворы цефазолина на фоне ЖРП ($1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-4}$ М) готовились в объеме 3 мл.

Пробу собственной ЖРП собирали через 2 ч после еды. В чистые полиэтиленовые пробирки собирали ротовую жидкость, центрифугировали ее в течение 15 мин при 3500 об/мин для отделения белков и остатков пищи. Для исключения

белкового отравления сенсоры предварительно кондиционировали в чистой ЖРП (без антибиотика) в течение 20–30 мин. В подготовленные пробы ротовой жидкости вносились растворы цефазолина различных концентраций.

На рис. 4, 5 представлены электродные функции немодифицированных и модифицированных планарных сенсоров на фоне ЖРП; в табл. 4 – их электрохимические характеристики. Видно, что исследуемые сенсоры на основе $Ag(Cef)_2$ -ТДА обладают чувствительностью к цефазолину в широком концентрационном интервале.

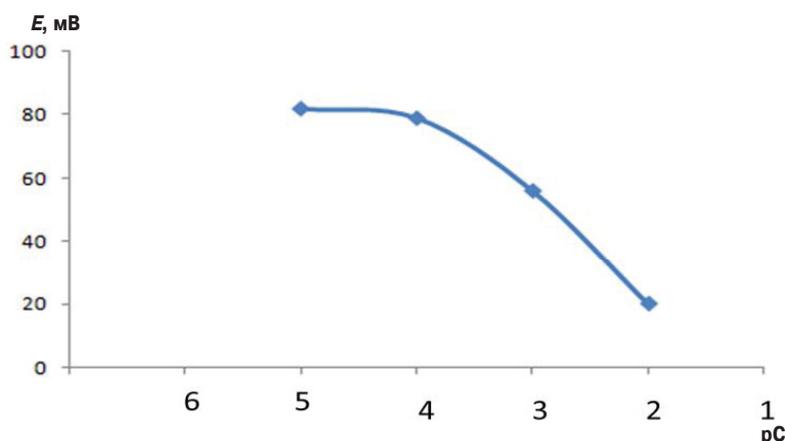


Рис. 4. Электродные функции немодифицированных планарных сенсоров на фоне ЖРП

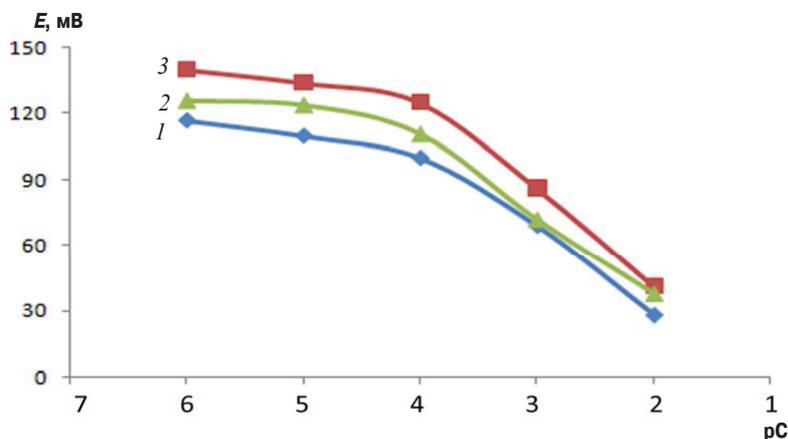


Рис 5. Электродные функции модифицированных цефазолин-селективных планарных сенсоров в растворах на фоне ЖРП: 1 – модификаторы – полианилин; 2 – наночастицы NiZnFeO; 3 – бинарные смеси

Таблица 4

Электрохимические характеристики модифицированных цефазолин-селективных планарных сенсоров на фоне ЖРП ($n = 3, p = 0,95$)

Модификатор	$E = f(C), M$	$S, mV/pC$	τ, c	C_{min}, M	$\Delta E, mV/сут$	Срок службы, мес.
Немодифицированные	$1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-4}$	30 ± 6	30–40	$6 \cdot 10^{-5}$	8–10	1
Полианилин	$1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-4}$	37 ± 5	20–30	$3 \cdot 10^{-5}$	7–8	1,5
Наночастицы	$1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-4}$	42 ± 4	15–20	$6 \cdot 10^{-5}$	6–7	1,5
Наночастицы и полианилин	$1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-4}$	38 ± 4	20–35	$6 \cdot 10^{-5}$	5–7	1,5



На фоне ЖРП происходит уменьшение угловых коэффициентов электродных функций. Наблюдается отклонение значений электродных потенциалов в сторону отрицательных значений, что может быть связано с сильным фоновым влиянием неорганических и органических ионов, входящих в состав ЖРП.

Выводы

Разработаны немодифицированные и модифицированные полианилином, наночастицами и их бинарными смесями планарные сенсоры различных типов на основе углеродсодержащих чернил и ионных ассоциатов тетрадециламмония с комплексным соединением серебро (I) –цефазолин.

Оценены электроаналитические и операционные характеристики исследуемых сенсоров в водных и биологических средах.

Разработанные сенсоры применимы для экспрессного детектирования антибиотиков в модельных водных растворах ($V = 10$ мл), время определения – 30–40 мин; в ротовой жидкости объем проб ЖРП – 3,0 мл.

Список литературы

1. Яковлев В. П., Яковлев С. В. Рациональная антимикробная фармакотерапия. М.: Литтерра, 2007. 784 с.
2. Honeychurch K. C., Hart J. P. Screen-printed electrochemical sensors for monitoring metal pollutants // Trends Anal. Chem. 2003. Vol. 22, № 7. P. 456–469.
3. Gornall D. D., Collyer S. D., Higson S. P. J. Investigations into the use of screenprinted carbon electrodes as templates for electrochemical sensors and sonochemically fabricated microelectrode arrays // Sensor. Actuat. B. Chem. 2009. Vol. 141, № 2. P. 581–591.
4. Wang J., Tian B., Nascimento V. B., Agnes L. Performance of screen-printed carbon electrodes fabricated from different carbon inks // Electrochim. Acta. 1998. Vol. 43, № 23. P. 3459–3465.
5. García-González R., Fernández-Abedul M. T., Pernía A., Costa-García A. Electrochemical characterization of different screen-printed gold electrodes // Electrochim. Acta. 2008. Vol. 53, № 8. P. 3242–3249.
6. Khaled E., Mohamed G. G., Awad T. Disposal screen-printed carbon paste electrodes for the potentiometric titration of surfactants // Sensor. Actuat. B–Chem. 2008. № 135. P. 74–80.
7. Маркузина Н. Н. Литийселективные твердоконтактные электрохимические сенсоры на основе электропроводящего полимера поли(3-октилтиофена) // Успехи современного естествознания. 2016. № 2. С. 39–43.
8. Милакин К. А., Меньшикова И. П., Сергеев В. Г. Композиционный материал полианилин-полимерная матрица как основа для создания высокочувствительного газосенсора на аммиак // Структура и динамика молекулярных систем. 2008. № 3. С. 326–329.
9. Evtugyn G., Porfireva A., Hianik T. Electropolymerized materials for biosensors // Advanced Bioelectronics Materials / eds. A. Tiwari, H. K. Patra, A. P. F. Turner. Beverly, MA: Wiley-Scrivener Publ., 2015. P. 89–184.
10. Кулапина Е. Г., Дубасова А. Е., Кулапина О. И. Электроаналитические свойства немодифицированных и модифицированных полианилином твердоконтактных цефазолин-селективных сенсоров // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 1. С. 13–19. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-1-13-19>
11. Макарова Н. М., Кулапина Е. Г. Планарные электроды на основе углеродных нанотрубок для потенциометрического определения гомологов алкилсульфатов натрия // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70, № 7. С. 764–769.

Образец для цитирования:

Кулапина Е. Г., Чанина В. В. Экспрессное определение цефазолина в малых объемах проб с применением планарных потенциометрических сенсоров // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 4–10. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-4-10>

Express Method for Cefazolin Determination in Small Samples Sensors Planar Potentiometric

E. G. Kulapina, V. V. Chanina

Elena G. Kulapina, <https://orcid.org/0000-0002-5644-5039>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, kulapinaeg@mail.ru

Viktoria V. Chanina, <https://orcid.org/0000-0002-2833-4892>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, vika.chanina@bk.ru

The unmodified and modified by polyaniline and nanoparticles planar potentiometric sensors on the basis of tetradecylammonium associ-

ates with a complex silver (I) – cefazolin are created. Optimum ratios of components in carbon-containing ink are established: 30–32% carbon powder, 16–18% polyvinylchloride, 48–50% dibutylphthalate and 1–3% of electrode active compound (EAC). Planar sensors of two types are examined: electrode active compounds, electrode active compound and modifiers were added into in carbon-containing ink. Polyaniline (0.3–1.0%), nanoparticles of NiZnFeO and their binary mixtures were used as modifiers. Electroanalytical and operational characteristics of the unmodified and modified planar sensors in cefazolin solutions are estimated. NiZnFeO nanoparticles were the most effective modifier. It is shown that with the introduction of nanoparticles of NiZnFeO to carbon-containing ink leads to increase in the slopes of electrode functions (from 48 ± 4 to 57 ± 3), to a reduction of response time (from 20–25 till 5–10 sec), and to reduce potential drift (from 6–9 to 3–4 mV/day). At the same time intervals of linearity of electrode



functions and limits of detection of cefazolin are identical for unmodified and modified (PANI, nanoparticles) sensors. Use of planar sensors for definition of cefazolin in model water solutions and oral fluid is shown.

Keywords: cefazolin, planar potentiometric sensors, polyaniline, nanoparticles, water environment.

References

1. Yakovlev V. P., Yakovlev S. V. Ratsional'naya antimikrobnaya farmakoterapiya [Rational antimicrobial pharmacotherapy]. Moscow, Litterra Publ., 2007. 784 p. (in Russian).
2. Honeychurch K. C., Hart J. P. Screen-printed electrochemical sensors for monitoring metal pollutants. *Trends Anal. Chem.*, 2003, vol. 22, no. 7, pp. 456–469.
3. Gornall D. D., Collyer S. D., Higson S. P. J. Investigations into the use of screenprinted carbon electrodes as templates for electrochemical sensors and sonochemically fabricated microelectrode arrays. *Sensor. Actuat. B–Chem.*, 2009, vol. 141, no. 2, pp. 581–591.
4. Wang J., Tian B., Nascimento V. B., Agnes L. Performance of screen-printed carbon electrodes fabricated from different carbon inks. *Electrochim. Acta.*, 1998, vol. 43, no. 23, pp. 3459–3465.
5. García-González R., Fernández-Abedul M. T., Pernía A., Costa-García A. Electrochemical characterization of different screen-printed gold electrodes. *Electrochim. Acta.*, 2008, vol. 53, no. 8, pp. 3242–3249.
6. Khaled E., Mohamed G. G., Awad T. Disposal screen-printed carbon paste electrodes for the potentiometric titration of surfactants. *Sensor. Actuat. B–Chem.*, 2008, no. 135, pp. 74–80.
7. Markuzina N. N. Solid-contact lithium-selective electrochemical sensors based on conducting polymer poly(3-oktylthiophene). *Successes of Modern Science*, 2016, no. 2, pp. 39–43 (in Russian).
8. Milakin K. A., Menshikova I. P., Sergeev V. G. Polyaniline-polymer matrix composite material as a basis for creating a highly sensitive gas sensor for ammonia. *Structure and Dynamics of Molecular System*, 2008, no. 3, pp. 326–329 (in Russian).
9. Evtugyn G., Porfireva A., Hianik T. Electropolymerized materials for biosensors. In: *Advanced Bioelectronics Materials*. Eds. A. Tiwari, H. K. Patra, A. P. F. Turner. Beverly, MA, Wiley-Scrivener Publ., 2015, pp. 89–184.
10. Kulapina E. G., Dubasova A. E., Kulapina O. I. Electroanalytical Properties of Non-modified and Polyaniline Modified Solid Contact Cefazolin Selective Sensors. *Izv. Saratov. Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 1, pp. 13–19 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-1-13-19>
11. Makarova N. M., Kulapina E. G. Planar electrodes based on carbon nanotubes for the potentiometric determination of homologous sodium alkyl sulfates. *Anal. Chem.*, 2015, vol. 70, no. 7, pp. 764–769 (in Russian).

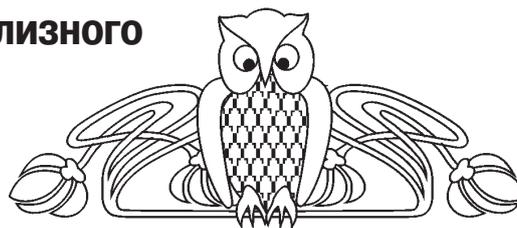
Cite this article as:

Kulapina E. G., Chanina V. V. Express Method for Cefazolin Determination in Small Samples Sensors Planar Potentiometric. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 4–10 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-4-10>



УДК 623.459.44.8

Применение арсенита натрия гидролизного для получения чистой мышьяксодержащей продукции



А. Г. Демахин, С. В. Акчурин, В. А. Федоров

Демахин Анатолий Григорьевич, доктор химических наук, профессор, помощник директора по науке, Государственный научно-исследовательский институт промышленной экологии, Саратов, demakhin@rambler.ru

Акчурин Сергей Вячеславович, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник, ООО Национальный инновационно-технологический центр «Экохим», Саратов, akchurin.serzh@yandex.ru

Федоров Валентин Александрович, доктор технических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории высококачественных веществ, Институт общей и неорганической химии имени Н. С. Курнакова Российской академии наук, Москва, fmv1971@rambler.ru

В статье представлены сведения о возможности применения арсенита натрия гидролизного в качестве нового вида мышьяксодержащего сырья для получения товарной продукции различного качества. Приведены способы очистки оксида мышьяка (III) как основного продукта переработки АНГ до различной степени чистоты (3-6N), позволяющие использовать его в качестве сырья для синтеза широкого спектра соединений мышьяка: мышьяковой кислоты, элементарного мышьяка, трихлорида мышьяка. Рассмотрен процесс проведения сублимационно-десублимационной и вакуум-термической очистки оксида мышьяка (III) от примесей. Разработанные методы очистки оксида мышьяка (III) открывают возможность использования его для синтеза различных соединений, применяемых в стекольной и полупроводниковой промышленности, микроэлектронике, оптоволоконной технике.

Ключевые слова: арсенит натрия гидролизный, мышьяксодержащие вещества, технология очистки, оксид мышьяка (III).

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-11-17>

Введение

В ходе проводимого в России процесса детоксикации люизита с последующим выпариванием образующихся жидких реакционных масс было получено 12500 тонн сухих солей, получивших тривиальное название «арсенит натрия гидролизный» (АНГ). Этот продукт, представляющий собой сложную многокомпонентную систему, является перспективным сырьем для производства широкого ряда мышьяксодержащих соединений. Основными компонентами АНГ являются: арсениты и арсенаты натрия ($\approx 30-40\%$), хлорид натрия ($\approx 40-50\%$), нерастворимые в воде вещества ($\approx 0,5-7\%$).

Хотя задача применения АНГ в качестве нового вида мышьяксодержащего сырья для полу-

чения товарной продукции является очевидной, до настоящего времени все основные разработки (за исключением работы ФБУ «ГосНИИОХТ» г. Москва [1]) были направлены в основном на его утилизацию с последующим захоронением.

На рис. 1 представлены основные области применения продукции, получаемой из АНГ.

Сложность состава АНГ требовала разработки физико-химических основ процессов разделения базовых компонентов, простых методов их выделения из состава АНГ и последующей трансформации в оксид мышьяка (III) и элементарный мышьяк. На базе этих физико-химических основ и были разработаны технические решения, позволившие создать различные схемы процессов с получением как оксида, так и элементарного мышьяка, вовлекая в процесс переработки как АНГ, так и жидкие реакционные массы [2]. Разработанные процессы обеспечивают высокую экологическую безопасность их проведения в рамках замкнутого технологического цикла по соединениям мышьяка.

В основе всех разработанных процессов лежат следующие ключевые стадии:

- отделение из состава АНГ нерастворимых в воде веществ;
- отделение хлорида натрия с его последующей очисткой;
- упаривание раствора до заданной концентрации арсенита натрия;
- вывод из состава системы соединений мышьяка (V);
- выделение из системы конечного продукта (оксида мышьяка (III) или элементарного мышьяка).

Одной из важных задач, которая была решена при разработке техпроцесса, является вывод из оборота соединений мышьяка (V), загрязняющих в процессе переработки конечные продукты. Представленная задача решалась путем восстановления As (V) до As (III), введением в систему иодид-ионов. Для регенерации расходуемых в окислительно-восстановительном процессе иодид-ионов использовался второй восстановитель – аскорбиновая кислота или гидразин. Было установлено, что вывод соединений мышьяка из

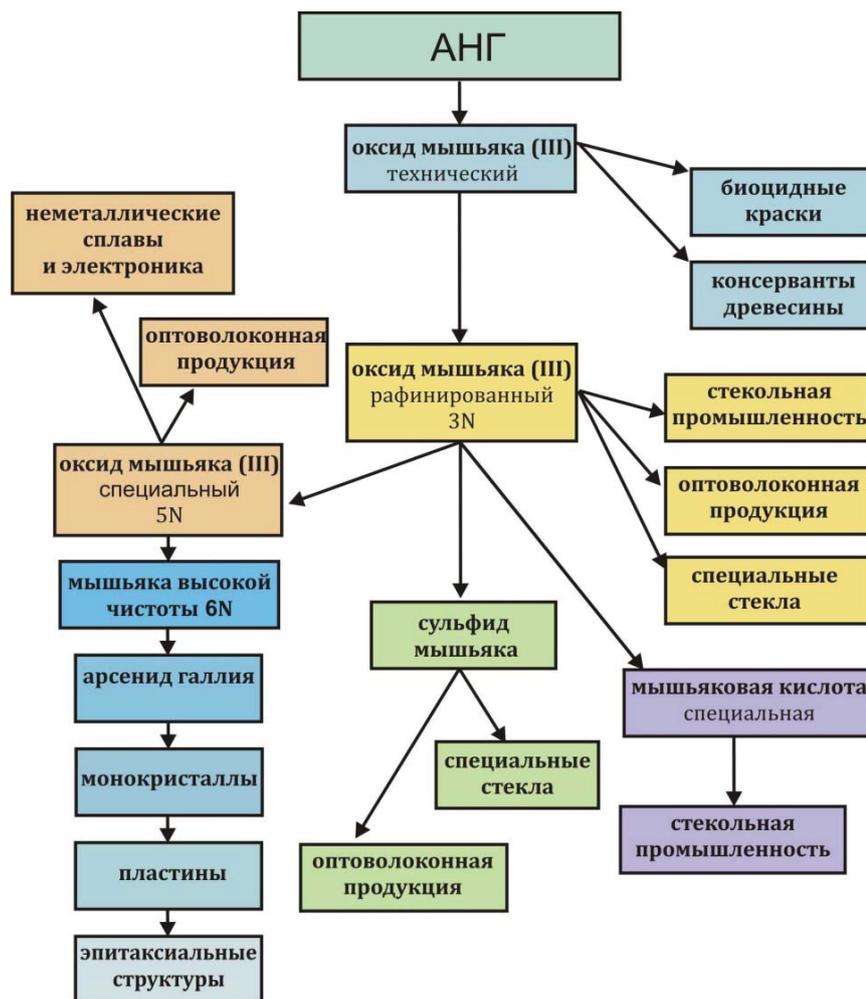


Рис. 1. Области применения продукции, получаемой из АНГ

состава системы возможен путем перевода их в труднорастворимое соединение с использованием в качестве осадителя селективного к арсенату иона Li^+ . Отделенный осадок арсената лития далее растворяют в соляной кислоте и восстанавливают образующую мышьяковую кислоту комбинированным восстановителем – иодидом натрия с солянокислым гидразином. Полученная после восстановления система, содержащая регенерированный хлорид лития, вновь направляется на операцию осаждения арсенат-ионов, тем самым обеспечивается замкнутый цикл по достаточно дорогому реагенту-осадителю – хлориду лития.

Еще одним из ключевых аспектов процессов переработки АНГ являлось превращение больших количеств хлорида натрия, содержащихся в АНГ, в товарный продукт. Данная задача была решена путем очистки хлорида натрия от соединений мышьяка с использованием различных реагентных и адсорбционных методов,

с получением в качестве товарного продукта хлорида натрия марки «промышленный».

Вследствие модернизации различных схем переработки жидких реакционных масс и АНГ была разработана оптимальная на сегодняшний день схема, отличающаяся от предыдущих более рациональными операциями вывода соединений мышьяка (V) и очистки растворов хлорида натрия от примесей мышьяка, что позволило улучшить экономические показатели и повысить экологическую безопасность техпроцесса [3].

Оксид мышьяка (III) является основным сырьем для синтеза большого спектра соединений мышьяка, чем и обуславливается его важная роль в области химии мышьяка. Рафинированный оксид мышьяка (3-4N) применяется в процессах варки шихты для осветления при получении хрусталя, а также специальных и оптических стекол, вводится в ситаллы. Чистый оксид мышьяка (5-6N) применяется для получения элементного мышьяка при производстве бескислородных халькогенидных



стекло, в фармацевтике. Оксид мышьяка (марок $\geq 6N$) находит применение для получения полупроводниковых материалов, элементного мышьяка, трихлорида мышьяка и арсина.

Вся совокупность представленного материала указывает на то, что переработка АНГ в оксид мышьяка (III) является только первой фазой по решению задач получения товарной мышьяк-содержащей продукции различного качества. Следующий этап исследований должен быть направлен на получение более чистой продукции, чем оксид мышьяка (III) марки «технический».

Материалы и методы

Первичную очистку оксида мышьяка (III) проводили в сублимационно-десублимационном модуле. Основными операциями процесса очистки являются: загрузка исходного оксида мышьяка (III) на поддоны модуля, включение контура охлаждения аппарата, включение термонагревателей (температура процесса 550°C , выход аппарата на режим 1 ч), охлаждение модуля, выгрузка продукта.

Более глубокую очистку оксида мышьяка (III) проводили на кварцевой вакуум-термической установке, состоящей из последовательно присоединенных составных частей: испарителя, фильтра, конденсора продукта и конденсора примесей, помещенных в кварцевую печь с тремя зонами нагрева и подключенных к вакуумному насосу. Процесс состоит из следующих операций: загрузка исходного оксида мышьяка (III) в испаритель, сборка установки, помещение установки в кварцевую печь, включение зон нагрева, включение вакуумного насоса, проведение процесса, выгрузка продукта из конденсора.

Анализ на содержание примесей в исходном образце оксида мышьяка (III), образцах оксида мышьяка (III), полученных на разных стадиях очистки с использованием сублимационно-десублимационного модуля, мышьяковой кислоте и элементного мышьяка проводили на атомно-адсорбционном спектрометре contrAA 600 (Analytic Jena) методом электротермической атомизации в графитовой кювете.

Пробоподготовка образцов оксида мышьяка (III) и элементного мышьяка для измерений в атомно-адсорбционном спектрометре проводилась следующим образом. Образец оксида мышьяка (III) или элементного мышьяка, высушенный до постоянной веса массой 1 г, растворяли в 10–15 мл 35% раствора пероксида водорода марки «осч». Полученный раствор количественно переносили в мерную колбу на 100 мл и доводили до метки деионизованной водой.

Анализ на содержание примесей в образце оксида мышьяка (III), полученных после вакуум-термической очистки, проводился методом масс-спектрометрии в независимой лаборатории Evans Analytical Group (Тулуза, Франция).

Результаты и их обсуждение

В промышленности процесс рафинации технического продукта основан на его возгонке при $500\text{--}600^{\circ}\text{C}$ в обжиговых печах [4]. Эффект очистки достигается за 2–3 цикла, причем вследствие захвата парами оксида вещества оксидов и гидроксидов тяжелых металлов получаемые продукты всегда содержат в своем составе примеси, нерастворимые в воде и водном растворе аммиака.

В патенте [5] отражены сублимационные методы и устройства очистки, которые близки по себестоимости к промышленным, но в силу габаритных и иных особенностей конструкций позволяют парам As_2O_3 захватывать меньшее количество примесей тяжелых металлов и получать, соответственно, продукт более высокого качества. К одним из таких устройств относится сублимационно-десублимационный модуль – аппарат, в конструкции которого объединены операции сублимации и конденсации сырья (рис. 2).

Принцип работы аппарата основан на том, что при нагревании сырья в закрытом аппарате происходит его сублимация, достигающая наивысшей скорости при температуре, близкой к температуре кипения сублимируемого вещества (для оксида мышьяка (III) 460°C). Парообразный оксид мышьяка (III) конденсируется (десублимируется) частично в объеме аппарата за счет градиента температуры между нагретым сырьем и охлаждаемыми стенками аппарата. Эта часть сконденсированного вещества в мелкодисперсном состоянии самопроизвольно оседает вниз и попадает в приемник продукта. Другая часть сублимированного оксида мышьяка, обогащенного легколетучими и красящими примесями, конденсируется на внутренней поверхности аппарата. Труднолетучий шлак остается на поддоне. Таким образом, сырье разделяется на три фракции. Весовое соотношение между фракциями регулируется в зависимости от исходного сырья и стадии очистки подбором условий процесса рафинирования (временем нагрева, температурой сублиматора и десублиматора). В зависимости от качества исходного сырья рафинирование оксида мышьяка (III) возможно проводить в несколько стадий. Показатели качества очистки оксида мышьяка (III) на основании содержания примесей ряда элементов приведены в табл. 1.

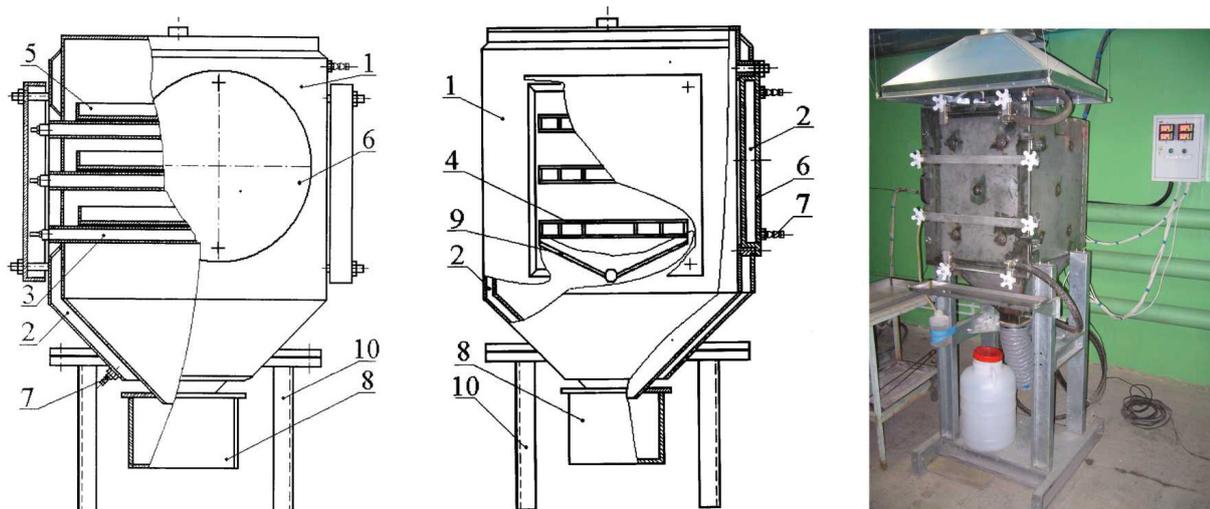


Рис. 2. Сублимационно-десублимационный модуль очистки оксида мышьяка (III): 1 – металлический корпус; 2 – водоохлаждающая рубашка; 3 – трубчатые электронагреватели; 4 – нагревательные полки; 5 – поддоны; 6 – люк установки; 7 – штуцеры для подвода воды; 8 – приемник продукции; 9 – защитный экран; 10 – стойка установки

Таблица 1

Показатели очистки оксида мышьяка (III) на сублимационно-десублимационном модуле

Массовая доля элементов, %	Исходный As_2O_3	Количество сублимационно-десублимационных циклов		
		1	2	3
Ванадий (V)	$1,7 \cdot 10^{-5}$	$9,4 \cdot 10^{-6}$	$7,8 \cdot 10^{-6}$	$7,0 \cdot 10^{-6}$
Свинец (Pb)	$3,4 \cdot 10^{-2}$	$<5 \cdot 10^{-5}$	$<5 \cdot 10^{-5}$	$<5 \cdot 10^{-5}$
Селен (Se)	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$
Железо (Fe)	$4,2 \cdot 10^{-3}$	$1,8 \cdot 10^{-4}$	$2,5 \cdot 10^{-4}$	$7,5 \cdot 10^{-5}$
Медь (Cu)	$1,3 \cdot 10^{-4}$	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$
Марганец (Mn)	$6,7 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$
Титан (Ti)	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$
Хром (Cr)	$4,4 \cdot 10^{-5}$	$4,0 \cdot 10^{-6}$	$8,7 \cdot 10^{-6}$	$5,7 \cdot 10^{-6}$
Никель (Ni)	$8,5 \cdot 10^{-5}$	$<2 \cdot 10^{-5}$	$<2 \cdot 10^{-5}$	$<2 \cdot 10^{-5}$
Кобальт (Co)	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$	$<1 \cdot 10^{-5}$

Использование сублимационно-десублимационных модулей позволяет за небольшое количество циклов очистки получать продукт с содержанием основного вещества на уровне 99,9–99,99 масс. %, чем решается основная задача получения качественного продукта для производства хрусталя, специальных и оптических стекол. Одновременно этот продукт является исходным

сырьем для получения более чистой продукции.

Для решения задач полупроводниковой отрасли разработан метод вакуум-термической очистки в сочетании с процессами сорбции. Тем самым решается задача получения продукта марки $\geq 6N$. На основании указанного метода была создана модифицированная установка, выполненная из кварцевого стекла (рис. 3).

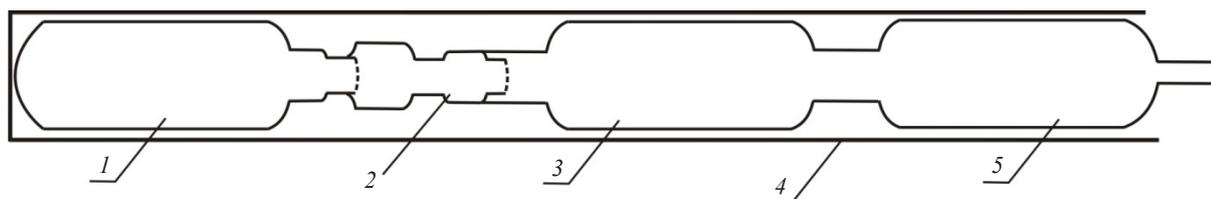


Рис. 3. Установка модифицированной вакуум-термической очистки оксида мышьяка: 1 – испаритель; 2 – фильтр; 3 – конденсор оксида мышьяка (III); 4 – конденсор примесей; 5 – кварцевая печь



Установка отличается от обычной вакуум-термической сборки тем, что между испарителем и конденсором продукта устанавливаются один или несколько фильтров, заполненных специальным сорбентом. Такая модификация позволяет в одном аппарате совмещать операции сублимационной и сорбционной очистки с получением за один цикл продукта более высокого качества. Для увеличения производительности процесса указанный способ очистки помимо кварца был реализован в металле (рис. 4).

Результаты по очистке образца оксида мышьяка (III) представленным методом приведены в табл. 2.



Рис. 4. Установка вакуум-термической очистки оксида мышьяка (III)

Таблица 2

Показатели очистки образца оксида мышьяка (III) на модифицированной вакуум-термической установке*, %

Элемент	Массовая доля	Элемент	Массовая доля	Элемент	Массовая доля
Li	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Ga	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Nd	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
Be	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Ge	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Sm	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
B	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	As	Matrix	Eu	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
C	–	Se	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Gd	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
N	–	Br	$<5,0 \cdot 10^{-6}$	Tb	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
O	Matrix	Rb	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Dy	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
F	$<5,0 \cdot 10^{-6}$	Sr	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Ho	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
Na	$9,0 \cdot 10^{-6}$	Y	$<5,0 \cdot 10^{-6}$	Er	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
Mg	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Zr	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Tm	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
Al	$4,0 \cdot 10^{-6}$	Nb	$<5,0 \cdot 10^{-6}$	Yb	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
Si	$4,1 \cdot 10^{-4}$	Mo	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Lu	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
P	$<1 \cdot 10^{-6}$	Ru	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Hf	$<1,0 \cdot 10^{-6}$
S	$1,5 \cdot 10^{-5}$	Rh	$<5,0 \cdot 10^{-5}$	Ta	–
Cl	$3,0 \cdot 10^{-6}$	Pd	$<1,0 \cdot 10^{-6}$	W	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
K	$2,5 \cdot 10^{-5}$	Ag	$<5,0 \cdot 10^{-6}$	Re	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
Ca	$6,5 \cdot 10^{-5}$	Cd	$<5,0 \cdot 10^{-5}$	Os	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
Sc	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	In	Binder	Ir	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
Ti	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Sn	$<5,0 \cdot 10^{-6}$	Pt	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
V	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Sb	$<5,0 \cdot 10^{-6}$	Au	$<5,0 \cdot 10^{-5}$
Cr	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Te	$<5,0 \cdot 10^{-6}$	Hg	$<1,0 \cdot 10^{-5}$
Mn	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	I	$<5,0 \cdot 10^{-5}$	Tl	$<1,0 \cdot 10^{-6}$
Fe	$5,0 \cdot 10^{-6}$	Cs	$<5,0 \cdot 10^{-5}$	Pb	$<5,0 \cdot 10^{-6}$
Co	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Ba	$<1,0 \cdot 10^{-6}$	Bi	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
Ni	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	La	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	Th	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
Cu	$2,0 \cdot 10^{-6}$	Ce	$<5,0 \cdot 10^{-7}$	U	$<5,0 \cdot 10^{-7}$
Zn	$1,0 \cdot 10^{-6}$	Pr	$<5,0 \cdot 10^{-7}$		

Примечание. *Анализы были проведены в независимой лаборатории Evans Analytical Group (Тулуза, Франция).

Как было упомянуто ранее, оксид мышьяка (III) является исходным сырьем для получения широкого спектра (порядка 95%) мышьяксодер-

жащих веществ, и его чистота будет определять применение синтезируемого из него соединения для той или иной отрасли промышленности.



Одним из таких соединений является мышьяковая кислота, которую получают путем окисления оксида мышьяка (III) азотной кислотой или пероксидом водорода. Степень чистоты получаемой кислоты полностью идентична показателям оксида мышьяка (III), из которого она была синтезирована. В табл. 3 приведены данные, отражающие степень чистоты мышьяковой кислоты, синтезированной из оксида мышьяка (III), полученного после 3 циклов сублимации–десублимации.

Таблица 3

Показатели качества мышьяковой кислоты

Массовая доля элементов, %	Мышьяковая кислота
Ванадий (V)	$4,9 \cdot 10^{-6}$
Свинец (Pb)	$<5 \cdot 10^{-5}$
Селен (Se)	$<1 \cdot 10^{-5}$
Железо (Fe)	$5,5 \cdot 10^{-5}$
Медь (Cu)	$<1 \cdot 10^{-5}$
Марганец (Mn)	$<1 \cdot 10^{-5}$
Титан (Ti)	$<1 \cdot 10^{-5}$
Хром (Cr)	$4,3 \cdot 10^{-6}$
Никель (Ni)	$<2 \cdot 10^{-5}$
Кобальт (Co)	$<1 \cdot 10^{-5}$

Мышьяковую кислоту марки 6N применяют для проведения электролиза с получением высокочистого арсина для полупроводниковой промышленности.

Другим продуктом является высокочистый элементный мышьяк, применяемый для получения сплавов с металлами, а также для синтеза материалов электронной техники. И в этом случае степень чистоты получаемого продукта определяется качеством исходного оксида мышьяка. Мышьяк для получения сплавов синтезировался путем восстановления оксида мышьяка углем или графитом. Характеристики полученного продукта приведены в табл. 4.

Таблица 4

Характеристики элементного мышьяка

Массовая доля элементов, %	Элементный мышьяк
Ванадий (V)	$9,0 \cdot 10^{-6}$
Свинец (Pb)	$<5 \cdot 10^{-5}$
Селен (Se)	$<1 \cdot 10^{-5}$
Железо (Fe)	$9,5 \cdot 10^{-5}$
Медь (Cu)	$<1 \cdot 10^{-5}$
Марганец (Mn)	$<1 \cdot 10^{-5}$
Титан (Ti)	$<1 \cdot 10^{-5}$
Хром (Cr)	$7,7 \cdot 10^{-6}$
Никель (Ni)	$<2 \cdot 10^{-5}$
Кобальт (Co)	$<1 \cdot 10^{-5}$

Мышьяк высокой степени чистоты преимущественно получается по трихлоридной технологии [6]. Ее недостатками являются:

- низкий выход готовой продукции (не выше 70%);
- большие потери мышьяка с солянокислыми мышьяковыми стоками (до 30%);
- пары трихлорида мышьяка токсичны, агрессивны, легко гидролизуются, что требует высоких затрат на очистку стоков и газовых выбросов (до 70% всех капитальных и эксплуатационных затрат при создании производства).

Тем не менее именно трихлоридная технология в промышленных масштабах используется для получения мышьяка большинством зарубежных фирм. Одновременно с этим производится высокочистый трихлорид мышьяка для эпитаксии.

Нами разработан подход, базирующийся на предварительной глубокой очистке оксида мышьяка (III) с последующим восстановлением до элементного мышьяка.

Подход включает:

- очистку оксида мышьяка (III) до предельно чистого состояния теми методами, которые были созданы ($\geq 6N$);
- вывод из полученного оксида мышьяка (III) максимально возможного количества неметаллов (S, Se, Te, C) путем проведения сублимации в окислительной атмосфере;
- восстановление оксида в элементный мышьяк марки $\geq 6N$;
- доочистка, при необходимости, мышьяка известными методами.

Такой подход в силу простоты, эффективности, высокой производительности и низкой себестоимости позволяет получать элементный мышьяк высокой чистоты при минимизации затрат на очистку.

Так же, как и при получении чистой мышьяковой кислоты, степень чистоты получаемого мышьяка предопределяется качеством очистки оксида мышьяка (III).

Указанный подход позволяет получать элементный мышьяк высокой степени чистоты, исключая технические решения, связанные с синтезом трихлорида мышьяка.

Выводы

Применение арсенита натрия гидролизного в качестве нового вида сырья для получения широкого спектра товарной мышьяксодержащей продукции является важным аспектом в современной химии мышьяка и мышьяксодержащих соединений. Разработка методов очистки основного продукта переработки АНГ – оксида мышьяка (III) открывает возможность использования его для



синтеза различных соединений, применяемых в стекольной и полупроводниковой промышленно-сти, микроэлектронике, оптоволоконной технике.

Список литературы

1. Пат. 2009276 РФ. Получение тонкодисперсного порошка элементарного мышьяка путем электролиза водно-щелочных растворов его соединений / В. А. Петрунин, А. П. Томилов, Ю. И. Баранов, Б. А. Кузнецов, Ю. И. Розин, А. В. Сметанин, С. В. Гореленко, М. К. Смирнов, Н. И. Немчиков. № 5035609/02. 1994.
2. *Елисеев Д. А.* Физико-химические основы процесса разделения «арсенита натрия гидролизного» на базовые компоненты : дис. ... канд. хим. наук. Саратов, 2008. 129 с.
3. *Демахин А. Г., Акчурин С. В., Ващенко Г. А., Федоров В. А.* Оптимизация экологических и экономических задач при переработке сырья, полученного из реакционных масс люизита, в оксид мышьяка марки технический // Изв. высших учебных заведений. Химия и химическая технология. 2016. Т. 59, № 11. С. 117–123.
4. *Копылов Н. И. Каминский Ю. Д.* Мышьяк / под ред. Г. А. Толстикова. Новосибирск : Сиб. универ. изд-во, 2004. 367 с.
5. Пат. 68329 РФ. Устройство для извлечения и рафинации оксида мышьяка / Ю. И. Кондратьев, В. А. Швейкин, В. Н. Мишин. А62D. 2007.
6. *Федоров В. А.* Гидродинамика и кинетика ректификационной очистки трихлорида мышьяка // Высокочистые вещества. 1993. № 4. С. 90–97.

Образец для цитирования:

Демахин А. Г., Акчурин С. В., Федоров В. А. Применение арсенита натрия гидролизного для получения чистой мышьяксодеждающей продукции // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 11–17. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-11-17>

Application of the Sodium Arsenite Hydrolysed for Obtaining Pure Arsenic Products

A. G. Demakhin, S. V. Akchurin, V. A. Fedorov

Anatoliy G. Demakhin, <https://orcid.org/0000-0002-2506-0005>, State Scientific-Research Institute of Industrial Ecology, 66 Moskovskaya Str., Saratov 410002, Russia, demakhin@rambler.ru

Sergey V. Akchurin, <https://orcid.org/0000-0002-7234-9098>, LLC NITC «Ecochim», 66 Moskovskaya Str., Saratov 410002, Russia, akchurin.serzh@yandex.ru

Valentin A. Fedorov, <https://orcid.org/0000-0002-7912-7535>, Kur-nakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 31 Leninsky Av., Moscow 119991, Russia, fmv1971@rambler.ru

The article presents information about the possibility of using sodium arsenite hydrolyzed as a new type of arsenic-containing raw material for obtaining marketable products of various qualities. The methods of purification of arsenic (III) oxide as the main product of sodium arsenite hydrolyzed processing to various degrees of purity (3–6N) are given, which allows using it as a raw material for the synthesis of a wide range of arsenic compounds: arsenic acid, elemental arsenic, arsenic trichloride. The process of sublimation/desublimation and vacuum-thermal purification of arsenic (III) oxide from impurities is considered. The developed methods for the purification of arsenic (III) oxide open up the possibility of using it for the synthesis of various compounds used in the glass and semiconductor industry, microelectronics, and fiber optic technology.

Keywords: sodium arsenite hydrolysis, arsenic-containing compounds, purification technology, arsenic oxide (III).

References

1. Petrunin V. A., Tomilov A. P., Baranov U. I., Kuznetsov B. A., Rozin U. I., Smetanin A. B., Gorelenko S. V., Smirnov M. K., Nemchikov N. I. Poluchenie tonkodispersnogo poroshka ehlenentnogo mysh'yaka pytem ehlektroliza vodno-schelochnyh rastvorov ego soedinenij [Obtaining fine powder of elemental arsenic by electrolysis of aqueous-alkaline solutions of its compounds]. Pat. RF, no. 2009276, 1994.
2. Eliseev D. A. Physical and chemical bases of the process of separation of «sodium arsenite hydrolysis» into basic components. Thesis Dis. Cand. Sci. (Chem.). Saratov, 2008. 129 p. (in Russian).
3. Demakhin A. G., Akchurin S. V., Vashenko G. A., Fedorov V. A. Optimization of ecological and economical tasks while processing raw materials obtained from lewisite reaction masses into commercial arsenic oxide. *Izv. Vyssh. Ucheb. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.*, 2016, vol. 59, no. 11, pp. 117–123 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.6060/tcct.20165911.5450>
4. Kopylov N. I., Kaminskiy U. D. *Arsenic*. Ed. by Y. A. Tolstikov. Novosibirsk, Sib. Univer. Izd-vo, 2004. 367 p. (in Russian).
5. Kondratev U. I., Shveikin V. A., Mishin V. N. Ustrojstvo dlya izvlecheniya i rafinatsii oksida mysh'yaka [Arsenic oxide extraction and refining device]. Pat. RF, no. 68329, 2007.
6. Fedorov V. A. Hydrodynamics and kinetics of distillation purification of arsenic trichloride. *High Purity Substances*. 1993, no. 4, pp. 90–97 (in Russian).

Cite this article as:

Demakhin A. G., Akchurin S. V., Fedorov V. A. Application of the Sodium Arsenite Hydrolysed for Obtaining Pure Arsenic Products. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 11–17 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-11-17>



УДК 546.65.07+546.65.04

Иминодисукцинаты редкоземельных элементов

Г. Н. Макушова

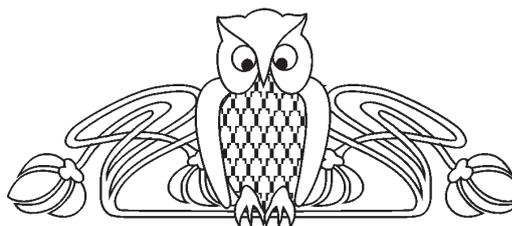
Макушова Галина Николаевна, кандидат химических наук, доцент кафедры общей и неорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, gmakushova@mail.ru

Синтезированы иминодисукцинаты редкоземельных элементов (РЗЭ). Исходными веществами служили иминодиянтарная кислота и хлориды РЗЭ. Иминодиянтарную кислоту растворяли в 15%-ном растворе аммиака. Затем к хлоридам соответствующих РЗЭ добавляли по каплям раствор аммонийной соли иминодиянтарной кислоты. рН полученных растворов доводили до 3 добавлением раствора аммиака, при этом наблюдалось обильное выпадение осадков иминодисукцинатов РЗЭ. Состав полученных соединений отвечает общей формуле $MeHC_8H_7O_8N \cdot nH_2O$, где $Me = La, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, n = 1-5$. Полученные соединения индивидуализированы методами химического анализа, рентгенографии и термогравиметрии. Рентгенографическое исследование показало, что полученные соединения являются индивидуальными кристаллическими веществами, кристаллизующимися в двух изоструктурных группах. Термогравиметрическое исследование подтвердило состав кристаллогидратов и показало, что разложение протекает в 2 стадии – дегидратация и разложение безводных солей. Состав конечных продуктов разложения подтвержден рентгенографически. Изучена растворимость иминодисукцинатов в воде в интервале температур 25–60°C. Иминодисукцинаты относятся к малорастворимым соединениям. Изменение величины растворимости в зависимости от температуры и РЗЭ носит немонотонный характер.

Ключевые слова: иминодисукцинаты, комплексы РЗЭ, термогравиметрический анализ, рентгенографический анализ, растворимость в воде.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-18-21>

Важной задачей современной неорганической химии является поиск новых комплексобразующих агентов, которые обладали бы набором свойств, обеспечивающих их широкое практическое применение. Одним из таких агентов является диянтарная кислота и ее соли и производные. Например, этилендиянтарная кислота используется в качестве хелатообразующего агента для селективного осаждения свинца из продуктов его плавильной обработки с целью выделения следовых количеств индия, содержащегося в свинцовой руде [1]. Эффективность осаждения свинца при использовании этилендиянтарной кислоты составляет до 82%. Замещенные диянтарные кислоты, включая иминодиянтарную кислоту,



также позволяют повысить мобильность биологически важных микроэлементов, таких как железо, в средах, где происходит рост растений. Например, в статье [2] сообщается, что замещенные янтарные кислоты в щелочной среде образуют растворимые комплексы железа, тем самым увеличивая его мобильность и ускоряя рост редиса. Иминодиянтарная кислота может использоваться для удаления тяжелых металлов из окружающей среды. Так, в статье [3] сообщается, что данная кислота образует прочные комплексы с ионами тяжелых металлов, что позволяет осаждать до 98% меди (II), 82% железа (III), 67% никеля (II) и 55% кобальта (II), содержащихся в сточных водах промышленных предприятий. Данная кислота также успешно использовалась для очистки зараженной радиоактивным цезием почвы после аварии АЭС в г. Фукусима (Япония) [4].

Таким образом, иминодиянтарная кислота является эффективным комплексообразователем и является биodeградируемой, что открывает широкие возможности для ее применения в области химии РЗЭ. Анализ литературных данных показал, что иминодисукцинаты РЗЭ изучены только в растворе, а в твердом виде получен только иминодисукцинат неодима [5]. В настоящей работе приведены данные по получению иминодисукцинатов РЗЭ и некоторые их физико-химические характеристики.

Материалы и методы

Исходными веществами для получения иминодисукцинатов РЗЭ служили иминодиянтарная кислота и хлориды РЗЭ. Иминодиянтарная кислота плохо растворима в воде, поэтому ее растворяли в 15%-ном растворе аммиака. Затем к хлоридам соответствующих РЗЭ добавляли по каплям раствор аммонийной соли иминодиянтарной кислоты. рН полученных растворов доводили до 3 добавлением раствора аммиака, при этом наблюдалось обильное выпадение осадков иминодисукцинатов РЗЭ. После кристаллизации в течение суток осадок отфильтровывали и отмывали от ионов Cl^- .

Согласно данным элементного анализа, полученные соединения являются кристаллогидратами состава $MeHC_8H_7O_8N \cdot nH_2O$. Результаты элементного анализа приведены в табл. 1.



Таблица 1

Результаты элементного анализа иминодисукцинатов РЗЭ ($L = C_8H_7O_8N^{4-}$)

Формула химического соединения	Содержание, %							
	Металл		Углерод		Водород		Азот	
	Рассчитано	Найдено	Рассчитано	Найдено	Рассчитано	Найдено	Рассчитано	Найдено
LaHL · 3H ₂ O	31,65	31,96	21,87	21,95	3,19	3,21	3,19	3,23
CeHL · 2H ₂ O	33,18	33,52	21,82	21,95	2,84	2,91	2,84	2,95
PrHL · 5H ₂ O	29,55	29,65	20,13	20,28	3,77	3,85	2,93	3,01
NdHL · 4H ₂ O	31,22	31,43	20,78	21,00	3,46	3,61	3,03	3,08
SmHL · 2H ₂ O	34,76	34,85	22,20	22,45	2,78	2,85	3,24	3,31
GdHL · 2H ₂ O	36,37	36,45	21,12	21,52	2,72	2,82	3,25	3,31
TbHL · 4H ₂ O	33,18	33,48	20,04	20,54	3,36	3,44	2,92	3,31
DyHL · 3H ₂ O	34,98	34,98	20,75	20,90	3,03	3,20	3,03	3,15
HoHL · 2H ₂ O	36,74	36,90	21,48	21,52	2,68	2,71	3,13	3,21
ErHL · H ₂ O	38,60	38,71	22,26	22,31	2,32	2,41	3,25	3,35

Для подтверждения индивидуальности иминодисукцинатов РЗЭ данные вещества были исследованы рентгенографически. Исследование проводили по методу Дебая–Шеррера. Съемку дифрактограмм осуществляли на дифрактометре ДРОН-2. В качестве источника

излучения служила трубка БСВ-4 с медным зеркалом анода. Межплоскостные расстояния рассчитывали с помощью таблиц Гиллера [6]. Значения межплоскостных расстояний и интенсивностей рефлексов представлены в табл. 2.

Таблица 2

Значения межплоскостных расстояний и интенсивностей рефлексов иминодисукцинатов РЗЭ ($L = C_8H_7O_8N^{4-}$)

LaHL · 3H ₂ O		CeHL · 2H ₂ O		PrHL · 5H ₂ O		NdHL · 4H ₂ O		SmHL · 2H ₂ O	
$d, \text{Å}$	$I_{\text{отн}}$								
–	–	–	–	10,80	25	10,75	30	10,78	27
8,50	90	7,18	100	8,07	50	8,05	80	3,06	100
6,10	70	5,98	100	6,46	40	6,45	50	6,49	50
–	–	–	–	5,59	30	5,58	35	5,56	40
4,83	60	4,86	60	4,57	100	4,56	100	4,55	100
3,81	20	3,80	46	3,80	20	3,80	20	3,79	15
3,65	40	3,63	49	–	–	–	–	–	–
3,45	35	3,50	50	3,50	20	3,49	19	3,48	15
2,85	100	2,80	37	2,65	28	2,60	20	2,55	17
GdHL · 2H ₂ O		TbHL · 4H ₂ O		DyHL · 3H ₂ O		HoHL · 2H ₂ O		ErHL · H ₂ O	
–	–	–	–	10,90	17	10,79	25	10,79	35
8,49	88	7,18	100	8,06	56	8,06	61	8,06	100
6,09	76	5,99	100	6,48	38	6,47	40	6,47	50
–	–	–	–	5,61	34	5,58	35	5,57	45
4,82	63	4,84	59	4,58	100	4,55	100	4,60	100
3,80	19	3,82	45	3,71	17	3,39	21	–	–
3,65	39	3,66	50	–	–	–	–	3,65	32
3,48	35	3,49	50	3,52	12	3,49	19	–	–
2,83	100	2,83	41	2,58	25	2,60	19	2,82	27



Результаты и их обсуждение

Из сравнения межплоскостных расстояний иминодисукцинатов РЗЭ видно, что соли празеодима, неодима, самария, диспрозия, гольмия и эрбия образуют одну изоструктурную группу. Соли лантана, церия, гадолиния и тербия несколько отличаются от этой группы. Значения межплоскостных расстояний исходных компонентов иминодисукцината аммония и хлоридов РЗЭ отсутствуют в полученных соединениях, что позволяет сделать вывод об их индивидуальности.

Для подтверждения состава кристаллогидратов иминодисукцинатов РЗЭ и изучения их термической устойчивости было проведено термическое и термогравиметрическое исследование соединений. Исследование проводилось на венгерском дериватографе ОД-103 в политермическом режиме в интервале температур 20–1000 °С. Результаты анализа кривой изменения массы (ТГ) и дифференциальных кривых изменения температуры (ДТА) и массы (ДТГ) приведены в табл. 3.

Таблица 3

Основные термические и термогравиметрические данные процесса термического разложения иминодисукцинатов РЗЭ ($L = C_8H_7O_8N^{4-}$)

Соединение	I стадия – дегидратация			II стадия – разложение			Расчет на конечный продукт, %	
	Температурный интервал, °С	Максимум по ДТА, °С	Максимум по ДТГ, °С	Температурный интервал, °С	Максимум по ДТА, °С	Максимум по ДТГ, °С	Теоретический	По ТГ
LaHL · 3H ₂ O	60–210	130	120	210–790	290, 460, 700	360	35,6	36,0
CeHL · 2H ₂ O	40–240	140	120	240–700	380	340	40,8	40,0
PrHL · 5H ₂ O	40–220	120	110	220–700	380, 590	370, 410	35,7	35,0
NdHL · 4H ₂ O	60–240	150	140	240–790	300, 470, 720	290, 420	36,4	36,0
SmHL · 2H ₂ O	70–240	140	130	240–720	370, 470, 670	370	40,3	39,5
GdHL · 2H ₂ O	100–220	150	140	220–750	400, 510	400	35,8	36,0
TbHL · 4H ₂ O	70–220	150	140	220–780	400, 430	390	39,3	40,0
DyHL · 3H ₂ O	100–250	170	160	250–760	390, 510	390	40,3	40,5
HoHL · 2H ₂ O	100–220	170	140	220–700	230, 380, 520	380	42,0	42,0
ErHL · H ₂ O	100–220	180	170	220–790	280, 410, 500	400	44,4	45,0

Как видно из табл. 3, разложение иминодисукцинатов РЗЭ протекает однотипно. На кривых ТГ нет четких площадок, а лишь небольшие перегибы, отвечающие существованию безводных солей. Очевидно, это связано с тем, что дегидратация происходит одновременно с разложением соли. Дегидратация солей происходит в области температур 40–100 °С. Интенсивное разложение солей наблюдается в области температур 210–790 °С. В этой области наблюдаются эндотермические эффекты, переходящие в сложные экзотермические, вызванные наложением двух процессов – разложения (эндотермический процесс) и окисления продуктов разложения (экзотермический процесс), причем последний является преобладающим.

Для подтверждения состава конечных продуктов разложения иминодисукцинатов РЗЭ было проведено изотермическое прокалывание при 900 °С. Полученные продукты подвергли рентгенофазовому анализу. Идентификация с помощью электронной базы данных ASTM показала, что конечные продукты разложения представляют собой оксиды состава Me₂O₃, где Me = La, Nd, Sm, Gd, Dy, Ho, Er; а также CeO₂,

Pr₆O₁₁ и Tb₄O₇. Расчет на конечный продукт подтвердил состав полученных кристаллогидратов.

Определена величина растворимости иминодисукцинатов РЗЭ в воде при температурах 25, 40 и 60 °С. Результаты по изучению температурной растворимости солей в воде представлены в табл. 4.

Таблица 4

Температурная зависимость растворимости иминодисукцинатов РЗЭ в воде (г безводной соли в 100 г воды)

Иминодисукцинат	Температура, °С		
	25	40	60
La	0,13	0,13	0,13
Ce	0,08	0,07	0,08
Pr	0,14	0,14	0,14
Nd	0,27	0,27	0,27
Sm	0,15	0,15	0,15
Gd	0,03	0,03	0,04
Tb	0,02	0,03	0,03
Dy	0,15	0,17	0,27
Ho	0,16	0,16	0,23
Er	0,14	0,16	0,30



Как видно из табл. 4, иминодисукцинаты РЗЭ относятся к малорастворимым соединениям. Величина растворимости в зависимости от температуры и РЗЭ носит немонотонный характер.

Таким образом, синтезированные иминодисукцинаты РЗЭ представляют большой интерес как для развития собственно координационной химии, так и для решения чисто прикладных задач, так как они могут найти применение в нефтегазовой промышленности, сельском хозяйстве, пищевой промышленности и медицине.

Список литературы

1. Sawai H., Rahman I. M. M., Tsukagoshi Y., Wasabayashi T., Maki T., Mizutani S., Hasegawa H. Selective recovery of indium from lead-smelting dust // *Chemical Engineering Journal*. 2015. Vol. 277. P. 219–228. DOI: 10.1016/j.cej.2015.04.112
2. Hasegawa H., Rahman M. A., Saitou K., Kobayashi M., Oku-

mura C. Influence of chelating ligands on bioavailability and mobility of iron in plant growth media and their effect on radish growth // *Environmental and Experimental Botany*. 2011. Vol. 71. P. 345–351. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2011.01.004

3. Kołodyńska D. Iminodisuccinic acid as a new complexing agent for removal of heavy metal ions from industrial effluents // *Chemical Engineering Journal*. 2009. Vol. 152. P. 277–288.
4. Sawai H., Rahman I. M. M., Lu C., Begum Z. A., Saito M., Hasegawa H. Extractive decontamination of cesium-containing soil using a biodegradable aminopolycarboxylate chelator // *Microchemical Journal*. 2017. Vol. 134. P. 230–236. DOI: 10.1016/j.cej.2009.05.002
5. Муратова Н. Н., Мартыненко Л. И. Изучение комплексообразования редкоземельных элементов с этилендиаминдигидратной кислотой методом pH-метрического титрования // *Журнал неорганической химии*. 1979. Т. 24, № 6. С. 1543–1545.
6. Гиллер Я. Л. Таблицы межплоскостных расстояний : в 2 т. Т. 2 : Никелевый, медный, молибденовый и селенный аноды. М. : Недра, 1966. 362 с.

Образец для цитирования:

Макушова Г. Н. Иминодисукцинаты редкоземельных элементов // *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 18–21. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-18-21>

Rare Earth Metal Iminodisuccinates

G. N. Makushova

Galina N. Makushova, <https://orcid.org/0000-0002-5768-5595>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, gmakushova@mail.ru

Iminodisuccinates of several rare earth metals (REM) have been synthesized as a result of reaction between freshly prepared ammonia iminodisuccinate and REM chloride solutions at pH 3. According to element analysis data, the chemical composition of synthesized salts is $\text{MeHC}_8\text{H}_7\text{O}_8\text{N} \cdot n\text{H}_2\text{O}$, where Me = La, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, $n = 1-5$. Synthesized compounds were further analyzed via X-ray diffraction and thermogravimetric analysis. According to X-ray data, REM iminodisuccinates form well-defined crystals in two distinct isostructural groups. Thermal decomposition of such compounds have two stages – dehydration and decomposition of anhydrous to corresponding REM oxides. The composition of final production of thermal decomposition is proved by X-ray crystallographic data. Solubility of synthesized compounds in water within the temperature range of 25–60 °C has also been studied. Iminodisuccinates have low water solubility that may vary depending on the nature of REM ion and temperature.

Keywords: iminodisuccinates, REM complexes, thermogravimetric analysis, X-ray diffraction analysis, water solubility.

References

1. Sawai H., Rahman I. M. M., Tsukagoshi Y., Wasabayashi T., Maki T., Mizutani S., Hasegawa H. Selective

recovery of indium from lead-smelting dust. *Chemical Engineering Journal*, 2015, vol. 277, pp. 219–228. DOI: 10.1016/j.cej.2015.04.112

2. Hasegawa H., Rahman M. A., Saitou K., Kobayashi M., Okumura C. Influence of chelating ligands on bioavailability and mobility of iron in plant growth media and their effect on radish growth. *Environmental and Experimental Botany*, 2011, vol. 71, pp. 345–351. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2011.01.004
3. Kołodyńska D. Iminodisuccinic acid as a new complexing agent for removal of heavy metal ions from industrial effluents. *Chemical Engineering Journal*, 2009, vol. 152, pp. 277–288.
4. Sawai H., Rahman I. M. M., Lu C., Begum Z. A., Saito M., Hasegawa H. Extractive decontamination of cesium-containing soil using a biodegradable aminopolycarboxylate chelator. *Microchemical Journal*, 2017, vol. 134, pp. 230–236. DOI: 10.1016/j.cej.2009.05.002
5. Muratova N. N., Martynenko L. I. Izuchenie kompleksobrazovaniya redkozemel'nykh ehlementov s ehtilendiamindiyantarnoj kislotoj metodom pH-metricheskogo titrovaniya [Study of complexing of rare earths with ethylenediaminedisuccinic acid by the method of pH-metric titration]. *Zhurnal Neorganicheskoy Khimii*, 1979, vol. 24 (6), pp. 1543–1545 (in Russian).
6. Giller Ya. L. *Tablitsy mezhploskostnykh rasstoyaniy : v 2 t. T. 2: Nikeleviy, medniy, molibdenoviy i serebryaniy anody* [Interplanar spacing tables: in 2 vol. Vol. 2. Nickel, copper, molybdenum and silver anodes]. Moscow, Nedra Publ., 1996. 362 p. (in Russian).

Cite this article as:

Makushova G. N. Rare Earth Metal Iminodisuccinates. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 18–21 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-18-21>



УДК 544:[547.917+544.015.4]

Ионная агрегация макромолекул как причина кинетической (не)стабильности физико-химических свойств растворов хитозана



В. И. Фомина, Н. А. Солонина, А. Б. Шиповская

Фомина Валентина Ивановна, старший научный сотрудник отдела высокомолекулярных соединений Образовательно-научного института наноструктур и биосистем, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, fomina.oni@yandex.ru

Солонина Нина Алексеевна, ведущий инженер кафедры полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, soloninana@info.sgu.ru

Шиповская Анна Борисовна, доктор химических наук, заведующий кафедрой полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, начальник отдела высокомолекулярных соединений Образовательно-научного института наноструктур и биосистем, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, shipovskayaab@yandex.ru

Исследованы гидродинамические, оптические, коллоидно-флокулирующие, пленкообразующие, структурно-морфологические свойства исходных и хранившихся в течение ~1850 сут разбавленных растворов хитозана (50–640 кДа) в ацетатном буфере (0.33 М CH_3COOH + 0.2 М CH_3COONa). Установлено, что понижение во времени предельного числа вязкости растворов в большей степени проявляется для переосажденных и высокомолекулярных образцов хитозана. На эффект падения вязкости не влияет использование для растворения полимера обычной или стерильной дегазированной дистиллированной воды. В процессе хранения обнаружены также понижение значений коэффициента самодиффузии макромолекул и увеличение инкремента показателя преломления растворов. При этом оптические, электрохимические и флокулирующие свойства полимерной системы практически не изменяются. Предложена диаграмма кинетики физико-химических свойств системы хитозан–ацетатный буфер, включающая три временных этапа с различным характером структурообразования. Высказано предположение, что особенности свойств кислотно-солевых растворов во времени контролируются образованием ионных пар поликатиона с ацетат анионами, их мультиплетов с последующей ионной агрегацией сформировавшихся структур и фазовым разделением полимерной системы по типу жидкость–кристалл. Обнаружено, что самопроизвольно выделившаяся фаза представлена высококристаллической полиморфной модификацией полимера с характерными признаками «безводной» кристаллической решетки. **Ключевые слова:** вязкость, кинетика, кристаллизация, разбавленные растворы, хитозан.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-22-38>

Несмотря на продолжительные многочисленные исследования, проблема получения молекулярных растворов хитозана до сих пор актуальна

и вызывает интерес ученых различных областей химии, биохимии, биофизики, а также медицины и фармацевтики. Это обусловлено, прежде всего, получением достоверной информации о фундаментальных характеристиках макромолекул, а также расширяющимися направлениями практического потенциала данного полимера. Известно, что гомогенность растворов зависит от степени деацетилирования и молекулярной массы полимера [1, 2], природы растворителя [3, 4], pH среды [5], химической модификации хитозана [6] и др. Диспергирование хитозана в водных растворах неорганических или органических кислот, кислых буферных средах приводит к растворению образца вследствие солеобразования. Однако даже в визуально прозрачных разбавленных растворах хитозана, особенно высокомолекулярного, зафиксировано наличие агрегатов макромолекул [7, 8] и/или надмолекулярных частиц субмикронного размера [9]. Попытки растворения агрегатов варьированием pH, ионной силы и температуры, а также их удаления методами ультрацентрифугирования и мембранной фильтрации часто не обеспечивали получение молекулярных растворов этого аминополисахарида [7]. Более того, удаление имеющихся агрегатов из раствора приводило к образованию новых.

В этой связи исходный, даже разбавленный раствор хитозана следует рассматривать как структурно-сложную систему, состоящую из раствора макромолекул (молекулярная составляющая – МС) и построенных из них надмолекулярных частиц (надмолекулярная составляющая – НС). Предпосылки данного заключения вытекают из сравнительно высокой степени кристалличности хитозана, которая может достигать 40% даже при традиционном методе щелочного деацетилирования хитина в жестких условиях [10]. Об этом свидетельствует и наблюдаемый разброс констант в уравнении Марка–Куна–Хаувинка для одной и той же растворяющей среды (H_2O + 0.33М CH_3COOH + 0.2М CH_3COONa) [11, 12], а также невозможность достоверного определения молекулярной массы этого полимера методом светорассеяния [7]. Кроме того, доказательством наличия НС может служить улуч-



шение растворимости хитозана в водно-кислой среде (угольной кислоте, $\text{pH} < 3$) под давлением 200 атм и при температуре 60°C [13]. В работе [14] было обнаружено ускорение растворимости хитозана в водно-кислой среде ($\text{pH} = 3.3\text{--}3.6$) с 5–8 ч до 20–30 с после механической активации гидроакустическим воздействием. При этом наблюдаемое снижение предельного числа вязкости ($[\eta]$) системы, определяющего молекулярную массу и конформацию макроцепи, после активации составило всего лишь 5–7%. В работах [15, 16] наблюдали снижение $[\eta]$ водно-кислотных растворов хитозана после переосаждения полимера. Вместе с тем молекулярная масса, определенная прямым диффузионно-седиментационным методом, до и после 3-кратного переосаждения оставалась постоянной. Авторы [16] объясняют наблюдаемое снижение значений $[\eta]$ растворов переосажденных образцов хитозана перестройкой надмолекулярной структуры полисахарида. По нашему мнению, при этом должно увеличиться число макромолекул в единице объема раствора и, соответственно, количество свободных концевых ОН-групп, что ошибочно можно трактовать как результат деструкции макроцепи. Например, в работе [17], сопоставляя результаты прямого и обратного потенциометрического титрования, зафиксировали разрушение межмолекулярных водородных связей в процессе растворения хитозана и невозможность их после переосаждения.

Еще одним доводом в пользу присутствия надмолекулярных частиц может служить значительное замедление падения вязкости при хранении раствора хитозана после ультразвуковой обработки [18]. Явление нестабильности, проявляющееся в уменьшении вязкости растворов хитозана во времени, хорошо известно в литературе [15–32]. Наиболее распространено объяснение данного эффекта процессом разрыва гликозидных связей макромолекул. Однако авторы [18] вместо ожидаемой деструкции макромолекул наблюдали эффект стабилизации раствора полимера. Другой обнаруженный факт, плохо объяснимый с позиции деструкции макроцепей: эффект падения вязкости разбавленных и умеренно концентрированных уксуснокислых растворов хитозана тем больше, чем выше концентрация полимера в растворе и ниже концентрация кислоты [9, 19]. Установлено также, что вязкость (η) раствора снижается в большей степени, чем предельное число вязкости [20, 21]. Например, через 17 сут η и $[\eta]$ снижаются на 50 и 7% соответственно, молекулярная масса хитозана – всего лишь на 8% [20].

В умеренно концентрированных уксуснокислых растворах хитозана также наблюдается эффект падения вязкости во времени [19, 22, 23]. Установленные закономерности этого процесса во многом аналогичны закономерностям в разбавленных растворах. Особенностью является тот факт, что во времени изменяется степень структурирования системы и вид реограмм вязкости: неньютоновский характер течения трансформируется на ньютоновский. Энергия активации вязкого течения при этом практически постоянна в течение нескольких месяцев наблюдения. Наиболее интенсивно эти изменения происходят в растворе с меньшей концентрацией уксусной кислоты.

Анализ различных взглядов на механизм нестабильности вязкостных свойств растворов хитозана позволяет выделить три основных подхода: деструкцию макромолекул в результате кислотного гидролиза гликозидных связей [20, 21, 24–26], конформационные перестройки [19, 27, 28] и изменение надмолекулярной структуры, в том числе и агрегацию [7–9, 29–31], не затрагивающее молекулярную массу образца. Однако в последнее время появились публикации, позволяющие исключить деструкцию как основную причину снижения вязкости растворов хитозана во времени. Так, в работах [8, 31, 32] проанализирован и обобщен большой массив экспериментальных результатов о поведении хитозана в водно-кислотных растворах. Авторы [32] методом ионного зонда на примере растворов хитозана в уксусной кислоте установили отсутствие деструкции макромолекул и уменьшение вязкости связывают с другими причинами. Авторы работы [8] уделяют большое внимание агрегации макроцепей этого полисахарида и рассматривают основные факторы, влияющие на этот процесс. Способность к фазовому разделению системы хитозан – уксусная кислота – вода по мере ее хранения обсуждается в работе [31]. При этом необходимо учитывать, что в полиэлектролитных системах, к которым относятся и водно-кислотные растворы хитозана, вследствие эффектов ионной ассоциации полимерных цепей (образование ионных пар и их мультиплетов) фазовое разделение может происходить даже в хорошем растворителе [33].

Следует отметить, что в большинстве работ исследования кинетики вязкости проводили с растворами, выдержанными от одной недели до 2–3 месяцев. Между тем для кристаллизующихся полимеров, к классу которых относятся и хитозан, процессы структурообразования в растворах кинетически заторможены и могут протекать более длительное время, даже в тече-



ние нескольких лет. Кроме того, для прояснения природы данных процессов необходимо располагать информацией о кинетической стабильности не только гидродинамических параметров, но и комплекса других физико-химических свойств растворов хитозана как фундаментального, так и прикладного характера. Это позволило бы более глубоко оценить происходящие в этих системах процессы и, соответственно, получить более полную информацию о причинах нестабильности растворов хитозана на разных этапах хранения.

Цель настоящей работы – изучение и сравнительный анализ кинетики гидродинамических, диффузионных, оптических, электрохимических, пленкообразующих и флокулирующих свойств растворов хитозана разной молекулярной массы

в уксуснокислотно-солевых растворах для выявления причин их (не)стабильности.

Материалы и методы

Использовали промышленные образцы водонерастворимого хитозана разной средневязкостной молекулярной массы (\bar{M}_η) и различного способа производства (табл. 1, цифры в обозначении образцов соответствуют \bar{M}_η (кДа) полимера). Образец ХТЗ-50 получали окислительной деструкцией с использованием перекиси водорода. Образец ХТЗ-640 П получали переосаждением образца ХТЗ-640 из 0.5% раствора в 0.1 N HCl в раствор 0.02 N NaOH (соотношение объемов 1:5 соответственно). Выход образца ХТЗ-640 П составил 93%.

Таблица 1

Характеристика образцов хитозана

Обозначение образца	Производитель	Степень деацетилирования, мольн. %	$[\eta]^{25^\circ\text{C}}$ в ацетатном буфере, дл/г	\bar{M}_η , кДа
ХТЗ-640 (исходный)	ЗАО «Биопрогресс», РФ	82.6	11.9	640
ХТЗ-640 П (переосажденный)		84.7	8.5	–
ХТЗ-200		82.0	4.4	200
ХТЗ-520	ЗАО «Сонат», РФ	80.0	10.0	520
ХТЗ-280		80.8	5.8	280
ХТЗ-90	Япония	95.0	2.15	90
ХТЗ-50	Лабораторный образец	88.1	1.41	50

Низкомолекулярные вещества – ледяная уксусная кислота, уксуснокислый натрий, мочевины, 0.1 N стандарт-титры HCl и NaOH – были квалификации х.ч., использовались без дополнительной очистки.

Объектами исследования выбраны исходные и хранившиеся растворы хитозана концентрации $C = 0.01\text{--}0.5$ г/дл в ацетатном буфере (0.33 M $\text{CH}_3\text{COOH} + 0.2$ M CH_3COONa , pH = 4.4), смеси ацетатного буфера с 8M мочевиной (pH = 6.0) и, для сравнения, 0.33 M уксусной кислоте (pH = 2.8). В отдельных случаях для приготовления ацетатного буфера использовали дистиллированную воду, освобожденную от растворенных газов (O_2 и CO_2) и микроорганизмов кипячением в течение 3 часов. Исходные растворы готовили растворением навески порошка полимера (с учетом влажности образца) в водно-кислой среде при $\sim 22 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение суток. Растворы меньшей концентрации получали последовательным разбавлением исходного раствора. Для хранения выбраны разбавленные и умеренно концентрированные растворы полимера концентрации $C = 0.05$ и 0.5 г/дл соответственно. Рас-

творы хранили ~ 1850 сут: сначала при $22 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение ~ 360 сут, затем при 5°C в течение ~ 1490 сут. По мере выдерживания во времени отбирали пробу растворов для определения физико-химических параметров. Во всех опытах условия приготовления растворов и время начала измерений физико-химических характеристик были одинаковыми. В специальных опытах полимер выделяли нанесением капли исходного или хранившегося раствора на стеклянную поверхность с последующим высушиванием при $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Самопроизвольно выделившуюся полимерную фазу фильтровали, многократно промывали дистиллированной водой и сушили при $22 \pm 2^\circ\text{C}$ до воздушно-сухого состояния.

Число вязкости ($\eta_{\text{уд}}/C$) и предельное число вязкости ($[\eta]$) определяли по традиционной методике при 25°C . Использовали вискозиметр Уббелюде с диаметром капилляра 0.54 мм. При реализации прямолинейной зависимости $\eta_{\text{уд}}/C - C$ предельное число вязкости определяли по уравнению Хаггинса, криволинейной – по уравнению Фуосса. Значение предельного числа вязкости свежеприготовленного раствора прини-



мали за начальное ($[\eta]_0$). Эффект падения вязкости во времени характеризовали относительным предельным числом вязкости ($[\eta]/[\eta]_0$).

Водородный показатель измеряли методом потенциометрии на автоматическом титраторе Mettler Toledo G20 (Германия).

Электропроводность определяли на стандартной установке, состоящей из датчика, 2 серебряных электродов и микроамперметра, при $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Удельную электропроводность ($\kappa_{\text{уд}}$) вычисляли по формуле: $\kappa_{\text{уд}} = K/R$, где K – постоянная ячейки, см^{-1} ; R – сопротивление раствора, Ом.

Разность показателей преломления (Δn) определяли дифференциальным методом на интерферометре ЛИР-2 (РФ), используя стеклянную кювету длиной $\ell = 2$ см, точность измерения 10^{-6} . Инкремент показателя преломления dn/dC рассчитывали с учетом калибровки $\Delta n - C$ по водному раствору сахарозы. Мутность (τ) при длине волны $\lambda = 490$ нм определяли по формуле $\tau = 2.3 \cdot A/\ell$, где A – оптическая плотность, измеренная на КФК-2 (РФ); $\ell = 5$ см.

Спектры удельного оптического вращения снимали на автоматическом спектрополяриметре СПУ-Е (РФ) в диапазоне длины волны $\lambda = 300\text{--}700$ нм при $T = 25^\circ\text{C}$. Источник света – ртутная лампа высокого давления ДРШ-250. Использовали стеклянные термостатируемые кюветы длиной 10 см с кварцевыми окошками. Удельное оптическое вращение определяли по формуле $[\alpha]_{\lambda, \text{нм}}^{20^\circ\text{C}} = ((\alpha - \alpha_0) \cdot 100) / C \cdot \ell$, где α и α_0 – наблюдаемый угол вращения раствора и растворителя, г; ℓ – длина оптического пути, дм; C – концентрация, г/мл. Кривую дисперсии оптического вращения (ДОВ) строили по результатам 3 параллельных опытов.

Самодиффузию макромолекул оценивали методом ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля на ЯМР-диффузомере ООО «Магнитный резонанс» (г. Казань РФ). Коэффициент самодиффузии (D_s) определяли по наклону зависимости $A(g^2) = A(T_1, T_2) A(0) \exp(-\gamma^2 \delta^2 g^2 D_s t_d)$, где $A(0)$ и $A(g)$ – амплитуда сигнала спин-эхо без и в градиенте магнитного поля; $A(T_1, T_2)$ – амплитуда сигнала релаксационных вкладов; γ – гиромагнитное отношение; δ – длительность импульса градиента магнитного поля; $t_d = (\Delta - \delta/3)$ – время диффузии, Δ – расстояние между градиентными импульсами.

Флокулирующую способность изучали на модельной дисперсной системе ацетатный буфер – каолин с концентрацией частиц дисперсной фазы 1%. Каолин предварительно отмывали от низкомолекулярных включений, сушили при 100°C до постоянной массы, хранили в эксика-

торе. Чистоту каолина контролировали методом интерферометрии. Флокулирующую активность характеризовали относительной мутностью (τ_1/τ_0 , $\lambda = 490$ нм) системы ацетатный буфер – каолин – хитозан до (τ_0) и после введения хитозана (τ_1).

Рентгеновские дифрактограммы воздушно-сухих образцов получали на дифрактометре ДРОН-3 (РФ) с излучением Cu-K_α при $U = 22$ кВ и $I_a = 20$ мА. Степень кристалличности (χ , %) рассчитывали по методике [34].

Морфологию поверхности тонкопленочных структур оценивали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе MIRA\LMU «Tescan» (Czech Republic) при напряжении 15 кВ и проводящем токе 400 пА. На образец напыляли слой золота толщиной 5 нм на установке K450X Carbon Coater (Германия).

Результаты и их обсуждение

Исследование свойств растворов хитозана проводили в кислотно-солевой среде, в частности в ацетатном буфере, наиболее часто используемом для определения средневязкостной молекулярной массы этого полимера [6, 11]. Выбор ацетатного буфера обусловлен, во-первых, возможностью полного подавления электростатических взаимодействий протонированных аминогрупп макроцепей, во-вторых, постоянными значениями ионной силы и pH среды при разбавлении раствора. Кроме того, для проводимых экспериментов было важно, что значение pH раствора хитозана в ацетатном буфере значительно превышает pH его воднокислотных растворов (табл. 2).

Закономерности, выявленные при изучении свойств растворов во времени, позволили выделить три временных этапа, различающихся характером структурообразования хитозансодержащей системы. Рассмотрим особенности кинетики физико-химических свойств растворов хитозана на каждом этапе.

На первом этапе, при хранении растворов в течение 30–50 сут, оценивали влияние надмолекулярной структуры исходного полимера, кислотности среды и ее «чистоты», молекулярной массы хитозана, а также акцептора водородной связи на гидродинамические свойства макромолекул и их оптическую активность.

На рис. 1, а, б представлены концентрационные зависимости числа вязкости растворов исходного ХТЗ-640 и переосажденного ХТЗ-640 П в ацетатном буфере при разном времени хранения, на рис. 2 (кривые 1, 2) – кинетика изменения предельного числа вязкости и относительного



Таблица 2

Физико-химические характеристики исходных и хранившихся растворов хитозана

Образец	Растворитель	C, г/дл	t, сут	$\tau_{490 \text{ нм}}, \text{ M}^{-1}$	pH	[η], дл/г	$\frac{[\eta]}{[\eta]_0}$	$\alpha_{\text{уд}}, \text{ cOM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
ХТЗ-640	0.33 M CH_3COOH	0.05	–	0.020	2.80	35.00	1.00	0.059
			230	0.020	2.80	27.50	0.79	0.050
		0.50	–	0.090	3.30	35.00	1.00	0.091
			231	0.070	3.30	19.00	0.54	0.083
	0.33 M CH_3COOH + 0.2 M CH_3COONa	0.05	–	0.010	4.40	11.90	1.00	0.645
			230	0.010	4.40	1.90	0.16	0.667
		0.50	–	0.080	4.40	11.90	1.00	0.714
			231	0.080	4.45	3.10	0.26	0.714
ХТЗ-280	0.33 M CH_3COOH	0.05	–	0.010	2.80	19.90	1.00	0.069
			229	0.005	2.70	11.70	0.59	0.067
		0.50	–	0.030	3.30	19.90	1.00	0.091
			236	0.015	3.35	11.00	0.55	0.083
	0.33 M CH_3COOH + 0.2 M CH_3COONa	0.05	–	0.010	4.40	5.80	1.00	0.667
			229	0.010	4.45	1.90	0.33	0.690
		0.50	–	0.030	4.45	5.80	1.00	0.714
			236	0.030	4.45	2.30	0.40	0.714
ХТЗ-90	0.33 M CH_3COOH + 0.2 M CH_3COONa	0.50	–	Не фиксируется	4.35	2.15	1.00	–
			42		4.40	1.83	0.84	–
			205		4.55	1.06	0.49	–
0.33 M CH_3COOH		–	–	Не фиксируется	2.70	–	–	0.065
0.33 M CH_3COOH + 0.2 M CH_3COONa		–	–		4.40	–	–	0.714

предельного числа вязкости этих растворов. Обращает внимание более низкое начальное значение $[\eta]$ раствора ХТЗ-640 П (см. табл. 1), что согласно [16, 17] связано с разрушением части Н-связей полимерной матрицы в процессе переосаждения. В нашем случае переосаждение полимера из солянокислого раствора в раствор щелочи по сути является прямым (до растворения) и обратным (до выпадения осадка) титрованием. Во всех случаях зависимость $\eta_{\text{уд}}/C - C$ для свежеприготовленных и хранившихся растворов имеет прямолинейный характер, константа Хаггинса лежит в пределах 0.2–0.3, что свидетельствует о хорошем термодинамическом качестве растворяющей смеси. Значение $[\eta]$ снижается во времени. Отмечается разная скорость уменьшения предельного числа вязкости на данном этапе хранения растворов. Наиболее интенсивное уменьшение $[\eta]$ реализуется в течение первых 5–10 сут. Константа Хаггинса постаревших растворов уменьшается (это наглядно прослеживается по понижению наклона прямых $\eta_{\text{уд}}/C - C$), что может быть обусловлено ухудшением термодинамического качества воды, как растворителя образующейся полимерной соли, и уплотнением макромолекулярного клубка.

Такое поведение равноценно изменению ионной силы среды и может быть смоделировано варьированием природы и концентрации кислоты, используемой для растворения хитозана (см. рис. 1, в). Как и следовало ожидать, в слабой CH_3COOH (прямые 1–5) значение $[\eta]$ существенно выше, чем в сильной HCl (прямые 6 и 7). С повышением концентрации кислоты $[\eta]$ уменьшается. Неожиданно, но значения $[\eta]$ и наклон прямых $\eta_{\text{уд}}/C - C$ раствора ХТЗ-520 в ацетатном буфере (прямая 8), в 2M CH_3COOH и 0.1N HCl (прямые 5, 7) практически совпадают. Известно, что сила уксусной кислоты в присутствии своей соли уменьшается, что проявляется в сильном понижении концентрации H^+ : в наших опытах pH изменяется от 2.7 до 4.4 (см. табл. 2). Растворение хитозана в уксусной кислоте незначительно повышает значение pH, а в ацетатном буфере – не меняет. Ионная сила 2 M уксусной кислоты в ~ 17 раз меньше ионной силы 0.1 N соляной кислоты и в ~ 30 раз меньше ионной силы ацетатного буфера. Учитывая сказанное, а также результаты работ [35, 36], естественно предположить, что близкие значения $[\eta]$ в уксуснокислой среде без и в присутствии соли-

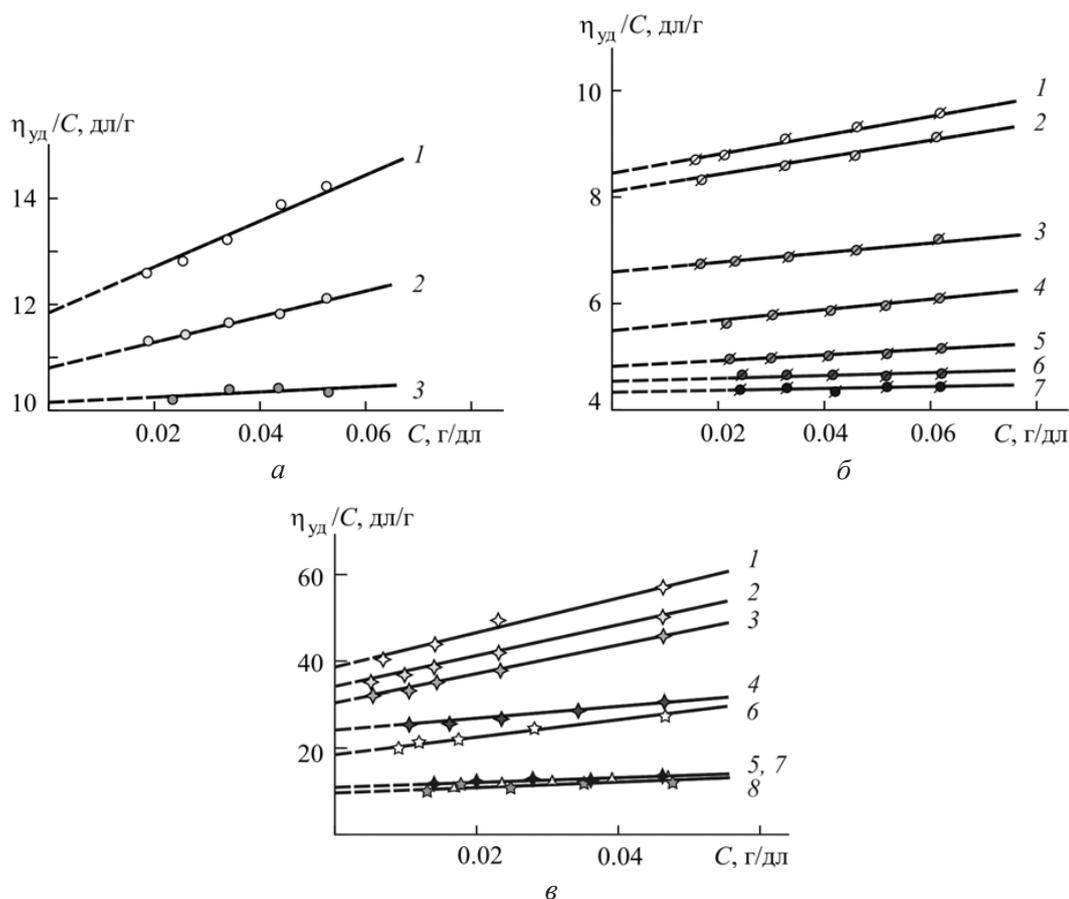


Рис. 1. Концентрационные зависимости числа вязкости исходных растворов ХТЗ-640 (1 а), ХТЗ-640 П (1 б) и хранившихся в течение: 1 (2 б), 7 (3 б), 8 (2 а), 15 (4 б), 22 (5 б), 29 (6 б), 32 (3 а) и 36 сут (7 б), а также исходных растворов ХТЗ-520 в 0.17 М (1 в), 0.5 М (2 в), 1 М (3 в), 1.5 М (4 в) и 2 М уксусной кислоте (5 в), 0.01 М (6 в) и 0.1 М соляной кислоте (7 в), ацетатном буфере (8 в)

электролита свидетельствуют об образовании комплексов (ионных пар) макрокатиона хитозана с ацетат-анионом.

Описанные выше закономерности наблюдаются и для образцов хитозана других молекулярных масс (см. рис. 2, кривые 3–5), а также в случае приготовления растворов на дистиллированной воде, освобожденной от растворенного O_2 и микроорганизмов (кривые 1' и 3'). Кроме того, эффект падения вязкости растворов хитозана, приготовленных на обычной и стерильной дегазированной H_2O , практически одинаков: в течение 30–50 сут значение $[\eta]$ уменьшается на одну и ту же величину (на ~15–20%) (кривые 1 и 1', 3 и 3'). Подобное поведение характерно и для воднокислотных растворов хитозана [9].

Характерно также, что большую нестабильность проявляет раствор переосажденного образца. Например, $[\eta]/[\eta]_0$ растворов ХТЗ-640 и ХТЗ-640 П уменьшается за 30 сут на ~15 и ~45% соответственно (см. рис. 2, б, кривые 1 и 2). Принимая во внимание возможность раз-

рыва Н-связей макроцепей при переосаждении полимера, интересно было оценить влияние на свойства исследуемых растворов акцептора водородной связи (мочевины).

Оказалось, что введение в раствор 8М мочевины, во-первых, приводит к увеличению $[\eta]$ свежеприготовленных растворов. В частности, для ХТЗ-640 и ХТЗ-640 П значения $[\eta]$ растворов с добавкой мочевины увеличились на 30–40% по сравнению с исходными свежеприготовленными растворами (см. рис. 2, а, кривые 1 и 1'', 2 и 2''). Во-вторых, к появлению полиэлектролитного эффекта (рис. 3, кривые 1 и 1'), в большей степени – для раствора переосажденного образца. В-третьих, для переосажденного хитозана масштаб зависимости $\eta_{уд}/C - C$ свежеприготовленного и хранившегося раствора практически не изменяется (см. рис. 3, кривые 1'–5'), для исходного – эффект увеличения $\eta_{уд}/C$ раствора при разбавлении возрастает по мере хранения (см. рис. 3, кривые 1–5). При этом значение $[\eta]$ раствора ХТЗ-640 с добавкой мочевины во



времени не изменяется (см. рис. 2, а, кривая 1''). Аналогичный характер зависимости $[\eta] - t$, но с запозданием на ~5 сут, наблюдается и для раствора ХТЗ-640 П (см. рис. 2, а, кривая 2''). Таким образом, мочевины наряду с разрушением сетки межмолекулярных контактов проявила и стабилизирующее действие на систему, по крайней мере, в течение первых ~20–30 сут.

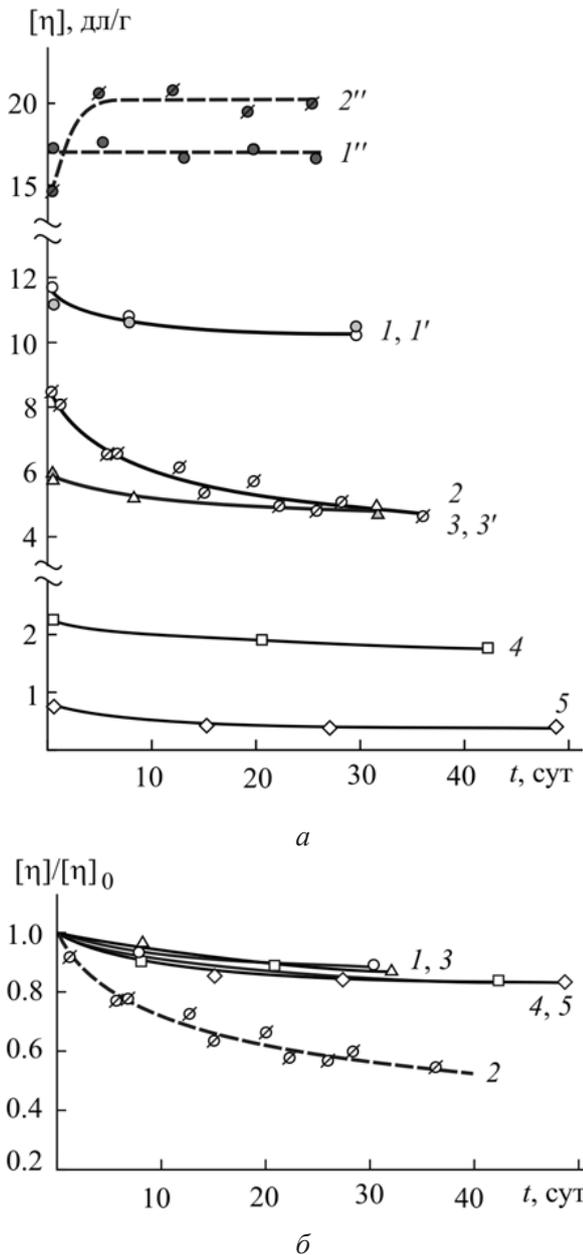


Рис. 2. Зависимость предельного числа вязкости (а) и относительного предельного числа вязкости (б) от времени хранения растворов ХТЗ-640 (1, 1', 1''), ХТЗ-640 П (2, 2''), ХТЗ-280 (3, 3'), ХТЗ-90 (4) и ХТЗ-50 (5) в ацетатном буфере (1–5, 1', 3') и в ацетатном буфере с 8М мочевиной (1'', 2''). В опытах 1' и 3' использовали дистиллированную воду без микроорганизмов и растворенных газов

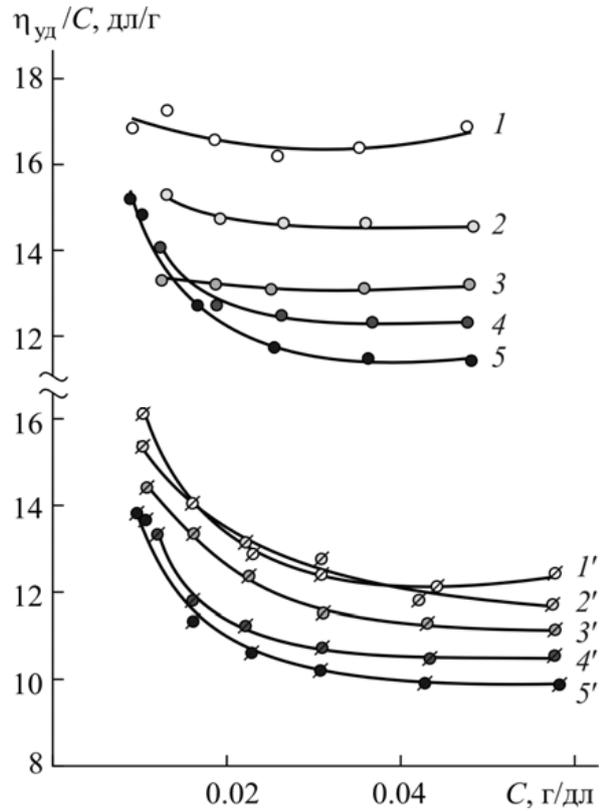


Рис. 3. Концентрационная зависимость числа вязкости растворов ХТЗ-640 (1–5) и ХТЗ-640 П (1'–5') в ацетатном буфере с 8М мочевиной при их хранении в течение: 0 (1, 1'), 5 (2, 2'), 13 (3, 3'), 20 (4, 4') и 26 сут (5, 5')

Введение 8М мочевины изменяет и оптическую активность ХТЗ-640, существенно увеличивая модуль удельного оптического вращения $[\alpha]$ (рис. 4, кривые 1, 2). Модуль $[\alpha]$ продолжает возрастать и при хранении раствора, тип кривой ДОВ при этом не изменяется (кривая 3). Уместно отметить, что для деполимеризованных образцов хитозана наблюдается антибатная зависимость – уменьшение модуля $[\alpha]$ в тем большей степени, чем меньше молекулярная масса образца [37].

Сопоставление результатов рис. 3 и рис. 4 приводит к выводу об изменении конформации макроцепи при введении акцептора Н-связи. При этом, несмотря на первоначальное возрастание значений $[\eta]$ и модуля $[\alpha]$, а также дальнейшее изменение зависимостей $\eta_{уд}/C - C$ и $[\alpha] - \lambda$ при хранении раствора, значение предельного числа вязкости во времени не изменяется, по крайней мере, в течение первых ~20–25 сут (см. рис. 2, кривые 1'' и 2''). Исходя из полученных кинетических закономерностей естественно предположить, что первоначальное (~5–10 сут) падение $[\eta]$ растворов исходных образцов обусловлено дорастворением частиц НС раство-

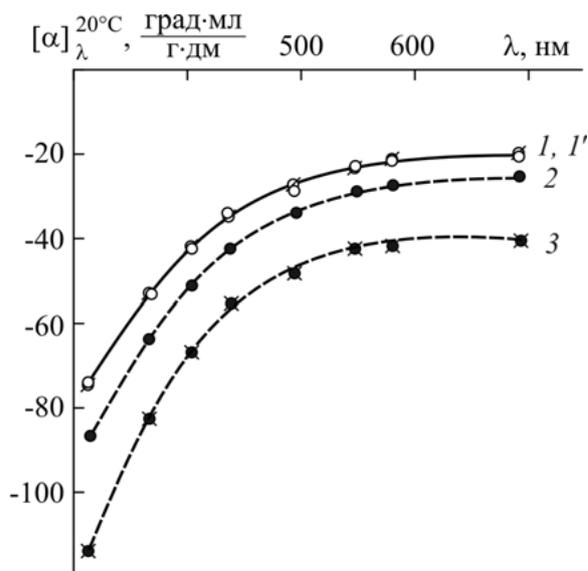


Рис. 4. Кривые дисперсии оптического вращения растворов ХТЗ-640 (1–3) и ХТЗ-640 П (1') в ацетатном буфере без (1, 1') и с 8М мочевиной (2, 3) при их хранении в течение: 0 (1, 1', 2) и 30 сут (3)

ра (см. рис. 2, кривые 1, 1', 3, 3', 4, 5). В случае переосажденного образца с частично или полностью разрушенной сеткой межмолекулярных Н-связей бóльший эффект падения вязкости обусловлен формированием комплексов между поликатионами и противоионами. Кроме того, обнаружена идентичность $[\alpha] - \lambda$ растворов ХТЗ-640 и ХТЗ-640 П (кривые 1 и 1' (см. рис. 4)), а также постоянство показателей оптической активности исследуемых образцов во времени. Стабильность кривых ДОВ наблюдали и для растворов ХТЗ-640 и ХТЗ-280 в 0.33М CH_3COOH при хранении до 9 месяцев [37].

Стало быть, дисперсия удельного оптического вращения, чувствительная к конформационному состоянию макромолекул (МС) [38, 39], в совокупности с вискозиметрией, фиксирующей еще и перестройку надмолекулярной структуры полимерного образца – ответственной в свою очередь за НС раствора, позволяют исключить деструкцию хитозана во времени. Кроме того, повышенная устойчивость к кислотному гидролизу гликозидной связи, содержащей аминокгруппу у второго углеродного атома, и данные работ [9, 15, 19] о бóльшей нестабильности водно-кислотных растворов хитозана с меньшим содержанием кислоты (CH_3COOH , HCl) независимо от концентрации полимера (по крайней мере, для разбавленных растворов) также подтверждают отсутствие гидролитического разрушения макромолекул.

Таким образом, суммируя данные вискозиметрии и оптической активности кислотных растворов хитозана разной предыстории, молекулярной массы и компонентного состава растворяющей среды, можно заключить, что падение вязкости на начальном этапе хранения (~5–10 сут) обусловлено дорастворением надмолекулярных частиц полимера в структурно-сложном растворе. Дальнейшее падение вязкости связано с изменением МС раствора, в частности, с формированием водородосвязанных ионных пар с переносом протона от гидроксильной группы CH_3COOH к протонакцепторному атому азота глюкопиранозного кольца $[\sim\text{NH}^3+\text{CH}_3\text{COO}^-]$ [36]. При этом макромолекулы полимера демонстрируют смешанное полиэлектролит-иономерное поведение, когда лишь часть низкомолекулярных противоионов находится в «связанном» состоянии с поликатионом. Это явление имеет много общего с эффектом формирования «заряженных микрогелей» полисахаридов [40].

Еще одним доказательством присутствия в растворах надмолекулярных частиц и их последующего растворения могут служить данные интерферометрии. Оказалось, что для исходных систем на основе ХТЗ-640 и ХТЗ-280 нулевое значение разности показателя преломления раствора и растворителя (Δn) реализуется при $C \neq 0$ (рис. 5, а, б, прямые 1 и 3). Это свидетельствует о структурной неоднородности полимерной системы. Вполне естественно, что в бóльшей степени она проявляется для более высокомолекулярного образца. Для хранившихся растворов ХТЗ-640 и ХТЗ-280 зависимость $\Delta n - C$ приобретает классический характер, Δn при этом увеличивается (прямые 2 и 4). Как исходный, так и хранившийся раствор лабораторного образца ХТЗ-50 характеризуется классической зависимостью $\Delta n - C$, значения Δn хранившихся растворов (как и для образцов ХТЗ-640, ХТЗ-280) больше исходных (см. рис. 5, в, прямые 5 и б). Реализация исходной из $C = 0$ зависимости $\Delta n - C$ исходного раствора ХТЗ-50 вполне закономерна, учитывая разрушение надмолекулярной структуры в процессе дополнительного переосаждения, предусмотренного лабораторным способом получения данного образца. Тем не менее повышение значений Δn для всех хранившихся систем подтверждает факт изменения структуры раствора во времени.

Как и следовало ожидать, dn/dC растворов высокомолекулярных образцов ХТЗ-640 и ХТЗ-280 близки, низкомолекулярного ХТЗ-50 несколько ниже (табл. 3). Значения dn/dC

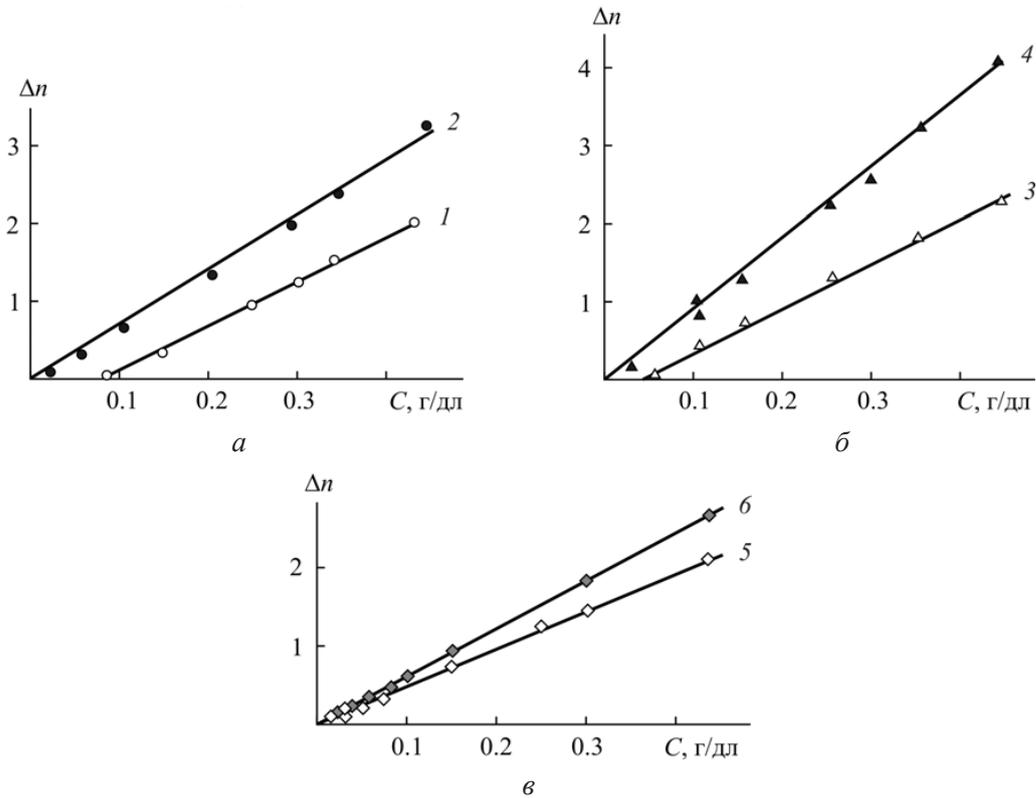


Рис. 5. Концентрационная зависимость разности показателя преломления раствора ХТЗ-640 (а), ХТЗ-280 (б) и ХТЗ-50 (в) в ацетатном буфере и показателя преломления растворителя при хранении растворов в течение: 0 – (1, 3, 5), 30 (6) и 240 (2, 4) сут

согласуются с данными работы, полученными для хитозана в уксусной кислоте [39]. Для всех исследуемых растворов наблюдается рост dn/dC во времени приблизительно на 20%. Согласно современным представлениям увеличение инкремента показателя преломления раствора обусловлено уменьшением диэлектрической проницаемости рассеивающих объектов при переходе полимера в сколлапсированное состояние [41]. В нашем случае это подтверждает переход к более компактной конформации макромолекул в хранившемся растворе, т.е. формирование ионных пар, по сравнению с конформацией в исходном растворе. Кроме того, согласно [35] компактизация в кислотных растворах хитозана может протекать и вследствие сложных ион-ионно-водородных взаимодействий макроцепей: помимо ионных контактов между протонированной аминогруппой поликатиона и кислородом гидроксильной группы низкомолекулярного аниона реализуются и водородные связи между гидроксильной группой у шестого атома углерода глюкоаминопиранозного кольца и карбонильным кислородом кислотного остатка. По нашему мнению, экспериментально эти

изменения достоверно фиксируются на втором этапе хранения растворов (после ~30 сут).

Таблица 3

Инкремент показателя преломления исходных и хранившихся растворов хитозана в ацетатном буфере, $C = 0.50$ г/л, $T = 22 \pm 2^\circ\text{C}$

Образец	t , сут	dn/dC , $\text{cm}^3/\text{г}$
ХТЗ-640	–	0.187
	240	0.267
ХТЗ-280	–	0.190
	240	0.267
ХТЗ-50	–	0.176
	30	0.213

Перейдем к рассмотрению особенностей физико-химических свойств хитозансодержащей системы на следующем этапе хранения: 50–240 сут. Кроме гидродинамических характеристик, не менее важными для оценки процессов структурообразования на данном временном этапе являются флокулирующая и пленкообразующая способность растворов хитозана, диффузионные характеристики макромолекул, а также мутность полимерной системы.

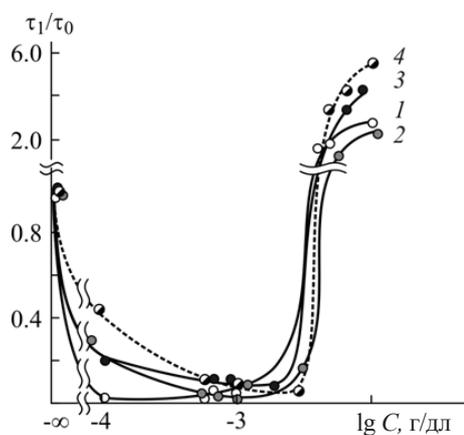


Обнаружено, что длительное (до ~240 сут) выдерживание растворов хитозана приводит к падению их вязкости на ~50–85% (см. табл. 2). В то же время растворы остаются визуально прозрачными и сохраняют способность к пленкообразованию. Оказалось, что эффект падения $[\eta]$ разбавленных кислотно-солевых растворов выше, чем концентрированных, и в большей степени проявляется для раствора высокомолекулярного образца ($[\eta]$ падает на ~85%). Несколько неожиданно, но кислотно-солевые растворы хитозана более нестабильны по сравнению с эквивалентными по полимеру бессолевыми водно-кислотными растворами, содержащими ту же концентрацию (0.33 моль/л) уксусной кислоты, что и ацетатный буфер (см. табл. 2). Из всех изученных растворов менее нестабильным оказался разбавленный уксуснокислый раствор высокомолекулярного ХТЗ-640. Во времени $[\eta]$ этого раствора уменьшается всего лишь на ~20%. При этом pH и мутность как кислотно-солевых, так и уксуснокислых растворов во времени практически не изменяются (см. табл. 2).

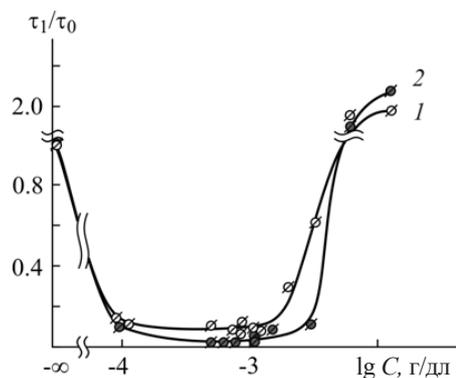
Полученные закономерности падения $[\eta]$ растворов хитозана при длительном хранении, по-видимому, можно объяснить агрегированием ионных пар и ион-ионно-водородных макромолекулярных комплексов с формированием так называемых мультиплетов (терминология [33, 40]), далее будем называть этот процесс ионной агрегацией. Протекание данного процесса в кислотно-солевой среде более предпочтительно в сравнении с водно-кислотной [40], что и подтверждается большим эффектом падения $[\eta]$ растворов в ацетатном буфере, чем в CH_3COOH . Кроме того, данное предположение согласуется с наблюдаемым более существенным изменением электропроводности уксуснокислых растворов хитозана при их хранении по сравнению с растворами в присутствии сильного электролита (см. табл. 2). Еще одним подтверждением возможного агрегирования является визуализация методом сканирующей силовой микроскопии индивидуальных макромолекул в форме протяженных одиночных нитей и их агрегатов, присутствующих в исходном и хранившемся разбавленном растворе хитозана в Na-ацетатном буфере (pH = 5.1) [42]. В этой связи обнаруженную более выраженную нестабильность растворов ХТЗ-640 в условиях подавления полиэлектролитного эффекта можно связать с большей склонностью к ионной агрегации высокомолекулярных образцов полимера [8].

Данное предположение подтверждает и исследование флокулирующей активности полисахарида. Как и следовало ожидать, эффект флокуляции исходных растворов в ацетатном

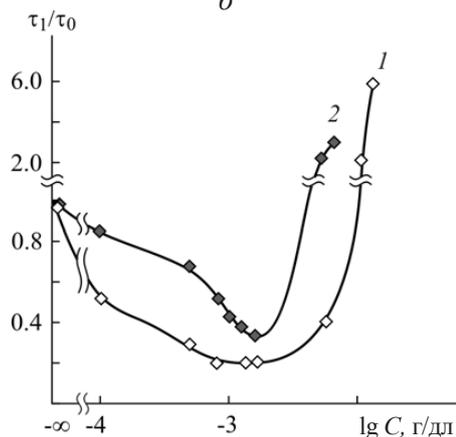
буфере проявляется в некотором диапазоне концентраций хитозана, вне которого происходит стабилизация дисперсии каолина. Флокулирующая способность образцов ХТЗ-640 и ХТЗ-640 П практически одинакова и составляет ~100% (рис. 6, а, б; кривые 1).



а



б



в

Рис. 6. Зависимость относительной мутности системы ацетатный буфер – каолин – хитозан от концентрации растворов ХТЗ-640 (а), ХТЗ-640 П (б) и ХТЗ-50 (в): использовали растворы $C = 0.05$ г/дл с временем хранения 0 (1 а, 1 б), 20 (2 а, 2 б) и ~240 сут (3 а), а также $C = 0.5$ г/дл с временем хранения 0 (1 в), 28 (2 в) и ~240 сут (4 а)



Эффект флокуляции низкомолекулярного образца ХТЗ-50 несколько ниже, однако тоже достаточно высокий, ~80% (рис. 6, в; кривая 1). Хранение растворов ХТЗ-640 и ХТЗ-640 П слабо влияет на флокулирующие свойства образцов. Некоторое снижение флокулирующей активности до ~90% через ~20 сут хранения, в последующие ~240 сут выдерживания раствора более не проявляется (см. рис. 6, а, б; кривые 2–4). Диапазон концентраций полимера, обеспечивающих высокую степень осветления системы, также практически не изменяется. Наблюдается лишь небольшое повышение оптимальной концентрации полимера. Для раствора ХТЗ-50 через ~28 сут хранения наблюдается некоторое снижение флокулирующей способности полимера до ~60–70% и сужение диапазона флокулирующих концентраций (см. рис. 6, в; кри-

вая 2), что, по-видимому, обусловлено меньшей скоростью формирования агрегатов (мультиплетов) макромолекул низкомолекулярного образца во времени.

Флокулирующее действие исходных и хранившихся растворов хитозана разной \bar{M}_n укладывается в концепцию об агрегативном механизме флокуляции, когда адсорбция макромолекулярных агрегатов на поверхности коллоидных частиц более предпочтительна, чем индивидуальных макромолекул. На это указывает и существенное понижение коэффициента самодиффузии макромолекул хитозана в процессе хранения полимерной системы (рис. 7, кривая 1; табл. 4). В совокупности полученные результаты еще раз позволяют удостовериться в отсутствии деструкции полимерных цепей при хранении растворов хитозана.

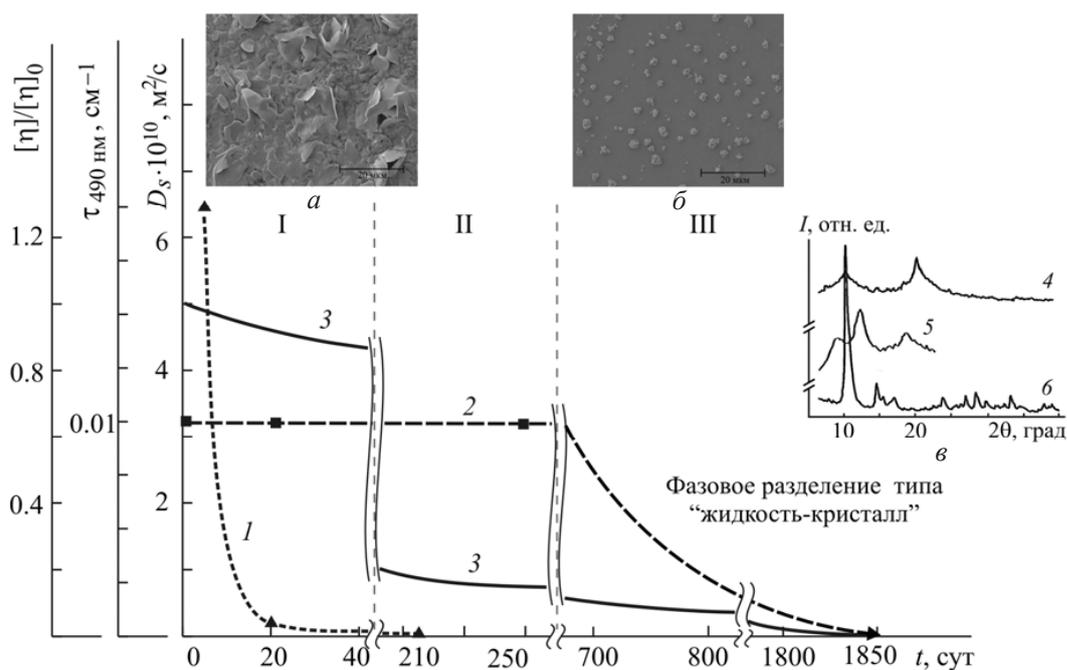


Рис. 7. Диаграмма изменения свойств системы ХТЗ-640 – ацетатный буфер $C = 0.05$ г/дл во времени. Кинетика коэффициента самодиффузии (1), мутности (2) и относительного предельного числа вязкости (3). На вставках: а, б – СЭМ фотографии образцов, выделенных из исходной (а) и хранившейся ~790 сут системы (б); в – рентгеновские дифрактограммы исходного порошка хитозана (4), пленки ацетата хитозана (5) и порошка, выделенного из системы через ~1850 сут ее хранения (6). I, II и III – этапы структурообразования полимерной системы при хранении, см. пояснение в тексте

Таблица 4

Коэффициент самодиффузии макромолекул и предельное число вязкости растворов хитозана в ацетатном буфере

Образец	C , г/дл	t , сут	$D_s \cdot 10^{10}$, M^2/c	$[\eta]$, дл/г
ХТЗ-640	0.50	5	6.4800	11.0
		20	0.2000	10.5
	0.05	215	0.0012	1.90



Отдельного внимания заслуживает факт инвариантности мутности систем в течение ~240 сут (см. рис. 7, кривая 2; см. табл. 2). Это может быть обусловлено, с одной стороны, отсутствием четкой поверхности на границе раздела фаз агрегированные ионные комплексы – дисперсионная среда. С другой стороны, малые размер и числовая концентрация мультиплетов и их агрегатов не оказывают существенного влияния на оптическую плотность растворов на данном этапе их хранения. Однако в дальнейшем мутность понижается практически до нулевого значения. По-видимому, начавшаяся на данном временном этапе агрегация ионных комплексов продолжает развиваться, вплоть до формирования частиц новой фазы. Зафиксировать данные процессы удалось на третьем этапе при хранении хитозансодержащих систем более 700 сут.

Во-первых, изменения в структурной организации хранившихся растворов, обусловленные конформационными перестройками и ионной агрегацией макромолекул, наглядно показали результаты СЭМ морфологии поверхности полимерной структуры, выделенной быстрым высушиванием капли исходного и хранившегося растворов хитозана на стеклянной поверхности. Например, исходный раствор ХТЗ-640 при данном способе препарирования формирует рыхлую структуру, представленную скоплением чешуек размером ~5–15 мкм (см. рис. 7, а). Тот же раствор через ~790 сут показывает частицы практически правильной сферической формы и размером ~0.3–3.3 мкм (см. рис. 7, б).

Во-вторых, через ~1800 сут хранения было зафиксировано фазовое разделение исследуемых систем с выпадением осадка, легко отделяемого фильтрованием. Нерастворимость в воде ука-

зывает на отсутствие в осадке солевой формы хитозана. В-третьих, выделившаяся полимерная фаза коренным образом отличается по структуре от исходного порошкообразного образца.

В качестве примера на рис. 7, в приведены рентгеновские дифрактограммы, а в табл. 5 – межплоскостные расстояния (d , Å) и степень кристалличности воздушно-сухих образцов порошка полимерной фазы, выделенной из системы ХТЗ-640 – вода – уксусная кислота – ацетат натрия через ~5 лет хранения, и для сравнения – исходных порошка и пленки ХТЗ-640 в основной и солевой форме соответственно. На дифрактограмме исходного порошка ХТЗ-640 на фоне аморфного гало проявляются два широких кристаллических рефлекса при $2\Theta \sim 10.4$ и 20.2 град, характерные для гидратированных (до 8–10% связанной воды) структурных модификаций I и II основной формы хитозана (кривая 4) [43, 44]. Имеются также три незначительных по интенсивности пика при $2\Theta \sim 14.7$, 17.8 и 28.0 град. Дифрактометрические кривые являются типичными для аморфно-кристаллических образцов хитозана со сравнительно низкой степенью кристалличности [10, 38, 44]. Данные о межплоскостных расстояниях в кристаллической решетке и степени кристалличности данного образца согласуются с описанными в литературе [10, 45, 46]. Дифрактограмма самопроизвольно выделившейся полимерной фазы характеризуется сужением и увеличением интенсивности рефлексов при $2\Theta \sim 10.4$ и 14.7 град, в значительной степени это затрагивает основной рефлекс полиморфной модификации I (кривая б). Рефлекс полиморфной модификации II при $2\Theta \sim 20.2$ град, наоборот, значительно снижается по интенсивности, кроме того, сдвигается в область 23.9 град.

Таблица 5

Межплоскостные расстояния и степень кристалличности исходных порошка ХТЗ-640 и пленки ацетата ХТЗ-640, а также порошка, самопроизвольно выделившегося из раствора ХТЗ-640 в ацетатном буфере через ~1850 сут хранения

Исходный порошок полимера в основной форме			Порошок самопроизвольно выделившейся фазы			Пленка полимера в солевой форме		
2Θ , град	d , Å	χ , %	2Θ , град	d , Å	χ , %	2Θ , град	d , Å	χ , %
10.4	8.6	36.8	10.4	8.4	82.0	9.1	9.5	25.4
14.7	6.0		14.7	6.0				
–	–		15.5	5.7				
17.8	5.0		17.1	5.2				
20.2	4.4		23.9	3.7		12.7	7.1	
–	–		27.0	3.3				
28.0	3.2		28.4	3.1		19.4	4.7	
–	–		29.6	3.0				
–	–	33.2	2.7					



Рефлексы при 17.8 и 28.0 град также смещаются до 17.1 и 28.4 град соответственно, однако их интенсивность заметно возрастает. Кроме того, появляются новые рефлексы при $2\Theta \sim 15.5, 27.0, 29.6$ и 33.2 град. Причем пик при 15.5 град обусловлен формированием дегидратированной кристаллической решетки так называемой «отожженной» полиморфной модификации хитозана, характеризующейся укорочением основных параметров элементарной ячейки кристаллита [47]. При этом межплоскостные расстояния при углах дифракции 10.4, 23.9 и 28.4 град уменьшаются, что, наряду с более высокой степенью кристалличности, свидетельствует об ориентационном упорядочении в структуре выделившейся полимерной фазы по сравнению с исходным образцом. Рефлексы, характерные для солевой формы хитозана при $2\Theta \sim 8.0-9.0, 12.0$ и 19.0 град (кривая 5) [38, 45, 48], не наблюдаются.

Обратимся еще раз к рис. 7, на котором на примере системы ХТЗ-640 – ацетатный буфер обобщены результаты изменения во времени основных свойств исследуемых в работе хитозансодержащих систем. В совокупности уменьшение коэффициента самодиффузии и вязкости (кривые 1 и 3) при инвариантности мутности (кривая 2), а также увеличение инкремента показателя преломления при сохранении оптической и флокулирующей активности, пленкообразующей способности хранившихся растворов хитозана свидетельствуют об образовании ионных пар между макрокатионами и низкомолекулярными анионами (этап I) и их мультиплетов (этап II). Взаимодействие мультиплетов сопровождается формированием агрегатов, дальнейший рост размеров которых приводит в конечном счете к фазовому разделению полимерной системы (этап III). Значения мутности и относительного предельного числа вязкости при этом падают практически до нуля (кривые 2 и 3).

Рентгеновская дифрактометрия показывает образование высококристаллической полиморфной модификации полимера на третьем этапе хранения хитозансодержащей системы и, соответственно, позволяет идентифицировать тип фазового разделения как «жидкость–кристалл». Хорошо известно, что, несмотря на термодинамическую неустойчивость, аморфизированная структура полимера в стеклообразном состоянии может сохраняться по кинетическим причинам достаточно продолжительное время [49]. В таком состоянии может осуществляться лишь локальная подвижность структурных элементов, недостаточная для строгой трехмерной укладки сегментов макроцепей в сравнительно протяженные

кристаллические образования. Для протекания процесса кристаллизации необходимо развитие кооперативной, трансляционной молекулярной подвижности и реализация определенной конформации макромолекул либо возникновение соответствующих флуктуационных ансамблей, что в случае хитозана может осуществляться в жидкофазном состоянии, в частности, в растворах полимера в полярном растворителе. Нам представляется, что агрегаты мультиплетов в кислотном-солевом растворе хитозана выполняют роль зародышей новой фазы. Поскольку в присутствии соли иономерное состояние более термодинамически выгодно в сравнении с полиэлектролитным, во времени реализуется такое стабилизированное мультиплетом суперсколлапсированное состояние полимерной фазы, в котором практически все противоионы входят в состав ионных пар. Последнее предсказано теоретически [33, 40] и подтверждено экспериментально для гелей полиэлектролитов в водно-солевой среде в работах [50, 51]. Кристаллизуясь вместе с компонентами растворяющей смеси (противоионами), хитозан образует нетипичную для него новую кристаллическую решетку. Растянутая во времени кинетика кристаллизации, сополимерное строение и повышенная жесткость макроцепей аминополисахарида обуславливают малые скорости фазового превращения даже в разбавленной по полимеру хитозансодержащей системе.

По нашему мнению, полученные результаты являются первым экспериментальным подтверждением теории фазового разделения в разбавленных растворах полиэлектролитов в хорошем растворителе [40] вследствие протекающей во времени ионной агрегации (ассоциации) макроцепей.

Список литературы

1. Aiba S. Studies on chitosan: 3. Evidence for the presence of random and blockcopolymer structures in partially N-acetylated chitosans // Intern. J. Biol. Macromol. 1991. Vol. 13, № 1. P. 40–44.
2. Vikhoreva G. A., Pchelko O. M., Gal'braikh L. S., Rogovina S. Z. The phase state and rheological properties of the chitosan-acetic acid-water system // Polymer Science, Ser. B. 2001. Vol. 43, № 6. P. 1079–1084.
3. Pillai C. K. S., Willi P., Chandra P. S. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation // Progr. Pol. Sci. 2009. Vol. 34, № 7. P. 641–678.
4. Rinaudo M., Pavlov G., Desbrieres J. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan // Polymer. 1999. Vol. 40, № 25. P. 7029–7032.



5. Pa J., Yu T. Light scattering study of chitosan in acetic acid aqueous solution // *Macromol. Chem. Phys.* 2001. Vol. 202, № 7. P. 985–991.
6. Yevlampieva N. P., Gorshkova M. Y., Volkova I. F., Grigoryan E. S., Lezov A. A., Khurchak A. P., Ryumtsev E. I. Molecular properties of modified chitosan containing a quaternary amino group // *Polymer Science, Ser. A.* 2011. Vol. 53, № 2. P. 124–132.
7. Anthonsen M. W., Varum K. M., Hermansson A. M., Smidsrod O., Brant D. A. Aggregates in acidic solutions of chitosans detected by static laser light scattering // *Carbohydr. Polym.* 1994. Vol. 25, № 1. P. 13–23.
8. Philippova O. E., Korchagina E. V. Chitosan and its hydrophobic derivatives: Preparation and aggregation in dilute aqueous solutions // *Polymer Science, Ser. A.* 2012. Vol. 54, № 7. P. 552–572.
9. Шиповская А. Б., Фомина В. И., Солонина Н. А., Казмичёва О. Ф., Козлов В. А., Тимофеева Г. Н. Особенности структурообразования в растворах хитозана // Структура и динамика молекулярных систем : сб. науч. тр. Йошкар-Ола : Изд-во МарГТУ, 2001. Вып. VIII, ч. 2. С. 147–151.
10. Mogilevskaya E. L., Akopova T. A., Zelenetsii A. N., Ozerin A. N. The crystal structure of chitin and chitosan // *Polymer Science, Ser. A.* 2006. Vol. 48, № 2. P. 116–123.
11. Gamzazade A. I., Šlimak V. M., Skljarić A., Štykova E. V., Pavlova S.-S. A., Rogožin S. V. Investigation of the hydrodynamic properties of chitosan solutions // *Acta Polymerica.* 1985. Vol. 36, № 8. P. 420–424.
12. Rinaudo M., Milas M., Le Dung P. Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion // *Intern. J. Biol. Macromolec.* 1993. Vol. 15, № 5. P. 281–285.
13. Otake K., Shimomura T., Goto T., Imura T., Furuya T., Yoda S., Takebayashi Y., Sakai H., Abe M. One-step preparation of chitosan-coated cationic liposomes by an improved supercritical reverse-phase evaporation method // *Langmuir.* 2006. Vol. 22, № 9. P. 4054–4059.
14. Lipatova I. M., Makarova L. I. Effect of hydroacoustic treatment on chitosan dissolution in aqueous acetic acid solutions // *Russ. J. Appl. Chem.* 2008. Vol. 81. № 12, P. 2112–2117.
15. Фомина В. И., Солонина Н. А., Казмичева О. Ф., Комаров Б. А., Шиповская А. Б. Нестабильность водно-кислотных растворов хитозана // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана : материалы 7-й междунар. конф. М. : ВНИРО, 2003. С. 367–371.
16. Kulish E. I., Chernova V. V., Volodina V. P., Kolesov S. V. Possible causes of “inconstancy” in the intrinsic viscosity of chitosan // *Polymer Science, Ser. A.* 2015. Vol. 57, № 5. P. 508–514.
17. Plisko E. A., Nud'ga L. A., Danilov S. N. Chitin and Its Chemical Transformations // *Russ. Chem. Rev.* 1977. Vol. 46, № 8. P. 764–774.
18. Chen R. H., Chang J. R., Shyur J. S. Effects of Ul-trasonic Conditions and Storage in Acidic Solutions on Changes in Molecular Weight and Polydispersity of Treated Chitosan // *Carbohydrate Research.* 1997. Vol. 299, № 4. P. 287–294.
19. Sklyar A. M., Gamzazade A. I., Rogovina L. Z., Titkova L. V., Pavlova S.-S. A., Rogožin S. V., Slonimskii G. L. Study of rheological properties of dilute and moderately concentrated solutions of chitosan // *Polym. Sci. U.S.S.R.* 1981. Vol. 23, № 6. P. 1546–1554.
20. Mironov A. V., Vikhoreva G. A., Kil'deeva N. R., Uspenskii S. A. Reasons for unstable viscous properties of chitosan solutions in acetic acid // *Polymer Science, Ser. B.* 2007. Vol. 49, № 1. P. 15–17.
21. Kasaai M. R., Arul J., Charlet G. Fragmentation of Chitosan by Acids // *The Scientific World J.* 2013. Article ID 508540. 11 p. DOI: <https://doi.org/10.1155/508540>
22. Нудьга Л. А., Бочек А. М., Каллистов О. В., Кучинский С. А., Петропавловский Г. А. Реологические свойства и надмолекулярная организация умеренно концентрированных растворов хитозана в уксусной кислоте в зависимости от pH // *Российский журн. прикл. химии.* 1993. Т. 66, № 1. С. 198–202.
23. Abramov A. Y., Kozyreva E. V., Shipovskaya A. B. Peculiarities of the physicochemical properties of chitosan solutions // *Europ. J. Natural History.* 2013. № 1. С. 30–35.
24. Vårum K. M., Ottøy M. H., Smidsrod O. Acid Hydrolysis of Chitosans // *Carbohydrate Polymers.* 2001. Vol. 46, № 1. P. 89–98.
25. Il'ina A. V., Varlamov V. P. Hydrolysis of Chitosan in Lactic Acid // *Appl. Biochem. Microbiology.* 2004. Vol. 40, № 3. P. 300–303.
26. Holme H. K., Davidsen L., Kristiansen A., Smidsrod O. Kinetics and Mechanisms of Depolymerization of Alginate and Chitosan in Aqueous Solution // *Carbohydrate Polymers.* 2008. Vol. 73, № 4. P. 656–664.
27. Gamzazade A. I., Sklyar A. M., Pavlova S.-S. A., Rogožin S. V. On the viscosity properties of chitosan solutions // *Polym. Sci. U.S.S.R.* 1981. Vol. 23, № 3. P. 665–669.
28. Chen R. H., Chen W. Y., Wang S. T., Hsu C. H., Tsai M. L. Changes in the Mark–Houwink hydrodynamic volume of chitosan molecules in solution of different organic acids, at different temperatures and ionic strengths // *Carbohydrate Polymers.* 2009. Vol. 78, № 4. P. 902–907.
29. Nud'ga L. A., Petrova V. A., Boček A. M., Kallistov O. V., Petrova S. F., Petropavlovskii G. A. Molecular and Supramolecular Transformations in Solutions of Chitosan and Allylchitosan // *Polymer Science, Ser. B.* 1997. Vol. 39, № 7–8. P. 259–263.
30. Jocić D., Juliá M. R., Erra P. The Time Dependence of Chitosan / Nonionic Surfactant Solution Viscosity // *Colloid Polym. Sci.* 1996. Vol. 274, № 4. P. 375–383.
31. Sorlier P., Viton C., Domard A. Relation between Solution Properties and Degree of Acetylation of Chitosan: Role of Aging // *Biomacromolecules.* 2002. Vol. 3, № 6. P. 1336–1342.
32. Бойко И. С., Подколотная О. А., Лысачок С. Г., Шмаков С. Л. Вязкостная деградация кислотных растворов хитозана и ее изучение методом ионного зонда // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* 2015. Т. 15, вып. 4. С. 21–30.
33. Kramarenko E. Y., Erukhimovich I. Y., Khokhlov A. R. Spinodal stability of a salt polyelectrolyte solution : Effect of formation of ion pairs and multiplets // *Polymer Science, Ser. A.* 2004. Vol. 46, № 9. P. 974–984.



34. *Cerqueira D. A., Filho G. R., Assunção R. M. N.* A New Value for the Heat of Fusion of a Perfect Crystal of Cellulose Acetate // *Polym. Bull.* 2006. Vol. 56, № 4–5. P. 475–484.
35. *Li Q. X., Song B. Z., Vang Z. Q., Fan H. L.* Electrolytic conductivity behaviors and solution conformations of chitosan in different acid solutions // *Carbohydrate Polymers.* 2006. Vol. 63, № 2. P. 272–282.
36. *Mikhailov G. P., Tuchkov S. V., Lazarev V. V., Kulish E. I.* Complexation of chitosan with acetic acid according to Fourier transform Raman spectroscopy data // *Russ. J. Physical Chem., Ser. A.* 2014. Vol. 88, iss. 6. P. 936–941.
37. *Shipovskaya A. B., Fomina V. I., Kazmicheva O. F., Timofeeva G. N., Komarov B. A.* Effect of molecular mass on the optical activity of chitosan // *Polymer Science, Ser. B.* 2007. Vol. 49, № 11–12. P. 288–291.
38. *Shipovskaya A. B., Fomina V. I., Kazmicheva O. F., Rudenko D. A., Malinkina O. N.* Optical activity of films based on chitosan of various molecular masses and modifications // *Polymer Science, Ser. A.* 2017. Vol. 59, № 3. P. 330–341.
39. *Koralewski M., Bodek K. H., Marczewska K.* Optical properties of chitosan in aqueous solution. Lodz : Polish Chitin Soc., 2006. Monograph XI. P. 29–39.
40. *Крамаренко Е. Ю.* Теория эффектов, связанных с ионной ассоциацией в полиэлектролитных системах : автореф. дис. ... д-ра физ.-мат. наук. М., 2008. 39 с.
41. *Volkov E. V., Filippova O. E., Khokhlov A. R.* Dual Polyelectrolyte-Ionomer Behavior of Poly(Acrylic Acid) in Methanol : 2. Salt Solutions // *Colloid Journal.* 2004. Vol. 66, № 6. P. 669–672.
42. *Lamargue G., Lucas J.-M., Viton C., Domard A.* Physicochemical behavior of homogeneous series of acetylated chitosans in aqueous solution : role of various structural parameters // *Biomacromolec.* 2005. Vol. 6, № 1. P. 131–142.
43. *Samuels R. J.* Solid state characterization of the structure of chitosan films // *J. Polymer Science.* 1981. Vol. 19, № 7. P. 1081–1105.
44. *Fan M., Hu Q., Shen K.* Preparation and Structure of Chitosan Soluble in Wide pH Range // *Carbohydrate Polymers.* 2009. Vol. 78, № 1. P. 66–71.
45. *Ageev E. P., Vikhoreva G. A., Zotkin M. A., Matushkina N. N., Gerasimov V. I., Zevin S. B., Obolonkova E. S.* Structure and transport behavior of heat-treated chitosan films // *Polymer Science, Ser. A.* 2004. Vol. 46, № 12. P. 1245–1250.
46. *Prashanth K. V. H., Kittur F. S., Tharanathan R. N.* Solid State Structure of Chitosan Prepared under Different N-Deacetylating Conditions // *Carbohydrate Polymers.* 2002. Vol. 50, № 1. P. 27–33.
47. *Ogawa K., Yui T., Okuyama K.* Three D Structures of chitosan // *J. Biological Macromolecules.* 2004. Vol. 34, № 1–2. P. 1–8.
48. *Dobrovol'skaya I. P., Popryadukhin P. V., Dresvyani-na E. N., Yudin V. E., Elokhovskii V. Yu., Saprykina N. N., Khomenko A. Yu., Chvalun S. N., Maslennikova T. P., Korytkova E. N.* Structure and characteristics of chitosan-based fibers containing chrysotile and halloysite // *Polymer Science, Ser. A.* 2011. Vol. 53, № 5. P. 418–423.
49. *Chalykh A. E., Petrova T. F., Khasbiullin R. R., Ozerin A. N.* Water sorption on and water diffusion in chitin and chitosan // *Polymer Science, Ser. A.* 2014. Vol. 56, № 5. P. 614–622.
50. *Starodoubtsev S. G., Khokhlov A. R., Sokolov E. L., Chu B.* Evidence for Polyelectrolyte/Ionomer Behavior in the Collapse of Polycationic Gels // *Macromolecules.* 1995. Vol. 28, № 11. P. 3930–3936.
51. *Smirnov V. A., Philippova O. E., Sukhadolski G. A., Khokhlov A. R.* Multiplets in polymer gels. Rare earth metal ions luminescence study // *Macromolecules.* 1998. Vol. 31, № 4. P. 1162–1167.

Образец для цитирования:

Фомина В. И., Солонина Н. А., Шиповская А. Б. Ионная агрегация макромолекул как причина кинетической (не)стабильности физико-химических свойств растворов хитозана // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* 2019. Т. 19, вып. 1. С. 22–38. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-22-38>

Ionic Aggregation of Macromolecules as the Cause of the Kinetic (Non)Stability of Physicochemical Properties of Chitosan Solutions

V. I. Fomina, N. A. Solonina, A. B. Shipovskaya

Valentina I. Fomina, <https://orcid.org/0000-0001-5309-5267>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, fomina.oni@yandex.ru

Nina A. Solonina, <https://orcid.org/0000-0002-0799-0313>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, soloninana@info.sgu.ru

Anna B. Shipovskaya, <https://orcid.org/0000-0003-1916-4067>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, shipovskayaab@yandex.ru

Hydrodynamic, optical, colloid-flocculating, film-forming and structural morphological properties of diluted chitosan solutions (50–640 kDa) in acetate buffer (0.33 M CH₃COOH + 0.2 M CH₃COONa), both initial ones and stored for ~1,850 days, were studied. It has been established that the decrease in the intrinsic viscosity of solutions over time is manifested for the reprecipitated and high-molecular-weight samples of chitosan to a greater degree. The viscosity drop effect is not affected by the use of untreated or sterile degassed distilled water to dissolve the polymer. A decrease in the values of the self-diffusion coefficient of macromolecules and an increase in the refractive index increment of solutions were also observed in the course of storage. At the same time, optical, electrochemical and flocculating properties of the polymer system showed a very slight change. A diagram of the kinetics of physicochemical properties of the chitosan–acetate buffer system is proposed, which includes three time stages with different patterns of structure formation. It is suggested that features of the properties of acid-salt solutions over time are controlled by the formation of ion



pairs of the polycation with acetate anions, their multiplets, followed by ionic aggregation of the structures formed and liquid-crystal phase separation of the polymer system. It was found that the spontaneously separated phase is represented by a highly crystalline polymorphic modification of the polymer with characteristic features of an «anhydrous» crystal lattice.

Keywords: viscosity, kinetics, crystallization, dilute solutions, chitosan.

References

1. Aiba S. Studies on chitosan: 3. Evidence for the presence of random and blockcopolymer structures in partially N-acetylated chitosans. *Intern. J. Biol. Macromol.*, 1991, vol. 13, no. 1, pp. 40–44.
2. Vikhoreva G. A., Pchelko O. M., Gal'braikh L. S., Rogovina S. Z. The phase state and rheological properties of the chitosan-acetic acid-water system. *Polymer Science, Ser. B*, 2001, vol. 43, no. 6, pp. 1079–1084.
3. Pillai C. K. S., Willi P., Chandra P. S. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progr. Pol. Sci.*, 2009, vol. 34, no. 7, pp. 641–678.
4. Rinaudo M., Pavlov G., Desbrieres J. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polymer*, 1999, vol. 40, no. 25, pp. 7029–7032.
5. Pa J., Yu T. Light scattering study of chitosan in acetic acid aqueous solution. *Macromol. Chem. Phys.*, 2001, vol. 202, no. 7, pp. 985–991.
6. Yevlampieva N. P., Gorshkova M. Y., Volkova I. F., Gri-goryan E. S., Lezov A. A., Khurchak A. P., Ryumtsev E. I. Molecular properties of modified chitosan containing a quaternary amino group. *Polymer Science, Ser. A*, 2011, vol. 53, no. 2, pp. 124–132.
7. Anthonen M. W., Varum K. M., Hermansson A. M., Smidsrod O., Brant D. A. Aggregates in acidic solutions of chitosans detected by static laser light scattering. *Carbohydr. Polym.*, 1994, vol. 25, no. 1, pp. 13–23.
8. Philippova O. E., Korchagina E. V. Chitosan and its hydrophobic derivatives: Preparation and aggregation in dilute aqueous solutions. *Polymer Science, Ser. A*, 2012, vol. 54, no. 7, pp. 552–572.
9. Shipovskaya A. B., Fomina V. I., Solonina N. A., Kazmichyova O. F., Kozlov V. A., Timofeeva G. N. Osobennosti strukturoobrazovaniya v rastvorah hitozana [Features of structure formation in chitosan solutions]. In: *Struktura i dinamika molekulyarnykh sistem: sb. nauch. tr.* [Structure and dynamics of molecular systems: collection of articles scientific papers]. Yoshkar-Ola, MarGTU Publ., 2001, iss. VIII, part 2, pp. 147–151 (in Russian).
10. Mogilevskaya E. L., Akopova T. A., Zelenetsii A. N., Ozerin A. N. The crystal structure of chitin and chitosan. *Polymer Science, Ser. A*, 2006, vol. 48, no. 2, pp. 116–123.
11. Gamzazade A. I., Šlimak V. M., Skljar A., Štykova E. V., Pavlova S.-S. A., Rogozhin S. V. Investigation of the hydrodynamic properties of chitosan solutions. *Acta Polymerica*, 1985, vol. 36, no. 8, pp. 420–424.
12. Rinaudo M., Milas M., Le Dung P. Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. *Intern. J. Biol. Macromolec.*, 1993, vol. 15, no. 5, pp. 281–285.
13. Otake K., Shimomura T., Goto T., Imura T., Furuya T., Yoda S., Takebayashi Y., Sakai H., Abe M. One-step preparation of chitosan-coated cationic liposomes by an improved supercritical reverse-phase evaporation method. *Langmuir*, 2006, vol. 22, no. 9, pp. 4054–4059.
14. Lipatova I. M., Makarova L. I. Effect of hydroacoustic treatment on chitosan dissolution in aqueous acetic acid solutions. *Russ. J. Appl. Chem.*, 2008, vol. 81, no. 12, pp. 2112–2117.
15. Fomina V. I., Solonina N. A., Kazmicheva O. F., Komarov B. A., Shipovskaya A. B. Nestabil'nost' vodno-kislotnykh rastvorov hitozana [Instability of aqueous acid solutions of chitosan]. *Sovremennye perspektivy v issledovanii hitina i hitozana: materialy 7-i mezhdunarod. konf.* [Modern perspectives in the study of chitin and chitosan. Mater. Seventh International. conf.]. Moscow, VNIRO, 2003, pp. 367–371 (in Russian).
16. Kulish E. I., Chernova V. V., Volodina V. P., Kolesov S. V. Possible causes of “inconstancy” in the intrinsic viscosity of chitosan. *Polymer Science, Ser. A*, 2015, vol. 57, no. 5, pp. 508–514.
17. Plisko E. A., Nud'ga L. A., Danilov S. N. Chitin and Its Chemical Transformations. *Russ. Chem. Rev.*, 1977, vol. 46, no. 8, pp. 764–774.
18. Chen R. H., Chang J. R., Shyr J. S. Effects of Ul-trasonic Conditions and Storage in Acidic Solutions on Changes in Molecular Weight and Polydispersity of Treated Chitosan. *Carbohydrate Research*, 1997, vol. 299, no. 4, pp. 287–294.
19. Sklyar A. M., Gamzazade A. I., Rogovina L. Z., Titkova L. V., Pavlova S.-S. A., Rogozhin S. V., Slonimskii G. L. Study of rheological properties of dilute and moderately concentrated solutions of chitosan. *Polym. Sci. U.S.S.R.*, 1981, vol. 23, no. 6, pp. 1546–1554.
20. Mironov A. V., Vikhoreva G. A., Kil'deeva, Uspenskii S. A. Reasons for unstable viscous properties of chitosan solutions in acetic acid. *Polymer Science, Ser. B*, 2007, vol. 49, no. 1, pp. 15–17.
21. Kasaai M. R., Arul J., Charlet G. Fragmentation of Chitosan by Acids. *The Scientific World J.*, 2013, Article ID 508540. 11 p. DOI: <https://doi.org/10.1155/508540>
22. Nud'ga L. A., Bocek A. M., Kallistov O. V., Kuchinskij S. A., Petropalovskij G. A. Reologicheskie svoystva i nadmolekulyarnaya organizaciya umerenno koncentrirovannykh rastvorov hitozana v uksusnoj kisloste v zavisimosti ot rN [Rheological properties and supramolecular organization of moderately concentrated solutions of chitosan in acetic acid, depending on pH]. *Rossijskij zhurn. prikl. himii.* [Russ. J. Appl. Chem.], 1993, vol. 66, no. 1, pp. 198–202 (in Russian).
23. Abramov A. Y., Kozyreva E. V., Shipovskaya A. B. Peculiarities of the physicochemical properties of chitosan solutions. *Europ. J. Natural History*, 2013, no. 1, pp. 30–35.
24. Vårum K. M., Ottøy M. H., Smidsrød O. Acid Hydrolysis of Chitosans. *Carbohydrate Polymers*, 2001, vol. 46, no. 1, pp. 89–98.
25. Il'ina A. V., Varlamov V. P. Hydrolysis of Chitosan in Lactic Acid. *Appl. Biochem. Microbiology*, 2004, vol. 40, no. 3, pp. 300–303.



26. Holme H. K., Davidsen L., Kristiansen A., Smidsrod O. Kinetics and Mechanisms of Depolymerization of Alginate and Chitosan in Aqueous Solution. *Carbohydrate Polymers*, 2008, vol. 73, no. 4, pp. 656–664.
27. Gamzazade A. I., Sklyar A. M., Pavlova S.-S. A., Rogozhin S. V. On the viscosity properties of chitosan solutions. *Polym. Sci. U.S.S.R.*, 1981, vol. 23, no. 3, pp. 665–669.
28. Chen R. H., Chen W. Y., Wang S. T., Hsu C. H., Tsai M. L. Changes in the Mark–Houwink hydrodynamic volume of chitosan molecules in solution of different organic acids, at different temperatures and ionic strengths. *Carbohydrate Polymers*, 2009, vol. 78, no. 4, pp. 902–907.
29. Nud'ga L. A., Petrova V. A., Bochek A. M., Kallistov O. V., Petrova S. F., Petropavlovskii G. A. Molecular and Supramolecular Transformations in Solutions of Chitosan and Allylchitosan. *Polymer Science, Ser. B.*, 1997, vol. 39, no. 7–8, pp. 259–263.
30. Jocić D., Juliá M. R., Erra P. The Time Dependence of Chitosan / Nonionic Surfactant Solution Viscosity. *Colloid Polym. Sci.*, 1996, vol. 274, no. 4, pp. 375–383.
31. Sorlier P., Viton C., Domard A. Relation between Solution Properties and Degree of Acetylation of Chitosan: Role of Aging. *Biomacromolecules*, 2002, vol. 3, no. 6, pp. 1336–1342.
32. Bojko I. S., Podkolodnaya O. A., Lysachok S. G., Shmakov S. L. Vyazkostnaya degradaciya kislotnyh rastvorov hitozana i ee izuchenie metodom ionnogo zonda [Viscous Degradation of Acidic Chitosan Solutions and its Ionic Probe Study]. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2015, vol. 15, iss. 4, pp. 21–30 (in Russian).
33. Kramarenko E. Y., Erukhimovich I. Y., Khokhlov A. R. Spinodal stability of a salt polyelectrolyte solution: Effect of formation of ion pairs and multiplets. *Polymer Science, Ser. A*, 2004, vol. 46, no. 9, pp. 974–984.
34. Cerqueira D. A., Filho G. R., Assunção R. M. N. A New Value for the Heat of Fusion of a Perfect Crystal of Cellulose Acetate. *Polym. Bull.*, 2006, vol. 56, no. 4–5, pp. 475–484.
35. Li Q. X., Song B. Z., Vang Z. Q., Fan H. L. Electrolytic conductivity behaviors and solution conformations of chitosan in different acid solutions. *Carbohydrate Polymers*, 2006, vol. 63, no. 2, pp. 272–282.
36. Mikhailov G. P., Tuchkov S. V., Lazarev V. V., Kulish E. I. Complexation of chitosan with acetic acid according to Fourier transform Raman spectroscopy data. *Russ. J. Physical Chem., Ser. A*, 2014, vol. 88, iss. 6, pp. 936–941.
37. Shipovskaya A. B., Fomina V. I., Kazmicheva O. F., Timofeeva G. N., Komarov B. A. Effect of molecular mass on the optical activity of chitosan. *Polymer Science, Ser. B*, 2007, vol. 49, no. 11–12, pp. 288–291.
38. Shipovskaya A. B., Fomina V. I., Kazmicheva O. F., Rudenko D. A., Malinkina O. N. Optical activity of films based on chitosan of various molecular masses and modifications. *Polymer Science, Ser. A*, 2017, vol. 59, no. 3, pp. 330–341.
39. Koralewski M., Bodek K. H., Marczewska K. *Optical Properties of Chitosan in Aqueous Solution* Lodz. *Polish Chitin Soc.*, 2006, monograph XI, pp. 29–39.
40. Kramarenko E. Yu. *Teoriya ehffektov, svyazannyh s ionnoj associaciej v poliekhktrolitnyh sistemah* [Theory of effects associated with ionic association in polyelectrolyte systems. Thesis Dis. Doct. Sci. (Phys.-Mat.). Moscow, 2008. 39 p. (in Russian).
41. Volkov E. V., Filippova O. E., Khokhlov A. R. Dual Polyelectrolyte-Ionomer Behavior of Poly(Acrylic Acid) in Methanol: 2. Salt Solutions. *Colloid Journal*, 2004, vol. 66, no. 6, pp. 669–672.
42. Lamargue G., Lucas J.-M., Viton C., Domard A. Physicochemical behavior of homogeneous series of acetylated chitosans in aqueous solution: role of various structural parameters. *Biomacromolec.*, 2005, vol. 6, no. 1, pp. 131–142.
43. Samuels R. J. Solid state characterization of the structure of chitosan films. *J. Polymer Science*, 1981, vol. 19, no. 7, pp. 1081–1105.
44. Fan M., Hu Q., Shen K. Preparation and Structure of Chitosan Soluble in Wide pH Range. *Carbohydrate Polymers*, 2009, vol. 78, no. 1, pp. 66–71.
45. Ageev E. P., Vikhoreva G. A., Zotkin M. A., Matushkina N. N., Gerasimov V. I., Zezin S. B., Obolonkova E. S. Structure and transport behavior of heat-treated chitosan films. *Polymer Science, Ser. A*, 2004, vol. 46, no. 12, pp. 1245–1250.
46. Prashanth K. V. H., Kittur F. S., Tharanathan R. N. Solid State Structure of Chitosan Prepared under Different N-Deacetylating Conditions. *Carbohydrate Polymers*, 2002, vol. 50, no. 1, pp. 27–33.
47. Ogawa K., Yui T., Okuyama K. Three D Structures of chitosan. *J. Biological Macromolecules*, 2004, vol. 34, no. 1–2, pp. 1–8.
48. Dobrovolskaya I. P., Popryadukhin P. V., Dresvyaniina E. N., Yudin V. E., Elokhovskii V. Yu., Saprykina N. N., Khomenko A. Yu., Chvalun S. N., Maslennikova T. P., Korytkova E. N. Structure and characteristics of chitosan-based fibers containing chrysotile and halloysite. *Polymer Science, Ser. A*, 2011, vol. 53, no. 5, pp. 418–423.
49. Chalykh A. E., Petrova T. F., Khasbiullin R. R., Ozerin A. N. Water sorption on and water diffusion in chitin and chitosan. *Polymer Science, Ser. A*, 2014, vol. 56, no. 5, pp. 614–622.
50. Starodoubtsev S. G., Khokhlov A. R., Sokolov E. L., Chu B. Evidence for Polyelectrolyte/Ionomer Behavior in the Collapse of Polycationic Gels. *Macromolecules*, 1995, vol. 28, no. 11, pp. 3930–3936.
51. Smirnov V. A., Philippova O. E., Sukhadolski G. A., Khokhlov A. R. Multiplets in polymer gels. Rare earth metal ions luminescence study. *Macromolecules*, 1998, vol. 31, no. 4, pp. 1162–1167.

Cite this article as:

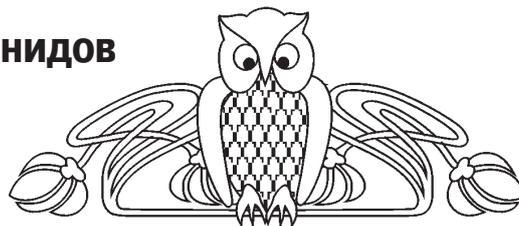
Fomina V. I., Solonina N. A., Shipovskaya A. B. Ionic Aggregation of Macromolecules as the Cause of the Kinetic (Non)Stability of Physicochemical Properties of Chitosan Solutions. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 22–38 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-22-38>



УДК (547.1'123+544.431.15+544.433.3):(543.422.3+539.193/194+541.6)

Выяснение возможности взаимодействия органических селенидов и соли дигидроселенохромилия с дифенилпикрилгидразилом

А. Н. Панкратов, О. М. Цивилева, О. А. Цымбал, Я. Б. Древки, Р. С. Тумский, А. В. Маракаева



Панкратов Алексей Николаевич, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, PankratovAN@info.sgu.ru

Цивилева Ольга Михайловна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, tsivileva@ibppm.ru

Цымбал Олег Александрович, инженер-технолог отдела главного технолога, ООО «СЭПО-ЗЭМ» Саратовское электроагрегатное производственное объединение, olegtsymbal1990@yandex.ru

Древки Ярослав Борисович, кандидат химических наук, доцент кафедры «Микробиология, биотехнология и химия», Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова, drevko@list.ru

Тумский Роман Сергеевич, аспирант кафедры органической и биоорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, roma_ronaldinho@rambler.ru

Маракаева Анастасия Вячеславовна, аспирант кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, marakaeva_anastasiya@mail.ru

Высшие грибы – макробазидиомицеты имеют важное значение как продукты питания и биологические объекты для установления закономерностей функционирования, развития живых систем, их отклика на действие эффекторов различной природы. Недостаточно высокая активность антиоксидантной системы живых организмов, не позволяющая преодолеть негативные последствия окислительного стресса (избыточный уровень свободных радикалов в клетках) – причина старения и отмирания организмов. Ярко выраженными антиоксидантными свойствами обладают соединения селена, который является также жизненно важным микроэлементом с уникальными биологическими функциями. Селенсодержащие соединения обладают широким спектром биологического действия. Одним из показателей антиоксидантного действия служит антирадикальная активность, определяемая по реакции с участием стабильного свободного радикала дифенилпикрилгидразила (ДФПГ) $(C_6H_5)_2N-N^+-C_6H_2(NO_2)_3-2,4,6$. Другим важным индексом антиоксидантной активности является уровень пероксидного окисления липидов

(ПОЛ), оцениваемый по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Ввиду токсичности неорганических соединений селена в качестве антиоксидантных и микроэлементных добавок при культивировании базидиомицетов перспективны селенорганические соединения. Поэтому следует осуществить контрольные реакции селенорганических соединений с ДФПГ и ТБК. Цель настоящей работы – выяснение возможности взаимодействия трёх органических селенидов и соли дигидроселенохромилия с ДФПГ и ТБК. Типовые методики определения антирадикальной активности и уровня ПОЛ адаптированы к цели исследования. Спектрофотометрическим методом с привлечением квантовохимических расчётов на уровне теории B3LYP/6-311++G(d,p) и NBO-анализа изучено взаимодействие ряда селенорганических и модельных соединений с ДФПГ. Показано, что диацетофенонилселенид $C_6H_5COCH_2SeCH_2COC_6H_5$ почти не ингибирует ДФПГ. Уровень ингибирования наиболее высок в случае 2-(4-бромфенил)-4-фенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4H-селенохромена и особенно перхлората 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромилия. Для соли значительная степень ингибирования может быть связана с активацией метиленовых групп в элементоорганическом катионе за счёт приобретения гетерокольцом положительного заряда. В смеси селенорганического (диацетофенонилселенид, дигидроселенохромены, соль дигидроселенохромилия) или модельного соединения с ТБК не образуются продукты, имеющие полосы поглощения в видимой области спектра.

Ключевые слова: селенорганические соединения, диацетофенонилселенид, дигидроселенохромены, соли дигидроселенохромилия, ДФПГ, тиобарбитуровая кислота, ингибирование, спектрофотометрия, квантовохимические расчёты, теория функционала плотности, B3LYP, NBO-анализ.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-39-49>

Высшие грибы – макробазидиомицеты имеют важное значение как продукты питания и биологические объекты для установления закономерностей функционирования, развития живых систем, их отклика на действие эффекторов различной природы.

Недостаточно высокая активность антиоксидантной системы живых организмов, не позволяющая преодолеть негативные последствия окислительного стресса (избыточный уровень свободных радикалов в клетках) – причина старения и отмирания организмов [1–3].

Для повышения устойчивости культур высших грибов к окислительному стрессу, для обеспечения их редокс-статуса, адекватного в



плане клеточной дифференциации и перехода к генеративной стадии, используют антиоксиданты.

Ярко выраженными антиоксидантными свойствами обладают соединения селена, который является также жизненно важным микроэлементом с уникальными биологическими функциями. Селеносодержащие соединения обладают широким спектром биологического действия (см. библиографию работы [4]).

Одним из показателей антиоксидантного действия служит антирадикальная активность, определяемая по реакции [5] с участием стабильного свободного радикала 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил, N,N-дифенил-N'-пикрилгидразил,ДФПГ) $(C_6H_5)_2N-N'-C_6H_2(NO_2)_3-2,4,6$ ([6–9] и др.).

Другим важным индексом антиоксидантной активности является уровень пероксидного окисления липидов (ПОЛ) [10–18], оцениваемый по реакции [5] с тиобарбитуровой кислотой (ТБК).

Ввиду токсичности неорганических соединений селена в качестве антиоксидантных и микроэлементных добавок при культивировании базидиомицетов перспективны селенорганические соединения.

При биотестировании названных соединений понадобится учёт возможного взаимодействия самих добавок с ДФПГ и ТБК. Кроме того, вероятно присутствующие в исходных реактивах и/или возникающие при лабораторной процедуре синтеза Se-органических веществ микропримеси могут повлиять на чистоту антиоксидантных тестов.

Поэтому следует осуществить контрольные («холостые») реакции селенорганических соединений с ДФПГ и ТБК.

При параллельном проведении биотестовых и контрольных реакций с ДФПГ и ТБК влияние растворителя и микропримесей релятивизируется, поэтому и в нашей работе необходимость учёта их возможного взаимодействия с селенорганическими веществами, ДФПГ и ТБК отсутствует. Кроме того, методики [5] определения антирадикальной активности и уровня ПОЛ общеприняты, доказали свою надёжность и не отягощены взаимодействием ДФПГ и ТБК с растворителем (этанолом).

Цель настоящей работы – выяснение возможности взаимодействия трёх органических селенидов и соли дигидроселенохромилия с дифенилпикрилгидразилом и тиобарбитуровой кислотой.

Материалы и методы

1. Объекты и методы экспериментального исследования

Объектами исследования (рис. 1) служили, во-первых, следующие органические соединения селена: 1,5-дифенилселенопентандион-1,5 (диацетофенонилселенид, бис(бензоилметил)селенид, препарат ДАФС-25) $C_6H_5COCH_2SeCH_2COC_6H_5$ (1), 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4H-селенохромен (2), 2-(4-бромфенил)-4-фенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4H-селенохромен (3) и перхлорат 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромилия (4) [19–24].

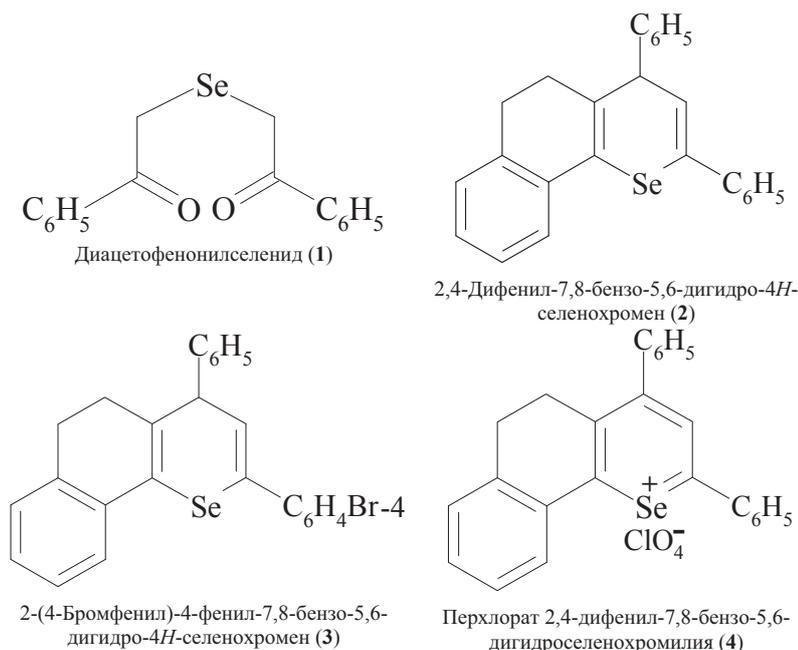


Рис. 1. Селенорганические соединения



Другую группу объектов исследования составляли модельные соединения: циклогексан C_6H_{12} , бензол C_6H_6 , этилбензол $C_6H_5CH_2CH_3$, ацетофенон $C_6H_5COCH_3$, бромбензол C_6H_5Br .

Для изучения взаимодействия химических соединений с ДФПГ и ТБК нами адаптированы методики, изложенные в книге [5]. Поскольку реализованные в нашей работе методики несколько отличаются от стандартных [5], мы сочли необходимым привести их в статье по сути как фрагмент обсуждения результатов, попавший в силу специфики своего содержания в раздел «Материалы и методы».

Концентрация селенорганических соединений **1-4** и модельных веществ была той же, что и в культуральных жидкостях при выращивании культур высших грибов, а именно $1.00 \cdot 10^{-4}$ моль/л. По точной навеске готовят $1.00 \cdot 10^{-2}$ М раствор вещества **1** в 96 об. %-ном водном этаноле CH_3CH_2OH . Соединения **2-4** растворяют с концентрацией $1.00 \cdot 10^{-2}$ моль/л в смеси 96 об. %-ный этанол – 2-пирролидон (рис. 2) – диметилсульфоксид $(CH_3)_2S \rightarrow O$ в объёмном соотношении 3 : 3 : 1. Исходные $1.00 \cdot 10^{-2}$ М растворы веществ **1-4** разбавляют 80 об. %-ным этанолом до концентрации $1.00 \cdot 10^{-4}$ моль/л. $1.00 \cdot 10^{-2}$ М растворы жидких модельных соединений приготавливают путём растворения рассчитанных объёмов веществ в 80 об. %-ном этаноле; этим же растворителем производят разбавление до рабочей концентрации $1.00 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

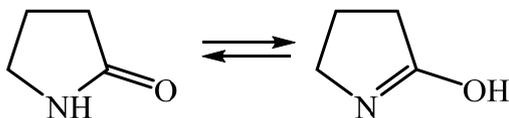


Рис. 2. 2-Пирролидон

2. Изучение взаимодействия селенорганических и модельных соединений с дифенилпикрилгидразилом (рис. 3)

Используют 0.1 мМ раствор ДФПГ в 80 об. %-ном водном этаноле. Массу ДФПГ для приготовления раствора вычисляют по формуле: $m = McV \cdot 10^{-6}$, где m – масса ДФПГ, г; M – молярная масса ДФПГ, равная 394.33 г/моль; c – концентрация раствора ДФПГ (0.1 ммоль/л); V – необходимый объём раствора, мл. На 25 мл раствора берут навеску 0.0010 г ДФПГ. Для ускорения и обеспечения полноты растворения вещества используют ультразвук (частота акустических колебаний 30–40 МГц, время 10–15 мин, температура 27 °С), генерируемый в ультразвуковой ванне «Сапфир» (Россия). Раствор хранят не более двух суток.

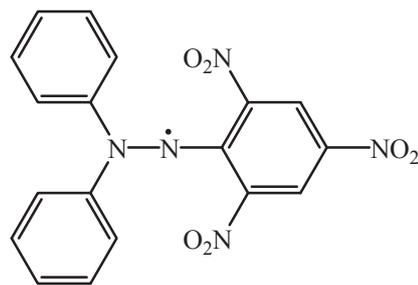


Рис. 3. Дифенилпикрилгидразил (ДФПГ)

Строят градуировочную характеристику по тролоксу (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) (рис. 4) в координатах процент ингибирования – количество вещества. Для этого растворяют 3 мг тролокса в 2.4 мл 80 об. %-ного этанола. Раствор нестойкий, хранится не более двух суток. Для каждого образца выполняют три параллельных опыта. В контрольную пробирку (контрольный опыт) вносят только 2 мл этанола. Инициирование реакции производят путём добавления в реакционную смесь по 2 мл раствора ДФПГ. Пробирки хорошо встряхивают и оставляют на 30 мин в темноте. По истечении указанного времени регистрируют электронные абсорбционные спектры. Берут значения оптической плотности растворов при одной длине волны во всех опытах ($\lambda = 517$ нм).

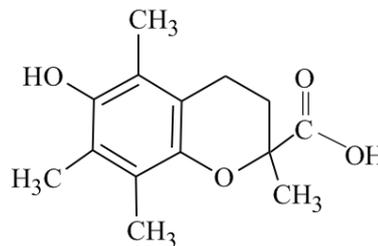


Рис. 4. Тролокс

Для расчёта процента ингибирования используют формулу

$$\text{процент ингибирования} = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \cdot 100,$$

где A_0 – оптическая плотность в отсутствие антиоксидантов (контроль); A_x – оптическая плотность исследуемого раствора. По градуировочному графику находят количество вещества, вступившего в реакцию с ДФПГ.

3. Изучение взаимодействия селенорганических соединений с тиобарбитуровой кислотой (рис. 5)

Используют 0.25 масс. %-ный водный раствор ТБК. К 2 мл образца приливают 1 мл 0.25 %-ного водного раствора ТБК и помещают пробы на



10 минут в кипящую водяную баню. После развития розовой окраски реакционную смесь охлаждают и центрифугируют в течение 10 минут. В качестве контроля используют смесь этанола и 0.25 %-ного водного раствора ТБК. Оптическую плотность измеряют при длине волны $\lambda = 532$ нм.

Для регистрации электронных спектров поглощения при исследовании реакций с участием как ДФПГ, так и ТБК применяют спектрофотометр Shimadzu UV-1800 (Япония).

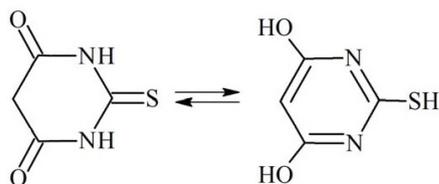


Рис. 5. Тиобарбитуровая кислота (ТБК)

4. Методика квантовохимического исследования

Исследование осуществлено методом теории функционала плотности (*Density Functional Theory*, DFT) [25–28] в варианте B3LYP [29–31] с базисным набором 6-311++G(d,p) [32, 33] с привлечением анализа натуральных связевых

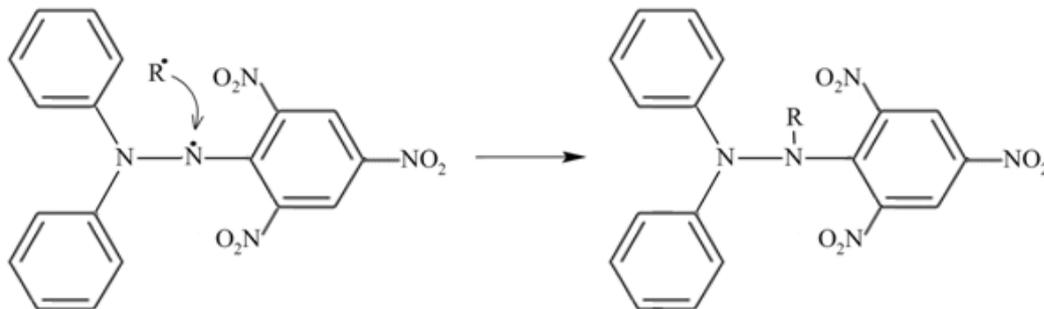


Рис. 6. Схема взаимодействия радикалов R• с ДФПГ

Чтобы опосредованно оценить возможность участия тех или иных связей С–Н или С–Вг рассматриваемых селенорганических молекулярных систем в реакции с ДФПГ, нами наряду с веществами 1–4, в названной реакции были изучены модельные соединения: циклогексан (неактивированная метиленовая группа CH₂), бензол (связь С–Н в ароматическом кольце), этилбензол (CH₂-звено по соседству с ароматической системой), ацетофенон (связи С–Н в α -положении к карбонильной группе С=О), бромбензол (связь C_{Ar}–Вг).

Результаты исследования реакции ингибирования ДФПГ показаны в таблице и на рис. 7–10. В таблице границы доверительных интервалов для значений количества вещества n приведены при числе измерений (объёме выборки) 3, числе степеней свободы 2, уровне доверительной вероятности 0.95.

орбиталей (*Natural Bond Orbital Analysis*, NBO-анализ) [34–39]. Квантовохимические расчёты проведены с использованием критерия сходимости «tight» [31, 40] по программам пакета Gaussian 03W [41]. NBO-анализ реализован по программе NBO 3.1 [39].

Результаты и их обсуждение

1. Взаимодействие селенорганических и модельных соединений с дифенилпикрилгидразилом

Антирадикальная активность служит мерой антиоксидантного действия веществ. Суть способа определения антирадикальной активности [5] заключается в снижении оптической плотности раствора стабильного свободного радикала ДФПГ (C₆H₅)₂N–N•–C₆H₂(NO₂)_{3-2,4,6} в присутствии антиоксидантов вследствие протекания его реакций с радикалами R• (рис. 6) ([6–9] и др.):

В приведённой на рис. 6 схеме под R• понимаются радикалы как уже имеющиеся в биологической среде, так и образующиеся в результате отрыва дифенилпикрилгидразилом атома водорода H• (в особенности подвижного) от молекул компонентов этой среды и введённых антиоксидантов либо других химических эффекторов.

Количество вещества, вступившего в реакцию с ДФПГ (n); мольная доля прореагировавшего вещества (ν) для селенорганических (1–4) и модельных соединений

Соединение	n , мкмоль	s_r^*	ν
1	1.0 ± 0.2	0.07	0.01
2	14 ± 3	0.08	0.14
3	41 ± 8	0.08	0.41
4	51 ± 6	0.05	0.51
Циклогексан	7 ± 4	0.2	0.07
Бензол	6 ± 2	0.04	0.06
Этилбензол	10 ± 2	0.07	0.10
Ацетофенон	12 ± 4	0.03	0.12
Бромбензол	12 ± 1	0.04	0.12

Примечание. * s_r – относительное стандартное отклонение.

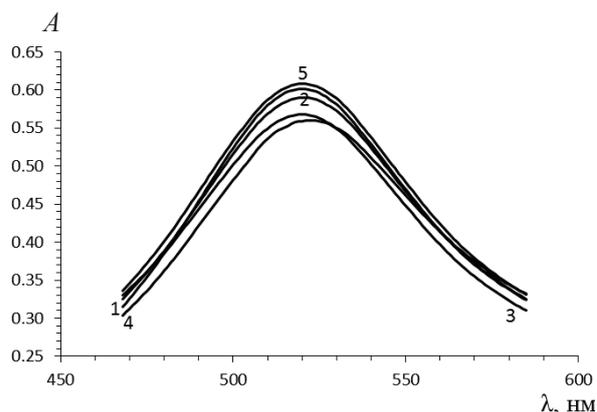


Рис. 7. Спектры поглощения реакционных смесей ингибирования ДФПГ. Нумерация соединений: 1 – 1, 2 – 2, 3 – 3, 4 – 4, 5 – контрольный раствор

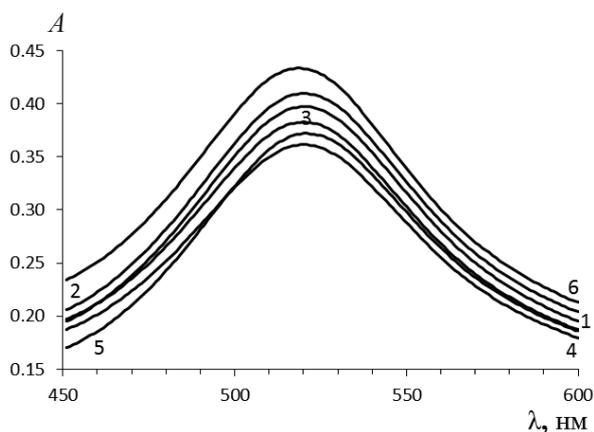


Рис. 8. Спектры поглощения реакционных смесей ингибирования ДФПГ. Нумерация соединений: 1 – циклогексан, 2 – бензол, 3 – этилбензол, 4 – ацетофенон, 5 – бромбензол, 6 – контрольный раствор

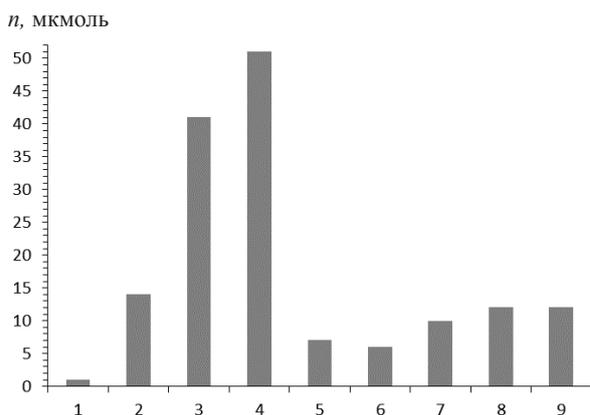


Рис. 9. Диаграмма ингибирования ДФПГ: количество вещества, вступившего в реакцию с ДФПГ (n). Нумерация соединений: 1 – 1, 2 – 2, 3 – 3, 4 – 4, 5 – циклогексан, 6 – бензол, 7 – этилбензол, 8 – ацетофенон, 9 – бромбензол

Под контрольным на рис. 7–10 понимается раствор ДФПГ в отсутствие других веществ (1–4 либо модельных).

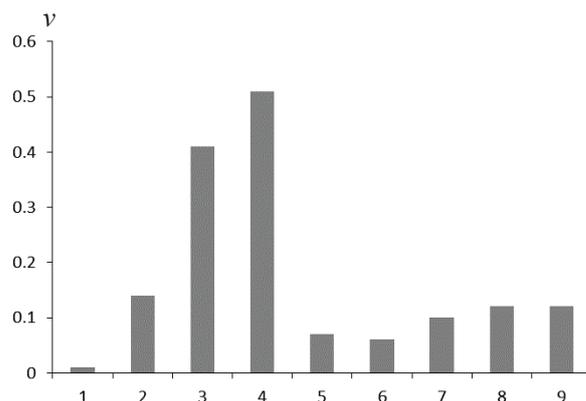


Рис. 10. Диаграмма ингибирования ДФПГ: мольная доля прореагировавшего вещества (ν). Нумерация соединений: 1 – 1, 2 – 2, 3 – 3, 4 – 4, 5 – циклогексан, 6 – бензол, 7 – этилбензол, 8 – ацетофенон, 9 – бромбензол

Широкий в ряде случаев доверительный интервал (см. таблицу) обусловлен «потерей точности при вычитании» в ходе разностных оценок ($A_0 - A_x$).

Модельные вещества, как и соединения 1–4, проявляют эффект ингибирования ДФПГ. При этом степень протекания указанного процесса несколько больше в случае систем с более или менее активированными связями С–Н: для этилбензола и ацетофенона выше, нежели для циклогексана; для бромбензола выше, чем для бензола.

Почти не ингибирует ДФПГ диацетофенонилселенид $C_6H_5COCH_2SeCH_2COC_6H_5$ (1). Степень превращения вещества 1 (см. таблицу) даже ниже, чем в случае ацетофенона и других модельных соединений. Возможным объяснением этому служит экранирование атома азота – центра радикальной атаки в ДФПГ в сочетании со стерической малодоступностью CH_2 -групп в селениде 1.

Ингибирующий эффект вещества 2 весьма близок к таковому для этилбензола, ацетофенона и бромбензола.

Наибольшую степень ингибирования ДФПГ демонстрируют соединения 3 и 4, особенно последнее.

Наиболее высокий уровень ингибирования ДФПГ для соли 4 может быть связан с активацией метиленовых групп CH_2 в катионе 4 за счёт приобретения гетерокольцом положительного заряда. Последнее подтверждается проведёнными нами на уровне теории V3LYP/6-311++G(d,p) квантово-химическими расчётами, показавшими, что сумма значений натурального заряда атомов углерода и селена гетероцикла в системах 2–4 составляет: –0.474 (2), –0.481 (3), 0.300 (изолированный катион 4 без перхлорат-аниона ClO_4^-), 0.415 (соль 4).



Более строгое объяснение результатов сравнительного экспериментального изучения ингибированияДФПГ соединениями **1–4** и модельными веществами может быть осуществлено лишь с привлечением дополнительных методов исследования: ядерного магнитного резонанса (ЯМР) на ядрах ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{81}Br , электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), химически индуцированной динамической поляризации ядер (ХИДПЯ) и др. [42, 43].

2. Взаимодействие селенорганических и модельных соединений с тиобарбитуровой кислотой

Ещё одна величина служит мерой антиоксидантного действия. Это уровень пероксидного окисления липидов, оцениваемый по реакции с ТБК.

Пероксидное окисление липидов (ПОЛ) – их окислительная деградация, происходящая в основном под воздействием свободных радикалов [10–18].

Наши эксперименты как с веществами **1–4**, так и с модельными соединениями (циклогексан, бензол, этилбензол, ацетофенон, бромбензол) привели к отрицательным результатам. Никакие из названных соединений не приводят к образованию окрашенных форм с максимумом поглощения в области $\lambda = 532$ нм, характерного для продуктов взаимодействия ТБК с дикарбонилами (большой частью 1,2- и 1,3-дикарбонильными соединениями) – интермедиатами реакции ПОЛ [5, 18]. Более того, не возникают вообще какие-либо продукты, поглощающие в видимой области спектра.

Заключение

1. Типовые методики определения антирадикальной активности и уровня ПОЛ адаптированы к задаче выяснения возможности взаимодействия органических соединений селена сДФПГ и ТБК.

2. Диацетофенилселенид почти не ингибируетДФПГ. Уровень ингибирования наиболее высок в случае 2-(4-бромфенил)-4-фенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4Н-селенохромена и особенно перхлората 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромилия. Для соли значительная степень ингибирования может быть связана с активацией метиленовых групп в элементоорганическом катионе за счёт приобретения гетерокольцом положительного заряда.

3. В смеси селенорганического (диацетофенилселенид, дигидроселенохромены, соль дигидроселенохромилия) или модельного соединения с ТБК не образуются продукты, имеющие полосы поглощения в видимой области спектра.

Благодарности

Авторы благодарят заместителя главного редактора журнала, директора Института химии СГУ, заведующего кафедрой органической и биоорганической химии СГУ, доктора химических наук, профессора Ольгу Васильевну Федотову и члена редакционной коллегии журнала, принимающего редактора журнала, заведующего кафедрой полимеров СГУ (на базе ООО «Акрипол» (г. Саратов)), доктора химических наук, профессора Анну Борисовну Шиповскую за ценные советы и обсуждение.

Список литературы

1. Vertuani S., Angusti A., Manfredini S. The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network : An Overview // Current Pharmaceutical Design. 2004. Vol. 10, № 14. P. 1677–1694. DOI: 10.2174/1381612043384655
2. Apel K., Hirt H. Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction // Annu Rev. Plant Biol. 2004. Vol. 55. P. 373–399. DOI: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701
3. Mishra V., Shah Ch., Mokalsh N., Chavan R., Yadav H., Prajapati J. Probiotics As Potential Antioxidants : A Systematic Review // J. Agric. Food Chem. 2015. Vol. 63, № 14. P. 3615–3626. DOI: 10.1021/jf506326t
4. Панкратов А. Н., Цивилева О. М., Белобородова А. С., Цымбал О. А., Древкин Я. Б. Антиоксидантный статус мицелия макробазидиомицетов, выращенных с добавлением селенорганических соединений // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 286–298. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-3-286-298>
5. Сибгатуллина Г. В., Хаертдинова Л. Р., Гумерова Е. А., Акулов А. Н., Костюкова Ю. А., Никонорова Н. А., Румянцев Н. И. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений. Казань : Казан. (Приволжский) Федер. ун-т, Биол.-почв. фак., каф. генетики, 2011. 61 с.
6. Бучаченко А. Л., Вассерман А. М. Стабильные радикалы. Электронное строение, реакционная способность и применение. М. : Химия, 1973. 408 с.
7. Розанцев Э. Г., Шолле В. Д. Органическая химия свободных радикалов. М.: Химия, 1979. 344 с.
8. Нонхивел Д., Волтон Дж. Химия свободных радикалов. Структура и механизм реакций / пер. с англ. М. Г. Гольдфельда ; под ред. И. П. Белецкой. М. : Мир, 1977. 608 с. [Nonhebel D. C., Walton J. C. Free-Radical Chemistry : Structure and Mechanism / With a foreword by J. M. Tedder. Cambridge : Cambridge Univ. Press, 1974. 572 p.]
9. Нонхивел Д., Теддер Дж., Волтон Дж. Радикалы / пер. с англ. В. А. Смита. М. : Мир, 1982. 268 с. [Nonhebel D. C., Tedder J. M., Walton J. C. Radicals. Cambridge; London ; New York ; Melbourne : Cambridge Univ. Press, 1979. 200 p. (Cambridge chemistry texts)].



10. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / отв. ред. Г. М. Франк. М. : Наука, 1972. 252 с.
11. Свободнорадикальное окисление липидов в норме и патологии : материалы симпозиума (Москва, 2–4 июня, 1976) / отв. ред. Ю. М. Петрусевич. М. : Наука. Гл. ред. вост. лит., 1976. 200 с.
12. Барабой В. А., Орёл В. Э., Карнаух И. М. Перекисное окисление и радиация / отв. ред. Д. М. Гродзинский. Киев : Наук. думка, 1991. 256 с.
13. Волкова Н. П., Воспельникова Н. Д., Силаева С. А., Голенченко В. А., Рубцова Г. В., Павлова Н. А., Авдеева Л. В., Губарева А. Е., Алейникова Т. Л., Воробьёва С. А., Андрианова Л. Е., Силюянова С. Н., Лесничук С. А., Осипов Е. В., Лихачёва Н. В., Корлякова О. В., Зезеров Е. Г., Титова Т. А. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / под ред. Е. С. Северина, А. Я. Николаева. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2005. 448 с. (XXI век).
14. Алейникова Т. Л., Авдеева Л. В., Андрианова Л. Е., Белушикина Н. Н., Волкова Н. П., Воробьева С. А., Голенченко В. А., Губарева А. Е., Корлякова О. В., Лихачева Н. В., Павлова Н. А., Рубцова Г. В., Силаева С. А., Силюянова С. Н., Титова Т. А. Биохимия / под ред. Е. С. Северина. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. 784 с.
15. Владимиров Ю. А., Потапенко А. Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов. М. : Дрофа, 2006. 287 с.
16. Repetto M., Semprine J., Boveris A., Kancheva V. D., Kasaikina O. T., Ali Hassan H., Abd El-Aal M., González P. M., Piloni N. E., Puntarulo S., Ilie M., Margina D., Sochor J., Ruttkay-Nedecky B., Babula P., Adam V., Hubalek J., Kizek R., Kaurinovic B., Popovic M., Fagali N., Catalá A., Mimica-Dukić N., Simin N., Svirčev E., Orčić D., Beara I., Lesjak M., Božin B., Jaarin K., Kamisah Y., Toyosaki T., Nieto G., Ros G., Kiang J. G., Fukumoto R., Gorbunov N. V., Rossi M. A., Özkaya Y. G., Carrillo M. C., Luján M. de Alvarez, Parody J. P., Quiroga A. D., Ceballos M. P., Sousa T., Afonso J., Albino-Teixeira A., Carvalho F., Fantinelli J. C., Pérez-Núñez I. A., González Arbeláez L. F., Mosca S. M., Pillon N. J., Soulage Ch. O., Naudí A., Jové M., Ayala V., Ramírez O., Cabré R., Prat J., Portero-Otin M., Ferrer I., Pamplona R., Kísic B., Miric D., Zoric L., Ilic A., Shimizu I., Shimamoto N., Saiki K., Furujō M., Osawa K., Kanunnikova N. P., Bashun N. Z., Moiseenok A. G., Vagula M. C., Konieszko E. M. Lipid Peroxidation / ed. by A. Catalá. InTech, 2012. 546 p. Электронный вариант: URL: <http://www.intechopen.com/books/lipid-peroxidation>
17. Тихонов И. В., Плисс Е. М., Бородин Л. И., Сень В. Д. Супероксидные радикалы в кинетике ингибированного нитроксильными радикалами окисления метиллинолеата в мицеллах // Химическая физика. 2017. Т. 36, № 6. С. 20–23. DOI: 10.1134/S1990793117030253
18. Ланкин В. З., Шумаев К. Б., Тихазе А. К., Курганов Б. И. Влияние дикарбониллов на кинетические характеристики глутатионпероксидазы // Докл. АН (Россия). 2017. Т. 475, № 6. С. 706–709. DOI: 10.1134/S1607672917040123
19. Пат. 2051681 Российская Федерация. МПК 6 А 61 К 33/04. Средство для лечения и профилактики болезней, вызываемых недостаточностью селена в организме сельскохозяйственных животных и птиц / Древо Б. И., В. А. Антипов, О. И. Жуков, Л. А. Фоменко, Л. И. Маркова, Р. И. Древо, Т. Н. Родионова, В. И. Ефремов, В. Г. Харченко. Заявл. 24.09.1993, № 93045743/15; Опубл. 10.01.1996. 12 с. // Изобретения (заявки и патенты). 1996. Бюл. № 1 (II ч.). С. 161.
20. Пат. 2171110 Российская Федерация. МПК 7 А 61 К 33/04. Средство для лечения и профилактики инфекционных заболеваний и отравлений животных и птиц, повышающее их продуктивность и сохранность / Древо Б. И., Р. И. Древо, В. А. Антипов, Б. А. Чернуха, А. Н. Яковлев. Заявл. 26.05.1999, № 99111064/13; Опубл. 27.07.2001. 16 с. // Изобретения. Полезные модели. 2001. Бюл. № 21 (II ч.). С. 219.
21. Древо Я. Б., Федотова О. В. Синтез первых представителей бензаннелированных дигидроселенохромонов // Химия гетероцикл. соед. 2006. № 10. С. 1586–1587. DOI: 10.1007/s10593-006-0253-5
22. Хайруллина В. Р., Герчиков А. Я., Гарифуллина Г. Г., Древо Я. Б., Федотова О. В. Антиокислительные свойства 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидро(4H)селенохромена и 2-пара-хлорфенил-4-фенил-7,8-бензо-5,6-дигидро(4H)селенохромена // Кинетика и катализ. 2010. Т. 51, № 1. С. 43–46. DOI: 10.1134/s0023158410010076
23. Хайруллина В. Р., Герчиков А. Я., Ильина Е. А., Древо Я. Б., Исаева А. Ю., Древо Б. И. Антиокислительные свойства некоторых производных 7,8-бензо-5,6-дигидро(4H)селенохромена // Кинетика и катализ. 2013. Т. 54, № 1. С. 16–19. DOI: 10.1134/s0023158413010096
24. Древо Я. Б., Осина Т. С., Федотова О. В., Древо Б. И. Реакция восстановления 2,4-диарил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромонов // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2015. Т. 15, вып. 2. С. 5–7.
25. Шлютер М., Шэм Л. Теория функционала плотности // Физика за рубежом. Теория поля. Жидкие кристаллы. Физика твёрдого тела. Астро- и геофизика. Новости физики : сб. науч.-поп. ст. / пер. с англ. Л. М. Блинова [и др.]. М. : Мир, 1983. С. 179–203.
26. Koch W., Holthausen M. C. A Chemist's Guide to Density Functional Theory. Toronto : Willey-VCH, 2001. 293 p. DOI: 10.1002/3527600043
27. Кон В. Электронная структура вещества – волновые функции и функционалы плотности // Успехи физ. наук. 2002. Т. 172, № 3. С. 336–348. DOI: 10.3367/UFN.0172.200203e.0336.
28. Sousa S. F., Fernandes P. A., Ramos M. J. General Performance of Density Functionals // J. Phys. Chem. A. 2007. Vol. 111, № 42. P. 10439–10452. DOI: 10.1021/jp0734474
29. Becke A. D. Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior // Phys. Rev. A. 1988. Vol. 38, № 6. P. 3098–3100. DOI: 10.1103/physreva.38.3098
30. Becke A. D. Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange // J. Chem. Phys. 1993. Vol. 98, № 7. P. 5648–5652. DOI: 10.1063/1.464913
31. Lee C., Yang W., Parr R. G. Development of the Colle-



- Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density // *Phys. Rev. B*. 1988. Vol. 37, № 2. P. 785–789. DOI: 10.1103/physrevb.37.785
32. Krishnan R., Binkley J. S., Seeger R., Pople J. A. Self-Consistent Molecular Orbital Methods. XX. A Basis Set for Correlated Wave Functions // *J. Chem. Phys.* 1980. Vol. 72, № 1. P. 650–654. DOI: 10.1063/1.438955
33. McLean A. D., Chandler G. S. Contracted Gaussian Basis Sets for Molecular Calculations. I. Second Row Atoms, $Z = 11-18$ // *J. Chem. Phys.* 1980. Vol. 72, № 10. P. 5639–5648. DOI: 10.1063/1.438980
34. Reed A. E., Curtiss L. A., Weinhold F. Intermolecular Interactions from a Natural Bond Orbital, Donor-Acceptor Viewpoint // *Chem. Rev.* 1988. Vol. 88, № 6. P. 899–926. DOI: 10.1021/cr00088a005
35. Немухин А. В., Вейнхольд Ф. Концепция Льюиса в современной квантовой химии // *Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева)*. 1994. Т. 38, № 6. С. 5–11.
36. Weinhold F., Landis C. R. Valency and Bonding : A Natural Bond Orbital Donor-Acceptor Perspective. Cambridge : Cambridge Univ. Press, 2005. 760 p. DOI: 10.1017/CB09780511614569
37. Glendening E. D., Landis C. R., Weinhold F. Natural Bond Orbital Methods // *WIREs Comput. Mol. Sci.* 2012. Vol. 2, № 1. P. 1–42. DOI: 10.1002/wcms.51
38. Mayer I. Bond Orders and Energy Components : Extracting Chemical Information from Molecular Wave Functions. Boca Raton : CRC Press, Taylor & Francis Group, 2016. 239 p. DOI: 10.1201/9781315374895
39. Glendening E. D., Reed A. E., Carpenter J. E., Weinhold F. A. NBO Version 3.1, 1995.
40. Schlegel H. B., McDouall J. J. W. Do You Have SCF Stability and Convergence Problems? // *Computational Advances in Organic Chemistry : Molecular Structure and Reactivity* / eds. C. Ögretir, I. G. Csizmadia. The Netherlands : Kluwer Academic, 1991. P. 167–185 (NATO-ASI Series C 330).
41. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Zakrzewski V. G., Montgomery J. A., Stratmann R. E., Burant J. C., Dapprich S., Millan J. M., Daniels A. D., Kudin K. N., Strain M. C., Farkas O., Tomasi J., Barone V., Cossi M., Cammi R., Mennucci B., Pomelli C., Adamo C., Clifford S., Ochterski J., Petersson G. A., Ayala P. Y., Cui Q., Morokuma K., Malich D. K., Rabuck A. D., Raghavachari K., Foresman J. B., Cioslowski J., Ortiz J. V., Baboul A. G., Stefanov B. B., Liu G., Liashenko A., Piskorz P., Komaromi I., Gomperts R., Martin R. L., Fox D. J., Keith T., Al-Laham M. A., Peng C. Y., Nanayakkara A., Gonzales C., Challacombe M., Gill P. M. W., Johnson B., Chen W., Wong M. W., Andreas J. L., Head-Gordon M., Replogle E. S., Pople J. A. Gaussian 03, Revision B.03. Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, 2003.
42. Пентин Ю. А., Вилков Л. В. Физические методы исследования в химии. М. : Мир, 2006. 684 с.
43. Преч Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных / пер. с англ. Б. Н. Тарасевича. М. : Мир ; БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. 438 с. (Методы в химии). [*Pretsch E., Bühlmann Ph., Affolter C. Structure Determination of Organic Compounds : Tables of Spectral Data*. Berlin : Heidelberg ; New York ; Barcelona ; Hong Kong ; London ; Milan ; Paris ; Singapore ; Tokyo : Springer-Verlag, 2000. 422 p. Более позднее издание: *Pretsch E., Bühlmann Ph., Badertscher M. Structure Determination of Organic Compounds: Tables of Spectral Data*. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. 433 p. DOI: 10.1007/978-3-540-93810-1].

Образец для цитирования:

Панкратов А. Н., Цивилева О. М., Цымбал О. А., Древо Я. Б., Тумский Р. С., Маракеева А. В. Выяснение возможности взаимодействия органических селенидов и соли дигидроселенохромилia с дифенилпикрилгидразилом // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 39–49. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-39-49>

Exploration of Possibilities for Organic Selenides and Dihydro-selenochromilium Salt Interaction with Diphenylpicrylhydrazyl

A. N. Pankratov, O. M. Tsivileva, O. A. Tsymbal,
Ya. B. Drevko, R. S. Tumskii, A. V. Marakaeva

Alexei N. Pankratov, <https://orcid.org/0000-0003-1719-4764>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, PankratovAN@info.sgu.ru

Olga M. Tsivileva, <https://orcid.org/0000-0002-5269-349X>, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms of the Russian Academy of Sciences, 13 Entuziastov Ave., Saratov 410049, Russia, tsivileva@ibppm.ru

Oleg A. Tsymbal, <https://orcid.org/0000-0002-8834-7548>, Saratov Voltage-Machines Production Association (Limited Liability Company

“SEPO-ZEM”), 112, 50 Let Oktyabrya Ave., Saratov 410065, Russia, olegtsymbal1990@yandex.ru

Yaroslav B. Drevko, <https://orcid.org/0000-0003-4007-2140>, Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov, 335 Sokolovaya Str., Saratov 410005, Russia, drevko@list.ru

Roman S. Tumskii, <https://orcid.org/0000-0003-2789-5994>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, roma_ronaldinho@rambler.ru

Anastasiya V. Marakaeva, <https://orcid.org/0000-0002-1378-6861>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, marakaeva_anastasiya@mail.ru

Higher fungi – basidiomycetes play significant role as food and biological subjects for establishing the regularities of the living systems' operation, development and response to the different-nature effectors



impact. Insufficient activity of the living organisms' antioxidant system interfering the ability of overcoming the negative consequences of oxidative stress (excessive level of free radicals in cells) is believed to be a reason for the organisms aging and death. For enhancing the sustainability of mushroom cultures to the oxidative stress, and for providing their adequate redox status in respect to cytodifferentiation and transition to the generative stage, antioxidants are utilized. Profound antioxidant properties are attributed to the compounds of selenium, which is also an essential microelement. One of the antioxidant action indicators is the antiradical activity determined by means of the reaction occurring with the participation of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) ($C_6H_5)_2N-N^{\cdot}-C_6H_2(NO_2)_3-2,4,6$. Another important antioxidant activity rate is the lipid peroxidation (LPO) level assessed by the reaction the reaction with thiobarbituric acid. In view of toxicity of inorganic selenium compounds, just the organoselenium ones are promising as the antioxidant and microelement supplementations at the basidiomycetes cultivation. With a view to future testing of the aforesaid compounds as a kind of supplement, their own possible interaction with DPPH and TBA must be explored to take that into account. That is why the implementation of reference reactions between the organoselenium compounds and DPPH should be provided. The present work is aimed to clarify the possibilities of interaction of three organic selenides and dihydroselechromilium salt with DPPH. Conventional determination techniques for the antiradical activity and LPO level have been adjusted to the research goal. By means of spectrophotometric method involving quantum chemical computations at a B3LYP/6-311++G(d,p) level of theory, and NBO-analysis, we studied a number of organoselenium and model compounds interaction with DPPH and TBA. It has been shown that diacetophenonylselenide $C_6H_5COCH_2SeCH_2COC_6H_5$ barely inhibits DPPH. The inhibition level is rather high with 2-(4-bromophenyl)-4-phenyl-7,8-benzo-5,6-dihydro-4H-selenochromene, and especially with 2,4-diphenyl-7,8-benzo-5,6-dihydroselechromilium perchlorate. Considerable extent of inhibition of the latter salt could be related to the activation of methylene groups in organoelement cation on account of positive charge acquisition by heteroring. The mixture of organoselenium (diacetophenonylselenide, dihydroselechromenes, dihydroselechromilium salt) or model compound with TBA does not yield any products with the absorbance bands in the visible spectrum region.

Keywords: organoselenium compounds, diacetophenonylselenide, dihydroselechromenes, dihydroselechromilium salts, DPPH, thiobarbituric acid, inhibition, spectrophotometry, quantum chemical computations, density functional theory, B3LYP, NBO analysis.

Acknowledgements: The authors would like to thank Deputy Editor-in-Chief of this Journal, Director of the Institute of Chemistry of the N. G. Chernyshevskii National Research Saratov State University, Head of the Division of Organic and Bioorganic Chemistry, Doctor of Chemical Sciences (Highest Degree), Professor Olga V. Fedotova and Editorial Board Member of this Journal, receiving Editor of the Journal, Head of the Division of Polymers of the N. G. Chernyshevskii National Research Saratov State University (on the base of OOO "Acrypol" (Saratov, Russia)), Doctor of Chemical Sciences (Highest Degree), Professor Anna B. Shipovskaya for valuable advice and discussion.

References

1. Vertuani S., Angusti A., Manfredini S. The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Current Pharmaceutical Design*, 2004, vol. 10, no. 14, pp. 1677–1694. DOI: 10.2174/1381612043384655
2. Apel K., Hirt H. Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annu Rev. Plant Biol.*, 2004, vol. 55, pp. 373–399. DOI: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701
3. Mishra V., Shah Ch., Mokashe N., Chavan R., Yadav H., Prajapati J. Probiotics As Potential Antioxidants: A Systematic Review. *J. Agric. Food Chem.*, 2015, vol. 63, no. 14, pp. 3615–3626. DOI: 10.1021/jf506326t
4. Pankratov A. N., Tsvivleva O. M., Beloborodaya A. S., Tsymbal O. A., Drevko Ya. B. Antioxidant Status of Macrobasiidiomycetes Mycelium Grown in the Presence of Organoselenium Compounds. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 286–298 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-3-286-298>
5. Sibgatullina G. V., Khaertdinova L. R., Gumerova E. A., Akulov A. N., Kostyukova Yu. A., Nikonrova N. A., Rummyantseva N. I. *Metody opredeleniya redoks-statusa kul'tiviruemyykh kletok rastenii* [Methods of Determination of the Redox Status of Cultivated Plant Cells], Kazan, Kazan. (Privolzhskii) federal. un-t, Biol.-pochv. fak., kaf. genetiki, 2011. 61 p. (in Russian).
6. Buchachenko A. L., Vasserman A. M. *Stabil'nye radikaly. Elektronnoe stroenie, reaktivnaya sposobnost' i primeneniye* [Stable Radicals. Electronic Structure, Reactivity and Application]. Moscow, Khimiya Publ., 1973. 408 p. (in Russian).
7. Rozantsev E. G., Sholle V. D. *Organicheskaya khimiya svobodnykh radikalov* [Organic Chemistry of Free Radicals]. Moscow, Khimiya Publ., 1979. 344 p. (in Russian).
8. Nonhebel D. C., Walton J. C. *Free-Radical Chemistry: Structure and Mechanism* / with a foreword by J. M. Tedder. Cambridge, Cambridge Univ. Press, 1974. 572 p.
9. Nonhebel D. C., Tedder J. M., Walton J. C. *Radicals*. Cambridge, London, New York, Melbourne, Cambridge Univ. Press, 1979. 200 p. (Cambridge chemistry texts).
10. Vladimirov Yu. A., Archakov A. I. *Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskikh membranakh* [Peroxide Oxidation of Lipids in Biological Membranes]. Moscow, Nauka Publ., 1972. 252 p. (in Russian).
11. *Svobodnoradikal'noe okislenie lipidov v norme i patologii: Materialy simpoziuma*. Moskva, 2–4 iyunya, 1976 [Free Radical Oxidation of Lipids in the Norm and Pathology: Proceedings of the Symposium. Moscow, June 2–4 1976]. Moscow, Nauka Publ., gl. red. vost. lit., 1976. 200 p. (in Russian).
12. Baraboi V. A., Orel V. E., Karnaukh I. M. *Perekisnoe okislenie i radiatsiya* [Peroxide Oxidation and Radiation]. Ed. D. M. Grodzinskii. Kiev, Naukova Dumka Publ., 1991. 256 p.
13. Volkova N. P., Vospel'nikova N. D., Silaeva S. A., Golenchenko V. A., Rubtsova G. V., Pavlova N. A., Avdeeva L. V., Gubareva A. E., Aleinikova T. L., Vorob'eva S. A., Andrianova L. E., Siluyanova S. N., Lesnichuk S. A.,



- Osipov E. V., Likhacheva N. V., Korlyakova O. V., Zezerov E. G., Titova T. A. *Biokhimiya. Kratkii kurs s uprazhneniyami i zadachami* [Biochemistry. A Brief Course with Exercises and Tasks]. Eds. E. S. Severin, A. Ya. Nikolaev. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2005. 448 p. (XXI Century) (in Russian).
14. Aleinikova T. L., Avdeeva L. V., Andrianova L. E., Belushkina N. N., Volkova N. P., Vorob'eva S. A., Golenchenko V. A., Gubareva A. E., Korlyakova O. V., Likhacheva N. V., Pavlova N. A., Rubtsova G. V., Silaeva S. A., Siluyanov S. N., Titova T. A. *Biokhimiya* [Biochemistry]. Ed. E. S. Severin. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2006. 784 p. (in Russian).
15. Vladimirov Yu. A., Potapenko A. Ya. *Fiziko-Khimicheskie Osnovy Fotobiologicheskikh Protseessov* [Physicochemical Bases of Photobiological Processes]. Moscow, Drofa Publ., 2006. 287 p. (in Russian).
16. Repetto M., Semprine J., Boveris A., Kancheva V. D., Kasaikina O. T., Ali Hassan H., Abd El-Aal M., González P. M., Piloni N. E., Puntarulo S., Ilie M., Margină D., Sochor J., Ruttkay-Nedecky B., Babula P., Adam V., Hubalek J., Kizek R., Kaurinovic B., Popovic M., Fagali N., Catalá A., Mimica-Dukić N., Simin N., Svirčev E., Orčić D., Beara I., Lesjak M., Božin B., Jaarin K., Kamisah Y., Toyosaki T., Nieto G., Ros G., Kiang J. G., Fukumoto R., Gorbunov N. V., Rossi M. A., Özkaya Y. G., Carrillo M. C., Luján M. de Alvarez, Parody J. P., Quiroga A. D., Ceballos M. P., Sousa T., Afonso J., Albino-Teixeira A., Carvalho F., Fantinelli J. C., Pérez-Núñez I. A., González Arbeláez L. F., Mosca S. M., Pillon N. J., Soulage Ch. O., Naudí A., Jové M., Ayala V., Ramírez O., Cabré R., Prat J., Portero-Otin M., Ferrer I., Pamplona R., Kisic B., Miric D., Zoric L., Ilic A., Shimizu I., Shimamoto N., Saiki K., Furujo M., Osawa K., Kanunnikova N. P., Bashun N. Z., Moiseenok A. G., Vagula M. C., Konieszko E. M. *Lipid Peroxidation*. Ed. by A. Catalá. InTech, 2012. 546 p. Available at: <http://www.intechopen.com/books/lipid-peroxidation>
17. Tikhonov I. V., Pliss E. M., Borodin L. I., Sen' V. D. Superoxide Radicals in the Kinetics of Nitroxide-Inhibited Oxidation of Methyl Linoleate in Micelles. *Russ. J. Phys. Chem. B: Focus on Physics*, 2017, vol. 11, no. 3, pp. 400–402 (in Russian). DOI: 10.1134/S1990793117030253
18. Lankin V. Z., Shumaev K. B., Tikhaze A. K., Kurganov B. I. Influence of Dicarboxyls on Kinetic Characteristics of Glutathionperoxidase. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2017, vol. 475, no. 1, pp. 287–290 (in Russian). DOI: 10.1134/S1607672917040123
19. Pat. 2051681 RF. MPK 6A61 K33/04. Sredstvo dlya lecheniya i profilaktiki boleznei, vyzyvaemykh nedostatocnost'yu selena v organizme sel'skokhozyaistvennykh zhitvnykh i ptits [Remedy for Treatment and Prophylactics of Diseases Caused by Selenium Deficiency in Organisms of Agricultural Animals and Poultry]. B. I. Drevko, V. A. Antipov, O. I. Zhukov, L. A. Fomenko, L. I. Markova, R. I. Drevko, T. N. Rodionova, V. I. Efremov, V. G. Kharchenko. Zayavleno 24.09.1993, № 93045743/15; Opublikovano 10.01.1996. 12 s. *Izobreteniya (zayavki i patenty)*. Filed 24.09.1993, no. 93045743/15; Published 10.01.1996, 12 pp. [Inventions (Claims and Patents)]. Bull. no. 1 (II part), p. 161] (in Russian).
20. Pat. 2171110 RF. MPK 7A 61 K 33/04. Sredstvo dlya lecheniya i profilaktiki infektsionnykh zabozevanii i otravlenii zhitvnykh i ptits, povyshayushchee ikh produktivnost' i sokhrannost' [Remedy for Treatment and Prophylactics of Infectious Diseases and Poisonings of Animals and Poultry Enhancing Their Productivity and Vitality]. B. I. Drevko, R. I. Drevko, V. A. Antipov, B. A. Chernukha, A. N. Yakovlev. Zayavleno 26.05.1999, № 99111064/13; Opubl. 27.07.2001. 16 s. *Izobreteniya. Poleznye modeli* [Inventions. Useful Models], 2001. Byulleten' № 21 (II part). S. 219. Patent no. 2171110 of the Russian Federation, MPK 7A 61 K 33/04, Filed 26.05.1999, no. 99111064/13; Published 27.07.2001, 16 pp.; 2001, Bull. no. 21 (II part), p. 219] (in Russian).
21. Drevko Ya. B., Fedotova O. V. Synthesis of the First Representatives of Benzannellated Dihydroselenochromenes. *Chem. Heterocyclic Compds.*, 2006, vol. 42, no. 10, pp. 1372–1373. DOI: 10.1007/s10593-006-0253-5
22. Khairullina V. R., Gerchikov A. Ya., Garifullina G. G., Drevko Ya. B., Fedotova O. V. Antioxidant Properties of 2,4-Diphenyl-7,8-benzo-5,6-dihydro(4H)selenochromene and 2-para-Chlorophenyl-4-phenyl-7,8-benzo-5,6-dihydro(4H)selenochromene. *Kinetics and Catalysis*, 2010, vol. 51, no. 1, pp. 38–41. DOI: 10.1134/s0023158410010076
23. Khairullina V. R., Gerchikov A. Ya., Il'ina E. A., Drevko Ya. B., Isaeva A. Yu., Drevko B. I. Antioxidant Properties of Some 7,8-Benzo-5,6-dihydro(4H)selenochromene Derivatives. *Kinetics and Catalysis*, 2013, vol. 51, no. 1, pp. 14–17. DOI: 10.1134/s0023158413010096
24. Drevko Ya. B., Osina T. S., Fedotova O. V., Drevko B. I. Reduction Reaction of 2,4-Diaryl-7,8-benzo-5,6-dihydroselenochromenes. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2015, vol. 15, iss. 2, pp. 5–7 (in Russian).
25. Shlüter M., Sham L. Teoriya funktsionala plotnosti [Density Functional Theory]. In: *Fizika za rubezhom. Teoriya polya. Zhidkie kristally. Fizika tverdogo tela. Astro- i geofizika. Novosti fiziki: sb. nauch.-pop. st.* Perevod s angl. L. M. Blinova et al. [Physics Abroad: Collection of Popular Science Articles. Field Theory. Liquid Crystals. Solid State Physics. Astro- and Geophysics. Novelties of Physics]. Moscow, Mir Publ., 1983, pp. 179–203 (in Russian).
26. Koch W., Holthausen M. C. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*. Toronto, Willey-VCH, 2001. 293 p. DOI: 10.1002/3527600043
27. Kohn W. Electronic Structure of Substance – Wave Functions and Density Functionals. *Physics – Uspekhi*, 2002, vol. 172, no. 3, pp. 336–348 (in Russian). DOI: 10.3367/UFNr.0172.200203e.0336. (Engl. ed.: Kohn W. Nobel Lecture: Electronic Structure of Matter – Wave Functions and Density Functionals. *Rev. Mod. Phys.*, 1999, vol. 71, no. 5, pp. 1253–1266. DOI: 10.1103/revmodphys.71.1253).
28. Sousa S. F., Fernandes P. A., Ramos M. J. General Performance of Density Functionals. *J. Phys. Chem. A*, 2007, vol. 111, no. 42, pp. 10439–10452. DOI: 10.1021/jp0734474
29. Becke A. D. Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior. *Phys. Rev. A*, 1988, vol. 38, no. 6, pp. 3098–3100. DOI: 10.1103/physreva.38.3098



30. Becke A. D. Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange. *J. Chem. Phys.*, 1993, vol. 98, no. 7, pp. 5648–5652. DOI: 10.1063/1.464913
31. Lee C., Yang W., Parr R.G. Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density. *Phys. Rev. B*, 1988, vol. 37, no. 2, pp. 785–789. DOI: 10.1103/physrevb.37.785
32. Krishnan R., Binkley J. S., Seeger R., Pople J. A. Self-Consistent Molecular Orbital Methods. XX. A Basis Set for Correlated Wave Functions. *J. Chem. Phys.*, 1980, vol. 72, no. 1, pp. 650–654. DOI: 10.1063/1.438955
33. McLean A. D., Chandler G. S. Contracted Gaussian Basis Sets for Molecular Calculations. I. Second Row Atoms, $Z = 11-18$. *J. Chem. Phys.*, 1980, vol. 72, no. 10, pp. 5639–5648. DOI: 10.1063/1.438980
34. Reed A. E., Curtiss L. A., Weinhold F. Intermolecular Interactions from a Natural Bond Orbital, Donor-Acceptor Viewpoint. *Chem. Rev.*, 1988, vol. 88, no. 6, pp. 899–926. DOI: 10.1021/cr00088a005
35. Nemukhin A. V., Weinhold F. Kontseptsiya L'yisa v sovremennoi kvantovoi khimii [Lewis Concept in Modern Quantum Chemistry]. *Rossiiskii Khimicheskii Zhurnal (Zhurnal Rossiiskogo Khimicheskogo Obshchestva imeni D. I. Mendeleeva)* [Mendeleev Chemistry Journal {Russian Chemical Journal (Journal of the D. I. Mendeleev Russian Chemical Society) (in Russian: Rossiiskii Khimicheskii Zhurnal (Zhurnal Rossiiskogo Khimicheskogo Obshchestva imeni D. I. Mendeleeva)}], 1994, vol. 38, no. 6, pp. 5–11 (in Russian).
36. Weinhold F., Landis C. R. *Valency and Bonding: A Natural Bond Orbital Donor-Acceptor Perspective*. Cambridge, Cambridge Univ. Press, 2005. 760 p. DOI: 10.1017/CB09780511614569
37. Glendening E. D., Landis C. R., Weinhold F. Natural Bond Orbital Methods. *WIREs Comput. Mol. Sci.*, 2012, vol. 2, no. 1, pp. 1–42. DOI: 10.1002/wcms.51
38. Mayer I. *Bond Orders and Energy Components: Extracting Chemical Information from Molecular Wave Functions*. Boca Raton, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2016. 239 p. DOI: 10.1201/9781315374895
39. Glendening E. D., Reed A. E., Carpenter J. E., Weinhold F. A. NBO Version 3.1, 1995.
40. Schlegel H. B., McDouall J. J. W. Do You Have SCF Stability and Convergence Problems? *Computational Advances in Organic Chemistry: Molecular Structure and Reactivity*. Eds. C. Ögretir, I. G. Csizmadia. The Netherlands, Kluwer Academic, 1991, pp. 167–185 (NATO-ASI Series C 330).
41. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Zakrzewski V. G., Montgomery J. A., Stratmann R. E., Burant J. C., Dapprich S., Millan J. M., Daniels A. D., Kudin K. N., Strain M. C., Farkas O., Tomasi J., Barone V., Cossi M., Cammi R., Mennucci B., Pomelli C., Adamo C., Clifford S., Ochterski J., Petersson G. A., Ayala P. Y., Cui Q., Morokuma K., Malich D. K., Rabuck A. D., Raghavachari K., Foresman J. B., Cioslowski J., Ortiz J. V., Baboul A. G., Stefanov B. B., Liu G., Liashenko A., Piskorz P., Komaromi I., Gomperts R., Martin R. L., Fox D.J., Keith T., Al-Laham M. A., Peng C. Y., Nanayakkara A., Gonzales C., Challacombe M., Gill P.M.W., Johnson B., Chen W., Wong M. W., Andreas J. L., Head-Gordon M., Replogle E. S., Pople J. A. *Gaussian 03, Revision B.03*. Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, 2003.
42. Pentin Yu. A., Vilkov L. V. *Fizicheskie metody issledovaniya v khimii* [Physical Research Methods in Chemistry]. Moscow, Mir Publ., 2006. 684 p. (in Russian).
43. Pretsch E., Bühlmann Ph., Badertscher M. *Structure Determination of Organic Compounds: Tables of Spectral Data*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, 2009. 433 p. DOI: 10.1007/978-3-540-93810-1

Cite this article as:

Pankratov A. N., Tsivileva O. M., Tsybal O. A., Drevko Ya. B., Tumskii R. S., Marakaeva A. V. Exploration of Possibilities for Organic Selenides and Dihydroarsenochromium Salt Interaction with Diphenylpicrylhydrazyl. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 39–49 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-39-49>



БИОЛОГИЯ

УДК 616.33.006.6.073.524

Фотодинамическая диагностика рака желудка

**И. М. Агранович, А. П. Хороводов, А. Т. Мамедова, А. А. Шнитенкова,
В. Э. Шиманова, Н. А. Наволокин, Т. С. Ващенко, М. В. Каневский,
А. А. Галицкая, С. А. Коннова, Е. Г. Борисова, О. В. Семячкина-Глушковская**

Агранович Илана Михайловна, аспирант биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, ilana.agranovich@yandex.ru

Хороводов Александр Петрович, магистрант биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, khorovodov2012@yandex.ru

Мамедова Айсел Тофик Кызы, магистрант биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, mamedovaysel95@gmail.ru

Шнитенкова Анастасия Александровна, магистрант биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, nastia.shnitenkova.96@mail.ru

Шиманова Вероника Эдуардовна, студент биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, shimanova_veronica013@mail.ru

Наволокин Никита Александрович, ассистент кафедры патологической анатомии, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, nik-navolokin@yandex.ru

Ващенко Татьяна Сергеевна, магистрант биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, tanusha.2015@mail.ru

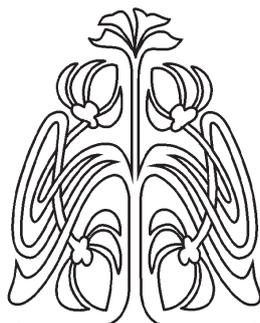
Каневский Матвей Владимирович, кандидат биологических наук, ассистент кафедры биохимии и биофизики биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, matvejkanev@mail.ru

Галицкая Анна Алексеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, ann.gal@mail.ru

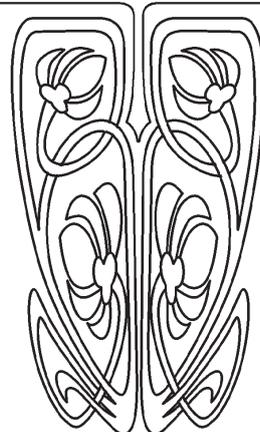
Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и биофизики биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, konnovasa@yandex.ru

Борисова Екатерина Георгиевна, доцент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, ekaterina.borisova@gmail.com

Семячкина-Глушковская Оксана Валерьевна, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, glushkovskaya@mail.ru



**НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ**





Рак желудка является главной причиной смертности среди онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта, что связывают с трудностью ранней диагностики этого заболевания. Данное исследование направлено на разработку нового метода диагностики рака желудка с использованием фотосенсибилизатора дельта-аминолевулиновая кислота/протопорфирин IX (5-АЛК/ПпIX). Эксперименты проведены на белых беспородных крысах средней массой 250 грамм. Животные были поделены на 2 группы: контрольную и экспериментальную (стресс + нитрозаминовая диета). Результаты исследований, усредненные для данного типа ткани, ясно показывают существенные различия между нормальными, предраковыми и злокачественными изменениями в тканях желудка крыс на фоне применения фотодинамической диагностики. Флуоресценция злокачественных новообразований в органе была максимальной при 635 нм, что соответствует максимуму эмиссии протопорфина за счет высокого накопления фотосенсибилизатора в пораженных тканях. Наиболее важным результатом исследований стало выявление предраковых изменений (атрофического гастрита, подтвержденного гистологическими методами) с использованием фотодинамической диагностики с фотосенсибилизатором 5-АЛК/ПпIX. Интенсивность флуоресценции в случае предраковых изменений занимала промежуточное значение между таковой в нормальных тканях и в злокачественных клетках желудка.

Ключевые слова: аденокарцинома, фотодинамическая диагностика, фотосенсибилизаторы, перекисное окисление липидов.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-50-57>

Введение

Рак желудка является основной причиной смертей среди онкологических больных в мире [1, 2]. По оценке Американского онкологического общества, в 2017 г. в Соединенных Штатах было диагностировано около 28 000 новых случаев заболевания раком желудка (17 750 мужчин и 10 250 женщин); по прогнозам в течение следующих 5 лет около 10 960 человек из них умрут (6720 мужчин и 4240 женщин). Причиной такой высокой смертности является поздняя постановка диагноза – рак желудка выявляется только на поздних стадиях развития заболевания, так как протекает либо бессимптомно, либо маскируется под другие заболевания [3, 4].

Механизм развития рака желудка, несмотря на многочисленные исследования, изучен недостаточно. Это связано также с отсутствием подходящих моделей животных, позволяющих изучать злокачественные новообразования, факторы индуцирующие их развитие в органе. Так, существуют модели, которые либо используют иммунодефицитных грызунов, где лимитированы возможности изучения эндогенных факторов канцерогенеза, и особенно в их хроническом проявлении [5–7]. Либо применяют сильные канцерогенные вещества, являющиеся токсичными, при которых животные умирают не только от

рака, но и от сильной интоксикации [7–9]. Таким образом, адекватные модели рака, позволяющие изучать развитие болезни с максимальной приближенностью к естественным условиям, весьма востребованы.

Известно, что стресс играет важную роль в развитии рака, включая индуцирование развития злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [10]. Такие стрессовые ситуации, как затяжные конфликты на работе, в семье, социальная изоляция и отсутствие социальной поддержки, способствуют развитию рака [11]. Тем не менее роль стресса в инициации рака противоречива. В публикации Nature 2011 г. показано, что хронический стресс играет основную роль в запуске необратимых изменений на уровне ДНК, приводящих к опухолевому перерождению тканей за счет активации сигнальной системы бета-2-адренорецепторы-бета-аррестин-1, подавляющей синтез белка p53, вследствие чего прогрессивно аккумулируются повреждения ДНК [12].

Другие факторы, такие как нитриты, которые широко представлены в ежедневно потребляемой пище (овощи и вода, колбасы, маринованные и соленые консервированные продукты), активно обсуждаются как источники канцерогенных для человека веществ [13]. Некоторые продукты, такие как копченое мясо и сушеная соленая рыба, являющиеся источниками экзогенных нитрозаминов, а также избыток соли, приводящий к повреждению защитной слизистой оболочки, повышают риск развития рака желудка [13]. Однако нет клинических и эпидемиологических доказательств того, что сами нитритсодержащие продукты могут вызывать рак желудка.

В повседневной клинической практике для исследования тканей ЖКТ используют эндоскопию, однако только опытные гастроэнтерологи с длительной практикой в эндоскопических наблюдениях могут обнаруживать небольшие первоначальные изменения слизистой оболочки пищевода, желудка или толстой кишки. Эти ограничения стандартной эндоскопии являются серьезной проблемой в ранней диагностике рака ЖКТ и иницируют разработку новых фотодиагностических методов [14, 15].

Известны два подхода флуоресцентного обнаружения ранней стадии развития опухоли в ЖКТ, которые основаны на детекции эндогенных (автофлуоресценция) и экзогенных флуорофоров (фотодиагностика). При применении экзогенных маркеров часто используются фотосенсибилизаторы, как уже разработанные и разрешенные вещества для медицинской практики в рамках



их применения для инициирования фотодинамического эффекта при терапии опухолевых образований [16, 17]. Оба флуоресцентных подхода имеют свои преимущества и недостатки, связанные с низкоинтенсивным и комплексным сигналом при автофлуоресценции или необходимостью вводить лекарственное средство пациенту при фотодиагностике. При использовании *in vivo* и эндоскопическом наблюдении особое значение имеет контраст сигнала свечения поврежденной ткани в сравнении со здоровой слизистой. Так как автофлуоресцентные изменения не всегда ярко выражены, применение контрастирующих агентов типа фотосенсибилизаторов резко увеличивает диагностическую точность и помогает лучше визуализировать основную опухоль и находить близкие метастазы или вторичные образования [18]. Применение фотосенсибилизаторов дает возможность после первоначального диагностирования методом флуоресцентной спектроскопии использовать накопившийся в опухолевых участках сенсibilизатор для инициирования фотодинамической терапии, тем самым позволяя разработать новый метод лечения и оптимизацию тераностического применения данного подхода.

Данное исследование было сфокусировано на разработке методики ранней фотодинамической диагностики развития рака желудка у крыс с применением оригинальной модели, основанной на сочетании двух стрессовых факторов: проживания животных в условиях перенаселения, а также химического стресса, связанного с потреблением нитритов с водой и ароматического амина с пищей.

Материалы и методы

Исследования проводились на белых беспородных крысах – самцах весом в среднем 250 г. Животные были поделены на 2 группы: 1-я группа – контроль (интактные животные, $n = 10$); 2-я группа – животные, подвергшиеся сочетанному воздействию хронического стресса (перенаселение) и нитрозаминовой диеты ($n = 20$).

До проведения гистологических исследований тканей желудка все крысы проходили флуоресцентную диагностику с помощью фотосенсибилизатора дельта-аминолевулиновая кислота/протопорфирин IX (5-АЛК/ПпIX). Физиологический раствор 5-АЛК в дозе 20 мг/кг вводили *per os* за 2 ч до начала экспериментов. После накопления и преобразования 5-АЛК в протопорфирин IX, который является флуоресцентным маркером, делались спектральные измерения с применением фиброоптического

зонда, детектор-микроспектрометрической системы USB4000 (Ocean Optics Inc, Dunedin, USA) с источником возбуждения на 405 нм (25 mW, LED-405, Polironik, Russia).

По истечении 9 месяцев выводили животных из эксперимента, забирали органы для гистологического исследования, которое проводилось по стандартной методике с изготовлением парафиновых блоков и окраской тонких срезов (3–5 мкм) гематоксилином и эозином.

Оценку интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) проводили путем определения количества ТБК-активных продуктов в сыворотке крови по стандартной методике. Расчет содержания ТБК-активных продуктов производили по формуле

$$C = \frac{D_{535} - D_{570}}{0,156} \times 16,$$

где C – содержание ТБК-активных продуктов в опытной пробе мкмоль/л; D_{535} – оптическая плотность опытной пробы при 535 нм; D_{570} – оптическая плотность опытной пробы при 570 нм; 0,156 – коэффициент молярной экстинкции комплекса малонового альдегид – ТБК в л/мкмоль/см; 16 – коэффициент разведения сыворотки.

При определении концентрации сиаловых кислот и муцинов в содержимом желудка образцы предварительно подвергали центрифугированию в течение 10 мин при 10 000 об/мин, для дальнейшей работы использовали полученный супернатант. Определение концентрации сиаловых кислот проводили с помощью набора «СиалоТест» (НПЦ «Эко-Сервис», Россия) после частичного кислотного гидролиза [19].

Концентрацию C , ммоль/л, рассчитывали по формуле

$$C = \frac{E_{\text{обр}} - C_{\text{кал}}}{E_{\text{кал}}};$$

где $E_{\text{обр}}$ – оптическая плотность опытной пробы; $C_{\text{кал}}$ – концентрация кислот в калибраторе, 2,2 ммоль/л; $E_{\text{кал}}$ – оптическая плотность калибровочной пробы.

Полученные результаты обработаны методами статистики с применением t -критерия Стьюдента. Вычисляли среднее арифметическое, ошибку среднего арифметического по следующим формулам:

$$\bar{M} = \frac{\Sigma}{n},$$

где \bar{M} – среднее арифметическое, Σ – сумма значений показателей в данной группе, n – количество крыс в группе.

$$m = (M_{\text{max}} - M_{\text{min}}) \times k,$$



где m – величина ошибки среднего арифметического; M_{\max} , M_{\min} – максимальное и минимальное значение в группе; k – табличный коэффициент.

$$T = \frac{\bar{M}_1 - \bar{M}_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}},$$

где T – критерий Стьюдента; \bar{M}_1 , \bar{M}_2 – средние арифметические значения; m_1 , m_2 – ошибки среднего арифметического.

Для установления достоверности различий вариационных рядов определяли показатель достоверности различий и по таблице Стьюдента находили величину отклонения (p). Различия считали достоверными при вероятности различий, превышающей 95% [20].

Результаты и их обсуждение

Для изучения роли социального и химического стрессов в развитии рака желудка крыс подвергали в течение 9 месяцев сочетанному воздействию хронического стресса (перенаселение) и токсического воздействия нитрита и ароматического амина. Результаты исследования показали, что у 35% (7 из 20) крыс наблюдалось развитие атрофического гастрита, что является предраковым изменением [21] (рис. 1, а).

У остальных 65% крыс (13 из 20) отмечались дисплазия и высокодифференцированная аденокарцинома желудка (см. рис. 1, б, в). У 70% крыс с аденокарциномой желудка наблюдали метастазы в легкие и печень (см. рис. 1, з, д).

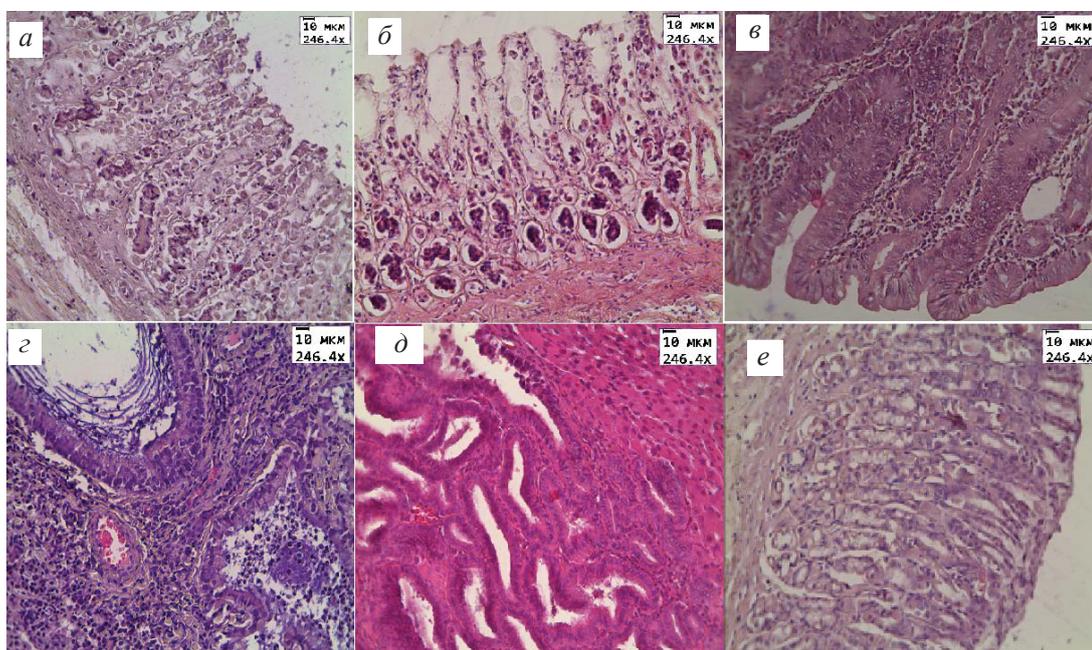


Рис. 1. Гистологический анализ различных органов крыс: а – атрофический гастрит; б – дисплазия желез в желудке; в – высокодифференцированная аденокарцинома желудка; з – метастазы в легком; д – метастазы в печени; е – нормальная слизистая желудка. Окраска гематоксилином и эозином

Метастатические узлы были представлены скоплением атипичных клеток с большими гиперхроматическими ядрами.

До гистологических исследований в эксперименте с применением флуоресцентной диагностики с помощью фотосенсибилизатора 5-АЛК/ПпIX оценивали состояние слизистой оболочки желудка, выявляли наличие патологических участков и подозрительных на рак очагов, далее проводили флуоресцентную визуализацию эпителия, осуществляя поиск очагов красной флуоресценции 5-АЛК-индуцированного ПпIX. Спектры измеряли по центру и на периферии флуоресцирующих интактных участков и пора-

женных тканей. Всего было измерено 280 спектров флуоресценции, из них в точках нормальной слизистой оболочки – 120, в очагах воспаления слизистой оболочки – 160.

Результаты исследований, усредненные для данного типа ткани, представлены на рис. 2, где ясно отражены существенные различия между нормальными, предраковыми и злокачественными изменениями в тканях желудка крыс. Флуоресценция со злокачественных новообразований в органе была максимальной при 635 нм, где находится максимум эмиссии протопорфирина, за счет высокого накопления фотосенсибилизатора в тканях, что также обсуждается в других работах [22].

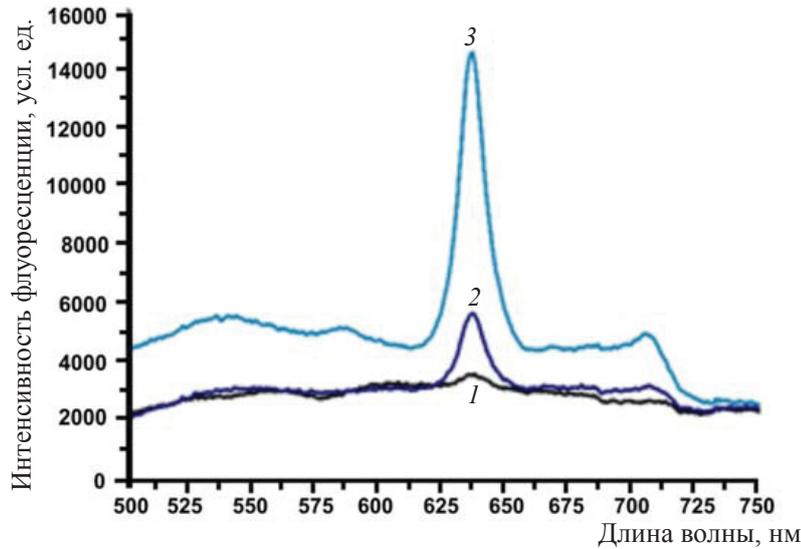


Рис. 2. Спектр интенсивности флуоресценции с нормальной слизистой оболочки, предраковых и злокачественных новообразований слизистой оболочки желудка крыс после введения фотосенсибилизатора 5-АЛА; 1 – нормальная слизистая, 2 – предзлокачественные изменения, 3 – злокачественные изменения

Наиболее важным результатом явился тот факт, что предраковые изменения (атрофический гастрит), которые впоследствии подтверждались гистологически, также выявлялись в процессе фотодиагностики. Интенсивность флуоресценции в этом случае занимала промежуточное значение между нормой и злокачественными поражениями желудка. Нами обнаружено, что пик наиболее ярких изменений, т.е. диагностически значимых значений флуоресценции приходился на диапазон лазерного возбуждения фотосенсибилизатора в 625–650 нм. У нормальной сли-

зистой пик автофлуоресценции в районе 480–530 нм, где идет сигнал в основном от протеиновых кросс-линков и флавинов.

Параллельно были изучены биохимические показатели, свидетельствующие о развитии у животных стрессовой реакции на действие социального и химического стресса.

Исследования показали, что хроническое токсическое воздействие приводит к увеличению концентрации продуктов ПОЛ в сыворотке крови в 3 раза (рис. 3), что является ярким показателем развития стрессовых процессов в организме [23].

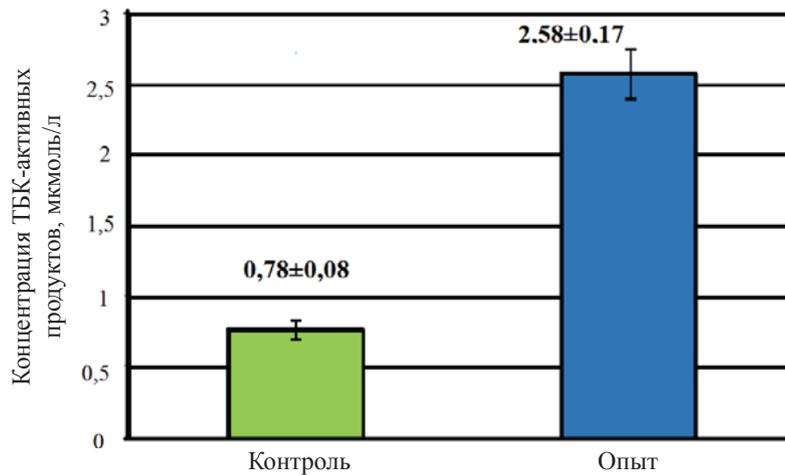


Рис. 3. Изменение содержания ТБК-активных продуктов в сыворотке крови крыс под влиянием сочетанного действия нитрита натрия и толуидина, данные достоверны для $P < 0.05$

Весьма показательными оказались анализы содержания сиаловых кислот в смывах желудка животных с выявленными патологиями по

сравнению с интактными особями. Было показано, что в контрольной группе концентрация сиаловых кислот в содержимом желудка соста-



вила $0,751 \pm 0,021$ ммоль/л. В опытной группе концентрация достоверно повысилась на 15% и составила $0,864 \pm 0,036$ ммоль/л, что прямо указывает на разрушение гликопротеинов слизистой оболочки и высвобождение сиаловых кислот в просвет желудка.

Заключение

Результаты *in vivo* и *ex vivo* исследований фотодинамической диагностики развития аденокарциномы желудка у крыс выявили, что лазерное излучение на длине волны 635 нм является оптимальным для максимального возбуждения фотосенсибилизатора 5-АЛК/ПпIX и фотодиагностики предраковых и злокачественных образований в органе, подтвержденных гистологическими методами и биохимическим анализом изменения показателей ПОЛ крови.

Фотодиагностика желудка проводится по интенсивности флуоресценции, которая занимает промежуточное положение между нормой и явными признаками рака органа для ранних злокачественных изменений. Результаты экспериментальных исследований являются важной информативной платформой для оптимизации фотодинамической ранней диагностики онкологии желудка в клинической практике при проведении верхней флуоресцентной гастроскопии.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 18-15-00139).

Список литературы

1. Torre L. A., Bray F., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A. Global Cancer Statistics, 2012. CA: A // Cancer Journal for Clinicians .2015. Vol. 65, № 2. P. 87–108.
2. American cancer society. URL: <https://www.cancer.org/cancer/stomach-cancer/about/key-statistics.html> (дата обращения: 24.07.2018).
3. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2009 г. // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. 2011. Т. 22, № 3 (85), прил. 1. 172 с.
4. Костюкевич О. И., Карагодина Ю. Я. Ранняя диагностика злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта // РМЖ. 2011. Т. 19, № 19. С. 1213–1216.
5. Попова Н. А. Модели экспериментальной онкологии // Сорос. образов. журн. 2000. Т. 6, № 8. С. 33–38.
6. Lowy A. M. Transgenic models of pancreatic cancer // Intern. J. of Gastrointestinal Cancer. 2003. Vol. 33, № 1. С. 71–78.
7. Sintara K., Thong-Ngam D. Gastric cancer : the experimental models // Thai. J. Physiol. Sci. 2008. Vol. 21, № 1. P. 31–38.
8. Montesano R., Bartsch H. Mutagenic and carcinogenic N-nitroso compounds : possible environmental hazards // Mutation Research / Reviews in Genetic Toxicology. 1976. Vol. 32, № 3–4. P. 179–227.
9. Tricker A. R., Preussmann R. Carcinogenic N-nitrosamines in the diet : occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential // Mutation Research / Genetic Toxicology. 1991. Vol. 259, № 3–4. P. 277–289.
10. Moreno-Smith M., Lutgendorf S. K., Sood A. K. Impact of stress on cancer metastasis // Future Oncology. 2010. Vol. 6, № 12. P. 1863–1881.
11. Spiegel D., Giese-Davis J. Depression and cancer : mechanisms and disease progression // Biological Psychiatry. 2003. Vol. 54, № 3. P. 269–282.
12. Hara M. R., Kovacs J. J., Whalen E. J., Rajagopal S., Strachan R. T., Grant W., Towers A. J., Williams B., Lam Ch. M., Xiao K., Shenoy S. K., Gregory S. G., Ahn S., Duckett D. R., Lefkowitz R. J. A stress response pathway regulates DNA damage through β 2-adrenoreceptors and β -arrestin-1 // Nature. 2011. Vol. 477, № 7364. P. 349–353.
13. Jakszyn P., González C. A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk : a systematic review of the epidemiological evidence // World Journal of Gastroenterology (WJG). 2006. Vol. 12, № 27. P. 4296–4303.
14. Borisova E., Semyachkina-Glushkovskaya O., Navolokin N., Mantareva V., Angelov I., Agranovich I., Khoro vodov A., Shushunova N., Bodrova A., Fedosov I., Namykin A., Abdurashitov A., Avramov L. Photodynamic diagnostics of stress-induced gastrointestinal neoplasia in laboratory animals using 5-aminolevulinic acid and Al-phthalocyanine // Optical Diagnostics and Sensing XVIII : Toward Point-of-Care Diagnostics. International Society for Optics and Photonics. 2018. Vol. 10501. P. 105011E.
15. Tumlinson A. R., Hariri L. P., Utzinger U., Barton J. K. Miniature endoscope for simultaneous optical coherence tomography and laser-induced fluorescence measurement // Applied Optics. 2004. Vol. 43, № 1. P. 113–121.
16. Song L. M. W. K., Banerjee S., Desilets D., Diehl D. L., Farraye F. A., Kaul V., Kethu S. R., Know R. S., Mamula P., Pedrosa M. C., Rodriguez S. A., Tierney W. M. Autofluorescence imaging // Gastrointestinal Endoscopy. 2011. Vol. 73, № 4. P. 647–650.
17. Song M., Ang T. L. Early detection of early gastric cancer using image-enhanced endoscopy : Current trends // Gastrointestinal Intervention. 2014. Vol. 3, № 1. С. 1–7.
18. Johansson A., Kromer K., Sroka R., Stepp H. Clinical optical diagnostics—status and perspectives // Medical Laser Application. 2008. Vol. 23, № 4. P. 155–174.
19. Инструкция по применению набора реагентов для определения содержания сиаловых кислот в сыворотке и плазме крови (КАТ. № В-12353). СПб. : НПЦ «Эко-Сервис», 2009. 2 с.
20. Зайцев Г. Н. Методика биометрических расчетов. М. : Наука, 1973. 256 с.
21. Пасечников В. Д., Чуков С. З. Предраковые изменения желудка и возможности эрадикационной терапии в профилактике *H. pylori* – ассоциированного рака желудка // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2006. № 3. С. 52–57.



22. Borisova E., Vladimirov B., Ivanova R., Avramov L. Light-Induced Fluorescence Techniques for Gastrointestinal Tumour Detection // *New Techniques in Gastrointestinal Endoscopy* / eds. O. Pascu, A. Seicean. In Tech. 2011. Ch. 14. P. 231–252.
23. Moylan S., Berk M., Dean O. M., Samuni Y., O'Neil A., Hayley A. C., Pasco J. A., Anderson G., Jacka F. N., Maes M. Oxidative & nitrosative stress in depression: Why so much stress? // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2014. Vol. 45. P. 46–62.

Образец для цитирования:

Агранович И. М., Хороводов А. П., Мамедова А. Т., Шнитенкова А. А., Шиманова В. Э., Наволокин Н. А., Ващенко Т. С., Каневский М. В., Галицкая А. А., Коннова С. А., Борисова Е. Г., Семьякина-Глушковская О. В. Фотодинамическая диагностика рака желудка // *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 50–57. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-50-57>

Photodynamic Diagnostics of Stomach Cancer

I. M. Agranovich, A. P. Khorovodov, A. T. Mamedova, A. A. Shnitenkova, V. E. Shimanova, N. A. Navolokin, T. S. Vaschenko, M. V. Kanevsky, A. A. Galitskaya, S. A. Konnova, E. G. Borisova, O. V. Semyachkina-Glushkovskaya

Ivana M. Agranovich, <https://orcid.org/0000-0002-7903-3897>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012 Russia, ilana.agranovich@yandex.ru

Aleksandr P. Khorovodov, <https://orcid.org/0000-0002-5318-5200>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, khorovodov2012@yandex.ru

Aysel T. Mamedova, <https://orcid.org/0000-0002-0229-0801>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, mamedovaysel95@gmail.ru

Anastasia A. Shnitenkova, <https://orcid.org/0000-0002-3591-0800>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, nastia.shnitenkova.96@mail.ru

Veronika E. Shimanova, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, shimanova_veronica013@mail.ru

Nikita A. Navolokin, <https://orcid.org/0000-0001-7876-9758>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, nik-navolokin@yandex.ru

Tatiana S. Vashenko, <https://orcid.org/0000-0002-6116-6923>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, tanusha.2015@mail.ru

Matvey V. Kanevsky, <https://orcid.org/0000-0002-5932-6748>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, matvejkanev@mail.ru

Anna A. Galitskaya, <https://orcid.org/0000-0002-7364-4726>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, ann.gal@mail.ru

Svetlana A. Konnova, <https://orcid.org/0000-0002-9607-8173>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, konnovasa@yandex.ru

Ekaterina G. Borisova, <https://orcid.org/0000-0002-4844-6066>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, ekaterina.borisova@gmail.com

Oksana V. Semyachkina-Glushkovskaya, <https://orcid.org/0000-0001-6753-7513>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, glushkovskaya@mail.ru

Cancer of the stomach is the main cause of death among cancer diseases of the gastrointestinal tract. This is due to the late diagnosis. This study was aimed at developing new methods for diagnosis of gastric cancer using a photosensitizer 5-ALK / PIXIX. The experiments were carried out on white non-native rats with an average mass of 250 grams. The animals were divided into 2 groups: control and experimental (stress + nitrosamine diet). The results of the studies, averaged for this type of tissue, clearly show significant differences between normal, precancerous and malignant changes in the stomach tissues of rats. The fluorescence from malignant neoplasms in the organ was maximal at 635 nm, where the protoporphyrin emission maximum is located due to the high accumulation of photosensitizer in the tissues. The most important result was the fact that precancerous changes (atrophic gastritis), which subsequently were confirmed histologically, were also detected in the process of photodiagnostics. The intensity of fluorescence in this case occupied an intermediate value between the norm and malignant lesions of the stomach.

Keywords: stomach cancer, adenocarcinoma, photodynamic diagnostics, photosensitizers, POL.

Acknowledgements: *This work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 18-15-00139).*

Reference

1. Torre L. A., Bray F., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2015, vol. 65, no. 2, pp. 87–108.
2. American Cancer Society. Available at: <https://www.cancer.org/cancer/stomach-cancer/about/key-statistics.html> (accessed 24 April 2017).
3. Davydov M. I., Axel E. M. Statistics of malignant neoplasms in Russia and CIS countries in 2009. *Journal of N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*, 2011, vol. 22, no. 3, suppl. 1. 172 p. (in Russian).
4. Kostyukevich O. I., Karagodina Yu. Ya. Early diagnosis of malignant neoplasms of the gastrointestinal tract. *RMJ*, 2011, vol. 19, no. 19, pp. 1213–1216 (in Russian).
5. Popova N. A. Models of experimental oncology. *Soros Educational Journal*, 2000, vol. 6, no. 8, pp. 33–38 (in Russian).



6. Lowy A. M. Transgenic models of pancreatic cancer. *Intern. J. of Gastrointestinal Cancer*, 2003, vol. 33, no. 1, pp. 71–78.
7. Sintara K., Thong-Ngam D. Gastric cancer: the experimental models. *Thai J. Physiol. Sci.*, 2008, vol. 21, no. 1, pp. 31–38.
8. Montesano R., Bartsch H. Mutagenic and carcinogenic N-nitroso compounds: possible environmental hazards. *Mutation Research – Reviews in Genetic Toxicology*, 1976, vol. 32, no. 3–4, pp. 179–227.
9. Tricker A. R., Preussmann R. Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential. *Mutation Research – Genetic Toxicology*, 1991, vol. 259, no. 3–4, pp. 277–289.
10. Moreno-Smith M., Lutgendorf S. K., Sood A. K. Impact of stress on cancer metastasis. *Future Oncology*, 2010, vol. 6, no. 12, pp. 1863–1881.
11. Spiegel D., Giese-Davis J. Depression and cancer: mechanisms and disease progression. *Biological Psychiatry*, 2003, vol. 54, no. 3, pp. 269–282.
12. Hara M. R., Kovacs J. J., Whalen E. J., Rajagopal S., Strachan R. T., Grant W., Towers A. J., Williams B., Lam Ch. M., Xiao K., Shenoy S. K., Gregory S. G., Ahn S., Duckett D. R., Lefkowitz R. J. A stress response pathway regulates DNA damage through β 2-adrenoreceptors and β -arrestin-1. *Nature*, 2011, vol. 477, no. 7364, pp. 349–353.
13. Jakszyn P., González C. A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: a systematic review of the epidemiological evidence. *World Journal of gastroenterology (WJG)*, 2006, vol. 12, no. 27, pp. 4296–4303.
14. Borisova E., Semyachkina-Glushkovskaya O., Navolokin N., Mantareva V., Angelov I., Agranovich I., Khorovodov A., Shushunova N., Bodrova A., Fedosov I., Namykin A., Abdurashitov A., Avramov L. Photodynamic diagnostics of stress-induced gastrointestinal neoplasia in laboratory animals using 5-aminolevulinic acid and Al-phthalocyanine. *Optical Diagnostics and Sensing XVIII: Toward Point-of-Care Diagnostics. International Society for Optics and Photonics*, 2018, vol. 10501, p. 105011E.
15. Tumlinson A. R., Hariri L. P., Utzinger U., Barton J. K. Miniature endoscope for simultaneous optical coherence tomography and laser-induced fluorescence measurement. *Applied Optics*, 2004, vol. 43, no. 1, pp. 113–121.
16. Song L. M. W. K., Banerjee S., Desilets D., Diehl D. L., Farray F. A., Kaul V., Kethu S. R., Know R. S., Mamula P., Pedrosa M. C., Rodriguez S. A., Tierney W. M. Autofluorescence imaging. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2011, vol. 73, no. 4, pp. 647–650.
17. Song M., Ang T. L. Early detection of early gastric cancer using image-enhanced endoscopy: Current trends. *Gastrointestinal Intervention*, 2014, vol. 3, no. 1, pp. 1–7.
18. Johansson A., Kromer K., Sroka R., Stepp H. Clinical optical diagnostics—status and perspectives. *Medical Laser Application*, 2008, vol. 23, no. 4, pp. 155–174.
19. *Instrukciya po primeniyu nabora reagentov dlya opredeleniya sialovyh kislot v syvorotke i plazme krovi (CAT № B-12353)* [Instruction for the use of a kit of reagents for determining the content of sialic acids in serum and blood plasma (CAT No. B-12353)]. St. Petersburg, SPC “Eco-Service”, 2009. 2 p. (in Russian).
20. Zaitsev G. N. *Metodika biometricheskikh raschetov* [Method of biometric calculations]. Moscow, Nauka Publ., 1973. 256 p. (in Russian).
21. Pasechnikov V. D., Chukov S. Z. Precancerous changes in the stomach and the possibility of eradication therapy in the prevention of *H. pylori* – associated stomach cancer. *Ros. Journal of Gastroenterology, Hepatology and Coloproctology*, 2006, no. 3, pp. 52–57 (in Russian).
22. Borisova E., Vladimirov B., Ivanova R., Avramov L. Light-Induced Fluorescence Techniques for Gastrointestinal Tumour Detection. *New Techniques in Gastrointestinal Endoscopy*. Eds. O. Pascu, A. Seicean. In Tech, 2011, ch. 14, pp. 231–252.
23. Moylan S., Berk M., Dean O. M., Samuni Y., O’Neil A., Hayley A. C., Pasco J. A., Anderson G., Jacka F. N., Maes M. Oxidative & nitrosative stress in depression: Why so much stress? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2014, vol. 45, pp. 46–62.

Cite this article as:

Agranovich I. M., Khorovodov A. P., Mamedova A. T., Shnitenkova A. A., Shimanova V. E., Navolokin N. A., Vaschenko T. S., Kanevsky M. V., Galitskaya A. A., Konnova S. A., Borisova E. G., Semyachkina-Glushkovskaya O. V. Photodynamic Diagnostics of Stomach Cancer. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 50–57 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-50-57>



УДК 606:582.232

Низкотемпературная консервация видов Cyanophyta (*Spirulina*, *Arthrospira*)

Д. И. Петрухина

Петрухина Дарья Игоревна, преподаватель кафедры ботаники, микробиологии и экологии Института естествознания, Калужский государственный университет имени К. Э. Циолковского, daria.petrukhina@outlook.com

Актуальность исследования обусловлена тем, что цианеи родов *Spirulina* и *Arthrospira* входят в обширное число коллекций лабораторных культур микроорганизмов, а их традиционное хранение последовательным пересевом субкультур не обеспечивает долговременную сохранность. Данная статья направлена на выявление возможности долговременного низкотемпературного хранения цианей *Spirulina subsalsa* и *Arthrospira platensis*. В работе применяли хранение биомассы цианей в течение 12 месяцев при температуре минус 80°C. Замораживали со скоростью охлаждения минус 1°C. В статье представлены результаты экспериментов по влиянию различных криопротекторов на достижение сравнительно высокой выживаемости цианей после долговременной криоконсервации. Установлено, что оптимальными криопротекторами являются 10%-ные растворы глюкозы и диметилсульфоксида (ДМСО). Криопротекторных свойств не наблюдалось при использовании метанола, глицерина, этанола, D-сорбитола, сахарозы, L-пролина и декстрина. Полученные данные свидетельствуют о том, что *S. subsalsa* и *A. platensis* сохраняют свою жизнеспособность в течение 12 месяцев криоконсервации при минус 80°C. Таким образом, настоящее исследование демонстрирует возможность консервации цианей путем низкотемпературного хранения при минус 80°C. Материалы статьи могут использоваться в прикладной биотехнологии для совершенствования способов длительного хранения различных культур микроорганизмов.

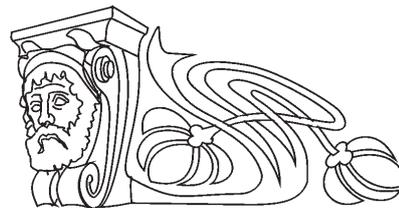
Ключевые слова: криоконсервация, хранение, цианопрокариоты, *Arthrospira platensis*, *Spirulina subsalsa*.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-58-63>

Введение

В последние годы цианеи родов *Spirulina* и *Arthrospira* находят все большее применение в биотехнологических производствах. Однако опубликованные успешные результаты криоконсервации цианей относятся к представителям рода *Arthrospira* [1, 2], а для представителей рода *Spirulina* успешных результатов криоконсервации опубликовано не было. Кроме того, не обнаружено данных об успешной выживаемости представителей *Arthrospira* и *Spirulina* после длительной криоконсервации с температурой хранения минус 80°C.

В связи с этим одной из задач работы является отработка методики длительной криоконсервации цианей (минимум 12 месяцев), прежде всего *Spirulina*, с использованием различных



криопротекторов, а также сравнительное изучение выживаемости разных видов цианей, относящихся к родам *Spirulina* и *Arthrospira*, при замораживании–хранении–оттаивании.

Исследованные в нашей работе штаммы *Spirulina subsalsa* PCC 9445 и *Arthrospira platensis* PCC 9223 входят в большое число частных коллекций лабораторных культур. Эти штаммы были получены из коллекции культур университета Пастера (Франция), где была проведена их таксономическая идентификация. Также, что крайне важно, в университете Пастера для каждого из используемых штаммов был четко обозначен статус альгологической чистоты (аксеничности).

В нашей работе цианеи родов *Arthrospira* и *Spirulina* замораживали со скоростью минус 1°C/мин до минус 80°C и хранили при этой температуре до 12 месяцев. Данная методика криоконсервации – скорость охлаждения минус 1°C в минуту до минус 80°C и хранение при этой температуре – ранее для *Spirulina* sp. не применялась.

Для выбора соединений в качестве криопротекторов и оценки их эффективности при различной концентрации осуществляли криоконсервацию *S. subsalsa* PCC 9445 и *A. platensis* PCC 9223, а после размораживания оценивали выживаемость цианей в процессе рекультивирования.

В экспериментальных работах, посвященных разработке методов криоконсервирования, авторы не приходят к единому мнению относительно критериев выживаемости/жизнеспособности организма. Традиционно решающим фактором для сохранения биологических ресурсов водорослей являлся минимальный уровень жизнеспособности и 60% считается достаточно высоким уровнем [3].

Однако в последнее время акцент в оценке сместился на надежность методики криоконсервирования, при этом «повторяемость» в виде процента жизнеспособных проб стала ключевым фактором вместо высокого уровня жизнеспособности клеток культур [4]. Это связано с тем, что сильные колебания в уровнях жизнеспособности клеток являются общими при криоконсервации водорослей, где могут быть и низкие уровни жизнеспособности (<30%) с периодическим изменением от партии криопроб к партии, и



даже изменением уровней жизнеспособности в пределах отдельной партии криопроб [4].

Важность того, что процент жизнеспособных проб остается на одном и том же уровне, даже если клетки культур из этих проб после криоконсервирования имеют невысокие темпы роста, продиктована еще и тем, что позволит исследователям рассчитывать количество проб, закладываемых на криосохранение, и тем самым, обеспечит высокую воспроизводимость результатов.

Материалы и методы

В работе использовали аксеничные штаммы *Spirulina subsalsa* PCC 9445 и *Arthrospira platensis* PCC 9223 из коллекции культур университета Пастера, Франция.

Исходные культуры цианей выращивали на питательной среде Заррука в автоклавированных конических стеклянных колбах Эрленмейера с широким горлышком объемом 100 мл с пробками из целлюлозной массы. Питательную среду Заррука стерилизовали фильтрованием через стерильный фильтр из ацетата целлюлозы (диаметр пор 0,45 мкм) и в количестве 20 мл добавляли в колбы Эрленмейера. Цианей культивировали при температуре 30 °С в инкубаторе Minitron (фирма Infors HT, Швейцария) с постоянным перемешиванием с помощью встроенного орбитального шейкера диаметром качания 25 мм. Частота вращения составляла 110 об/мин. Освещение обеспечивали шестью люминесцентными лампами GroLux 15W (фирма Osram Sylvania, США), которые располагались над колбами на высоте 40 см, обеспечивая среднюю интенсивность света на поверхности клеточной суспензии 21 мкмоль/(м²с). Выращивание цианей осуществляли с 16-часовым фотоциклом. После окончания цикла культивирования питательную среду удаляли в стерильных условиях, а биомассу цианей промывали стерильной дистиллированной водой. Отмытую биомассу в количестве 0,9 мл помещали в полипропиленовые криофлаконы объемом 2 мл с завинчивающейся крышкой. Затем в эти же криофлаконы в качестве криопротектора добавляли одномоментно стерильный раствор выбранного криопротектора в двойной концентрации до отметки общего объема в 1,8 мл. После этого криофлаконы выдерживали в темноте при постоянном перемешивании на ротаторе со скоростью 20 об/мин. Время экспозиции зависело от вида криопротектора, для токсичных – 10 мин, для остальных – 20 мин.

После инкубирования с криопротекторами в темноте криофлаконы с цианеями помещали

в полимерный контейнер для замораживания (Mr. Frosty, Nalgene, США), который был предварительно охлажден до 4 °С в течение минимум 5 часов. Данный контейнер обеспечивает воспроизводимую скорость охлаждения минус 1 °С в минуту. Контейнер Mr. Frosty с криофлаконами помещали в морозильную камеру, в которой поддерживалась постоянная температура минус 80 °С. Через 1,5 ч криофлаконы с цианеями перемещали из контейнера Mr. Frosty™ в пластиковые боксы и продолжали хранить при температуре минус 80 °С. Для размораживания криофлаконы с цианеями извлекали из морозильной камеры и переносили на водяную баню с температурой воды 37 °С, где выдерживали до исчезновения льда. После размораживания цианей удаляли из криофлакона и переносили в стерильную колбу Эрленмейера с 5 мл питательной среды Заррука. Эти колбы для предотвращения фотоокисления культивировали в течение первых 40 мин при комнатной температуре в темноте, после чего в них добавляли еще 5 мл питательной среды Заррука. Последующее культивирование проводили в течение 2 ч при освещении 10–12 мкмоль фотонов/(м²с). Затем колбы Эрленмейера с цианеями инкубировали как исходные культуры.

В своей работе оценку качества замороженного биоматериала через исследуемый срок хранения проводили после оттаивания путем сравнительного определения количества проб, из которых произошло успешное рекультивирование клеток после криоконсервации. Полученные результаты приведены в виде процента «жизнеспособных» проб, у которых наблюдался прирост биомассы после выращивания в течение 25 дней при температуре 30 °С и интенсивности освещения 21 мкмоль фотонов/(м²с), от общего количества замороженных проб. Замораживали по 30 проб для каждого варианта эксперимента. Проводили по 5 повторов для эксперимента.

В качестве криопротекторов были взяты различные вещества: диметилсульфоксид (ДМСО), гуммиарабик, спирты (глицерин, метанол, этанол, Д-сорбитол), сахара (декстрин, глюкоза, сахароза), аминокислоты (L-пролин). Для данных веществ ранее была показана возможность применения в качестве криопротекторов при криоконсервации у различных водорослей, преимущественно в концентрациях от 5 до 20% [5].

Результаты и их обсуждение

Было установлено, что наиболее эффективными из использованного комплекса криопротекторов оказались ДМСО, глюкоза и гуммиарабик (табл. 1, 2).



Таблица 1

Влияние концентрации криопротектора на выживаемость *S. subsalsa* PCC 9445 после 12 месяцев хранения при температуре минус 80 °С

Криопротектор	Концентрация криопротектора, %			
	5	10	15	20
	Процент проб с выжившими цианеями от общего количества проб			
Без криопротектора	0,0	0,0	0,0	0,0
ДМСО	48,6 ± 0,7	68,6 ± 1,0	31,4 ± 0,3	0,0
Метанол	0,0	0,0	0,0	0,0
Глицерин	0,0	0,0	0,0	0,0
Глюкоза	40,0 ± 0,5	57,1 ± 1,1	42,8 ± 0,3	10,0 ± 1,0
Этанол	0,0	0,0	0,0	0,0
Гуммиарабик	11,4 ± 0,1	11,4 ± 0,9	0,0	0,0
Д-сорбитол	0,0	0,0	0,0	0,0
Сахароза	0,0	0,0	0,0	0,0
L-пролин	0,0	0,0	0,0	0,0
Декстрин	0,0	0,0	0,0	0,0

Таблица 2

Влияние концентрации криопротектора на выживаемость *A. platensis* PCC 9223 после 12 месяцев хранения при температуре минус 80 °С

Криопротектор	Концентрация криопротектора, %			
	5	10	15	20
	Процент проб с выжившими цианеями от общего количества проб			
Без криопротектора	0,0	0,0	0,0	0,0
ДМСО	45,5 ± 0,3	55,0 ± 1,0	45,0 ± 1,5	0,0
Метанол	0,0	0,0	0,0	0,0
Глицерин	0,0	0,0	0,0	0,0
Глюкоза	41,3 ± 0,5	59,0 ± 0,5	43,2 ± 0,5	13,0 ± 1,0
Этанол	0,0	0,0	0,0	0,0
Гуммиарабик	0,0	0,0	0,0	0,0
Д-сорбитол	0,0	0,0	0,0	0,0
Сахароза	0,0	0,0	0,0	0,0
L-пролин	0,0	0,0	0,0	0,0
Декстрин	0,0	0,0	0,0	0,0

Как видно из табл. 1 и 2, большинство соединений, рекомендуемых в качестве криопротекторов, не способствовали сохранению жизнеспособности исследуемых цианей. После криоконсервации цианей *S. subsalsa* PCC 9445 и *A. platensis* PCC 9223 с использованием в качестве криопротекторов таких веществ, как метанол, глицерин, этанол, сахароза, Д-сорбитол, L-пролин и декстрин, рост размороженных культур во время культивирования не наблюдался. Рост культур с применением данных криопротекторов не наблюдался также и после менее длительной криоконсервации, в течение 3 и 6 месяцев.

После криохранения цианей в отсутствие криопротектора роста культур после 12-месячной криоконсервации и последующего оттаивания также не наблюдали, что совпало с данными, полученными в исследовании Muhling [6]. Такой же результат был получен и после 3 и 6 месяцев криоконсервации.

Таким образом, полученные результаты исследования не подтвердили эффективность криозащитных свойств L-пролина [1, 5], как и глицерина [2, 6], метанола [6], этанола и сорбитола [5], которые ранее были рекомендованы в качестве криопротекторов при хранении различных видов водорослей. Также результаты



исследования подтвердили то, что сахара в качестве криопротектора не была эффективной для цианей *S. subsalsa* PCC 9445 и *A. platensis* PCC 9223, что согласуется с данными Takano и соавт. [1].

После использования в качестве криопротекторов ДМСО, глюкозы и гуммиарабика жиз-

неспособность цианей *S. subsalsa* PCC 9445 и *A. platensis* PCC 9223 восстанавливалась с различной степенью эффективности. Так, ДМСО и глюкоза в концентрациях 5, 10 и 15% обеспечивали хорошее (41–59%) сохранение и выживаемость цианей при хранении цианей при температуре минус 80 °С (рис. 1, 2).

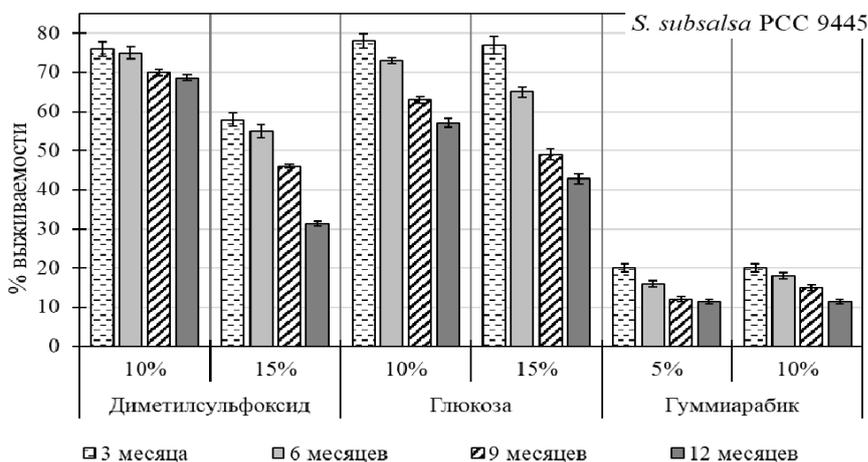


Рис. 1. Выживаемость *S. subsalsa* PCC 9445 в зависимости от срока криохранения (процент проб с выжившими цианеями от общего количества проб)

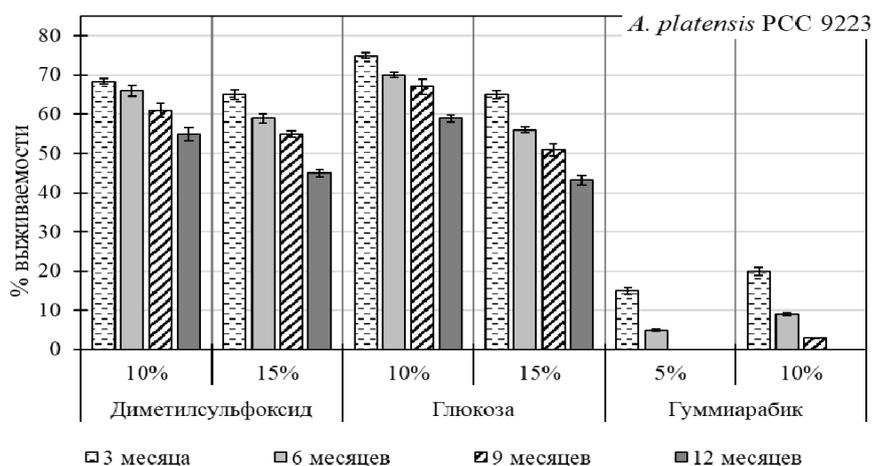


Рис. 2. Выживаемость *A. platensis* PCC 9223 в зависимости от срока криохранения (процент проб с выжившими цианеями от общего количества проб)

Тем не менее полученные результаты исследования выявили различия между двумя видами цианей, которых подвергали криоконсервации. Так, выживаемость цианей *S. subsalsa* PCC 9445 была наилучшей в присутствии ДМСО 10 %, а вот для цианей *A. platensis* PCC 9223 наилучшей выживаемости удалось достигнуть в присутствии 10 %-ной глюкозы. Однако наибольшее различие между видами цианей наблюдалось при использовании в качестве криопротектора гуммиарабика. Так, гуммиарабик при кратко-

срочной криоконсервации способствовал восстановлению исследуемых цианей, что согласуется с Takano и соавт. [1], однако не обеспечивал оптимальной выживаемости в течение всего срока наблюдения для *A. platensis* PCC 9223 (см. рис. 2), а у *S. subsalsa* PCC 9445 выживаемость составила 11,4%.

Поскольку методика криоконсервации должна быть применимой для всех исследуемых штаммов *Spirulina* и *Arthrospira*, гуммиарабик не может быть рекомендован как эффективный



криопротектор, а потому не был задействован в дальнейших исследованиях. В то же время при необходимости унифицировать методику криоконсервации как для цианеи *S. subsalsa* PCC 9445, так и цианеи *A. platensis* PCC 9223 может быть использована и глюкоза, и ДМСО. Результат такой криоконсервации будет оптимальным. Хотя для лучшего результата криоконсервации можно рекомендовать использовать для *S. subsalsa* PCC 9445 – 10%-ный ДМСО, а для *A. platensis* PCC 9223 – 10%-ную глюкозу.

Полученные результаты исследования продемонстрировали некоторые различия по выживаемости после длительной (12 месяцев) криоконсервации у двух видов цианей из близкородственных родов. Хранение осуществляли при минус 80 °С, замораживали со скоростью охлаждения в 1 °С/мин. В таких условиях защитные свойства для обоих видов цианей наиболее эффективно проявляли ДМСО и глюкоза. В то же время такие наиболее распространенные криопротекторы, как глицерин и метанол не проявляли защитные свойства. Цианея *A. platensis* PCC 9223 в присутствии 10%-ной глюкозы имела выживаемость 59,0%, а с 10%-ным ДМСО несколько ниже – 55,0%. Для *S. subsalsa* PCC 9445 была впервые определена методика криоконсервирования и приведены успешные криопротекторы и их концентрации. Так, в присутствии 10%-ного ДМСО выживаемость *S. subsalsa* PCC 9445 составляла 68,6%, а 10%-ной глюкозы – только 57,1%.

Поскольку наилучшие результаты были получены при концентрации криопротекторов 10 и 15% ДМСО и глюкозы, то именно эти концентрации могут быть взяты за основу при проведении дальнейших исследований по изучению сохранения жизнеспособности этих штаммов после оттаивания.

Полученные результаты подтверждают, что наиболее безопасной и эффективной для криоконсервации цианей считается 5–15% концентрация ДМСО [1, 2, 6, 7]. Кроме того, исследование действия химических соединений при криоконсервации показало, что наилучшие защитные свойства для *S. subsalsa* PCC 9445 и *A. platensis* PCC 9223 продемонстрировала 5–15% глюкоза, добавленная в пробы перед криохранением.

Глюкозу используют в концентрациях 3–15% для криохранения бактерий [5], в основном молочнокислых. Однако в доступной литературе отсутствуют данные об использовании глюкозы в качестве криопротектора для криоконсервации цианей *Arthrospira* sp. и *Spirulina* sp.

Заключение

Таким образом, были исследованы условия длительного низкотемпературного консервирования штаммов *Spirulina* и *Arthrospira*. Предложенная в этой работе методика – замораживание со скоростью минус 1 °С в минуту до минус 80 °С и хранение при этой температуре – обеспечивает сохранность жизнеспособности штаммов *S. subsalsa* PCC 9445 и *A. platensis* PCC 9223 в течение 12 месяцев. Исследование действия химических соединений при криохранении показало, что наилучшие защитные свойства для всех штаммов цианей продемонстрировала 5–15% глюкоза и ДМСО, добавленные в пробы перед криохранением. Отсутствие криопротектора, а также добавление в качестве криопротектора водных растворов таких веществ, как метанол, глицерин, этанол, сахароза, Д-сорбитол, L-пролин и декстрин ни для одного штамма не дали выраженного положительного эффекта. Впервые было показано, что из общеприменяемых криопротекторов подошли только глюкоза и ДМСО, кроме того, рекомендовано для штамма *S. subsalsa* PCC 9445 применение ДМСО, а для *A. platensis* PCC 9223 – раствора глюкозы.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке стипендии Президента Российской Федерации для обучения за рубежом аспирантов российских вузов, стипендии MULTIC от международной стипендиальной программы ERASMUS MUNDUS Action 2 и стипендии Дрезденского технического университета для развития научной карьеры у женщин (Scholarship Program for the Promotion of Early-Career Female Scientists of TU Dresden).

Список литературы

1. Takano M., Sado J. I., Ogawa T., Terui G. Freezing and Freeze-Drying of *Spirulina platensis* // Cryobiology. 1973. Vol. 10, iss. 5. P. 440–444. DOI: 10.1016/0011-2240(73)90073-4
2. Motham M., Peerapornpisal Y., Tongsriri S., Pumas Ch., Vacharapiyasophon P. High Subzero Temperature Preservation of *Spirulina platensis* (*Arthrospira fusiformis*) and Its Ultrastructure // Chiang Mai Journal of Science. 2012. Vol. 39, iss. 4. P. 554–561.
3. Morris G. J. Cryopreservation : An Introduction to Cryopreservation in Culture Collections Institute of Terrestrial Ecology. Cambridge : Institute of Terrestrial Ecology, 1981. 40 p.
4. Day J. G., Fleck R. A. Cryo-injury in algae and the implications this has to the conservation of micro-algae // Microalgae Biotechnology. 2015. Vol. 1. P. 1–11. DOI: 10.1515/micbi-2015-0001



5. Hubálek Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms // *Cryobiology*. 2003. Vol. 46, iss. 3. P. 205–229. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0011-2240\(03\)00046-4](https://doi.org/10.1016/S0011-2240(03)00046-4)
6. Muhling M. Characterization of *Arthrospira* (*Spirulina*) strains : dissertation. Durham, 2000. 308 p.
7. Day J. G. Cryopreservation of Microalgae and Cyanobacteria // *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols. Methods in Molecular Biology™*, vol. 368 / eds. J. G. Day, G. N. Stacey. Totowa : Humana Press, 2007. P. 141–151. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-59745-362-2>

Образец для цитирования:

Петрухина Д. И. Низкотемпературная консервация видов Cyanophyta (*Spirulina*, *Arthrospira*) // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 58–63. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-58-63>

Low Temperature Preservation of an Economically Important Cyanophyta Species (*Spirulina*, *Arthrospira*)

D. I. Petrukina

Daria I. Petrukina, <https://orcid.org/0000-0002-5790-9958>, Tsiolkovsky Kaluga State University, 26 Stepan Razin's Str., Kaluga 248023, Russia, daria.petrukina@outlook.com

Spirulina and *Arthrospira* cyanoprokaryota species include a wide variety of laboratory microorganism culture collections and their traditional storage by means of isolate passages does not provide long-term preservation. The rationale for this study is to evaluate the possibility of long-term low temperature storage of *Spirulina subsalsa* and *Arthrospira platensis* cyanoprokaryota. Cyanoprokaryota biomass was stored for 12 months at minus 80 °C. The cooling rate was minus 1 °C. The effects of various cryoprotectants in achieving comparatively high survival of cyanoprokaryota after long-term cryopreservation are presented in the article. It was determined that optimal cryoprotectants were 10% glucose and 10% dimethyl sulfoxide (DMSO) solutions. No cryoprotection has been seen without cryoprotectant, or with methanol, glycerol, ethanol, D-sorbitol, sucrose, L-Proline, dextrin. The obtained data showed that *S. subsalsa* and *A. platensis* preserved their viability during a 12 months storage period at minus 80 °C. Thus, the present study demonstrates the possibility of preservation of cyanoprokaryota using low temperature storage at minus 80 °C. Materials of the article can contribute to applied biotechnology through the improvement of long-term storage methods for different microorganisms cultures.

Keywords: cryopreservation, storage, cyanoprokaryota, *Spirulina subsalsa*, *Arthrospira platensis*.

Acknowledgements: This work was been supported by the Russian Federation President Schol-

arships for studies abroad, ERASMUS MUNDUS Action 2 MULTIC and Scholarship Program for the Promotion of Early-Career Female Scientists of TU Dresden.

References

1. Takano M., Sado J. I., Ogawa T., Terui G. Freezing and Freeze-Drying of *Spirulina platensis*. *Cryobiology*, 1973, vol. 10, iss. 5, pp. 440–444. DOI: 10.1016/0011-2240(73)90073-4
2. Motham M., Peerapornpisal Y., Tongsriri S., Pumas Ch., Vacharapiyasophon P. High Subzero Temperature Preservation of *Spirulina platensis* (*Arthrospira fusiformis*) and Its Ultrastructure. *Chiang Mai Journal of Science*, 2012, vol. 39, iss. 4, pp. 554–561.
3. Morris G. J. *Cryopreservation: An Introduction to Cryopreservation in Culture Collections Institute of Terrestrial Ecology*. Cambridge, Institute of Terrestrial Ecology, 1981. 40 p.
4. Day J. G., Fleck R. A. Cryo-injury in algae and the implications this has to the conservation of micro-algae. *Microalgae Biotechnology*, 2015, vol. 1, pp. 1–11. DOI: 10.1515/micbi-2015-0001
5. Hubálek Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*, 2003, vol. 46, iss. 3, pp. 205–229. DOI: 10.1016/S0011-2240(03)00046-4
6. Muhling M. Characterization of *Arthrospira* (*Spirulina*) strains. Diss. PhD (Biol.). Durham, 2000. 308 p.
7. Day J. G. Cryopreservation of Microalgae and Cyanobacteria. *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols. Methods in Molecular Biology™*, vol. 368. Eds. J. G. Day, G. N. Stacey. Totowa, Humana Press, 2007, pp. 141–151. DOI: 10.1007/978-1-59745-362-2

Cite this article as:

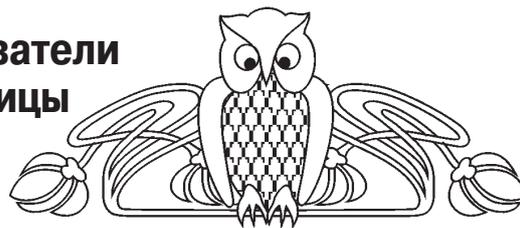
Petrukina D. I. Low Temperature Preservation of an Economically Important Cyanophyta Species (*Spirulina*, *Arthrospira*). *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 58–63 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-58-63>



УДК 633.111«321»:631.526.32

Влияние предшественника на показатели качества зерна яровой мягкой пшеницы

Т. Б. Кулеватова, Л. Н. Злобина,
Г. А. Бекетова, Н. И. Старичкова



Кулеватова Татьяна Борисовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории качества зерна, Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока, Саратов, Rogozhkina2008@yandex

Злобина Людмила Николаевна, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник лаборатории качества зерна, Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока, Саратов, L9172193438@yandex.ru;

Бекетова Гульнара Адиятовна, старший научный сотрудник лаборатории селекции и семеноводства яровой мягкой пшеницы, Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока, Саратов, gulnarabeketova@yandex;

Старичкова Наталия Ивановна, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, natstar-12@mail.ru

Целью исследования являлось выявление влияния предшественника (пар, озимая пшеница) на выраженность нетрадиционных для селекции показателей качества зерна яровой мягкой пшеницы, таких как время образования теста; стабильность теста; энергия, поглощенная тестом во время замеса; показатель, характеризующий ретроградацию крахмала, полученных на приборе Миксолаб. Объектами исследования служили 12 сортов яровой мягкой пшеницы, выращенные в питомнике основного конкурсного испытания лаборатории селекции и семеноводства яровой мягкой пшеницы ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока»: Саратовская 29, Саратовская 55, Саратовская 58, Прохоровка, Лютеценс 62, Саратовская 60, Фаворит, Саратовская 42, Саратовская 70, Саратовская 74, Саратовская 73, Саратовская 68, урожая 3 лет: 2012, 2013, 2014 гг. Получены реологические кривые теста всех изучаемых сортообразцов. Показана количественная выраженность и вариабельность четырех нетрадиционных признаков качества зерна. Выявлены сортовая вариация по изучаемым критериям качества; взаимосвязь между одноименными индексами у сортообразцов, выращенных по пару, и озимой пшеницы, и между нетрадиционными показателями в пределах каждого года. Показаны сезонные эффекты на основе коэффициента генотипической корреляции по всем изучаемым признакам качества зерна яровой мягкой пшеницы. По обоим предшественникам наблюдается отсутствие взаимодействия генотип–среда по показателям C_5 , РА.

Ключевые слова: сорт, селекция, предшественник, пар, озимая мягкая пшеница, яровая мягкая пшеница, реология, тесто, качество зерна, генотип, Миксолаб.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-64-69>

Известно, что качество зерна определяется как генотипом, так и условиями внешней среды.

В основу требований к сортам пшеницы должна быть положена частота формирования ими в данном регионе зерна, пригодного для получения муки высокого качества. Отобрать лучшие генотипы по качеству в определенных условиях среды можно лишь с помощью оценки их фенотипов в тех же экологических условиях. Создание экологически устойчивых по качеству зерна сортов пшеницы – одна из важнейших задач селекции [1].

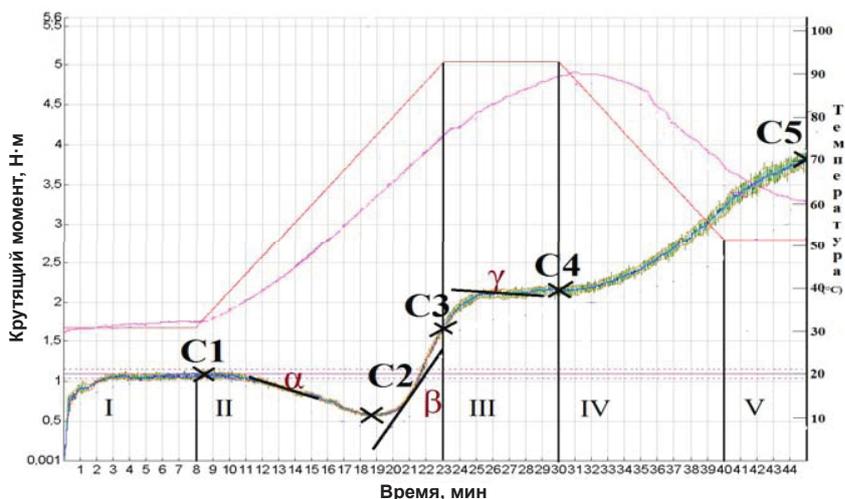
В связи с наметившейся тенденцией глобального изменения климата проблема стабилизации качества урожая в Поволжье имеет особое значение [2]. Учитывая важность проблемы, большое внимание должно уделяться разработке различных агротехнических приемов, способствующих получению зерна с повышенной технологической ценностью. Один из таких аспектов – подбор предшественника в севообороте: важно знать, как проявляется его влияние на количественную выраженность показателей качества зерна.

Известно, что реологические свойства теста предопределяют качество хлеба и хлебобулочных изделий. При постоянно возрастающем объеме работ по изучению качества зерна пшеницы в процессе селекции выражение множества показателей через меньшее их число очень важно [3]. В связи с этим представляют большой интерес новые, нетрадиционные для селекции, показатели физических свойств теста, оцениваемые на Миксолабе. Данный прибор стандартизирован под нормами ICC № 173 Whole meal and flour from T. Aestivum. Determination of rheological behavior as a function of mixing and temperature increase и ГОСТ ISO 17718-2015 Зерно и мука из мягкой пшеницы. Определение реологических свойств теста в зависимости от условий замеса и повышения температуры. Разработчиками предлагается несколько стандартных методик эксперимента, таких как Chopin S, Chopin +, Chopin Wheat + и др., каждый из которых учитывает особенности (дисперсность, химический состав) изучаемой системы [4]. Кроме того, данный прибор позволяет создавать новые протоколы исследования как с постоянными, так и изменяющимися величинами температуры, времени эксперимента, соотношения компонентов и т.д. в зависимости от поставленных целей и задач.



Показатели интегральной оценки реологических свойств теста визуализируются на графике зависимости крутящего момента ($H \times m$) от времени (мин) в политермальном режиме (рисунок). Протокол Chopin+ предполагает 5 интервалов температур, при которых идет исследование: I длится 8 мин при температуре 30°C; II реализует последовательное повышение температуры (4°C в мин) от 30 до 90°C; III длится 7 мин при 90°C; IV характеризуется последовательным понижением (4°C в мин) температуры от 90 до

50 °C; V – 5 мин при 50 °C. Крутящий момент в анализируемых точках графика с точки зрения биохимии характеризует различные процессы: C_1 – образование теста; C_2 – разжижение теста; C_3 – максимальную скорость гелеобразования крахмала; C_4, C_5 – начало и окончание ретроградации крахмала в рамках эксперимента [5]. Исследуемая система замкнута, и стоит говорить лишь о векторном действии тех или иных ферментов (амилаз, протеаз и др.) на тот или иной субстрат (белки, крахмал и др.).



Фазы реологического анализа теста в протоколе Chopin+

В качестве экспериментального материала привлекали сорта яровой мягкой пшеницы, выращенные в селекционном питомнике основного конкурсного испытания (ОКИ) лаборатории селекции и семеноводства яровой мягкой пшеницы ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока» урожая 2012, 2013 и 2014 гг.: Саратовская 29, Саратовская 55, Саратовская 58, Прохоровка, Лютеценс 62, Саратовская 60, Фаворит, Саратовская 42, Саратовская 70, Саратовская 74, Саратовская 73, Саратовская 68.

В данной работе анализировали следующие индексы реологического состояния теста: время образования теста (мин), стабильность теста

(мин), точку экстремума реограммы – C_5 ($H \cdot m$) и РА ($Bt \cdot ч/кг$) – общую энергию, поглощенную тестом во время замеса. В целях наиболее точной интерпретации данных применяли однофакторный дисперсионный и корреляционный статистические методы.

Метеорологические условия в период формирования и налива зерна в годы проведения полевых экспериментов были различными. Июнь 2013 г. был особенно влажным, количество выпавших осадков в этом месяце составило 313% от нормы. Май и июль 2012 и 2014 гг. были засушливыми, а 2013 г. – умеренно влажными (табл. 1, 2).

Таблица 1

Количество осадков за весенне-летний период 2012–2014 гг. в сравнении с многолетними данными

Год	Май		Июнь		Июль		Август	
	мм	% от нормы	мм	% от нормы	мм	% от нормы	мм	% от нормы
2012	6,0	14	46,7	104	27,2	53	94,8	215
2013	44,0	102	141,0	313	37,2	73	12,1	25
2014	17,2	40	73,5	45	13,9	27	34,3	78

Что же касается августа, то только в 2012 г. выпало осадков 215% от нормы, в 2011 и в 2013 гг. – 78 и 25% от нормы соответственно. Наиболее существенные отклонения по температуре воздуха наблюдались в мае 2012, 2013 и

2014 гг. (см. табл. 2). Напомним, что увлажнение считается оптимальным, если гидротермический коэффициент (ГТК) равен 1,0–1,5; избыточным, при ГТК более 1,6; недостаточным – ГТК < 1,0; слабым – ГТК < 0,5.



Таблица 2

Температура воздуха за весенне-летний период 2012–2014 гг. в сравнении с многолетними данными

Год	Май			Июнь			Июль			Август		
	<i>t</i> °С	% от нормы	ГТК	<i>t</i> °С	% от нормы	ГТК	<i>t</i> °С	% от нормы	ГТК	<i>t</i> °С	% от нормы	ГТК
2012	19,3	128,7	0,1	23,0	118,6	0,7	23,9	111,7	0,4	22,2	111,5	1,4
2013	19,6	130,7	0,7	20,9	107,7	2,2	21,3	99,5	0,6	21,4	107,5	0,2
2014	18,9	126,0	0,5	19,1	98,5	1,9	22,2	103,7	0,1	23,0	115,6	0,7

Ранее была показана количественная выраженность нетрадиционных показателей качества зерна яровой мягкой пшеницы, их информативность и селекционная значимость [5]. Количественная выраженность изучаемых

показателей качества яровой мягкой пшеницы урожая 2012, 2013 и 2014 гг. в зависимости от предшественника и вариабельность признаков по годам на сортовом уровне представлены в табл. 3, 4, 5.

Таблица 3

Количественная выраженность показателей реологических свойств теста на основе зерна яровой мягкой пшеницы урожая 2012 г.

№	Название сорта	Время образования теста		Стабильность теста		C ₅		РА	
		Озимая пшеница	Пар	Озимая пшеница	Пар	Озимая пшеница	Пар	Озимая пшеница	Пар
1	Саратовская 29	7,02	9,32	10,63	10,72	3,51	3,52	147,9	146,7
2	Саратовская 55	8,53	6,02	12,02	9,77	3,23	3,05	145,7	134,7
3	Саратовская 58	8,57	7,77	9,77	10,13	3,49	3,30	145,5	136,8
4	Прохоровка	8,25	8,85	10,43	10,75	2,79	2,97	130,6	133,9
5	Лютесценс 62	7,20	4,47	9,47	8,65	3,78	3,35	151,0	134,0
6	Саратовская 60	7,77	9,05	9,22	8,75	3,32	3,55	140,5	147,6
7	Фаворит	6,32	7,25	11,17	10,83	3,41	3,30	142,1	141,1
8	Саратовская 42	5,08	8,93	9,27	32,6	3,52	3,21	146,0	144,3
9	Саратовская 70	7,85	8,22	10,25	11,35	2,65	3,01	121,8	136,2
10	Саратовская 74	6,85	8,83	10,23	10,02	3,09	3,62	132,3	150,3
11	Саратовская 73	6,23	6,27	9,38	12,07	3,25	3,23	140,1	143,4
12	Саратовская 68	8,82	8,83	10,20	11,70	3,82	3,68	151,9	151,2

Таблица 4

Количественная выраженность показателей реологических свойств теста на основе зерна яровой мягкой пшеницы урожая 2013 г.

№	Название сорта	Время образования теста		Стабильность теста		C ₅		РА	
		Озимая пшеница	Пар	Озимая пшеница	Пар	Озимая пшеница	Пар	Озимая пшеница	Пар
1	Саратовская 29	1,83	1,77	10,57	9,82	6,62	7,09	201,7	199,6
2	Саратовская 55	1,85	1,75	10,45	9,40	4,61	4,72	154,0	155,4
3	Саратовская 58	1,75	1,55	10,65	8,60	5,94	5,47	194,7	169,4
4	Прохоровка	1,23	1,00	10,45	9,53	3,86	3,49	138,0	125,9
5	Лютесценс 62	2,38	1,52	10,65	9,70	7,00	3,64	196,0	149,0
6	Саратовская 60	8,05	1,60	11,63	8,90	5,76	5,01	183,4	160,0
7	Фаворит	2,77	0,85	9,48	10,27	4,99	2,00	160,0	104,5
8	Саратовская 42	5,33	1,82	10,07	9,78	4,74	4,50	155,4	151,7
9	Саратовская 70	1,58	1,73	7,52	9,35	3,06	2,79	114,2	110,4
10	Саратовская 74	3,07	1,33	9,63	9,13	3,67	5,69	132,7	173,0
11	Саратовская 73	1,75	1,23	9,62	5,15	4,13	3,37	139,8	119,7
12	Саратовская 68	1,77	0,97	10,02	9,90	5,65	5,99	177,0	184,7



Таблица 5

Количественная выраженность показателей реологических свойств теста на основе зерна яровой мягкой пшеницы урожая 2014 г.

№	Название сорта	Время образования теста		Стабильность теста		C ₅		РА	
		Озимая пшеница	Пар	Озимая пшеница	Пар	Озимая пшеница	Пар	Озимая пшеница	Пар
1	Саратовская 29	0,85	5,17	8,27	11,13	4,83	6,07	163,9	189,61
2	Саратовская 55	0,87	2,20	6,45	11,27	5,31	5,31	172,6	181,05
3	Саратовская 58	0,87	6,25	7,12	11,52	4,74	5,58	162,0	184,63
4	Прохоровка	1,88	1,33	10,77	11,55	4,27	5,11	144,1	174,12
5	Лютесценс 62	3,50	6,48	10,97	11,55	5,83	5,27	186,4	171,90
6	Саратовская 60	2,17	4,95	10,62	11,53	4,78	5,29	154,6	176,66
7	Фаворит	0,95	5,62	5,18	10,83	4,73	5,76	148,4	187,16
8	Саратовская 42	2,20	5,55	9,35	10,72	4,53	5,28	156,9	179,71
9	Саратовская 70	1,12	1,00	7,08	10,98	3,31	4,03	121,4	145,17
10	Саратовская 74	0,75	5,95	6,37	9,82	5,10	5,57	159,7	181,96
11	Саратовская 73	0,87	0,90	6,85	11,72	4,75	5,62	158,1	187,68
12	Саратовская 68	2,13	7,03	9,82	12,02	5,99	5,94	191,1	190,50

По показателям «время образования теста» и «стабильность теста», в два года изучения из трех (2012 и 2014 гг.) практически у всех сортообразцов, выращенных по пару, абсолютные значения были выше, чем по озимой пшенице. Аналогичная тенденция наблюдалась по показателю C₅. Что же касается 2013 г., то тенденция была прямо противоположная, если анализировать абсолютные значения показателя.

У признака «время образования теста» отмечена самая высокая изменчивость как в

зависимости от предшественника, так и от условий года. Например, у сорта Саратовская 68 пределы варьирования составляют по озимой пшенице 2,13–8,82 мин; по пару 0,97–8,83 мин; у Саратовской 29 – 0,85–7,02 мин и т. д. (табл. 6). В селекции ориентироваться на данный признак нельзя, но в технологическом отношении он может быть полезен в тех случаях, когда тесто должно образовать нужную структуру за небольшой промежуток времени.

Таблица 6

Пределы варьирования качественных индексов в период 2012–2014 гг. по сортам

№	Название сорта	РА	Время образования теста	Стабильность теста	РА	Время образования теста	Стабильность теста
		Предшественник – озимая пшеница			Предшественник – пар		
1	Саратовская 29	147,9–201,7	0,85–7,02	8,27–10,63	146,7–199,6	1,77–9,32	9,82–11,13
2	Саратовская 55	145,7–154,0	0,87–8,53	6,45–12,02	134,7–181,1	1,75–6,02	9,40–11,27
3	Саратовская 58	145,5–194,7	0,87–8,57	7,12–10,65	136,8–184,6	1,55–7,77	8,60–11,52
4	Прохоровка	130,6–144,1	1,88–8,25	10,43–10,77	133,9–174,1	1,00–8,85	9,53–11,55
5	Лютесценс 62	151,0–196,0	3,50–7,20	9,47–10,97	134,0–171,9	1,52–6,48	8,65–11,55
6	Саратовская 60	140,5–183,4	2,17–7,77	9,22–11,63	147,6–176,7	1,60–9,05	8,75–11,53
7	Фаворит	142,1–160,0	0,95–6,32	5,18–11,17	104,5–187,2	0,85–7,25	10,27–10,83
8	Саратовская 42	146,0–156,9	2,20–5,08	9,27–10,07	144,3–179,7	1,82–8,93	9,78–10,72
9	Саратовская 70	114,2–121,8	1,12–7,85	7,08–10,25	110,4–145,2	1,00–8,22	9,35–11,35
10	Саратовская 74	132,3–159,7	0,75–6,85	6,37–10,23	150,3–182,0	1,33–8,83	9,13–10,02
11	Саратовская 73	139,8–158,1	0,87–6,23	6,85–9,62	119,7–187,7	0,90–6,27	5,15–12,07
12	Саратовская 68	151,9–191,1	2,13–8,82	9,82–10,20	151,2–190,5	0,97–8,83	9,90–12,02



Наивысшие значения стабильности теста были у Саратовской 55, Саратовской 73, Саратовской 68, Лютесценс 62. Надо отметить, что все без исключения сорта селекции ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока» во всех вариантах исследования проявили себя как высококачественные по признаку «стабильность теста». Что касается показателя C_5 , характеризующего ретроградацию крахмала при охлаждении, то выделились Саратовская 29 (7,1 н·м), Лютесценс 62 (7,0 н·м), Саратовская 68 (6,0 н·м).

Анализ взаимосвязи в рамках одного года (по разным предшественникам) показал, что ранжирование сортов не меняется по таким показателям, как РА, C_5 (конкретно в севообороте ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока»). Они несут достоверную информацию при оценках селекционных сортообразцов из года в год независимо от предшественника.

По пару наблюдается устойчивая тенденция к понижению абсолютного значения показателя РА в сравнении с другим предшественником.

Несколько иначе проявили себя Саратовская 73, Саратовская 74, Саратовская 68. У них наблюдалось увеличение абсолютных значений изучаемых показателей при выращивании по пару. Наибольшие абсолютные значения показателей РА наблюдались у Саратовской 29, Саратовской 68, Саратовской 42 и Лютесценс 62 по обоим предшественникам во все годы исследований. По предшественнику – озимая пшеница наблюдаются значимые различия между сортами по показателю РА ($F = 4,8^*$; $HCP = 22,6$). По предшественнику – пар значимые различия выявлены только по показателю C_5 ($F=4,2^*$; $HCP = 0,98$).

Важно было выяснить повторяемость оценок из года в год и способность метеорологических условий вызывать взаимодействие генотип-среда. По обоим предшественникам наблюдается отсутствие взаимодействия генотип-среда по показателям C_5 , РА (табл. 7). По данным индексам получаем из года в год стабильную информацию в селекции.

Таблица 7
Взаимосвязь (r) между одноименными показателями качества зерна яровой пшеницы, выращенной в различных условиях (по пару и по озимой пшенице)

№	Показатель качества зерна	Год		
		2012	2013	2014
1	РА, Wh/kg	0,1976	0,6241*	0,6133*
2	Время образования теста, мин	0,0132	0,2758	0,3304
3	Стабильность теста, мин	-0,3150	0,0536	0,4812
4	C_5 , Н·м	0,6042**	0,4340	0,6763**

Примечание. *, ** – взаимосвязь достоверна на 5- и 1%-ном уровнях соответственно.

Исследования, выявив количественную выраженность и вариабельность традиционных и нетрадиционных для селекции показателей качества зерна в зависимости от предшественника (озимая пшеница и пар); эффекты взаимодействия генотипов со средой; сортовую вариацию, способствуют оптимизации тестирования их и повышению объективности оценки селекционного материала яровой пшеницы. Снижаются материальные затраты на выведение высококачественных сортов данной сельскохозяйственной культуры. Выявленные аспекты способствуют сознательному и наиболее эффективному планированию технологических процессов производства хлебулочных и др. изделий.

Список литературы

1. Бебякин В. М. К выбору приоритетов в селекции пшеницы на качество // Адаптивные технологии про-

изводства качественного зерна в засушливом Поволжье. Саратов : Новый ветер, 2004. С. 195–197.

2. Прянишников А. И., Савченко И. В., Эльконин Л. А., Лящева С. В., Кулеватова Т. Б. Приоритеты адаптивной селекции // Продовольственная безопасность сельского хозяйства России в XXI веке. Жученковские чтения II : сб. науч. тр. Вып. 11(59) / ФГБНУ «ВНИИ кормов им. В. Р. Вильямса». М. : ООО «Угрешская типография», 2016. С. 195–201.
3. Кулеватова Т. Б., Андреева Л. В., Злобина Л. Н. Новые методические подходы к оценке качества зерна // Современные методы, средства и нормативы в области оценки качества зерна и зернопродуктов : сб. материалов 13-й Всерос. науч.-практ. конф. (6–10 июня 2016 г., г. Анапа) / КФ ФГБНУ «ВНИИЗ». Анапа, 2016. С. 89–96.
4. ГОСТ ISO 17718-2015. Зерно и мука из мягкой пшеницы. Определение реологических свойств теста в зависимости от условий замеса и повышения температуры. М. : Стандартинформ, 2016. 28 с.
5. Дюба А., Рысев К. Современный метод контроля



качества зерна и муки по реологическим свойствам теста, определяемым с помощью миксолаб профайлер // Управление реологическими свойствами пи-

щевых продуктов : материалы I науч.-практ. конф. и выставки с междунар. участием (25–26 сентября 2008 г.). М. : МГУПП, 2008. С. 86–95.

Образец для цитирования:

Кулеватова Т. Б., Злобина Л. Н., Бекетова Г. А., Старичкова Н. И. Влияние предшественника на показатели качества зерна яровой мягкой пшеницы // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 64–69. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-64-69>

Impact of the Predator on Quality Indicators Grain of Soft Wheat

T. B. Kulevatova, L. N. Zlobina,
G. A. Beketova, N. I. Starichkova

Tatyana B. Kulevatova, Scientific Research Institute of Agriculture of South-East, 7 Tulaykova Str., Saratov 410010, Russia, Rogozhkina 2008@yandex.ru

Lyudmila N. Zlobina, Scientific Research Institute of Agriculture of South-East, 7 Tulaykova Str., Saratov 410010, Russia, L9172193438@yandex.ru

Gulnara A. Beketova, Scientific Research Institute of Agriculture of South-East, 7 Tulaykova Str., Saratov 410010, Russia, gulnarabeketova@yandex.ru

Natalia I. Starichkova, <https://orcid.org/0000-0001-5189-5260>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, natstar-12@mail.ru

The aim of this study was to identify the effect of precursor (vapor, winter wheat) on the non-traditional selective grain quality parameter intensity of spring common wheat. The parameters include dough development time, dough stability, energy absorbed by dough while kneading and starch retrogradation coefficient. The data have been obtained using a Mixolab device. The objects of the study were 12 varieties of spring soft wheat grown in the nursery of the main competition testing laboratory of selection and seed breeding of spring soft wheat of FSBI "research Institute of the South-East": Saratovskaya 29, Saratovskaya 55, Saratovskaya 58, Prokhorov a, Lutescens 62, Saratovskaya 60, Favorit, Saratovskaya 42, Saratovskaya 70 Saratovskaya 74, 73 Saratov, Saratov 68, of the 3 crop years: 2012, 2013, 2014 GGG. The rheological curves of dough for all samples have been obtained. The quantitative severity and variability of non-traditional grain quality features are shown. The varietal variation according to the studied quality criteria is revealed, the relationship between single-name indices in varietal samples grown on a pair and winter wheat and between non-traditional indicators within each year. Seasonal effects based on genotypic correlation co-efficient for all studied grain quality parameters of spring common wheat have been shown. According to both predecessors, there is a lack of interaction between genotype environment in terms of R5, C5.

Keywords: variety, selection, predecessor, pairs, winter soft wheat, spring soft wheat, rheology, dough, quality of grain, genotype, Mixolab.

Cite this article as:

Kulevatova T. B., Zlobina L. N., Beketova G. A., Starichkova N. I. Impact of the Predator on Quality Indicators Grain of Soft Wheat. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 64–69 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-64-69>

Referens

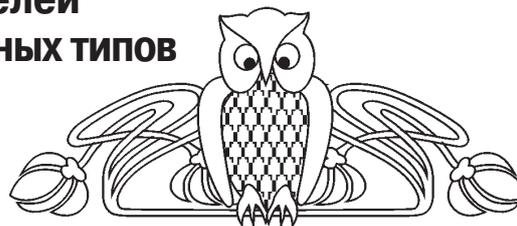
1. Bebyakin V. M. K vyboru prioritetov v selekcii pshenicy na kachestvo [To selection of priorities in wheat breeding for quality]. In: *Adaptivnye tekhnologii proizvodstva kachestvennogo zerna v zasushlivom Povolzh'e* [Adaptive technologies of high-quality grain production in the arid Volga region]. Saratov, New Wind Publ., 2004, pp. 195–197 (in Russian).
2. Pryanishnikov A. I., Savchenko I. V., El'konin L. A., Lyashcheva S. V., Kulevatova T. B. Prioritety adaptivnoy selekcii [The priorities of adaptive selection]. *Prodovol'stvennaya bezopasnost' sel'skogo hoz'yajstva Rossii v XXI veke. Zhuchenkovskie chteniya II: sb. nauch. tr.* [Food security of agriculture in Russia in the XXI century. Zhuchenko reading II: collection of scientific papers, iss. 11(59). FSBI "Research Institute of feed them. W. R. Williams"]. Moscow, LLC "Ugresh printing house", 2016, pp. 195–201 (in Russian).
3. Kulevatova T. B., Andreyeva L. V., Zlobina L. N. Novye metodicheskie podhody k ocenke kachestva zerna [New methodological approaches to the assessment of grain quality]. *Sovremennye metody, sredstva i normativy v oblasti ochenki kachestva zerna i zernoproduktov* [Modern methods, tools and standards in the field of quality assessment of grain and grain products. Sb. Materials 13th All-Russian scientific-practical conference (Anapa, 6–10 June 2016). CF FGBI "ARRIAH"]. Anapa, 2016, pp. 89–96 (in Russian).
4. GOST ISO 17718-2015. *Zerno i muka iz myagkoj pshenicy. Opredelenie reologicheskikh svoystv testa v zavisimosti ot uslovij zamesa i povysheniya temperatury* [Grain and flour from soft wheat. Determination of rheological properties of the dough depending on the mixing conditions and temperature rise]. Moscow, Standartinform Publ., 2016, p. 28 (in Russian).
5. Duyba A., Rysev K. *Sovremennyy metod kontrolya kachestva zerna i muki po reologicheskim svoystvam testa, opredelyaemym s pomoshch'yu miksolab profajler* [Modern method of quality control of grain and flour on the rheological properties of the dough, determined by means of mixolab Profiler]. *Materialy I nauch.-prakt. konf. i vystavki s mezhdunar. uchastiem "Upravlenie reologicheskimi svoystvami pishchevyh produktov"* [Materials of the I Scientific-practical conference and exhibition with international participation "management of rheological properties of food products" (Moscow, 25–26 September 2008)]. Moscow, MGUPP, 2008, pp. 86–95 (in Russian).



УДК 616.98:579.841.95(470)

Современный кадастр видов носителей туляремийного микроба в очагах разных типов на территории России

М. А. Тарасов, А. М. Поршаков, Л. В. Казакова,
У. А. Кресова, Р. А. Романов, А. А. Слудский



Тарасов Михаил Алексеевич, доктор биологических наук, зоолог, Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области Роспотребнадзора, fbuz@gigiena-saratov.ru

Поршаков Александр Михайлович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, ram_82@mail.ru

Казакова Лариса Васильевна, главный врач, Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области Роспотребнадзора, fbuz@gigiena-saratov.ru

Кресова Ульяна Алексеевна, кандидат медицинских наук, заведующий отделом обеспечения эпидемиологического надзора, Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области Роспотребнадзора, fbuz@gigiena-saratov.ru

Романов Роман Алексеевич, зоолог, Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области Роспотребнадзора, fbuz@gigiena-saratov.ru

Слудский Александр Аркадьевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, gusapi@microbe.ru

Ареал возбудителя туляремии охватывает все ландшафтные зоны Северного полушария, а в Российской Федерации эта инфекция обнаружена практически во всех регионах, причем на севере выходит за полярный круг до 71° с.ш. В России ежегодно регистрируется от 100 до 400 случаев заболевания туляремией, 75% которых приходится на Северный, Центральный и Сибирский регионы страны. Периодически регистрируется заболеваемость вспышечного характера. В настоящее время на территории России выделяют шесть типов природных очагов туляремии. Кадастр видов носителей туляремии составлен на основе данных многолетних полевых исследований авторов в разных регионах нашей страны и полученных из литературных источников. Из исследованного на туляремию 101 вида млекопитающих высоковосприимчивыми и высокочувствительными к возбудителю (I группа) оказались 56 видов – 55,5±5,0% от общего количества исследованных с положительным результатом из трех групп, отличающихся по восприимчивости и чувствительности к возбудителю туляремии.

Ключевые слова: туляремия, носители, переносчики инфекции, типы очагов.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-70-78>

Туляремия – зоонозная природно-очаговая особо опасная инфекционная болезнь, вызываемая бактериями *Francisella tularensis* [1, 2]. По отечественной классификации патогенных для человека микроорганизмов возбудитель туляремии относится ко II группе патогенности, по классификации ВОЗ – к III группе бактериальных инфекций. Внутривидовая таксономия – 4 подвидов: *F.t. tularensis* или *nearctica*, *F.t. holarctica*, *F.t. mediasiatica*, *F.t. novicida*. Ареал возбудителя туляремии охватывает все ландшафтные зоны Северного полушария, а в Российской Федерации эта инфекция обнаружена практически во всех регионах [1, 3–6], причем на севере выходит за полярный круг до 71° с.ш. До сих пор распространение туляремии вне Северного полушария слабо изучено и является актуальной научной проблемой.

В России ежегодно регистрируют от 100 до 400 случаев заболевания туляремией, 75% которых приходится на Северный, Центральный и Сибирский федеральные округа страны [1]. В 1993–2001 гг. вспышки туляремии зарегистрированы в Республиках Башкортостан, Дагестан, Смоленской и Оренбургской областях, Москве. Особенностью современной заболеваемости является то, что более 70% заболевших составляют непривитые городские жители. В 2013 г. эпидемические проявления туляремии вспышечного характера зарегистрированы в Ханты-Мансийском автономном округе с трансмиссивным путем передачи инфекции. Заболели 1005 человек, в том числе 157 детей [7].

В литературе описано большое количество видов реальных и потенциальных носителей и переносчиков возбудителя туляремии. Материалы по кадастру фауны теплокровных носителей и кровососущих членистоногих переносчиков туляремии в очагах этой инфекции разных типов на территории Российской Федерации составлены из данных многолетних полевых исследований авторов в разных регионах нашей страны и литературных источников [1, 5, 8–11]. Приводятся также сведения и о других животных, а также объектах внешней среды, которые в природных и



антропоургических очагах могут быть резервуарами этой инфекции или индикаторами наличия туляремийного микроба (антигена) на энзоотической по этой инфекции территории. Энзоотической по туляремии считают территорию (административный, ландшафтно-эпизоотологический район), где были зарегистрированы местные случаи заболевания людей, изолированы культуры возбудителя и регулярно выявляли антиген в объектах внешней среды (погадки птиц, помет хищных млекопитающих, подснежные гнезда грызунов, вода, фураж и т.п.) [1, 5, 8–11].

В последнее время разработаны новые способы выявления и идентификации штаммов *F. tularensis* с помощью молекулярно-генетических методов [1, 12, 13], что позволит уточнить границы ареала возбудителя на территории РФ, в странах ближнего и дальнего зарубежья.

Для природных очагов туляремии характерна значительная стойкость, поддерживаемая комплексом сложившихся на определенной территории условий, благоприятных для жизнедеятельности микробной популяции. Этому способствует устойчивость возбудителя к физико-химическим факторам окружающей среды и его способность к паразитированию в организме животных различных видов. Однако четкого представления об особенностях циркуляции туляремийного микроба в природе до сих пор нет [14].

Нами в процессе создания кадастра видов животных, зараженных возбудителем туляремии в очагах разных типов на территории России, учитывались только виды, в организме которых наличие возбудителя туляремии или антител к нему подтверждено различными методами лабораторных исследований [1, 4, 5, 8, 13, 15–19].

Из 101 вида млекопитающих, добытых различными методами [20], высоковосприимчивыми и высокочувствительными к возбудителю туляремии (I группа) оказались 56 видов, (55,5±5,0) % от общего количества исследованных с положительным результатом из 3 отрядов (насекомоядные – Eulipotyphla, зайцеобразные – Lagomorpha, грызуны – Rodentia) и 10 семейств (кротовые – Talpidae, землеройковые – Soricidae, зайцевые – Leporidae, мышовковые – Sminthidae, пятипалые тушканчики – Allactagidae, слепышовые – Spalacidae, цокориные – Myospalacidae, соневые – Gliridae, хомяковые – Cricetidae, мышинные – Muridae).

Высоковосприимчивых, но малочувствительных видов (II группа) выявлено 26, (25,7±4,4)% из 2 отрядов (насекомоядные и грызуны) и 9 семейств (ежовые, кротовые, землеройковые,

белычьи – Sciuridae, соневые, нутриевые – Myocastoridae, бобровые – Castoridae, мышинные, чомяковые).

Маловосприимчивых и практически нечувствительных к возбудителю туляремии видов млекопитающих (III группа) оказалось 19, (18,8±3,9) % из 3 отрядов (хищные – Carnivora, непарнокопытные – Perissodactyla, парнокопытные – Artiodactyla) и 7 семейств (псовые – Canidae, куньи – Mustelidae, кошачьи – Felidae, лошадиные – Equidae, свинные – Suidae, верблюдовые – Camelidae, полорогие – Bovidae).

Из представленных данных следует, что по количеству видов млекопитающих носителей туляремии абсолютно доминирует I-я группа, что свидетельствует о высокой избирательной патогенности для этих животных возбудителя туляремии.

Под восприимчивостью понимают видовое свойство специфического хозяина отвечать инфекционным процессом на внедрение возбудителя. Степень восприимчивости определяется резистентностью и иммунитетом [10, 19, 21].

Чувствительность – свойство организмов реагировать на абиогенные и биогенные факторы внешней среды, нередко с нарушением структуры, функций и поведения. Различия в инфекционной чувствительности хозяев паразита определяют различные уровни летальности [10, 19, 21].

Наибольшее эпидемиологическое и эпизоотологическое значение имеют животные I-й группы, поэтому тактика эпизоотологического обследования строится с учетом того, к какой группе относятся обитающие в очаге животные [1, 21].

Наиболее стойкие эндемичные очаги туляремии сформировались в лесной, лесостепной и степной зонах. В настоящее время на территории России выделяют 6 основных первичных ландшафтных типов природных очагов этой инфекции: луго-полевой, степной, пойменно-болотный, предгорно (горно)-ручьевого, лесной и тундровый. Отдельно выделяют вторичные синантропные (урбанические, антропоургические) очаги [1, 10, 11, 21–29].

Природные очаги туляремии полигостальны и поливекторны. Циркуляция возбудителя осуществляется в них среди фоновых видов мелких млекопитающих и иксодовых клещей, однако и другие сочлены паразитарной системы вовлекаются в этот процесс. Формирование паразитарных систем в очагах туляремии разных типов в зависимости от восприимчивости и чувствительности к возбудителю туляремии те-



плокровных носителей, экологии кровососущих членистоногих и общего видового состава биоты в очаге имеет свои особенности и определенные закономерности.

Рассмотрим распределение разных видов носителей возбудителя туляремии в разных типах очагов этой инфекции.

Луго-полевой тип очага. Очаги расположены в лесной и лесостепной зонах. Первичными биоценозами служат кустарниковые и кочкарниковые луга, опушки леса, поляны; вторичными – поля, агроценозы с находящимися в них скирдами и ометами, а также расположенные по соседству населенные пункты [10, 23, 25]. Всего исследовано с положительным результатом 32 вида млекопитающих.

К первой группе относятся: европейский крот (*Talpa europaea*), обыкновенная бурозубка (*Sorex araneus*), средняя бурозубка (*S. caecutiens*), малая бурозубка (*S. minutus*), европейский (дикий) кролик (*Oryctolagus cuniculus*), заяц русак (*Lepus europaeus*), обыкновенный слепыш (*Spalax microphthalmus*), алтайский цокор (*Myospalax myospalax*), обыкновенный хомяк (*Cricetus cricetus*), водяная полёвка (*Arvicola amphibious*), полёвка Максимовича (*Alexandromys maximowiczii*), общественная полёвка (*Microtus socialis*), обыкновенная полёвка (*M. arvalis*), восточноевропейская полёвка (*M. rossiaemeridionalis*), мышь-малютка (*Micromys minutus*), малая лесная мышь (*Sylvaemus uralensis*), европейская лесная мышь (*S. sylvaticus*), курганчиковая мышь (*Mus spicilegus*), домовая мышь (*M. musculus*) – всего 19 видов, (59,4±8,8) % от всех исследованных из трех групп.

Ко второй группе млекопитающих относятся: обыкновенный (среднерусский) ёж (*Erinaceus europaeus*), белобрюхая белозубка (*Crocidura leucodon*), малая белозубка (*C. suaveolens*), рыжеватый (большой) суслик (*Spermophilus major*), байбак (*Marmota bobak*), полевая мышь (*Apodemus agrarius*), серая крыса (пасюк) (*Rattus norvegicus*), чёрная крыса (*R. rattus*) – всего 8 видов, (25,0±7,8) % от всех исследованных из трех групп.

К третьей группе (без учета домашних животных) относятся: волк (*Canis lupus*), енотовидная собака (*Nyctereutes procyonoides*), обыкновенная лисица (*Vulpes vulpes*), ласка (*Mustela nivalis*), горноста́й (*M. erminea*) – всего 5 видов, (15,6±6,5) % от всех исследованных из трех групп.

Таким образом, по количеству видов – носителей туляремии в этом типе очагов, как и в целом на энзоотичной по этой инфекции территории – доминируют млекопитающие первой группы.

Степной (овражно-балочный) тип очага.

Этот тип очага распространен в степной зоне европейской части Российской Федерации, степях Западной Сибири и Забайкалья [2, 23, 28, 30–33]. Всего исследовано с положительным результатом 56 видов млекопитающих.

К первой группе относятся: малая бурозубка (*S. minutus*), заяц русак (*L. europaeus*), заяц толай (*L. tolai*), степная мышовка (*Sicista subtilis*), большой тушканчик (*Allactaga major*), обыкновенный слепыш (*S. microphthalmus*), алтайский цокор (*M. myospalax*), закавказский хомяк (*Mesocricetus brandti*), предкавказский хомяк (*M. raddei*), обыкновенный хомяк (*C. cricetus*), барабинский хомячок (*Cricetulus barabensis*), серый хомячок (*C. migratorius*), крысовидный хомячок (*Tscherskia triton*), джунгарский хомячок (*Phodopus sungorus*), ондатра (*Ondatra zibethicus*), обыкновенная слепушонка (*Ellobius talpinus*), степная пеструшка (*Lagurus lagurus*), водяная полёвка (*A. amphibious*), полёвка Брандта (*Lasiopodomys brandtii*), узкочерепная полёвка (*L. gregalis*), восточная полёвка (*Alexandromys fortis*), общественная полёвка (*M. socialis*), обыкновенная полёвка (*M. arvalis*), восточноевропейская полёвка (*M. rossiaemeridionalis*), дагестанская полёвка (*Terricola daghestanicus*), мышь-малютка (*Micromys minutus*), малая лесная мышь (*Sylvaemus uralensis*), европейская лесная мышь (*S. sylvaticus*), курганчиковая мышь (*M. spicilegus*), домовая мышь (*M. musculus*), тамарисковая песчанка (*Meriones tamariscinus*), полуденная песчанка (*M. meridianus*), когтистая песчанка (*M. unguiculatus*) всего 33 вида, (58,9±6,6)% от всех исследованных из трех групп.

Ко второй группе млекопитающих относятся: ушастый ёж (*Hemiechinus auritus*), белобрюхая белозубка (*C. leucodon*), малая белозубка (*C. suaveolens*), восточный длиннохвостый суслик (*Spermophilus undulatus*), левобережный малый суслик (*S. pygmaeus*), правобережный малый суслик (*S. planicola*), кавказский (горный) малый суслик (*S. musicus*), жёлтый суслик (*S. fulvus*), рыжеватый (большой) суслик (*S. major*), даурский суслик (*S. dauricus*), крапчатый суслик (*S. suslicus*), байбак (*M. bobak*), хомячок Эверсманна (*Allocrietulus evermanni*) – всего 13 видов, (23,2±5,7)% от всех исследованных из трех групп.

К третьей группе (без учета некоторых видов домашних животных) [6, 12, 34] относятся: волк (*C. lupus*), енотовидная собака (*N. procyonoides*), обыкновенная лисица (*V. vulpes*), корсак (*V. corsac*), ласка (*M. nivalis*), горноста́й (*M. erminea*), степной (светлый) хорь (*M. evermannii*), кабан



(*Sus scrofa*), лошадь (*Equus caballus*), двугорбый верблюд (бактриан) (*Camelus ferus*) – всего 10 видов, (17,9±5,2) % от всех исследованных из трех групп.

Таким образом, количество видов млекопитающих – носителей туляремии в очагах степного типа – существенно больше, чем в очагах луго-полевого типа. Вместе с тем в данном типе очага, как и в очагах луго-полевого типа, доминируют млекопитающие первой группы.

Пойменно-болотный тип очага. Имеет многочисленные варианты – озерно-займищный, лиманно-плавневый и т.п. [10, 23]. Характерным является интразональное распространение очагов. Всего исследовано с положительным результатом 38 видов млекопитающих.

К первой группе относятся: средняя бурозубка (*S. caecutiens*), обыкновенная бурозубка (*S. araneus*), малая бурозубка (*S. minutus*), заяц беляк (*L. timidus*), заяц русак (*L. europaeus*), лесная мышовка (*Sicista betulina*), лесной лемминг (*Myopus schisticolor*), ондатра (*O. zibethicus*), красно-серая полёвка (*Cruseomys rufocanus*), европейская рыжая полёвка (*Myodes glareolus*), красная полёвка (*M. rutilus*), водяная полёвка (*A. amphibious*), узкочерепная полёвка (*Lasiopodomys gregalis*), полёвка-экономка (*Alexandromys oeconomus*), восточная полёвка (*A. fortis*), обыкновенная полёвка (*M. arvalis*), восточно-европейская полёвка (*M. rossiaemeridionalis*), тёмная полёвка (*M. agrestis*), мыш-малютка (*M. minutus*), малая лесная мышь (*S. uralensis*), желтогорлая мышь (*S. flavicollis*), восточноазиатская мышь (*Apodemus peninsulae*), домовая мышь (*M. musculus*) – всего 23 вида, (60,5±8,0)% от всех исследованных из трех групп.

Ко второй группе млекопитающих относятся: обыкновенный (среднерусский) ёж (*E. europaeus*), русская выхухоль (*Desmana moschata*), обыкновенная кутора (*Neomys fodiens*), обыкновенный бобр (*Castor fiber*), полевая мышь (*A. agrarius*), серая крыса (*R. norvegicus*), чёрная крыса (*R. rattus*) – всего 7 видов, (18,4±6,4)% от всех исследованных из трех групп.

К третьей группе (без учета домашних животных) относятся: волк (*C. lupus*), енотовидная собака (*N. procyonoides*), обыкновенная лисица (*V. vulpes*), ласка (*M. nivalis*), горностай (*M. erminea*), европейская норка (*M. lutreola*), американская норка (*Neovison vison*), кабан (*Sus scrofa*) – всего 8 видов, (21,1±6,7)% от всех исследованных из трех групп.

Таким образом, количество видов млекопитающих – носителей туляремии в очагах пойменно-болотного типа – существенно меньше,

чем в очагах луго-полевого и степного типов. Вместе с тем, как и в последних, доминируют млекопитающие первой группы.

Предгорно (горно)-ручьевого тип очага.

Очаги локализуются по берегам ручьев и рек в предгорьях Саян, Кузнецкого Алатау, Кавказа, Алтая и других горных систем [10, 23, 27, 29, 35]. Всего исследовано с положительным результатом 14 видов млекопитающих.

К первой группе относятся: плоскочерепная полёвка (*Alticola strelzowi*), водяная полёвка (*A. amphibious*), обыкновенная полёвка (*M. arvalis*), дагестанская полёвка (*T. daghestanicus*), кустарниковая полёвка (*T. majori*), малая лесная мышь (*S. uralensis*), домовая мышь (*M. musculus*) – всего 7 видов, (50,0±13,9)% от всех исследованных из трех групп.

Ко второй группе млекопитающих относятся: кавказский (горный) малый суслик (*S. musiscus*), серый сурок (*M. baibacina*), монгольский сурок (тарбаган) (*M. sibirica*) – всего 3 вида, (21,4±11,4)% от всех исследованных из трех групп.

К третьей группе (без учета домашних животных) относятся: волк (*C. lupus*), обыкновенная лисица (*V. vulpes*), ласка (*M. nivalis*), горностай (*M. erminea*) – всего 4 вида, (28,6±12,5)% от всех исследованных из трех групп.

Таким образом, количество видов млекопитающих – носителей туляремии в очагах предгорно(горно)-ручьевого типа – существенно меньше, чем в очагах луго-полевого, степного и пойменно-болотного типов, причем доминирование млекопитающих первой группы незначительно.

Перечисленные четыре типа природных очагов туляремии эпидемиологически наиболее опасны [10]. Например, во время Спитакского землетрясения в 1988 г. в Армении активность очагов туляремии предгорно (горно)-ручьевого типа в зимний период была очень высокой – выделенные культуры составили (27±4)% от 127 проб (носители, переносчики, объекты внешней среды) [35].

Лесной тип очага. Распространен в зоне широколиственных и смешанных лесов, реже – в таежной зоне [10, 23]. Всего исследовано с положительным результатом 45 видов млекопитающих.

К первой группе относятся: европейский крот (*T. europaea*), обыкновенная бурозубка (*S. araneus*), средняя бурозубка (*S. caecutiens*), малая бурозубка (*S. minutus*), крошечная бурозубка (Черского) (*S. minutissimus*), заяц русак (*L. europaeus*), заяц беляк (*L. timidus*), лесная



мышовка (*S. betulina*), обыкновенный слепыш (*S. microphthalmus*), алтайский цокор (*M. myospalax*), орешниковая соня (*Muscardinus avellanarius*), обыкновенный хомяк (*C. cricetus*), джунгарский хомячок (*P. sungorus*), лесной лемминг (*M. schisticolor*), ондатра (*O. zibethicus*), красно-серая полёвка (*C. rufocanus*), европейская рыжая полёвка (*M. glareolus*), красная полёвка (*M. rutilus*), плоскочерепная полёвка (*A. strelzowi*), водяная полёвка (*A. amphibious*), обыкновенная полёвка (*M. arvalis*), тёмная полёвка (*M. agrestis*), кустарниковая полёвка (*T. majori*), мышшь-малютка (*M. minutus*), малая лесная мышшь (*S. uralensis*), европейская лесная мышшь (*S. sylvaticus*), желтогорлая мышшь (*S. flavicollis*), кавказская мышшь (*S. ponticus*), восточноазиатская мышшь (*A. peninsulae*), домовая мышшь (*M. musculus*) – всего 30 видов, (66,7±7,1)% от всех исследованных из трех групп.

Ко второй группе млекопитающих относятся: обыкновенный (среднерусский) ёж (*E. europaeus*), обыкновенная кутора (*N. fodiens*), обыкновенная белка (*Sciurus vulgaris*), азиатский бурундук (*Tamias sibiricus*), лесная соня (*Dryomys nitedula*), обыкновенный бобр (*C. fiber*), полевая мышшь (*A. agrarius*) – всего 7 видов, (15,5±5,5)% от всех исследованных из трех групп.

К третьей группе (без учета домашних животных) относятся: волк (*C. lupus*), обыкновенная лисица (*V. vulpes*), соболь (*Martes zibellina*), ласка (*M. nivalis*), горностай (*M. erminea*), европейская норка (*M. lutreola*), лесной (чёрный) хорь (*M. putorius*), кабан (*S. scrofa*) – всего 8 видов, (17,8±5,8)% от всех исследованных из трех групп.

Таким образом, по количеству видов – носителей туляремии в этом типе очагов, как и в целом на энзоотичной по этой инфекции территории, абсолютно доминируют млекопитающие первой группы.

Тундровый тип очага. Поддерживается за счет разных видов землероек, полевок и леммингов. Инфекция сохраняется годами в подстилках гнезд мелких млекопитающих (на вечной мерзлоте) и во льду [10, 23]. Всего исследовано с положительным результатом 19 видов млекопитающих.

К первой группе относятся: обыкновенная бурузубка (*S. araneus*), средняя бурузубка (*S. caecutiens*), малая бурузубка (*S. minutus*), тундряная (арктическая) бурузубка (*S. tundrensis*), заяц-беляк (*L. timidus*) норвежский лемминг (*Lemmus lemmus*), сибирский лемминг (*L. sibiricus*), копытный лемминг (*Dicrostonyx torquatus*), красно-серая полёвка (*C. rufocanus*), красная полёвка (*M. rutilus*), водяная полёвка (*A. amphibious*), узкочерепная полёвка (*L. gregalis*), тёмная полёвка

(*M. agrestis*), мышшь-малютка (*M. minutus*) – всего 14 видов, (73,7±10,4)% от всех исследованных из трех групп.

Носители второй группы не обнаружены.

К третьей группе (без учета домашних животных) относятся: волк (*C. lupus*), обыкновенная лисица (*V. vulpes*), обыкновенный песец (*Alopex lagopus*), ласка (*M. nivalis*), горностай (*M. erminea*) – всего 5 видов, (26,3±10,9)% от всех исследованных из трех групп.

Таким образом, в этом типе очага, как и в очаге предгорно (горно)-ручьевого типа, количество видов носителей сравнительно невелико. Доминируют млекопитающие первой группы.

Синантропный (урбанический, антропоургический) тип очага. Очаги вторичны, находятся на территории городов, поселков или их окраинах [10, 23]. Основными носителями возбудителя туляремии являются синантропные грызуны – домовая мышшь и серая крыса. Эпизоотии могут возникать в результате заноса возбудителя мигрирующими грызунами из природных биотопов в строения, обычно осенью и в начале зимы, а к весне – затухать. В циркуляцию возбудителя туляремии включаются обыкновенные полёвки, часто заселяющие стога и ометы, расположенные вблизи построек и жилищ человека.

К первой группе относится домовая мышшь (*M. musculus*); ко второй группе – нутрия (*Myocastor coypus*), серая крыса (*R. norvegicus*), чёрная крыса (*R. rattus*); к третьей группе – обыкновенная лисица (*V. vulpes*), ласка (*M. nivalis*), горностай (*M. erminea*), домашние и сельскохозяйственные животные – собака (*Canis familiaris*), домашняя кошка (*Felis catus*), лошадь (*Equus caballus*), двугорбый верблюд (*Camelus ferus*), домашний бык (корова) (*Bos primigenius*), домашняя коза (*Capra hircus*), домашняя овца (*Ovis orientalis*). При попадании в организм домашних животных, прежде всего копытных, массивных доз возбудителя отмечается резкое увеличение числа выкидышей (инфекционное абортотирование). Вероятность быть источником заражения других животных и человека у них невелика. Обнаруженные специфических антител у домашних животных имеет ориентировочное значение и служит сигналом для проведения на данной территории детальных эпизоотологических исследований на туляремию.

Таким образом, во всех типах первичных и вторичных очагов туляремии из всех исследованных видов носителей инфекции доминируют млекопитающие первой группы.

Исходя из вышеизложенного, становится очевидной крайне малая доля видов животных,



исследованных к настоящему времени на туляремию. Вместе с тем если рассмотреть систематическую принадлежность млекопитающих из разных групп, то вполне ясно, что к первой группе по восприимчивости и чувствительности к возбудителю туляремии относятся мелкие млекопитающие, ко второй – мелкие и средние, к третьей – преимущественно хищные и копытные. Логично предположить, что неисследованные к настоящему времени виды млекопитающих, в зависимости от их систематического положения, с большой вероятностью можно отнести либо к первой и второй группам, либо к третьей группе.

Большое значение для выявления циркуляции возбудителя туляремии в паразитарной системе очага этой инфекции имеют птицы. Птицы-миофаги, как и хищные млекопитающие, обладают способностью вырабатывать антитела к туляремийному микробу при поедании больных грызунов и насекомых. Поэтому изучение погадок хищных птиц и экскрементов хищных млекопитающих с выявлением в них антигена туляремийного микроба является одним из распространенных и весьма информативных серологических методов выявления эпизоотий [1, 6, 33, 36]. Антитела к туляремийному микробу обнаружены у многих видов птиц (из 5 отрядов и 8 семейств): голуби (*Columba sp.*), водяной пастушок (водяная курочка) (*Rallus aquaticus*), коростель (дергач) (*Crex crex*), глухарь (*Tetrao urogallus*), домашняя (банкивская) курица (*Gallus gallus*), перепел (*Coturnix coturnix*), чайки (*Larus sp.*), крачки (*Sterna sp.*), сипуха (*Tyto alba*), филин (*Bubo bubo*), рыбный филин (*Ketupa blakistoni*), ушастая сова (*Asio otus*), болотная сова (*A. flammeus*), степная пустельга (*Falco naumanni*), обыкновенная пустельга (*Falco tinnunculus*), чёрный коршун (*Milvus migrans*). Антиген туляремийного микроба обнаружен в погадках большинства видов хищных птиц. Однако видовую идентификацию погадок в природе установить удается не всегда, особенно погадок крупных совиных, луней и ряда других хищных птиц, незначительно отличающихся размерами.

Список литературы

1. Попова А. Ю., Мефодьев В. В., Степанова Т. Ф., Ежлова Е. Б., Марченко А. Н. Эпидемиология и профилактика туляремии на эндемичных территориях. Тюмень : Изд. центр ТГУ, 2016. 332 с.
2. Чайка А. Н. Современное состояние природной очаговости туляремии на территории Волгоградской области : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 2008. 21 с.
3. География природно-очаговых болезней человека в связи с задачами их профилактики / под ред. П. А. Петрищевой, Н. Г. Олсуфьева. М. : Медицина, 1969. 312 с.
4. Олсуфьев Н. Г. Таксономия, микробиология и лабораторная диагностика возбудителя туляремии. М. : Медицина, 1975. 192 с.
5. Туляремия / под ред. Н. Г. Олсуфьева, Г. П. Руднева. М. : Медгиз, 1960. 460 с.
6. Черкасский Б. Л. Особо опасные инфекции. М. : Медицина, 1996. 160 с.
7. Гирина А. А., Добровольский А. А., Курганская А. Ю., Кошилова Н. А., Щегликова Н. Ю., Николаева Г. Д. Вспышка туляремии в Ханты-Мансийке в 2013 г. : клинико-эпидемиологические особенности в детской популяции // Журн. инфектологии. 2015. Т. 7, № 4. С. 83–88. DOI: 10.22625/2072-6732-2015-7-4-83-88
8. Дунаева Т. Н. Экспериментальное исследование туляремии у диких животных (грызунов, хищников и насекомых) как основа изучения природных очагов этой инфекции // Зоол. журн. 1954. Т. 33, № 2. С. 296–318.
9. Корнеев Г. А., Прошин В. Г., Солдаткин И. С. Опыт изучения изменений патобиоценоза в зоне действия Саратовского магистрального канала // Эпидемиология и профилактика чумы и холеры. Саратов : Ин-т «Микроб», 1983. С. 72–78.
10. Олсуфьев Н. Г., Дунаева Т. Н. Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии. М. : Медицина, 1970. 272 с.
11. Петренко А. Е. Туляремия // Инфекционные и инвазионные болезни лошадей. М. : Колос, 1976. С. 197–201.
12. Павлов В. М., Дятлов И. А. Молекулярно-генетические исследования бактерий рода *Francisella* и их прикладное значение. М. : ТИР, 2012. 267 с.
13. Long G. W., Oprandy J. J., Narayanan R. B., Fortier A. H., Porter K. R., Nacy C. A. Detection of *Francisella tularensis* in blood by polymerase chain reaction // J. Clin. Microbiol. 1993. Vol. 31, № 1. P. 152–154.
14. Мазепа А. В. Гидробиологические факторы в эпидемиологии туляремии : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2004. 24 с.
15. Давидович В. Ф. Экологические факторы природной очаговости туляремии в Саратовской области : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 1968. 17 с.
16. Коренберг Э. И. Молекулярно-биологические методы и изучение феномена природной очаговости болезней // Успехи современной биологии. 2012. Т. 132, № 5. С. 448–462.
17. Коренберг Э. И. Пути совершенствования эпидемиологического надзора за природноочаговыми инфекциями // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016. № 6. С. 18–29. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-6-18-29
18. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней / под ред. Г. Г. Онищенко, В. В. Кузьрева. М. : Шико, 2013. 560 с.
19. Руководство по инфекционным болезням / под ред. В. И. Покровского, К. М. Лобана. 2-е изд., перераб. и доп. М. : Медицина, 1986. 464 с.



20. Отлов, учет и прогноз численности мелких млекопитающих и птиц в природных очагах инфекций. Методические указания МУ 3.1.1029-01. М. : Колос, 2002. 71 с.
21. Эпидемиологический надзор за туляремией. Методические указания. МУ 3.1.2007-05. М. : Колос, 2005. 59 с.
22. Алгазин И. П. Туляремия в Сибирской Субарктике (по наблюдениям в Таймырском автономном округе) : автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1980. 16 с.
23. Максимов А. А. Основные типы туляремийных очагов, их характеристика и географическое распространение в РСФСР // Докл. АН СССР. Нов. сер. 1947. Т. 57, № 5. С. 501–503.
24. Мирончук Ю. В. Современные аспекты эпидемиологии, эпизоотологии и профилактики туляремии // Журн. инфекционной патологии. 1994. Т. 4, № 1. С. 26–30.
25. Олсуфьев Н. Г., Доброхотов Б. П., Дунаева Т. Н., Ковалевский Ю. В., Мещерякова И. С. Опыт длительного изучения природного очага луго-полевого типа на юге Московской области // Зоол. журн. 1972. Т. 51, № 3. С. 1425–1429.
26. Олсуфьев Н. Г., Дунаева Т. Н. Эпизоотология (природная очаговость) туляремии. М. : Медгиз, 1960. 303 с.
27. Пилипенко В. Г. К вопросу о природной очаговости туляремии и путях ликвидации заболеваемости на территории Кавказа и Закавказья // Журн. микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. 1961. № 5. С. 18–25.
28. Пилипенко В. Г., Щекина Т. А. Некоторые итоги изучения структурных особенностей природного очага туляремии степного типа в Ставропольском крае // Переносчики особо опасных инфекций и борьба с ними. Ставрополь : Ставропольская правда, 1970. С. 483–498.
29. Тарасов М. П. Природные очаги туляремии на Кавказе : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Саратов, 1991. 31 с.
30. Боженко В. П., Пучкова Т. И., Яковлев М. Г., Шевченко С. Ф. Степной природный очаг туляремии на юге РСФСР // Природно-очаговые болезни человека и краевая эпидемиология. Л. : Медгиз, 1955. С. 90–96.
31. Мирошниченко М. А. Туляремия в Ставропольском крае : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ставрополь, 1961. 22 с.
32. Мирошниченко М. А. Краткая история туляремии в Ставропольском крае за период с 1938 по 1961 гг. // Тр. Армянской противочумной станции. Ереван, 1964. № 3. С. 241–262.
33. Олсуфьев Н. Г., Дунаева Т. Н. Беспозвоночные животные – переносчики и хранители туляремийной инфекции // Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии. М. : Медицина, 1970. С. 38–59.
34. Дорофеев К. А. Туляремия животных. М. : Сельхозгиз, 1951. 152 с.
35. Тарасов М. А. Эколого-эпизоотологический мониторинг в очагах опасных зоонозных инфекционных болезней. Саратов : Амирит, 2016. 335 с.
36. Шевцов А. А. Ветеринарная паразитология. М. : Колос, 1970. 463 с.

Образец для цитирования:

Тарасов М. А., Поршakov А. М., Казакова Л. В., Кресова У. А., Романов Р. А., Слудский А. А. Современный кадастр видов носителей туляремийного микроба в очагах разных типов этой инфекции на территории России // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 70–78. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-70-78>

Modern Cadastre of Species of Tularemia Microbe Carriers Habitant in Tularemia Foci of Different Types, Situated in the Territory of Russia

M. A. Tarasov, A. M. Porshakov, L. V. Kazakova, U. A. Kresova, R. A. Romanov, A. A. Sludsky

Mikhail A. Tarasov, <https://orcid.org/0000-0003-4615-8279>, Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region of the Rospotrebnadzor, Saratov, Russia, fbuz@gigiena-saratov.ru

Alexandr M. Porshakov, <https://orcid.org/0000-0003-3363-765X>, Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya Str., Saratov 410005, Russia, pam_82@mail.ru

Larisa V. Kazakova, <https://orcid.org/0000-0002-8927-4707>, Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region of the Rospotrebnadzor, Saratov, Russia, fbuz@gigiena-saratov.ru

Uliana A. Kresova, <https://orcid.org/0000-0002-7965-4482>, Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region of the Rospotrebnadzor, Saratov, Russia, fbuz@gigiena-saratov.ru

Roman A. Romanov, <https://orcid.org/0000-0002-3857-6764>, Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region of the Rospotrebnadzor, Saratov, Russia, fbuz@gigiena-saratov.ru

Alexandr A. Sludsky, <https://orcid.org/0000-0003-4705-6151>, Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya Str., Saratov 410005, Russia, rusrapi@microbe.ru

The tularemia microbe can be found in all landscape zones of the Northern hemisphere, and in the Russian Federation this infection has been detected in virtually all regions. It spreads beyond the polar circle up to the 71° parallel. From 100 to 400 cases of tularemia infection are registered in the Russian Federation annually, 75% of which are accounted for the Northern, Central and Siberian territories of the country. From time to time epidemic morbidity rates are reported. Presently, six types of natural tularemia foci are established in Russia. Cadastre of tularemia carriers is compiled from the data obtained from the long-term field investigations carried out by the authors in various regions of the country, as well as from literature source data. Of 101 species of mammals studied for tularemia infection, 56 species turned out to be highly susceptible and highly sensitive to the pathogen (Group I) – 55.5±5.0 % of the total number of the examined species



with positive results from three groups that differ in susceptibility and sensitivity to tularemia agent.

Keywords: tularemia, carriers, vectors of infection, types of foci.

References

1. Popova A. Yu., Mefod'ev V. V., Stepanova T. F., Ezhlova E. B., Marchenko A. N. *Epidemiologiya i profilaktika tulyaremii na endemichnyh territoriyah* [Epidemiology and prophylaxis of tularemia in endemic territories]. Tyumen, Izd. Tsentru TSU, 2016. 332 p. (in Russian).
2. Chaika A. N. *Sovremennoe sostoyanie prirodnoj ochagovosti tulyaremii na territorii Volgogradskoj oblasti* [Current state of natural focalities of tularemia in the territory of the Volgograd Region]. Thesis Diss. Cand. Sci. (Med.). Saratov, 2008. 21 p. (in Russian).
3. *Geografiya prirodno-ochagovyh boleznej cheloveka v svyazi s zadachami ikh profilaktiki* [Geography of natural-focal diseases in the context of tasks for their prevention]. Ed. by P. A. Petrishcheva, N. G. Olsuf'ev. Moscow, Meditsina Publ., 1969. 312 p. (in Russian).
4. Olsuf'ev N. G. *Taksonomiya, mikrobiologiya i laboratornaya diagnostika vozбудitelya tulyaremii* [Taxonomy, microbiology and laboratory diagnostics of tularemia agent]. Moscow, Meditsina Publ., 1975. 192 p. (in Russian).
5. *Tulyaremiya* [Tularemia]. Ed. by N. G. Olsuf'ev, G. P. Rudneva. Moscow, Medgiz Publ., 1960. 460 p. (in Russian).
6. Cherkasskiy B. L. *Osobo opasnye infektsii* [Particularly Dangerous Infections]. Moscow, Meditsina Publ., 1996. 160 p. (in Russian).
7. Girina A. A., Dobrovolskiy A. A., Kurganskaya A. Yu., Koshileva N. A., Shecheglinkova N. Yu., Nikolaeva G. D. Vspyshka tulyaremii v Hanty-Mansijske v 2013 g.: kliniko-epidemiologicheskie osobennosti v detskoj populyacii [Tularemia outbreak in Khanty-Mansiisk in 2013: clinical-epidemiological peculiarities of child population]. *Zhurnal infektologii* [Journal Infectology], 2015, vol. 7, no. 4, pp. 83–88. DOI: 10.22625/2072-6732-2015-7-4-83-88 (in Russian).
8. Dunaeva T. N. Eksperimental'noe issledovanie tulyaremii u dikih zhivotnyh (gryzunov, hishchnikov i nasekomyadnyh) kak osnova izucheniya prirodnyh ochagov etoj infekcii [Experimental study of tularemia in wild animals (rodents, predators, and insectivores) as a basis for study of natural foci of this infection]. *Zoologicheskij zhurnal* [Zoological Journal], 1954, vol. 33, no. 2, pp. 296–318 (in Russian).
9. Korneev G. A., Proshin V. G., Soldatkin I. S. Opyt izucheniya izmenenij patobiocenoz v zone dejstviya Saratovskogo magistral'nogo kanala [Lessons learned from studies of changes of patho-biocoenosis around Saratov major canal]. In: *Epidemiologiya i profilaktika chumy i kholery* [Epidemiology and prophylaxis of plague and cholera]. Saratov, In-te Microbe, 1983, pp. 72–78 (in Russian).
10. Olsuf'ev N. G., Dunaeva T. N. *Prirodnaya ochagovost', epidemiologiya i profilaktika tulyaremii* [Natural focalities, epidemiology, and prophylaxis of tularemia]. Moscow, Meditsina Publ., 1970. 272 p. (in Russian).
11. Petrenko A. E. *Tulyaremiya* [Tularemia]. In: *Infekcionnye i invazionnye bolezni loshadej* [Infectious and invasive diseases in horses]. Moscow, Kolos Publ., 1976, pp. 197–201 (in Russian).
12. Pavlov V. M., Dyatlov I. A. *Molekulyarno-geneticheskie issledovaniya bakterij roda Francisella i ih prikladnoe znachenie* [Molecular-genetic studies of bacteria genus *Francisella* and their applied significance]. Moscow, TiRu Publ., 2012. 267 p. (in Russian).
13. Long G. W., Oprandy J. J., Narayanan R. B., Fortier A. H., Porter K. R., Nacy C. A. Detection of *Francisella tularensis* in blood by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 1993, vol. 31, no. 1, pp. 152–154.
14. Mazepa A. V. *Gidrobiologicheskie faktory v epidemiologii tulyaremii* [Hydro-biological factors in tularemia epidemiology]. Thesis Diss. Cand. Sci. (Med.). Irkutsk, 2004. 24 p. (in Russian).
15. Davidovich V. F. *Ekologicheskie faktory prirodnoj ochagovosti tulyaremii v Saratovskoj oblasti* [Ecological factors of natural focalities of tularemia in the Saratov Region]. Thesis Diss. Cand. Sci. (Biol.). Saratov, 1968. 17 p. (in Russian).
16. Korenberg E. I. Molekulyarno-biologicheskie metody i izuchenie fenomena prirodnoj ochagovosti boleznej [Molecular-biological methods in studies of the phenomenon of natural focalities]. *Uspekhi sovremennoj biologii* [Achievements of Modern Biology], 2012, vol. 132, no. 5, pp. 448–462 (in Russian).
17. Korenberg E. I. Puti sovershenstvovaniya epidemiologicheskogo nadzora za prirodnoochagovymi infekciyami [Ways to enhance epidemiological surveillance over natural-focal infections]. *Epidemiologiya i vakcinoprofilaktika* [Epidemiology and Preventive Vaccination], 2016, no. 6, pp. 18–29. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-6-18-29 (in Russian).
18. *Laboratornaya diagnostika opasnykh infekcionnykh boleznej* [Laboratory diagnostics of dangerous infectious diseases]. Ed. by G. G. Onishchenko, V. V. Kutyrev. Moscow, Shiko Publ., 2013. 560 p. (in Russian).
19. *Rukovodstvo po infektsionnym boleznyam* [Guidelines on infectious diseases]. Ed. by V. I. Pokrovsky, K. M. Lobana. Moscow, Meditsina Publ., 1986. 464 p. (in Russian).
20. *Otlov, uchety i prognoz chislennosti melkih mlekopitayuschikh i ptits v prirodnykh ochagakh infektsij* [Catching, registering, and forecasting of the numbers of small mammals and birds in natural foci of infections]. Methodological Regulations. MR 3.1.1029-01. Moscow, Kolos Publ., 2002. 71 p. (in Russian).
21. *Epidemiologicheskij nadzor za tulyaremiy* [Epidemiological surveillance over tularemia]. Methodological Regulations. MR 3.1.2007-05. Moscow, Kolos Publ., 2005. 59 p. (in Russian).
22. Algazin I. P. *Tulyaremiya v Sibirskoj Subarktike (po nablyudeniyam v Tajmyrskom avtonomnom okruge)* [Tularemia in Siberian Subarctic (by the studies of Taimyr Autonomous District)]. Thesis Diss. Cand. Sci. (Med.). Moscow, 1980. 16 p. (in Russian).
23. Maksimov A. A. Osnovnye tipy tulyaremijnyh ochagov, ikh kharakteristika i geograficheskoe rasprostranenie v



- RSFSR [Main types of tularemia foci, their characteristics and geographical distribution in Russian Soviet Federative Socialist Republic]. *Reports of the USSR Academy of Sciences*, New Series, 1947, vol. 57, no. 5, pp. 501–503 (in Russian).
24. Mironchuk Yu. V. *Sovremennye aspekty epidemiologii, epizootologii i profilaktiki tulyaremii* [Modern aspects of epidemiology, epizootology, and prophylaxis of tularemia]. *Zhurnal infekcionnoj patologii* [Journal of Infectious Pathology], 1994, vol. 4, no. 1, pp. 26–30 (in Russian).
25. Olsuf'ev N. G., Dobrohotov B. P., Dunaeva T. N., Kovalevskij Yu. V., Meshcheryakova I. S. *Opyt dlitel'nogo izucheniya prirodnogo ochaga lugo-polevogo tipa na yuge Moskovskoj oblasti* [Lessons learned from the long-term studies of natural focus of meadow-field type in the south of the Moscow Region]. *Zoologicheskij zhurnal* [Zoological Journal], 1972, vol. 51, no. 3, pp. 1425–1429 (in Russian).
26. Olsuf'ev N. G., Dunaeva T. N. *Epizootologiya (prirodnaya ochagovost') tulyaremii* [Epizootology (natural focality) of tularemia]. Moscow, Medgiz Publ., 1960. 303 p. (in Russian).
27. Pilipenko V. G. *K voprosu o prirodnoj ochagovosti tulyaremii i putyakh likvidatsii zaboлеваemosti na territorii Kavkaza i Zakavkaz'ya* [Concerning natural focality of tularemia and ways of incidence eradication in the territory of Caucasus and Trans-Caucasus]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, immunologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology, Immunology], 1961, no 5, pp. 18–25 (in Russian).
28. Pilipenko V.G., Shchekina T. A. *Nekotorye itogi izucheniya strukturnykh osobennostej prirodnogo ochaga tulyaremii stepnogo tipa v Stavropol'skom krae* [Some results of studies of structural peculiarities of tularemia natural focus (steppe type) in the Stavropol Territory] *Perenoschiki osobo opasnykh infektsij i bor'ba s nimi* [Vectors of particularly dangerous infections and their control]. Stavropol, Stavropolskaya Pravda, 1970, pp. 483–498 (in Russian).
29. Tarasov M. P. *Prirodnye ochagi tulyaremii na Kavkaze* [Natural foci of tularemia in Caucasus]. Thesis Diss. Dr. Sci. (Biol.). Saratov, 1991. 31 p. (in Russian).
30. Bozhenko V. P., Puchkova T. I., Yakovlev M. G., Shevchenko S. F. *Stepnoj prirodnyj ochag tulyaremii na yuge RSFSR* [Steppe natural tularemia focus in the south of the Russian Soviet Federative Socialist Republic]. In: *Prirodno-ochagovye bolezni cheloveka i kraevaya epidemiologiya* [Natural-focal diseases in humans and territorial epidemiology]. Leningrad, Medgiz Publ., 1955, pp. 90–96 (in Russian).
31. Miroshnichenko M. A. *Tulyaremiya v Stavropol'skom krae* [Tularemia in the Stavropol Territory]. Thesis Diss. Cand. Sci. (Med.). Stavropol, 1961. 22 p. (in Russian).
32. Miroshnichenko M. A. *Kratkaya istoriya tulyaremii v Stavropol'skom krae za period s 1938 po 1961 gg.* [Brief history of tularemia in the Stavropol Territory over the period of 1938–1961]. In: *Trudy Armyanskoy protivochumnoi stantsii* [Works of Armenian Plague Control Station], Erevan, 1964, no. 3, pp. 241–262 (in Russian).
33. Olsuf'ev N. G., Dunaeva T. N. *Bespozvonochnye zhivotnye – perenoschiki i khraniteli tulyaremijnoj infektsii* [Invertebrate animals – vectors and carriers of tularemia infection]. In: *Prirodnaya ochagovost', epidemiologiya i profilaktika tulyaremii* [Natural focality, epidemiology, and prophylaxis of tularemia]. Moscow, Meditsina Publ., 1970, pp. 38–59 (in Russian).
34. Dorofeev K. A. *Tulyaremiya zhivotnykh* [Tularemia in animals]. Moscow, Sel'khozgiz, 1951. 152 p. (in Russian).
35. Tarasov M. A. *Ekologo-epizootologicheskij monitoring v ochagakh opasnykh zoonoznykh infektsionnykh boleznej* [Ecological-epizootiological monitoring in foci of dangerous zoonotic infectious diseases]. Saratov, Amirit Publ., 2016. 335 p. (in Russian).
36. Shevcov A. A. *Veterinarnaya parazitologiya* [Veterinary parasitology]. Moscow, Kolos Publ., 1970. 463 p. (in Russian).

Cite this article as:

Tarasov M. A., Porshakov A. M., Kazakova L. V., Kresova U. A., Romanov R. A., Sludsky A. A. Modern Cadastre of Species of Tularemia Microbe Carriers Habitant in Tularemia Foci of Different Types, Situated in the Territory of Russia. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 70–78 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-70-78>



УДК 58.006

Современное состояние коллекционного фонда лаборатории декоративных растений ГБС РАН

И. А. Бондорина, А. В. Кабанов, Н. А. Мамаева, Ю. А. Хохлачева, Л. И. Бумбеева



Бондорина Ирина Анатольевна, доктор биологических наук, заведующий лабораторией декоративных растений, Главный ботанический сад имени Н. В. Цицина РАН, Москва, bondo-irina@yandex.ru

Кабанов Александр Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории декоративных растений, Главный ботанический сад имени Н. В. Цицина РАН, Москва, alex.kabanow@rambler.ru

Мамаева Наталья Анатольевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории декоративных растений, Главный ботанический сад имени Н. В. Цицина РАН, Москва, mamaeva_n@list.ru

Хохлачева Юлия Анатольевна, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник лаборатории декоративных растений, Главный ботанический сад имени Н. В. Цицина РАН, Москва, jusic-la@yandex.ru

Бумбеева Любовь Ивановна, научный сотрудник лаборатории декоративных растений, Главный ботанический сад имени Н. В. Цицина РАН, Москва, bumbeeva@mail.ru

Коллекционный фонд лаборатории декоративных растений Главного ботанического сада имени Н. В. Цицина Российской академии наук в настоящее время насчитывает 1055 видов и разновидностей, а также 4995 сортов и садовых форм. Он создан на основе классических методов интродукции, таких как эколого-географический, фитоценотический и метод родовых комплексов. При этом современная политика формирования коллекционного фонда направлена на создание не только крупных, но и уникальных собраний. Так, в статусе крупных моноколлекций в лаборатории представлены родовые комплексы *Paeonia*, *Rosa*, *Syringa*, *Tulipa*. Сорта отечественной селекции широко представлены в коллекциях *Dendranthema*, *Lilium*, *Phlox*, *Clematis*. На сохранение ретро-сортов сориентированы коллекции *Narcissus*, *Hemerocallis*, *Tulipa*. Основные этапы микроэволюционного развития культуры продемонстрированы на примере родов *Astilbe* и *Iris*. Коллекция-экспозиция «Теневой сад», существующая уже более 70 лет, создана на основе участка коренной дубравы. Создан экотрон для экспозиции скальных растений.

Ключевые слова: ГБС РАН, коллекционный фонд, декоративные растения, природные виды, сорта, интродукция, структура коллекций.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-79-86>

Коллекционный фонд лаборатории декоративных растений Главного ботанического сада имени Н. В. Цицина Российской академии наук (ЛДР ГБС РАН) – уникальное по своему количеству и качеству собрание декоративных

растений, перспективных для выращивания в условиях культуры в средней полосе России. По данным осенней инвентаризации 2017 г., в коллекциях лаборатории декоративных растений насчитывается 6050 наименований растений, в том числе 1055 видов и разновидностей, а также 4995 сортов и садовых форм, относящихся к 222 родам из 58 семейств (табл. 1).

Таблица 1

Распределение родов по семействам в составе коллекционного фонда лаборатории декоративных растений ГБС РАН

Название семейства	Число родов (в составе коллекций ЛДР)
Asteraceae	31
Lamiaceae	16
Ranunculaceae	16
Poaceae	12
Rosaceae	10
Brassicaceae	9
Saxifragaceae	9
Apiaceae	7
Campanulaceae	7
Convallariaceae	7
Boraginaceae	6
Caryophyllaceae	6
Scrophulariaceae	6
Berberidaceae	5
Liliaceae	5
Araceae	4
Aspleniaceae	4
Fabaceae	4
Papaveraceae	4
Amaryllidaceae	3
Hyacinthaceae	3
Plumbaginaceae	3
Apocynaceae	2
Aristolochiaceae	2
Crassulaceae	2
Fumariaceae	2
Iridaceae	2
Polemoniaceae	2
Poligonaceae	2



Окончание табл. 1

Название семейства	Число родов (в составе коллекций ЛДР)
Primulaceae	2
Rubiaceae	2
Adiantaceae	1
Adoxaceae	1
Alliaceae	1
Asparagaceae	1
Asphodelaceae	1
Buxaceae	1
Cistaceae	1
Colchicaceae	1
Commelinaceae	1
Cyperaceae	1
Dipsacaceae	1
Euphorbiaceae	1
Gentianaceae	1
Geraniaceae	1
Hamamelidaceae	1
Hydrophyllaceae	1
Hypericaceae	1
Juncaceae	1
Linaceae	1
Menispermaceae	1
Onagraceae	1
Paeoniaceae	1
Rutaceae	1
Solanaceae	1
Trilliaceae	1
Valerianaceae	1
Violaceae	1

Коллекции лаборатории в соответствии с особенностями различных культур отличаются по принципам формирования. В основу создания как отдельных коллекций, так и коллекционного фонда ЛДР в целом заложены классические методы интродукции: эколого-географический, фитоценотический и метод родовых комплексов [2–4]. При этом наиболее часто используются последние два.

В настоящее время фитоценотический метод активно применяется как для поддержания и расширения уже существующих, так и для создания новых коллекций.

Более 70 лет существует крупная коллекция-экспозиция «Теневой сад», сформированная на основе естественной дубравы. По данным инвентаризации 2017 г., она насчитывает 341 вид

и 41 сорт. При этом в рамках коллекции почти полностью представлены некоторые олиготипные роды лесного происхождения (*Sanicula* L., *Vinca* L., *Asarum* L., *Brunnera* Stev., *Pulmonaria* L., *Polygonatum* Adans.).

Из состава относительно новых для ЛДР коллекций с использованием этого метода в 2012–2013 гг. создана коллекция-экспозиция скальных растений. На обедненном, хорошо дренированном искусственном субстрате нормально развиваются представители скальных осыпей, которые ранее трудно было сохранить в коллекции при выращивании на садовых почвах.

Кроме коллекции скальных растений, следует отметить и коллекции представителей прерий Северной Америки (26 природных видов из 13 родов) и степей Евразии (18 видов из 12 родов), также созданные на основе фитоценотического метода.

Однако традиционно при интродукционных исследованиях в ЛДР наиболее широко используется метод родовых комплексов [4–6]. На его основе в ЛДР созданы крупные коллекции по таким родам как *Astilbe* Buch.-Ham., *Clematis* L., *Dahlia* Cav., *Dendranthema* DesMoul., *Iris*, *Hemerocallis*, *Hosta* Tratt., *Lilium* L., *Narcissus* L., *Paeonia*, *Phlox* L., *Rosa*, *Tulipa*, *Syringa* (табл. 2).

Таблица 2

Количественный состав наиболее крупных родовых комплексов декоративных растений (по данным инвентаризации 2017 г.)

Ботанический род	Количество наименований, шт	
	видов	сортов и садовых форм
<i>Astilbe</i>	8	132
<i>Clematis</i>	12	148
<i>Dahlia</i>	2	151
<i>Dendranthema</i>	0	107
<i>Iris</i>	12	204
<i>Hemerocallis</i>	10	201
<i>Hosta</i>	8	91
<i>Lilium</i>	5	241
<i>Narcissus</i>	1	345
<i>Paeonia</i>	6	480
<i>Phlox</i>	8	185
<i>Rosa</i>	26	1531
<i>Tulipa</i>	33	316
<i>Syringa</i>	6	201

Однако для поддержания возможности поливариантного использования коллекционного



фонда ЛДР в НИР с коллекциями декоративных растений, как правило, учитываются различные современные тенденции [7]. Необходимо отметить, что в последние годы качественный состав коллекционных фондов ботанических садов России и сопредельных стран стал в значительной мере унифицированным, т. е. фактически в структуре коллекционных фондов большинства ботанических учреждений представлен приблизительно одинаковый родовой состав, в целом отличающийся соотношением представителей природной и культурной флоры. Поэтому в настоящее время в ЛДР ГБС РАН политика создания, поддержания и расширения коллекций с учетом классических принципов их формирования [8] в целом направлена на создание уникальных собраний [7, 9].

В современных условиях глобализации задача по сохранению ретро-сортов, которые в мировом сорimente активно заменяются сортами последних лет, поставлена при формировании коллекций таких родов, как *Narcissus*, *Hemerocallis*, *Tulipa*.

Не менее актуальным современным направлением создания коллекционных фондов является сохранение национальных селекционных достижений. Поэтому при формировании коллекций по таким родам, как *Dendranthema*, *Syringa*, *Lilium*, *Phlox*, *Paeonia*, *Clematis* основным принципом является максимальное привлечение сортов отечественной селекции (табл. 3). Собрания этих культур демонстрируют достижения отечественной селекции разных лет.

Таблица 3

Доля сортов отечественной селекции в коллекционном фонде отдельных родо-вых комплексов в лаборатории декоративных растений ГБС РАН

Коллекция	Кол-во сортов отечественной селекции, % от общего числа сортов в коллекции
<i>Dendranthema</i>	67
<i>Phlox</i>	45
<i>Lilium</i>	31
<i>Clematis</i>	29
<i>Paeonia</i>	17
<i>Syringa</i>	16

Отметим, что культивирование сортов отечественной селекции в составе коллекций ботанических садов РФ должно позиционироваться как один из наиболее важных аспектов НИР (особенно на базе коллекций монокультур), поскольку является наиболее эффективным способом их сохранения.

При формировании коллекции рода *Dendranthema* базовым критерием, имеющим для этой культуры в условиях средней полосы России принципиальное значение, является подбор сортов наиболее ранних сроков цветения. В итоге в составе коллекционного фонда ЛДР сложился уникальный комплекс сортов, перспективных для озеленения в средней полосе России.

Относительно новым собранием, созданным в ЛДР за последние 15 лет, является коллекция представителей рода *Astilbe*. В настоящий момент в ее составе представлено 132 сорта (рис. 1),

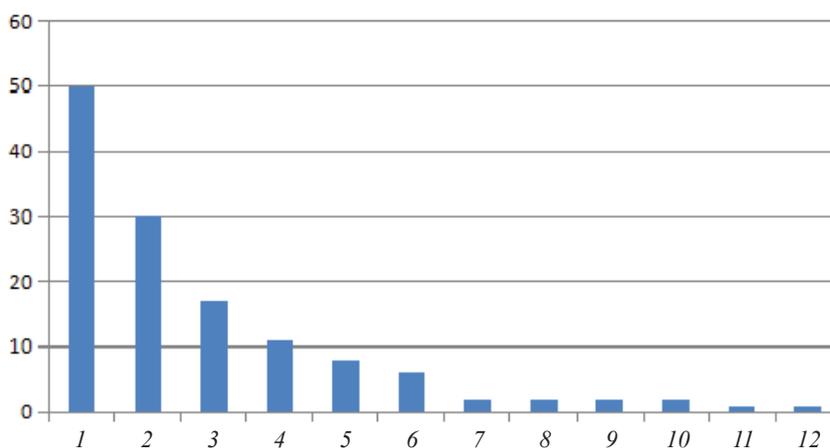


Рис. 1. Распределение сортов *Astilbe* коллекции ЛДР ГБС РАН по их принадлежности к садовым группам: 1 – *Astilbe x hybrida* hort. ex Ievinya&Lusinya, 2 – *Astilbe x arendsii* Arends, 3 – *Astilbe japonica* Morr.&Decne., 4 – *Astilbe chinensis* (Maxim.) Franch, 5 – *Astilbe simplicifolia* Mak., 6 – *Astilbe thunbergii* (Sieb. &Zucc.) Miq., 7 – *Astilbe glabberima* Nak., 8 – *Astilbe x lemoinei* E. Lemoine, 9 – *Astilbe x crispa* (Arends) Bergmans, 10 – *Astilbe rosea* Van Waveren&Kruyf, 11 – *Astilbe chinensis* var. *taquetii* (Lev.), 12 – *Astilbe rivularis* Buch.-Ham. ex D. Don



относящихся к 12 садовым группам (из 14 существующих в мировом ассортименте) и 8 природных видов (*A. davidii* (Franch.) Henry, *A. grandis* Stapf. ex Wilson., *A. japonica* (Morr. et Decne.) A. Gray, *A. koreana* (Kom.) Nakai, *A. microphylla* Knoll, *A. myriantha* Diels, *A. thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Miq., *A. chinensis* (Maxim.) Franch. & Sav. В целом сортовая часть коллекции составляет приблизительно 50% от мирового сортамента этой культуры (если считать, что в настоящий момент в мире сохранилось 250 – 270 оригинальных сортов). Таким образом, на основе собрания культиваров *Astilbe* эффективно реализован принцип сохранения в составе полевого банка максимально возможного числа сортов, составляющих мировой сортамент культуры.

Коллекция сортов *Astilbe*, наряду с собранием сортов *Iris x hybrida hort.*, является типовой в аспекте реализации принципа создания выборки культиваров, представляющих основные этапы микроэволюционного развития культуры.

Выборка культиваров позволяет *Astilbe* показать историю селекции культуры за длительный период времени (более 100 лет). При этом самыми старыми сортами в коллекции являются ‘W.E. Gladstone’ (1890-е гг.) и ‘Washington’ (1899 г.). Современная селекция представлена сортами, полученными в 2010 г. в Украине (‘Анюта’, ‘Оченьта’). Кроме того, в коллекции представлены все основные селекционные цен-

тры этой культуры (Франция, Германия, Великобритания, Нидерланды, Латвия, Украина) [10].

Современная коллекция представителей рода *Iris* ОДР ГБС РАН содержит культивары *Iris x hybrida* разных периодов селекции, охватывая промежуток микроэволюционного развития сортов высоких бородатых ирисов, составляющий более 150 лет: от созданных в конце XIX – начале XX в. диплоидных сортов с относительно простой окраской и структурой околоцветника, небольшими размерами цветка (‘M-me Chereau’, ‘Gracchus’, ‘Quaker Lady’ и др.) до современных тетраплоидов со значительно более крупным габитусом и сложной цветовой гаммой околоцветника (‘Electrique’, ‘Full Impact’, ‘Wench’, ‘Bewilderbeast’, ‘Desert Echo’, ‘Midnight Majesty’, ‘Clarence’ и др.) [11].

Новой для ЛДР ГБС РАН является коллекция рода *Hosta*, находящаяся на этапе активного формирования. В настоящее время НИР на ее основе преимущественно направлена на создание репрезентативной выборки сортов, представляющих все современные группы (согласно классификациям, разработанным Американским обществом любителей хост (American Hosta Growers Association) [12], отличающиеся по высоте растений, окраске листовых пластинок как основной декоративной характеристике культуры (рис. 2), а также их форме и текстуре.

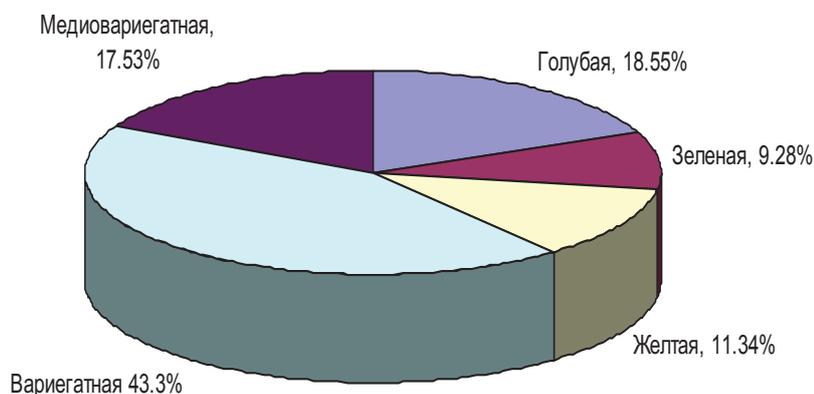


Рис. 2. Распределение сортов *Hosta* L. коллекции ЛДР ГБС РАН в зависимости от окраски листовых пластинок

Особое значение для ЛДР имеет коллекция представителей рода *Rosa*. На протяжении достаточно длительного времени она является наиболее крупной структурной компонентой коллекционного фонда лаборатории [7]. По данным 2017 г., род *Rosa* в коллекции представлен 1557 образцами и составляют 26 % от общего

числа наименований в составе коллекционного фонда. В коллекции представлены все садовые группы (рис. 3), основные страны происхождения сортов (Франция, Германия, Великобритания, США, Канада, Нидерланды, Новая Зеландия, Дания, Болгария, Россия и др.), ведущие селекционные фирмы [13], (табл. 4).

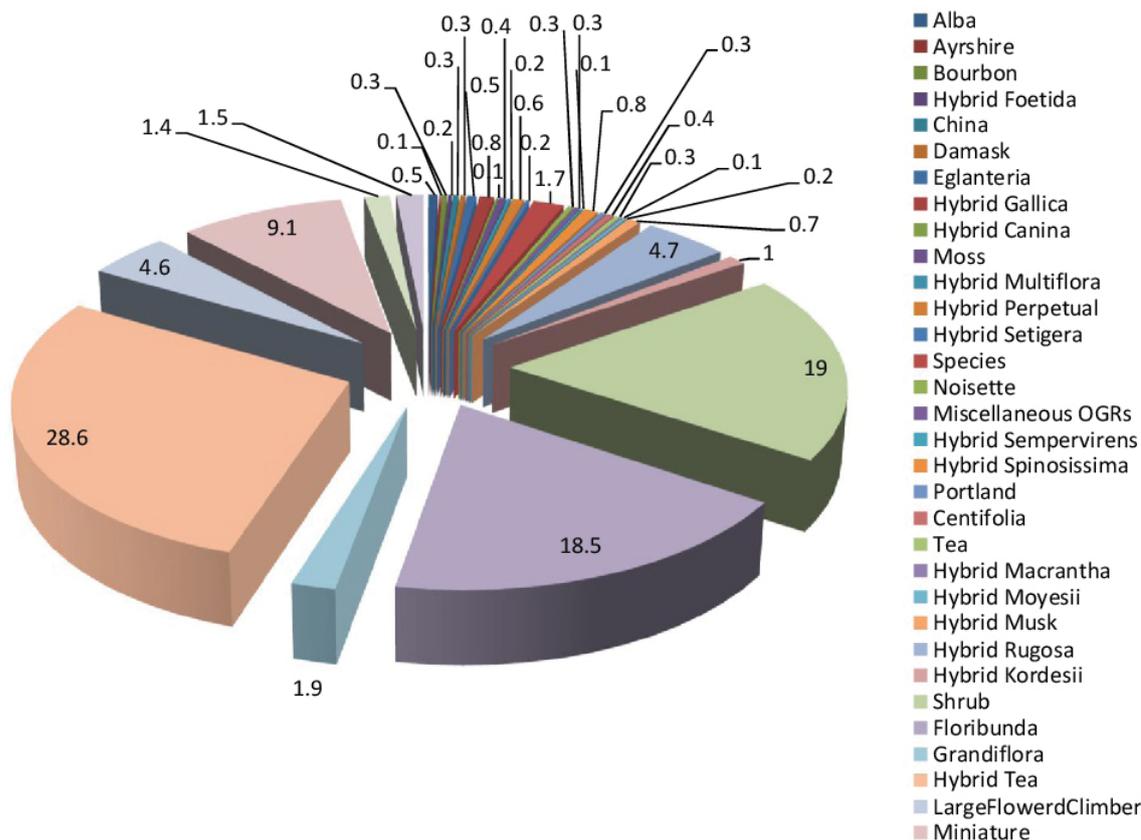


Рис. 3. Распределение представителей рода *Rosa* по садовым группам (% от общего объема коллекции) в составе современной коллекции ЛДР

Таблица 4
Основные селекционные центры, сорта которых представлены в коллекции ЛДР ГБС РАН

Страна	Название селекционно-семеноводческой фирмы
Англия	Harkness Roses, David Austin, Le Grice, James Cocker & Sons
Бельгия	Louis Lens
Болгария	Prof. Dr. V. Staikov
Германия	W. Kordes' Sohne, Rosen Tantau, Noack
Дания	Poulsen family
Ирландия	Dickson Jacsons-Perkins, Weeks-Roses, Ralf Moore, Herbert Smith, T. Carruth
Испания	Pedro Dot
Италия	Barny
Нидерланды	Interplant, De Ruiters
Канада	Explorer's Roses, Pakland's Roses
Новая Зеландия	Sam McGredy family
Россия	И. И. Штанько, З. К. Клименко
Франция	Meilland, Delbard, Guillot
Япония	S. Suzuki

В состав коллекции также включены селекционные достижения, созданные на различных этапах: от ретро-сортов – Cabbage Rose (1596), Alba Semi-plena (1754), Boursault Rose (1810), Blush Noisette. N. (Noisette, 1894) и др., а также

культурных форм от природных видов – *Rosa gallica versicolor* (1581), *R. foetida persiana* (1594), *R. gallica officinalis* и *R. spinosissima* (1600), до сортов, полученных за последние несколько лет: Gypsy Farbfestival, Arabia, Alexandra Princess Lux-



embourg (2010); Ashley, The Poet's Wife (2014); Big Bang (2015); Lady Ryderof Warsaw (2016) и др. Однако генеральной задачей современной НИР на ее основе является отбор перспективного для условий средней полосы России сортимента роз.

Несмотря на очевидные преимущества, метод Русанова имеет ряд ограничений. Он наиболее перспективен для монокультур с идентичной нормой реакции. В то же время для родовых комплексов с различными экологическими требованиями он мало применим. Так, в зависимости от почвенно-климатических условий пункта интродукции этот подход имеет целый ряд ограничений и зачастую препятствует интродукции значительного количества представителей того или иного ботанического таксона. Поэтому на современном этапе развития интродукционных исследований наиболее актуальным (в первую очередь в аспекте сохранения биоразнообразия представителей растительного мира *ex situ*) следует считать поиск путей оптимизации метода Русанова. Наиболее перспективным, на наш взгляд, является подход, связанный с имитацией необходимых эдафических условий (созданием серии экотронов).

Также востребованным аспектом НИР с сортовыми коллекциями монокультур в дальнейшем может стать расширение в их составе разнообразия культиваров из малочисленных или малораспространенных в рамках мирового ассортимента садовых групп.

При формировании коллекций культур с большим сортовым разнообразием, на наш взгляд, для поддержания репрезентативности выборки целесообразно использовать селекционные достижения стран с различным уровнем развития селекции, не ограничиваясь культиварами, представляющими страны-лидеры. Поскольку мировое разнообразие сортов той или иной культуры складывается как за счет доминирующих стран, крупных селекционных центров и ведущих селекционеров, так и из селекционных достижений стран с менее развитой селекцией.

При этом в долгосрочной перспективе формирования коллекционного фонда, кроме подходов, основанных на классических принципах формирования сортовых коллекций, вероятно, может быть актуальным применение дополнительных подходов. Так, например, для научно-исследовательских целей может быть необходимым введение в состав коллекций сортов, оказавшихся за рамками интродукционного процесса (фенотипически сходных, хорошо изученных ранее, генетически близких и др.). Кроме того, подобный подход может быть востребованным и в работе с видовой частью коллекционного фонда.

Помимо крупных коллекций монокультур в ЛДР представлены и уникальные, весьма крупные по составу сборные коллекции мало распространенных многолетников [6]. Так, в коллекции низкорослых многолетников представлено 213 видов и 124 сорта, коллекция среднерослых многолетников насчитывает 142 вида и 124 сорта, коллекция высокорослых многолетников – 142 вида и 126 сортов. Все эти коллекции являются основой для формирования новых родовых комплексов, которые впоследствии могут быть оформлены в виде отдельных коллекций. Так, в настоящее время уделяется особое внимание таким родам, как *Ligularia* Cass. (8 видов, 6 сортов), *Geranium* L. (27 видов, 31 сорт), *Filipendula* Mill. (6 видов, 5 сортов), *Eupatorium* L. (7 видов, 4 сорта), *Aster* L. (18 видов, 54 сорта), *Eryngium* L. (8 видов, 2 сорта), *Potentilla* L. (10 видов, 3 сорта), *Sedum* L. (29 видов, 28 сортов), *Sanguisorba* L. (8 видов, 8 сортов). Разнообразие представителей этих родов в составе коллекционного фонда ЛДР позволяет репрезентативно представить все экологические и географические группы и основные направления в селекции.

В настоящее время одним из новых направлений при формировании коллекционного фонда является создание коллекций, комплектование которых проходит не по географическому или родовому признаку, а на основе иных принципов. Так, в настоящее время в лаборатории декоративных растений ГБС РАН активно формируется коллекция многолетних декоративных травянистых растений позднего срока цветения, перспективных для использования в городском озеленении. Основными задачами ее формирования являются привлечение наиболее декоративных поздноцветущих видов и сортов; оценка возможности их введения в культурную флору региона; подбор ассортимента поздноцветущих многолетних травянистых растений, потенциально перспективных при формировании ассортимента для озеленения крупных городов. Это связано с тем, что в настоящий момент в городском озеленении Москвы недостаточно активно используются поздноцветущие растения.

Основой вышеуказанной НИР является коллекция представителей семейства Asteraceae Dum., где репрезентативно представлены виды природной флоры Северной Америки [14]. В настоящий момент в коллекцию входит 29 природных видов и 79 сортов, полученных на основе видов североамериканской флоры. При этом проводится планомерная работа по привлечению новых для региона родов, относящихся к семейству Asteraceae. Так, очень перспективными для



условий средней полосы России являются следующие роды, характерные для флоры Северной Америки: *Boltonia* L'Her., *Helianthus* L., *Vernonia* Schreb., *Coreopsis* L., *Solidago* L., *Eupatorium* L., *Silphium* L.

Древесные растения в коллекционном фонде ЛДР традиционно были представлены только родами *Rosa* и *Syringa*, а также собранием привитых форм. В настоящее время тенденция НИР по этому направлению существенно изменилась и наиболее активно развивающейся является коллекция декоративных яблонь [15]. При этом ее основная часть сформирована относительно недавно. За последние 10 лет коллекция увеличилась до 53 сортов, форм и декоративных видов крестов. Хотя четыре сорта – ‘Makamik’, ‘Royalty’, ‘Wierdak’, ‘Selkirk’ – культивируются в ЛДР уже десятки лет и показывают хорошую зимостойкость и морозостойчивость.

Отметим, что расширение состава коллекции декоративных яблонь осуществляется ежегодно. Подавляющее большинство новых культиваров высоко декоративно. При этом у них наблюдается ежегодное цветение и плодоношение. Однако пока декоративные яблони редко используются в озеленении.

В современной коллекции перспективными являются сорта с махровыми цветками, такие как ‘Brandy Magic’, ‘Charlottae’, но в экспозиции также представлены культивары иных сортоотипов, например, сорта с крупными розовыми цветками и колонновидными кронами. Это выведенные селекционером М. В. Качалкиным ‘Розовая сказка’, ‘Кармелита’, ‘Манящий аромат’, ‘Гранатовый браслет’, ‘Малиновое ожерелье’.

Таким образом, коллекционный фонд лаборатории декоративных растений, являясь крупнейшим в России, отражает максимальное разнообразие декоративных растений, перспективных для культивирования в условиях региона. В его составе представлены сорта, характеризующие основные этапы селекции по традиционным декоративным культурам, сохраняются национальные селекционные достижения, ведется планомерная работа по расширению состава культурной флоры, формируется ассортимент растений, перспективных для озеленения крупных городов. Коллекционный фонд может быть использован как полевой генный банк, а также в качестве базы для учебных и просветительских целей.

Благодарности

Работа выполнена в рамках госзадания ГБС РАН, тема «Принципы обогащения генофонда декоративных растений в культуре» (№ 118021490111-5).

Список литературы

1. Трулевич Н. В. Эколого-фитоценологические основы интродукции растений. М. : Наука, 1991. 213 с.
2. Карпионов П. А. Фитоценологический метод интродукции растений // Докл. VIII конференции дендрологов. Тбилиси : Мецниереба, 1982. С. 221–222.
3. Русанов Ф. Н. Новые методы интродукции растений // Бюл. Гл. бот. сада. 1950. Вып. 7. С. 27–36.
4. Декоративные многолетники (краткие итоги интродукции). М. : Изд-во АН СССР, 1960. 333 с.
5. Цветочно-декоративные травянистые растения (краткие итоги интродукции). М. : Наука, 1983. 272 с.
6. Травянистые декоративные многолетники Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина РАН : 60 лет интродукции / отв. ред. А. С. Демидов. М. : Наука, 2009. 396 с.
7. Бондорина И. А., Карпионов П. А., Кабанов А. В., Мамаева Н. А. Генофонд декоративных растений Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина РАН как источник обогащения культурной флоры // Бюл. Гл. бот. сада. 2015. Вып. 201, № 3. С. 37–42.
8. Карпионов П. А., Демидов А. С. Принципы создания и изучения коллекций декоративных растений ГБС РАН // Информ. Бюл. Совета бот. садов России. 1997. Вып. 7. С. 25–31.
9. Стратегия Ботанических садов России по сохранению биоразнообразия растений / отв. ред. Л. Н. Андреев. М. : Красная звезда, 2003. 32 с.
10. Blanchette L., Beattie D. Are the new Astilbe really better // Comb. Proc. Intern. Plant Propagators' Soc.-Seattle (Wash.). 2002. Vol 51. P. 449–476.
11. Родионенко Г. И. Ирисы. СПб. : ООО «Диамант» ; Агропромиздат, 2002. 192 с.
12. Schmid W. G. The Genus Hosta. Portland : Timber Press, 2009. 492 p.
13. Young M. A., Schorr Ph. Modern Roses-12 : The Comprehensive List of Roses in Cultivation or of Historical or Botanical Importance. Shreveport : The American Rose Society, Louisiana, 2007. 576 p.
14. Flora of North America. Oxford : University Press, 2006. Vol. 20. 690 p.
15. Gelderen C. J. van, Gelderen D. M. van. Maples for gardens (A color encyclopedia). Portland : Timber Press, 1999. 294 p.

Образец для цитирования:

Бондорина И. А., Кабанов А. В., Мамаева Н. А., Хохлачева Ю. А., Бумбеева Л. И. Современное состояние коллекционного фонда лаборатории декоративных растений ГБС РАН // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 79–86. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-79-86>



Current Status of the Collection Fund of the Laboratory of Ornamental Plants of the Russian Academy of Sciences

I. A. Bondorina, A. V. Kabanov, N. A. Mamaeva,
Ju. A. Khokhlacheva, L. I. Bumbeeva

Irina A. Bondorina, <https://orcid.org/0000-0002-6664-949X>, Mail Botanical Garden Russian Academy of Science, 4 Botanicheskaya Str., Moscow, Russia, bondo-irina@yandex.ru

Alexander V. Kabanov, <https://orcid.org/0000-0001-9958-2386>, Mail Botanical Garden Russian Academy of Science, 4 Botanicheskaya Str., Moscow, Russia, alex.kabanov@rambler.ru

Natal'ya A. Mamaeva, <https://orcid.org/0000-0002-1191-5965>, Mail Botanical Garden Russian Academy of Science, 4 Botanicheskaya Str., Moscow, Russia, mamaeva_n@list.ru

Julia A. Khokhlacheva, <https://orcid.org/0000-0002-1883-8704>, Mail Botanical Garden Russian Academy of Science, 4 Botanicheskaya Str., Moscow, Russia, jusic-la@yandex.ru

Lubov' I. Bumbeeva, <https://orcid.org/0000-0003-0472-8042>, Mail Botanical Garden Russian Academy of Science, 4 Botanicheskaya Str., Moscow, Russia, bumbeeva@mail.ru

The Collection Fund of the Laboratory of Ornamental Plants of the Main Botanical Garden named after N. V. Tsitsin of the Russian Academy of Sciences has currently 1055 species and varieties, as well as 4 995 varieties and garden forms. It was created on the basis of classical methods of introduction, such as (ecology)-geographical, phytocenotic and the method of generic complexes. At the same time, the modern policy of forming the collection fund is aimed at creating not only large but also unique collections. So, in the status of large mono-collections there are generic complexes such as *Paeonia*, *Rosa*, *Syringa*, *Tulipa*. Varieties of domestic selection are widely represented in the collections of *Dendranthema*, *Lilium*, *Phlox*, *Clematis*. The collections of *Narcissus*, *Hemerocallis*, *Tulipa* are aimed at preserving the retro varieties. The main stages of microevolutionary development of culture are demonstrated in the case of the genera *Astilbe* and *Iris*. The exposition "The Shadow Garden", which has existed for more than 70 years, was created on the site of an indigenous oak grove. An ecotron was created displaying the exposition of rocky plants.

Keywords: MBG RAS, a collection fund, ornamental plants, natural species, varieties, introduction, the structure of collections.

Acknowledgements: *The work was carried out in accordance to Institutional research (project no. 118021490111-5).*

References

1. Trulevich N.V. *Ekologo-fitotsenoticheskiyeosnovyintroduktsii rasteniy* [Ecological and phytocenotic bases of plant introduction]. Moscow, Nauka Publ., 1991. 213 p. (in Russian).
2. Karpisonova R. A. Fitocenoticheskij metod introdukcii rastenij [Phytocenotic method of plant introduction]. *Doklady VIII konferencii dendrologov* [The reports of the VIII conference of dendrology]. Tbilisi, Metsiereba Publ., 1982, pp. 221–222 (in Russian).
3. Rusanov F. N. Novyye metody iintroduktsii rasteniy [New methods of introduction of plants]. *Byull. GBS AN SSSR* [Bulletin of the Main Botanical Garden AC USSR], 1950, vol. 7, pp. 27–36 (in Russian).
4. *Dekorativnyie mnogoletniki (kratkie itogi introduktsii)* [Decorative perennials (brief results of introduction)]. Moscow, Izd-vo AN SSSR, 1960. 333 p. (in Russian).
5. *Tsvetochno-dekorativnyie travyanistyie rasteniya. Kratkie itogi introduktsii* [Flower-decorative herbaceous plants. Brief results of introduction]. Moscow, Nauka Publ., 1983. 272 p. (in Russian).
6. *Travyanistyie dekorativnyie mnogoletniki Glavnogo botanicheskogo sada im. N. V. Tsitsina RAN Rossiyskoy akademii nauk. 60 let introduktsii* [Herbaceous decorative perennials of the Main Botanical Garden named after N. V. Tsitsina of the Russian Academy of Sciences. 60 years of introduction]. Moscow, Nauka Publ., 2009. 396 p. (in Russian).
7. Bondorina I. A., Karpisonova R. A., Kabanov A. V., Mamaeva N. A. Genofond dekorativnyh rastenij Glavnogo botanicheskogo sada im. N. V. Tsitsina RAN kak istochnik obogashhenij akul'turnoj flory [The gene pool of ornamental plants of Main Botanical Garden named. N. V. Tsitsin of the RAS as a source of enrichment of the cultural flora]. *Byull. GBS AN SSSR* [of the Main Botanical Garden AC USSR], 2015, iss. 201, no. 3, pp. 37–42 (in Russian).
8. Karpisonova R. A., Demidov A. S. Printsipy sozdaniya i izucheniy kollektiy dekorativnyh rasteniy GBS RAN [Principles of creation and study of collections of ornamental plants of the RAS]. *Informatsionnyy byulleten Soveta botanicheskikh sadov Rossii* [News letter of the Council of Botanical Gardens of Russia], 1997, iss. 7, pp. 25–31 (in Russian).
9. *Strategiya Botanicheskikh sadov Rossii po sokhraneniyu bioraznoobraziya rasteniy* [Strategy of Botanical Gardens of Russia for the Conservation of Plant Biodiversity]. Ed. L. N. Andreev. Moscow, Krasnaya zvezda, 2003. 32 p. (in Russian).
10. Blanchette L., Beattie D. Are the new Astilbe really better. *Comb. Proc. Intern. Plant Propagators' Soc.* Seattle (Wash.), 2002, vol. 51, pp. 449–476.
11. Rodionenko G. I. *Irisy* [Irises]. St. Petersburg, OOO "Diamant", Agropromizdat Publ., 2002. 192 p. (in Russian).
12. Schmid W. G. *The Genus Hosta*. Portland, Timber Press, 2009. 492 p.
13. Young M. A., Schorr Ph. *Modern Roses-12: The Comprehensive List of Roses in Cultivation or of Historical or Botanical Importance*. Shreveport, The American Rose Society, Louisiana, 2007. 576 p.
14. *Flora of North America*. Oxford University Press, 2006, vol. 20. 690 p.
15. Gelderen C. J. van, Gelderen D. M. van. *Maples for gardens (A color encyclopedia)*. Portland, Timber Press, 1999. 294 p.

Cite this article as:

Bondorina I. A., Kabanov A. V., Mamaeva N. A., Khokhlacheva Ju. A., Bumbeeva L. I. Current Status of the Collection Fund of the Laboratory of Ornamental Plants of the Russian Academy of Sciences. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 79–86 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-79-86>



УДК 579.234:579.842.23

Исследование морфологических особенностей клеток бактерий *Yersinia pestis*, выращенных при различных температурных условиях, методом атомно-силовой микроскопии



Д. В. Уткин, Е. Г. Булгакова, П. С. Ерохин, О. С. Кузнецов, В. Е. Куклев, Н. А. Осина

Уткин Денис Валерьевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории диагностических технологий, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, rusrapi@microbe.ru

Булгакова Елена Германовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, rusrapi@microbe.ru

Ерохин Павел Сергеевич, кандидат физико-математических наук, младший научный сотрудник лаборатории диагностических технологий, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, rusrapi@microbe.ru

Кузнецов Олег Святославович, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории диагностических технологий, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, rusrapi@microbe.ru

Куклев Василий Евгеньевич, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией диагностических технологий, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, rusrapi@microbe.ru

Осина Наталия Александровна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной диагностики, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, rusrapi@microbe.ru

Атомно-силовая микроскопия при изучении клеток бактерий позволяет определить такие морфологические параметры, как длина, ширина, толщина клетки, ее периметр, площадь сечения, объем, среднеквадратичную шероховатость поверхности клетки, которая зависит от степени укладки пептидогликана и плотности липополисахарида. Целью данной работы было изучение изменений морфологических параметров клетки и клеточной поверхности бактерий при изменении температурных условий среды культивирования на модели *Y. pestis*. Наряду с традиционными морфологическими параметрами были определены коэффициенты, характеризующие функциональное состояние клеток – пластичность, ригидность клеточной стенки. Измерения осуществляли с использованием стандартных методов полуконтактной атомно-силовой микроскопии и программы анализа АСМ-изображений. На примере возбудителя чумы *Y. pestis* показано, что повышение температуры культивирования бактерий с 28 до 37 °С приводит к увеличению объема клетки, шероховатости поверхности клетки, ригидности клеточной стенки. Понижение температуры культивирования *in vitro* с 28 до 4 °С приводит к

потере ригидности клеточной стенки, сглаживанию поверхности и увеличению пластичности. Полученные результаты расширяют сведения о механизмах адаптации чумного микроба в различных температурных условиях.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, бактериальная клетка, атомно-силовая микроскопия, морфометрический анализ, поверхностная структура, температура культивирования.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-87-93>

Введение

В настоящее время для изучения микробиологических объектов наряду со световой, электронной и люминесцентной микроскопией используются сканирующая зондовая микроскопия и ее вариант – атомно-силовая микроскопия (АСМ). Атомно-силовая микроскопия прошла путь от простой визуализации микроорганизмов к изучению живой природы, структуры и роли отдельных клеточных элементов. Имеются достоверные литературные данные о применении АСМ для изучения морфологии клеток бактерий, субклеточных структур, вирусов, способности микроорганизмов к споро- и капсулообразованию; исследования архитектоники биопленок; для выявления специфических эпитопов; определения чувствительности к бактериофагам, антибактериальным препаратам, факторам биотической и абиотической природы; оценки морфофункционального состояния клетки [1–8]. Морфология, поверхностная и внутренняя ультраструктура клеток бактерий достаточно хорошо изучены методами световой и электронной микроскопии. В то же время морфологические исследования микроорганизмов микроскопическими методами позволяют определить только двумерные характеристики: длину (L); ширину (W); периметр (P); площадь сечения клетки (S); коэффициент вытянутости клетки (L/W), характеризующий ее форму. Атомно-силовая микроскопия в силу своих физических возможностей позволяет определить трехмерные параметры: толщину (высоту) клетки (H); среднеквадратичную шероховатость поверхности клетки, которая характеризует степень укладки пептидогликана клеточной стенки;



объем клетки (V); коэффициент уплощенности (S/H), характеризующий степень пластичности клетки; индекс (I) отношения ширины клетки к ее высоте (W/H), характеризующий степень ригидности клеточной стенки (у нативных клеток $I=1$, у клеток со сниженной ригидностью индекс I повышается) [9–11]. Указанные параметры являются индикаторами морфофункционального состояния клетки и играют важную роль в формировании ее статуса в разных условиях и при действии различных факторов.

Одним из наиболее значимых факторов окружающей среды, влияющих на структурно-функциональные особенности бактерий, в том числе возбудителя чумы *Yersinia pestis*, обитающего в различных условиях, является температурный. Следует отметить, что при изучении влияния температуры культивирования на клетки бактерий в основном учитываются линейные размеры клеток и среднеквадратичная шероховатость поверхности клетки [12–15]. В настоящей работе проведена оценка влияния температуры на расширенный спектр морфометрических параметров.

Целью данной работы было изучение изменений морфологических параметров клетки и клеточной поверхности бактерий при изменении температурных условий среды культивирования на модели *Y. pestis*.

Материалы и методы

В работе использовали штаммы чумного микроба Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб» (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб») *Y. pestis* EV НИИЭГ (вакцинный) и природный штамм *Y. pestis* ssp. *altaica* 1559, выделенный из блох на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы (Республика Алтай) в 2012 г.

Бактерии выращивали на агаре Хоттингера (рН 7,2) при трех температурных режимах: 28 °С, 37 °С и 4 °С. Подготовку штаммов проводили в соответствии с МУ 1.3.3103-13 «Организация работы лабораторий, использующих методы электронной и атомно-силовой микроскопии при исследовании культур микроорганизмов I–IV групп патогенности». Клетки в стационарной фазе роста смывали с агара в 1 мл 2,5% глутаральдегидного фиксатора, приготовленного по D. Sabatini et al. [16] и инкубировали в течение 2 ч при температуре 4 °С. Обеззараженные взвеси бактерий объемом 1 мл переносили в микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл (Ахуген, США) и центрифугировали при 6000 об/мин в течение 20 мин для осаждения клеток. Супернатант отбирали в емкость для сброса отходов. Осадок

суспендировали в 1 мл дистиллированной воды и повторно центрифугировали при 6000 об/мин в течение 20 мин. Супернатант отбирали, а осадок суспендировали в 1 мл дистиллированной воды. Взвесь микроорганизмов объемом 4 мкл наносили на покровное стекло и высушивали путем естественного высыхания на воздухе.

Исследования проводили на сканирующем зондовом микроскопе Solver P47-PRO (НТ-МДТ, Россия) в прерывисто-контактном режиме. Сканирование образцов осуществляли с применением кремниевых зондов серии NSG01 (НТ-МДТ, Россия) с жесткостью 5,1 Н/м, резонансной частотой 150 кГц, радиусом закругления иглы 10 нм. Обработку полученных АСМ-изображений, измерения геометрических параметров выполняли с использованием программного обеспечения Image Analysis (НТ-МДТ, Россия). Статистически рассчитывали достоверность различий между параметрами с уровнем значимости 0,95 с определением критерия Стьюдента (t), коэффициент вариации, коэффициент корреляции Спирмена (rs).

Результаты и их обсуждение

Проведена сравнительная оценка морфологических изменений коллекционного (вакцинного) и природного (вирулентного) штаммов *Y. pestis*, выращенных в разных температурных условиях: при температуре 28 °С (стандартная температура культивирования возбудителя и температура тела переносчика – блохи), при температуре 37 °С (температура, свойственная теплокровным хозяевам), при температуре 4 °С (гипотермическая температура, наблюдающаяся в норах и у инфицированных мелких млекопитающих в период зимней спячки [17]) (рис. 1–3).



Рис. 1. АСМ штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенного при температуре культивирования 28 °С

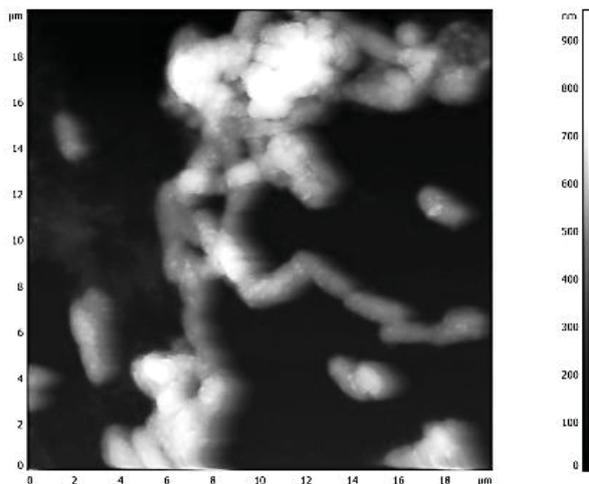


Рис. 2. АСМ штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенного при температуре культивирования 37 °С

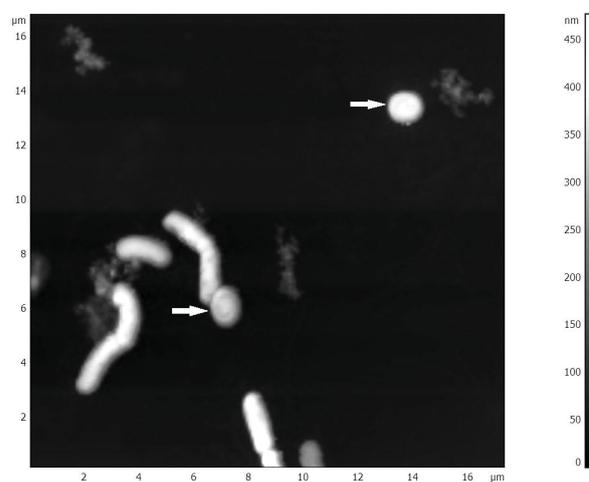


Рис. 3. АСМ штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенного при температуре культивирования 4 °С, стрелкой указаны округлые клетки

По результатам морфометрического анализа установлено, что коллекционный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенный при стандартной температуре культивирования 28 °С, характеризуется наличием однородных по морфологии клеток бактерий с коэффициентом вариации линейных размеров клеток менее 10%. Длительное хранение и многочисленные пассажи в условиях *in vitro* на питательных средах привели к формированию гомогенной популяции и стабильных форм клеток.

При изменении температуры культивирования с 28 до 37 °С объем клеток у данного штамма увеличился в среднем в 1,7 раза за счет увеличения ширины (рис. 4). Изменения были статистически значимыми ($t = 2,30$). Среднеквадратичная шероховатость поверхности клетки увеличивалась с (25 ± 5) до (30 ± 5) нм, что, по-

видимому, связано с синтезом на поверхности клетки капсульного антигена F1 при температуре 37 °С [18], а также с увеличением плотности липополисахарида клеточной стенки [15]. Статистически значимых изменений в пластичности клетки и ригидности клеточной стенки не обнаружено, критерий Стьюдента составил $t = 0,35$ в обоих случаях (см. рис. 4).

При понижении температуры культивирования до гипотермического значения (4 °С) объем клетки уменьшался в 2,1 раза, что согласуется с литературными данными [17]. Наблюдалось формирование округлых клеток (см. рис. 3), свойственных некультивируемым, но жизнеспособным формам чумного микроба [17], и вытянутых клеток, характерных для бактерий, подвергшихся стрессовым факторам [13]. С понижением температуры среднеквадратичная шероховатость поверхности клеток уменьшалась с (25 ± 5) до (20 ± 5) нм (см. рис. 4). Понижение температуры с 28 до 4 °С приводило к увеличению коэффициента уплощенности с $4,2 \pm 0,4$ до $5,7 \pm 0,4$, к увеличению индекса I с $2,3 \pm 0,2$ до $3,8 \pm 0,2$, что свидетельствовало о снижении ригидности клеточной стенки. Изменение пластичности и ригидности было статистически значимым со значением критерия Стьюдента $t = 2,65$ и $t = 5,30$ соответственно.

Корреляционный анализ показал прямую зависимость увеличения длины, ширины, объема, шероховатости клеток с увеличением температуры с 4 до 37 °С ($r_s = 0,875-1,0$) и обратную зависимость – для коэффициента уплощенности и индекса I ($r_s = -1,0$), что свидетельствовало о функциональной связи снижения пластичности и увеличения ригидности клеточной стенки с повышением температуры.

Природный штамм *Y. pestis* 1559, в отличие от вакцинного штамма, обладал гетерогенностью популяции на клеточном уровне с коэффициентом вариации линейных размеров клеток (длины) более 10%. В культуре наблюдались как типичные по морфологии клетки, так и вытянутые при всех исследуемых температурах (рис. 5–7).

Из литературных данных следует, что гетерогенность природных штаммов *Y. pestis* повышает выживаемость популяции бактерий в изменяющихся или неоднородных условиях среды, в организме хозяина и переносчика и при воздействии стрессовых факторов [19].

В то же время закономерности изменения морфологии клеток бактерий штамма *Y. pestis* 1559 при повышении и понижении температуры культивирования были аналогичны коллекционному штамму (см. рис. 4).

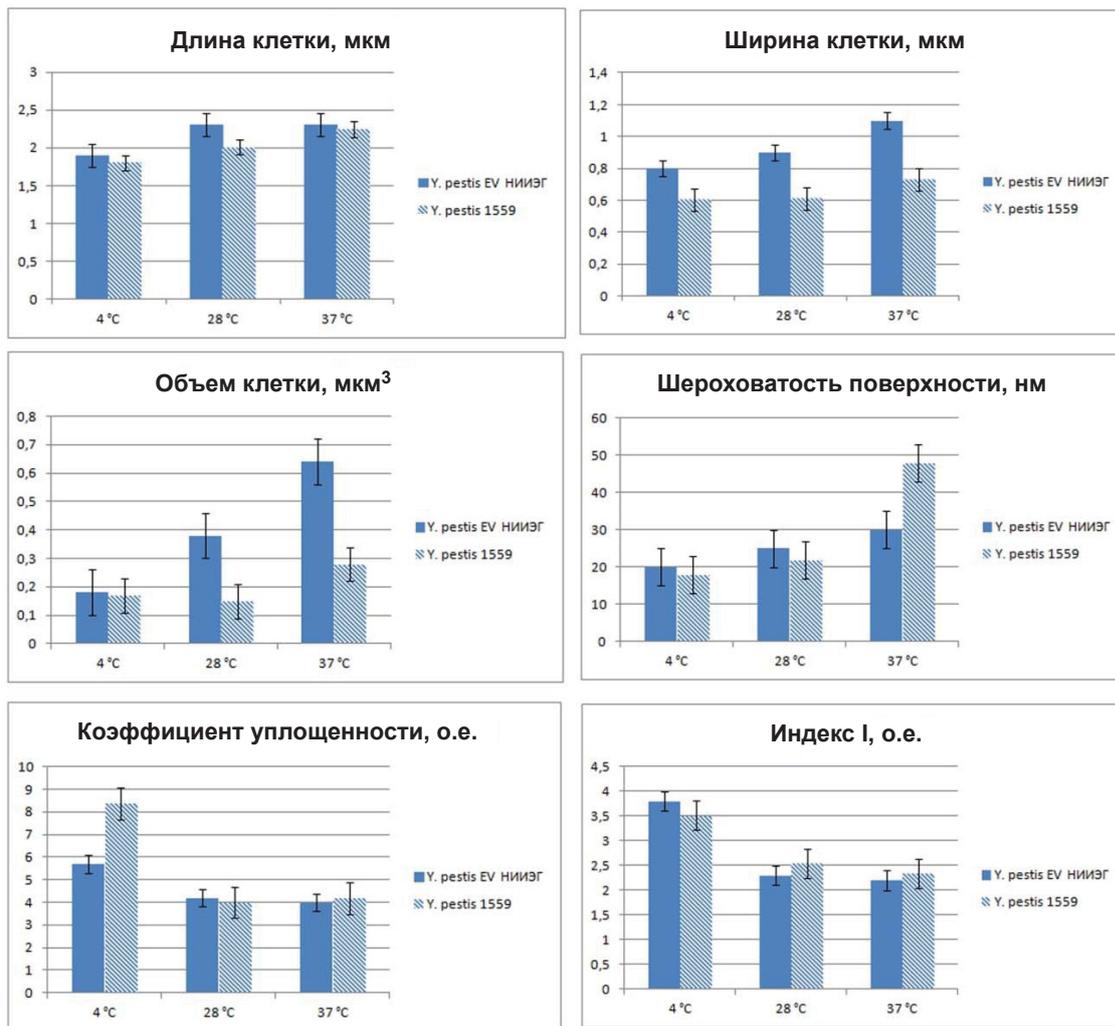


Рис. 4. Основные морфометрические параметры клеток *Y. pestis* EV НИИЭГ, *Y. pestis* 1559, выращенных при температуре 4 °C, 28 °C, 37 °C

Увеличение температуры культивирования с 28 до 37 °C приводило к увеличению объема клеток в 1,9 раза, повышению шероховатости поверхности клеток с (22 ± 5) до (48 ± 11) нм (см. рис. 4). В результате повышения «складчатости» клетки увеличивалась площадь поверхности клеточной стенки и плотность липополисахарида [15], что, по-видимому, является одним из факторов адаптивной реакции бактерий чумного микроба на температуру, свойственную организму млекопитающего [14]. Кроме того, при температуре 37 °C во внеклеточном пространстве наблюдались рассеянные частицы и агрегаты (см. рис. 6), описанные ранее в литературе [15].

С понижением температуры культивирования с 28 до 4 °C среднеквадратичная шероховатость поверхности клетки уменьшалась с (22 ± 5) до (18 ± 3) нм (см. рис. 4), клетки становились более гладкими, покрытыми капсульным веществом (см. рис. 7).

При изменении температуры культивирования с 28 до 37 °C коэффициент уплотненности, характеризующий степень пластичности клетки, практически оставался на одном уровне $(4,0 \pm 0,2)$ и $(4,2 \pm 1,4)$ соответственно). В гипотермических условиях при температуре 4 °C пластичность клеток увеличивалась, что приводило к статистически достоверному увеличению коэффициента уплотненности с $4,0 \pm 0,2$ до $8,4 \pm 0,4$, $t = 9,84$ (см. рис. 4).

Индекс *I*, характеризующий ригидность клеточной стенки, с повышением температуры незначительно уменьшался с $2,5 \pm 0,1$ до $2,3 \pm 0,6$, что указывает на небольшое повышение ригидности. Понижение температуры до 4 °C приводило к достоверному увеличению индекса *I* с $2,5 \pm 0,1$ до $3,5 \pm 0,1$ ($t = 7,07$), что свидетельствовало о снижении ригидности клеточной стенки.

У природного штамма установлена прямая зависимость увеличения длины и ширины клеток от температуры ($r_s = 0,875-1,0$) и обратная – для индекса *I* ($r_s = -1,0$).

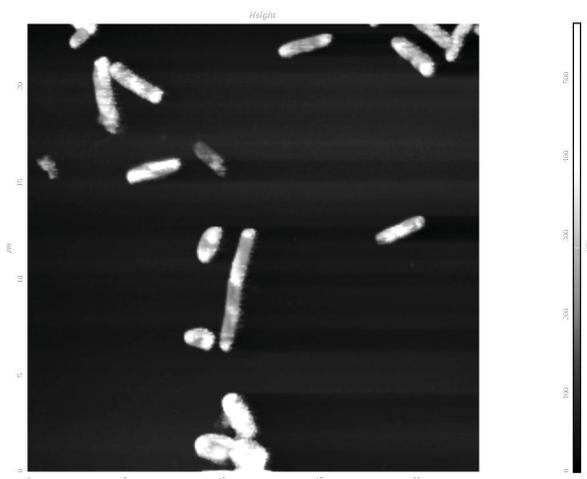


Рис. 5. АСМ штамма *Y. pestis* ssp. *altaica* 1559, выращенного при температуре культивирования 28 °С

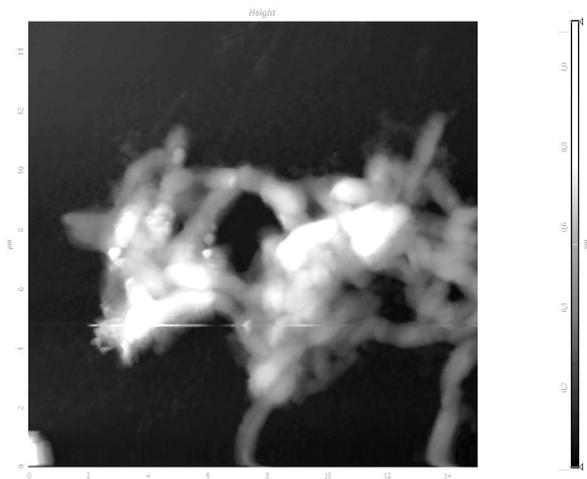


Рис. 6. АСМ штамма *Y. pestis* ssp. *altaica* 1559, выращенного при температуре культивирования 37 °С

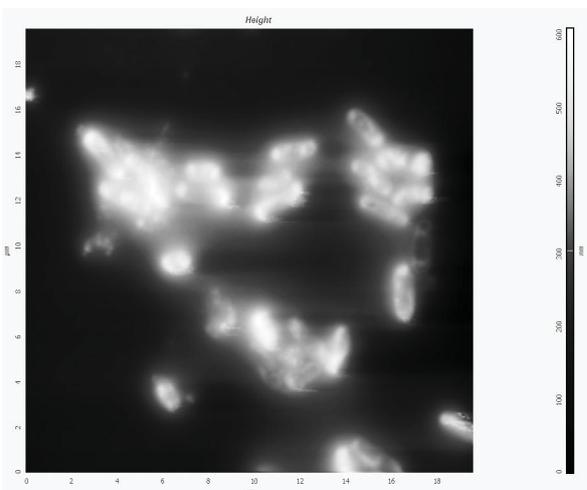


Рис. 7. АСМ штамма *Y. pestis* ssp. *altaica* 1559, выращенного при температуре культивирования 4 °С

Таким образом, общими тенденциями морфологических изменений при повышении температуры культивирования с 28 до 37 °С являются: увеличение объема клетки, шероховатости поверхности клетки, ригидности клеточной стенки как у авирулентного (лишенного области пигментации – одного из ведущих факторов вирулентности), так и у природного вирулентного штамма.

Понижение температуры до гипотермических значений в обоих случаях приводит к потере ригидности клеточной стенки, сглаживанию поверхности, увеличению пластичности, что свидетельствует о различных механизмах адаптации чумного микроба при культивировании *in vitro* при повышении и понижении температуры, регистрируемых с использованием АСМ. В то же время у природного штамма *Y. pestis*, выделенного из Горно-Алтайского высокогорного природного очага, выявлена гетерогенность клеточной популяции, которая выражается в наличии в популяции клеток с типичной для чумного микроба морфологией и вытянутых форм. При низкой температуре (4 °С) в популяции появляются округлые клетки, а все клетки покрыты капсульным веществом. Подобные изменения могут свидетельствовать об адаптации клеток чумного микроба к низким температурам в период зимней спячки носителей и требуют дальнейшего изучения для раскрытия механизмов выживания и стойкости чумного микроба в окружающей среде в межэпизоотический период, в том числе в зимнее время.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых / нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы

1. Васильченко А. С. Исследование морфофункциональной реакции бактерий на различные воздействия с использованием атомно-силовой микроскопии : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Пермь, 2012. 22 с.
2. Ерохин П. С., Уткин Д. В., Осина Н. А., Бойко А. В., Кузнецов О. С., Куклев В. Е., Бугоркова Т. В. Современное состояние изучения ультраструктуры поверхности клеточной стенки микроорганизмов в условиях неблагоприятного воздействия факторов биотической и абиотической природы методами атомно-силовой микроскопии // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 2. С. 186–189.
3. Игнатов С. Г. Разработка и применение современных методов изучения и идентификации микроорганизмов с использованием бионанотехнологических подходов : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Оболонск, 2010. 47 с.
4. Корнеев Д. В. Атомно-силовая спектроскопия одиночных вирусных частиц и их субъединиц : дис. ... канд. физ.-мат. наук. Кольцово, 2016. 109 с.
5. Краевский С. В. Атомно-силовая микроскопия аффин-



- ных взаимодействий в микробиологии : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Оболенск, 2011. 22 с.
6. Никьян А. Н., Татлыбаева Е. Б. Использование атомно-силовой микроскопии при идентификации специфически маркированных молекул и клеток микроорганизмов // Вестн. ОГУ. 2015. № 13 (188). С. 186–189.
 7. Онищенко Г. Г., Кутырев В. В., Уткин Д. В. Правовые и теоретические предпосылки применения нанотехнологии и наноматериалов в диагностике, профилактике и лечении особо опасных инфекционных болезней // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2008. № 6. С. 93–97.
 8. Уткин Д. В., Кузнецов О. С., Ерохин П. С., Спицын А. Н., Волох О. А., Осина Н. А. Разработка методических подходов изучения возбудителей особо опасных инфекционных болезней методом атомно-силовой микроскопии // Проблемы особо опасных инфекций. 2012. № 2 (112). С. 62–64.
 9. Ерохин П. С. Атомно-силовая микроскопия как инструмент определения чувствительности бактерий к факторам биотической и абиотической природы : дис. канд. ... физ.-мат. наук. Саратов, 2015. 126 с.
 10. Плескова С. Н., Дубровин Е. В., Голубева И. С., Горшкова Е. Н., Пудовкина Е. Е. Нанотехнологическая АСМ-морфометрия бактериальных клеток // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. Сер. Физика твердого тела. 2013. № 2. С. 34–38.
 11. Chao Y., Zhang T. Optimization of fixation methods for observation of bacterial cell morphology and surface ultrastructures by atomic force microscopy // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2011. Vol. 92, № 2. P. 381–392.
 12. Артамонова М. Н., Потатуркина-Нестерова Н. И. Исследование топографии поверхности *Vacillus subtilis* в условиях гипотермии // Фундаментальные исследования. 2014. № 11. С. 1035–1039.
 13. Гуцина Ю. Ю., Олюнина Л. Н., Гончарова Т. А., Веселов А. П., Мацкова Ю. А., Ежеская М. А. Исследование морфологии поверхности клеток *Azotobacter chroococcum* в условиях гипертермии методом атомно-силовой микроскопии // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. 2005. № 5. С. 87–92.
 14. Чернядьев А. В., Бывалов А. А., Ананченко Б. А., Бушмелева Л. Г., Литвинцев С. Г. Морфологические особенности бактерий *Yersinia pseudotuberculosis* при различных температурных условиях // Изв. Коми науч. центра УрО РАН. 2012. Вып. 3 (11). С. 57–60.
 15. Wang C., Stanciu C. E., Ehrhardt C. J., Yadavalli V. K. The effect of growth temperature on the nanoscale biochemical surface properties of *Yersinia pestis* // Anal. Bioanal. Chem. 2016. Vol. 4086, № 20. P. 5585–5591.
 16. Sabatini D. D., Bensch K., Barrnett R. J. Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation // J. Cell Biol. 1963. Vol. 17. P. 19–58.
 17. Pawlowski D. R., Metzger D. J., Raslawsky A., Howlett A., Siebert G., Karalus R. J., Garrett S., Whitehouse C. A. Entry of *Yersinia pestis* into the Viable but Nonculturable State in a Low-Temperature Tap Water Microcosm // PLoS ONE. 2011. Vol. 6, № 3. P. 1–9. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017585>
 18. Кадникова Л. А., Копылов П. Х., Дентовская С. В., Анисимов А. П. Капсульный антиген чумного микроба // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 3. С. 201–218.
 19. Магданова Л. А., Голясная Н. В. Гетерогенность как адаптивное свойство бактериальной популяции // Микробиология. 2013. Т. 82, № 1. С. 3–13.

Образец для цитирования:

Уткин Д. В., Булгакова Е. Г., Ерохин П. С., Кузнецов О. С., Куклев В. Е., Осина Н. А. Исследование морфологических особенностей клеток бактерий *Yersinia pestis*, выращенных при различных температурных условиях, методом атомно-силовой микроскопии // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 87–93. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-87-93>

Study of the Morphological Features of the Cells of the Bacteria *Yersinia pestis*, Grown at Different Temperatures by Atomic Force Microscopy

D. V. Utkin, E. G. Bulgakova, P. S. Erokhin, O. S. Kuznetsov, V. E. Kuklev, N. A. Osina

Denis V. Utkin, <https://orcid.org/0000-0002-5903-7700>, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya Str., Saratov 410005, Russia, rusrapi@microbe.ru

Elena G. Bulgakova, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya Str., Saratov 410005, Russia, rusrapi@microbe.ru

Pavel S. Erokhin, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya Str., Saratov 410005, Russia, rusrapi@microbe.ru

Oleg S. Kuznetsov, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya Str., Saratov 410005, Russia, rusrapi@microbe.ru

Vasily E. Kuklev, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya Str., Saratov 410005, Russia, rusrapi@microbe.ru

Natalia A. Osina, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya Str., Saratov 410005, Russia, rusrapi@microbe.ru

Atomic force microscopy in the study of bacterial cells allows the determination of such morphological parameters as: length, width, cell thickness, its perimeter, cross-sectional area, volume and root mean square roughness of the cell surface, which depends on the degree of laying of peptidoglycan and density of lipopolysaccharide. The aim of this work was to study the changes in the morphological parameters of the cell and the cell surface of bacteria when the temperature conditions of the culture medium change on the *Y. pestis* model. Along with the traditional morphological parameters the coefficients characterizing the functional state of cells – plasticity, rigidity of the cell wall were determined. The measurements were carried out using standard methods of semi-contact atomic force microscopy and software analysis of AFM images. On the example of *Y. pestis* it is shown that an increase in the temperature of bacteria cultivation from 28 °C to 37 °C leads to an increase in the volume of the cell, the surface roughness of the cell,



and the rigidity of the cell wall. Lowering the cultivation temperature *in vitro* from 28 °C to 4 °C leads to loss of the rigidity of the cell wall, smoothing of the surface and increasing plasticity. The obtained results extend the information about the mechanisms of adaptation of the plague microbe in different temperature conditions.

Keywords: *Yersinia pestis*, bacterial cell, atomic force microscopy, morphometric analysis, surface structure, cultivation temperature.

Reference

- Vasilchenko A. S. *Issledovanie morfo-funktional'noj reakcii bakterij na razlichnyye vozdeystviya s ispol'zovaniem atomno-silovoy mikroskopii: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk* [Study of morpho-functional reaction of bacteria on different effects using atomic force microscopy]. Tesis Diss. Cand. Sci. (Biol.). Perm, 2012. 22 p. (in Russian).
- Erokhin P. S., Utkin D. V., Osina N. A., Boyko A. V., Kuznetsov O. S., Kuklev V. E., Bugorkova T. V. Current state of Investigation of cell wall surface of microorganisms ultrastructure under the action of factors biotic and abiotic nature using methods of atomic force microscopy. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2016, vol. 16, iss. 2, pp. 186–189 (in Russian).
- Ignatov S. G. *Razrabotka i primeneniye sovremennykh metodov izucheniya i identifikatsii mikroorganizmov s ispol'zovaniem bio-nanotekhnologicheskikh podhodov: avtoref. dis. ...d-ra biol. nauk* [Development and application of modern methods of study and identification of microorganisms using bionanotechnological approaches]. Tesis Diss. Doct. Sci. (Biol.). Obolensk, 2010. 47 p. (in Russian).
- Korneev D. V. *Atomno-silovaya spektroskopiya odinonchnykh virusnykh chastic i ih sub"edinic: dis. ... kand. fiz.-mat. nauk* [Atomic force spectroscopy of single viral particles and their subunits]. Diss. Cand. Sci. (Phys.). Koltsovo, 2016. 109 p. (in Russian).
- Kraevsky S. V. *Atomno-silovaya mikroskopiya affinnykh vzaimodeystviy v mikrobiologii: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk* [Atomic force microscopy of affine interactions in microbiology]. Tesis Diss. Cand. Sci. (Biol.). Obolensk, 2011. 22 p. (in Russian).
- Nikiyan A. N., Tatibaeva E. B. The use of atomic force microscopy in the identification of specifically labeled molecules and microbial cells. *Bulletin of the Orenburg State University*, 2015, no. 13 (188), pp. 186–189 (in Russian).
- Onishchenko G. G., Kuttyrev V. V., Utkin D. V. Legal and theoretical background the application of nanotechnology and nanomaterials in the diagnosis, Joprevention and treatment of especially dangerous infectious diseases. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2008, no. 6, pp. 93–97 (in Russian).
- Utkin D. V., Kuznetsov O. S., Erokhin P. S., Spitsyn A. N., Volokh O. A., Osina N. A. Development of methodological approaches to the study of pathogens of particularly dangerous infectious diseases by atomic force microscopy. *Problems of particularly dangerous infections*, 2012, no. 2 (112), pp. 62–64 (in Russian).
- Erokhin P. S. *Atomno-silovaya mikroskopiya kak instrument opredeleniya chuvstvitel'nosti bakterij k faktoram bioticheskoy i abioticheskoy prirody: dis. kand. ... fiz.-mat. nauk* [Atomic force microscopy as a tool for determining the sensitivity of bacteria to factors of biotic and abiotic nature]. Dis. Cand. Sci. (Phys.). Saratov, 2015. 126 p. (in Russian).
- Pleskova S. N., Dubrovin E. V., Golubeva I. S., Gorshkova E. N., Pudovkina E. E. Nanotechnology AFM-morphometry of bacterial cells. *Bulletin of Nizhny Novgorod University. N. I. Lobachevsky. Series: Physics of solid state*, 2013, no. 2, pp. 34–38. (in Russian).
- Chao Y., Zhang T. Optimization of fixation methods for observation of bacterial cell morphology and surface ultrastructures by atomic force microscopy. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2011, vol. 92, no. 2, pp. 381–392.
- Artamonova M. N., Potaturkina-Nesterova N. I. Study of surface topography of *Bacillus subtilis* under hypothermia. *Fundamental research*, 2014, no. 11, pp. 1035–1039 (in Russian).
- Gushchina Y. Y., Alumina L. N., Goncharova T. A., Veselov A. P., Matskova Y. A., Ejevska M. A. A study of the morphology of the cells of *Azotobacterchroococcum* in conditions of hyperthermia by atomic force microscopy. *Journal of Surface Investigation: X-Ray, Synchrotron and Neutron Techniques*, 2005, no. 5, pp. 87–92 (in Russian).
- Chernyadjev V. A., Byvalov A. A., Ananchenko B. A., Bushmeleva L. G., Lytvynets S. G. Morphological features of bacteria *Yersinia pseudotuberculosis* under different temperature conditions. *News Komi scientific center of Ural department of the Russian Academy of Sciences*, 2012, vol. 3 (11), pp. 57–60 (in Russian).
- Wang C., Stanciu C. E., Ehrhardt C. J., Yadavalli V. K. The effect of growth temperature on the nanoscale biochemical surface properties of *Yersinia pestis*. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2016, vol. 408, no. 20, pp. 5585–5591.
- Sabatini D. D., Bensch K., Barnett R. J. Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultra-structure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J. Cell Biol.*, 1963, vol. 17, pp. 19–58.
- Pawlowski D. R., Metzger D. J., Raslawsky A., Howlett A., Siebert G., Karalus R. J., Garrett S., Whitehouse C. A. Entry of *Yersinia pestis* into the Viable but Nonculturable State in a Low-Temperature Tap Water Microcosm. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, no. 3, pp. 1–9. DOI: 10.1371/journal.pone.0017585
- Kadnikova L. A., Kopylov P. H., Dentovskaya S. V., Anisimov A. P. Capsular antigen of *Yersinia pestis*. *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2015, vol. 5, no. 3, pp. 201–218 (in Russian).
- Magdanova L. A., Golyasnaya N. V. Heterogeneity as an adaptive property of bacterial populations. *Mikrobiologiya* [Microbiology], 2013, vol. 82, no. 1, pp. 3–13 (in Russian).

Cite this article as:

Utkin D. V., Bulgakova E. G., Erokhin P. S., Kuznetsov O. S., Kuklev V. E., Osina N. A. Study of the Morphological Features of the Cells of the Bacteria *Yersinia pestis*, Grown at Different Temperatures by Atomic Force Microscopy. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 87–93 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-87-93>



УДК 577.115:616.34-008.87-092.9-085

Влияние пробиотика «Бифидумбактерин» на состояние микробиоты толстой кишки, активность антиоксидантной системы и процессов перекисного окисления липидов в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза и аномальных характеристик магнитного поля



Н. А. Веревкина, О. А. Медведева, В. А. Королев, А. В. Шевченко, П. В. Калуцкий

Веревкина Наталья Андреевна, ассистент кафедры общей гигиены, Курский государственный медицинский университет, nataliverev@yandex.ru

Медведева Ольга Анатольевна, доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Курский государственный медицинский университет, olgafrida@rambler.ru

Королев Владимир Анатольевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биологии, медицинской генетики и экологии, Курский государственный медицинский университет, medecol1@yandex.ru

Шевченко Алина Владимировна, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Курский государственный медицинский университет, alina7227@mail.ru

Калуцкий Павел Вячеславович, проректор по лечебной работе, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, Курский государственный медицинский университет, pvk62@mail.ru

Нарушения в составе микробиоценозов являются предвестниками изменений физиологического статуса организма, связанных с угнетением иммунобиологической защиты организма, его аллергизацией, хронической интоксикацией, повышением восприимчивости к инфекционным заболеваниям. Некоторые исследования подтверждают влияние магнитного излучения аномальных характеристик как на жизнеспособность и скорость роста бактерий, так и на активность различных систем, в частности антиоксидантную систему и систему перекисного окисления липидов. Цель нашего исследования состояла в определении влияния пробиотика «Бифидумбактерин» на микробиоту толстой кишки и функционально-метаболическую активность антиоксидантной системы и процессов перекисного окисления липидов колоноцитов и плазмы крови экспериментальных животных в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза, отягощённого одновременным воздействием магнитного поля повышенной напряженности. Исследование проведено на 120 мышах линии BALB/c, которые были разделены на шесть групп по 20 особей в каждой. У экспериментальных животных всех исследуемых групп изучали количественный и качественный состав мукозной микрофлоры толстой кишки, а также содержание продуктов перекисного окисления липидов и ферментов антиоксидантной системы колоноцитов и плазмы крови. Применение пробиотика «Бифидумбактерин», как в группе «Коррекция ГМП», так и в дру-

гой опытной группе «Коррекция АМП», оказало положительное влияние на активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание продуктов перекисного окисления липидов, но только в колоноцитах кишечника мышей. Изменения в плазме крови были незначительны.

Ключевые слова: дисбиоз, антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, магнитное поле.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-94-102>

Введение

Микробные популяции различных биотопов выступают в роли симбионтов или сапрофитов, находясь в экологическом равновесии с организмом хозяина. Нарушения в составе микробиоценозов являются предвестниками изменений физиологического статуса организма, связанных с угнетением иммунобиологической защиты организма, его аллергизацией, хронической интоксикацией, повышением восприимчивости к инфекционным заболеваниям. Современные исследования состава кишечной микробиоты показали, что ее качественные и количественные изменения коррелируются с патогенезом многих заболеваний, таких как цирроз печени, атеросклероз, ожирение, сахарный диабет 2-го типа [1, 2].

Среди основных причин развития дисбиоза кишечника выделяют прием лекарственных препаратов (антибактериальных, гормональных, цитостатиков), заболевания желудочно-кишечного тракта, острые кишечные инфекции, а также неблагоприятную экологическую обстановку, связанную, например, с воздействием магнитных полей аномальных характеристик. Так, на территории Курской области обозначен район геомагнитных аномалий [3].

Магнитные поля аномальных характеристик оказывают большое влияние на биологические системы, включая здоровье человека [4–6]. Некоторые исследования подтверждают влияние магнитного излучения аномальных характеристик как на жизнеспособность и скорость роста бактерий, так и на активность различных систем, в частности антиоксидантную систему и систе-



му перекисного окисления липидов (ПОЛ) [7]. Окислительный стресс можно определить как чрезмерное производство реакционноспособных видов кислорода или азота (прооксидантов) и / или дефицита ферментативных и неферментативных антиоксидантов, которые участвуют в процессах детоксикации. Чрезмерное количество свободно-радикальных окислителей в клетке, которые триггируют мутагенез, и окислительное повреждение могут стать причиной изменения нормальной структуры и функции липидов и белков. Следовательно, избыточное содержание свободных радикалов можно рассматривать как причину, так и эффект многочисленных патологических состояний [8]. Комплексное воздействие антибиотиков и магнитного поля аномальных характеристик способствует более глубоким изменениям, чем каждый из этих факторов в отдельности [3].

Целью настоящего исследования было определить влияние пробиотического препарата «Бифидумбактерин» на микробиоту толстой кишки и функционально-метаболическую активность антиоксидантной системы и процессов перекисного окисления липидов колоноцитов и плазмы крови экспериментальных животных в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза, отягощённого одновременным воздействием магнитного поля повышенной напряженности.

Материалы и методы

Исследование проведено на 120 мышах линии BALB/c, которые были разделены на шесть групп по 20 особей в каждой. Первую группу составили животные, которые находились при фоновых значениях геомагнитного поля «Контроль ГМП». Во вторую группу входили животные, которые подвергались воздействию искусственного магнитного поля аномальных характеристик в течение 2 недель «Контроль АМП». В третью группу «Дисбиоз ГМП» входили животные, которым ежедневно в течение 5 дней внутрибрюшинно вводили раствор гентамицина в концентрации 80 мкг/мл в пересчёте на массу тела животного [9]. В четвертую опытную группу входили животные, которые получали гентамицин и одновременно находились в условиях воздействия аномальных характеристик магнитного поля «Дисбиоз АМП». Животные пятой и шестой опытных групп после формирования гентамицин-ассоциированного дисбиоза интрагастрально получали пробиотик «Бифидумбактерин» в течение 21 дня 1 раз в сутки. При этом мыши пятой опытной группы находились под постоянным воздействием магнитного поля аномальных

характеристик «Коррекция “Бифидумбактерин” АМП». У экспериментальных животных всех исследуемых групп изучали количественный и качественный состав мукозной микрофлоры толстой кишки, а также содержание продуктов перекисного окисления липидов и ферментов антиоксидантной системы колоноцитов и плазмы крови.

Исследование количественного и качественного составов мукозной микрофлоры толстой кишки мышей проводилось по методике Л. И. Кафарской и В. М. Коршунова [10, 11]. Биоптаты слизистой оболочки толстой кишки освобождались от химуса и взвешивались в асептических условиях. Материал помещали в стерильный фосфатный буфер в соотношении 1:10 и выдерживали в нём 2 ч для разжижения муцина. После этого готовили разведения материала до концентраций 10^{-2} – 10^{-4} . По 0,1 мл каждого разведения взвеси засеивали газоном на поверхность питательных сред (Эндо, Сабуро, SSA-агар, ЦПХ-агар, кровяной агар, желточносолевой агар, висмут-сульфит агар, лактоагар, бифидоагар) и инкубировали при температуре 37 °С в аэробных и анаэробных условиях. Выделенные микроорганизмы идентифицировали с использованием микробиологического анализатора «Multiskan-Ascent» и тест-систем ЭНТЕРОтест-16, СТАФИтест-16, Стрептотест-16, Эн-КОККУСтест-16; API 50 CHL – для идентификации лактобацилл и бифидобактерий. Содержание микроорганизмов в 1 г материала рассчитывали, исходя из числа выросших колоний микроорганизмов – колониеобразующих единиц (КОЕ) при посеве из максимального разведения, где отмечался рост не менее 10 колоний, учитывая при этом объём посевного материала. Для расчёта использовали формулу: $K = E/k \times v \times n$, где K – колониеобразующая единица, E – общее количество бактерий, k – количество внесённого материала, v – количество чашек Петри, n – разведение. Удельное содержание микроорганизмов вычисляли как количество микроорганизмов, выделенных из биопроб, и выражали в lg КОЕ/г массы биологического материала [12, 13].

О состоянии ПОЛ судили по содержанию ацилгидроперекисей (АГП) и малонового диальдегида (МДА). Состояние антиоксидантной системы оценивали по активности ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ) в ткани кишечника и плазме крови. Данные показатели оценивали традиционными методами [14]. Исследования проводили с соблюдением всех принципов, изложенных в «Конвенции по защите позвоночных животных», используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург,



Франция, 1986). Обработка вариационных рядов включала подсчет средних арифметических величин (M), ошибки средней арифметической (m), достоверной разницы между показателями (P) с учетом доверительной вероятности по T -критерию Стьюдента и F -критерию Фишера [15].

Для изучения влияния магнитного поля аномальных характеристик на мукозную микрофлору толстой кишки, содержание продуктов перекисного окисления липидов и активность ферментов антиоксидантной системы использовали устройство для воспроизведения магнитного поля аномальной напряжённости. Данное

устройство позволило достичь внутри колец Гельмгольца магнитное поле с напряжённостью, сопоставимой с параметрами напряжённости вертикальной составляющей геомагнитного поля в районе г. Железногорска [16].

Результаты и их обсуждение

При коррекции гентамицин-ассоциированного дисбиоза пробиотиком «Бифидумбактерин» наблюдались следующие изменения в качественном и количественном составе микробиоценоза толстой кишки экспериментальных животных (табл. 1).

Таблица 1

Состав мукозной микробиоты толстой кишки мышей в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза

Выделенные микроорганизмы	Количество микроорганизмов, lg КОЕ/г ($M \pm m$)		
	Группы животных		
	Контроль ГМП (интактные мыши)	Дисбиоз ГМП	Коррекция «Бифидумбактерин ГМП»
Облигатные представители			
Облигатные анаэробы			
<i>Bifidobacterium</i> spp.	7,47±0,66	5,41±0,59*	8,54±0,51 ^{xxx}
<i>Lactobacillus</i> spp.	6,55±0,59	4,29±0,53**	6,01±0,55 ^x
Факультативные анаэробы			
<i>Enterococcus</i> spp.	6,93±0,60	1,16±0,54***	5,27±0,57 ^{xxx}
<i>E. coli</i> типичные	7,22±0,70	2,67±0,55***	6,86±0,91 ^{xxx}
<i>E. coli</i> лактозонегативные	3,42±0,70	1,86±0,56	3,86±0,57 ^x
<i>E. coli</i> гемолитические	0±0	0±0	0±0
Факультативные представители			
Облигатные анаэробы			
Клостридии	4,72±0,75	2,96±0,69	3,16±0,81
Факультативные анаэробы			
<i>Staphylococcus aureus</i>	0±0	3,76±0,72***	1,11±0,59 ^{xx}
<i>Staphylococcus</i> негемолитические	4,35±0,97	1,36±0,53*	3,73±0,61 ^{xx}
<i>Candida</i> spp.	2,49±0,66	6,22±0,92**	3,18±0,72 ^x
Другие условно-патогенные			
<i>Enterobacter</i> spp.	4,42±0,70	2,46±0,52*	3,15±0,65
<i>Citrobacter</i> spp.	3,06±0,77	2,65±0,74	2,83±0,79
<i>Proteus</i> spp.	1,01±0,51	0±0***	2,97±0,63 ^{xxx}
Неферментирующие бактерии			
<i>Pseudomonas</i> spp.	0±0	0±0	0±0

Примечание. По сравнению с контрольной группой ГМП: * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$, *** – $p \leq 0,001$; по сравнению с группой «дисбиоз ГМП»: ^x – $p < 0,05$, ^{xx} – $p < 0,01$, ^{xxx} – $p < 0,001$.

Количество *бифидобактерий* увеличилось в 1,6 раза по сравнению с группой «Дисбиоз ГМП» и превысило значение определяемого показателя интактной группы. Количество *лактобактерий* увеличилось в 1,4 раза по сравнению с опытной группой «Дисбиоз ГМП», но не достигло

значения определяемого показателя интактной группы. Содержание бактерий рода *Enterococcus* spp. увеличилось в 4,5 раза по сравнению со значением определяемого показателя опытной группы «Дисбиоз ГМП» и составило lg КОЕ 5,27±0,57. На фоне применения пробиотика



«Бифидумбактерин» в составе микробиоты толстой кишки мышей число *типичных и лактозонегативных эшерихий* увеличилось по сравнению с группой «Дисбиоз ГМП» в 2,6 раза и в 2,1 раза соответственно. Количество *лактозонегативных эшерихий* превысило значение определяемого показателя интактной группы.

При коррекции гентамицин-ассоциированного дисбиоза в условиях воздействия магнитных полей фоновых характеристик *E. coli*, обладающая гемолитическими свойствами, не определялась в группах «Коррекция «Бифидумбактерин» ГМП», «Дисбиоз ГМП» и в группе интактных животных. Количество *золотистого стафилококка* снизилось в 3,4 раза по сравнению с показателем опытной группы «Дисбиоз ГМП» и составило Ig КОЕ 1,11±0,59. Содержание *негемолитического стафилококка* увеличилось в 2,7 раза по сравнению с определяемым показателем

в группе «Дисбиоз ГМП» и составило Ig КОЕ 3,73±0,61. Количество *грибов рода Candida* снизилось в 2 раза по сравнению со значением определяемого показателя в группе «Дисбиоз ГМП» и составило Ig КОЕ 3,18±0,72.

Число бактерий рода *Proteus* spp. составило Ig КОЕ 2,97±0,63, при этом в опытной группе «Дисбиоз ГМП» их идентифицировать не удалось. Бактерии рода *Pseudomonas* spp. не определялись ни в одной из опытных групп.

Количественные изменения определяемого показателя для представителей родов *Clostridium* spp., *Enterobacter* spp. и *Citrobacter* spp. были не достоверны.

Изменения качественного и количественного состава микробиоты толстой кишки в условиях воздействия искусственного магнитного поля аномальных характеристик представлены в табл. 2.

Таблица 2

Состав мукозной микробиоты толстой кишки мышей в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза при одновременном воздействии магнитных полей аномальных характеристик

Выделенные микроорганизмы	Количество микроорганизмов, Ig КОЕ/г ($M \pm m$)			
	Группы животных			
	Контроль (интактные мыши) ГМП	Контроль АМП	Дисбиоз АМП	Коррекция «Бифидумбактерин» АМП
Облигатные представители				
Облигатные анаэробы				
<i>Bifidobacterium</i> spp.	7,47±0,66	6,42±0,56 ^x	4,07±0,67 ^{***}	8,19±0,91 ^{xxx}
<i>Lactobacillus</i> spp.	6,55±0,59	4,85±0,54	3,18±0,73 ^{***}	5,24±0,73
Факультативные анаэробы				
<i>Enterococcus</i> spp.	6,93±0,60	0±0	0±0 ^{***}	5,28±0,72 ^{xxx}
<i>E. coli</i> типичные	7,22±0,70	4,67±0,62 ^{xx}	2,10±0,62 ^{***}	7,03±0,65 ^{xxx}
<i>E. coli</i> лактозонегативные	3,42±0,70	2,16±0,60	1,15±0,50 [*]	4,06±0,61 ^{xxx}
<i>E. coli</i> гемолитические	0±0	1,12±0,56 ^x	3,54±0,69 ^{***}	2,28±0,65 ^{***}
Факультативные представители				
Облигатные анаэробы				
Клостридии	4,72±0,75	2,53±0,55	2,36±0,52 [*]	4,01±0,66
Факультативные анаэробы				
<i>Staphylococcus aureus</i>	0±0	4,12±0,67	5,03±0,74 ^{***}	3,06±0,54 ^{***x}
<i>Staphylococcus</i> негемолитические	4,35±0,97	5,28±0,73	4,76±0,76	4,06±0,75
<i>Candida</i> spp.	2,49±0,66	3,65±0,70 ^x	6,12±0,82 ^{***}	4,03±0,74
Другие условно-патогенные				
<i>Enterobacter</i> spp.	4,42±0,70	5,37±0,77	4,85±0,69	3,82±0,84
<i>Citrobacter</i> spp.	3,06±0,77	1,65±0,54	2,76±0,78	4,98±0,83 ^x
<i>Proteus</i> spp.	1,01±0,51	3,18±0,76 ^x	1,16±0,84	1,74±0,60
Неферментирующие бактерии				
<i>Pseudomonas</i> spp.	0±0	2,18±0,56	2,76±0,63 ^{***}	1,96±0,61 ^{**}

Примечание. По сравнению с контрольной группой ГМП: * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$, *** – $p \leq 0,001$; по сравнению с группой «дисбиоз АМП»: ^x – $p < 0,05$, ^{xx} – $p < 0,01$, ^{xxx} – $p < 0,001$.



Количество *бифидобактерий* увеличилось в 2 раза по сравнению с опытной группой «Дисбиоз АМП» и превысило значение определяемого показателя интактной группы. Бактерии рода *Enterococcus* spp., которые не идентифицировались в группе «Дисбиоз АМП», в группе «Коррекции “Бифидумбактерин” АМП» определялись в количестве lg КОЕ $5,28 \pm 0,72$, но уровня определяемого показателя интактной группы им достигнуть не удалось.

При коррекции гентамицин-ассоциированного дисбиоза пробиотиком в условиях воздействия магнитных полей аномальных характеристик произошло увеличение, по сравнению с группой «Дисбиоз АМП», количества *типичных и лактозонегативных эшерихий* в 3,3 и 3,5 раза соответственно. Содержание *Staphylococcus aureus* в группе «Коррекция “Бифидумбактерин” АМП» снизилось в 1,6 раза по сравнению со значением показателя, определяемого в опытной

группе «Дисбиоз АМП». Следует отметить, что в группе интактных животных *Staphylococcus aureus* не идентифицировался.

Количество представителей рода *Citobacter* spp. увеличилось в 1,8 раза по сравнению с группой «Дисбиоз АМП» и превысило значение показателя интактной группы.

Изменение численности *лактобактерий, гемолитических эшерихий, клостридий, негемолитического стафилококка*, а также грибов рода *Candida* и представителей рода *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp. были не достоверны.

В нашем исследовании также проводилось изучение активности ферментов антиоксидантной системы (каталазы и СОД) и содержания продуктов перекисного окисления липидов (МДА, АГП) колоницитов и плазмы крови экспериментальных животных в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза (табл. 3, 4).

Таблица 3

Активность ферментов антиоксидантной системы колоницитов и плазмы крови мышей в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза и его коррекции

Группы животных	Активность КАТ ($M \pm m$)		Активность СОД ($M \pm m$)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е.
Контроль ГМП (интактные мыши)	14,14±0,87	15,20±0,82	16,33±0,85	13,50±0,81
Дисбиоз ГМП	10,93±0,76**	11,18±0,85***	13,50±0,92*	7,62±0,68***
Коррекция «Бифидумбактерин ГМП»	12,26±0,74	10,85±0,70***	14,15±0,73	13,71±0,86 ^{xxx}

Примечание. По сравнению с контрольной группой: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$; по сравнению с группой «дисбиоз»: ^x – $p < 0,05$, ^{xx} – $p < 0,01$, ^{xxx} – $p < 0,001$.

Таблица 4

Содержание продуктов перекисного окисления липидов в колоницитах и плазме крови мышей в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза и его коррекции

Группы животных	Содержание МДА, мкмоль/г ткани ($M \pm m$)		Содержание АГП, у.е ($M \pm m$)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е.
Контроль ГМП (интактные мыши)	4,77±0,19	3,20±0,18	0,67±0,05	0,52±0,04
Дисбиоз ГМП	6,75±0,37***	6,48±0,25***	1,06±0,08***	1,01±0,06***
Коррекция «Бифидумбактерин ГМП»	5,13±0,21 ^{xxx}	3,35±0,31 ^{xxx}	1,14±0,03***	0,29±0,05 ^{xxx*}

Примечание. По сравнению с контрольной группой: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$; по сравнению с группой «дисбиоз»: ^x – $p < 0,05$, ^{xx} – $p < 0,01$, ^{xxx} – $p < 0,001$.

Развитие гентамицин-ассоциированного дисбиоза сопровождалось снижением активности каталазы и СОД в группе «Дисбиоз ГМП». Активность каталазы в плазме крови и колоницитах снизилась в 1,3 и 1,4 раза соответственно, по сравнению с показателями контрольной группы.

Активность СОД в плазме крови и колоницитах снизилась в 1,2 и 1,8 раза по сравнению с показателями группы «Контроль ГМП». При коррекции пробиотиком «Бифидумбактерин» активность каталазы в гомогенате ткани кишечника снизилась в 1,4 раза по сравнению с показателем интактной



группы. В свою очередь, активность СОД в колоноцитах увеличилась в 1,8 раз по сравнению с группой «Дисбиоз ГМП» и достигла значения показателя интактной группы. Изменения активности каталазы и СОД в группе «Коррекция «Бифидумбактерин» ГМП» в плазме крови были недостоверны.

При коррекции пробиотиком «Бифидумбактерин» содержание МДА в колоноцитах экспериментальных животных снизилось в 1,9 раз по сравнению с группой «Дисбиоз ГМП» и достигло значения показателя интактной группы. Содержание АГП в плазме крови уве-

личилось в 1,7 раза по сравнению с показателем группы «Контроль ГМП». При этом количество АГП в колоноцитах снизилось в 1,9 раз по сравнению с определяемым показателем в группе «Дисбиоз ГМП» и в 1,8 раз по сравнению со значением определяемого показателя опытной группы «Контроль ГМП».

При сочетанном воздействии гентамицина и магнитного поля аномальных характеристик наблюдались следующие изменения активности ферментов антиоксидантной системы (КАТ и СОД) и содержания продуктов перекисного окисления липидов (МДА, АГП) (табл. 5, 6).

Таблица 5

Активность ферментов антиоксидантной системы колоноцитов и плазмы крови мышей в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза при одновременном воздействии магнитных полей аномальных характеристик

Группы животных	Активность КАТ ($M \pm m$)		Активность СОД ($M \pm m$)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е.
Контроль ГМП (интактные мыши)	14,14±0,87	15,20±0,82	16,33±0,85	13,50±0,81
Контроль АМП	17,02±1,27	15,32±1,10	25,17±2,11	16,67±1,08
Дисбиоз АМП	15,30±1,47	17,01±1,38	24,13±1,78***	15,60±1,12
Коррекция «Бифидумбактерин» АМП	15,82±1,24	16,50±1,46	22,50±2,23**	17,75±1,45**

Примечание. По сравнению с интактной группой ГМП: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$; по сравнению с группой «дисбиоз АМП»: ^x – $p < 0,05$, ^{xx} – $p < 0,01$, ^{xxx} – $p < 0,001$.

Таблица 6

Содержание продуктов перекисного окисления липидов в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза при одновременном воздействии магнитных полей аномальных характеристик

Группы животных	Содержание МДА, мкмоль/г ткани ($M \pm m$)		Содержание АГП, у.е. ($M \pm m$)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е.
Контроль ГМП (интактные мыши)	4,77±0,19	3,20±0,18	0,67±0,05	0,52±0,04
Контроль АМП	6,62±0,29 ^{xx}	5,20±0,50	1,72±0,07 ^{xx}	0,37±0,02
Дисбиоз АМП	5,47±0,28	5,60±0,38***	1,43±0,05***	0,42±0,04
Коррекция «Бифидумбактерин» АМП	6,13±0,46**	6,16±0,50***	1,75±0,05*** ^{xxx}	0,56±0,04 ^x

Примечание. По сравнению с интактной группой ГМП: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$; по сравнению с группой «дисбиоз АМП»: ^x – $p < 0,05$, ^{xx} – $p < 0,01$, ^{xxx} – $p < 0,001$.

При коррекции пробиотиком «Бифидумбактерин» в условиях АМП, активность СОД в плазме крови снизилась в 1,1 раз, а в колоноцитах увеличилась в 1,2 раза по сравнению с показателем исследуемой группы «Дисбиоз АМП».

Изменение активности каталазы как в плазме крови, так и в ткани кишечника были недостоверны.

Воздействие на экспериментальных мышей антибиотика (гентамицина) и аномального магнитного поля привело к увеличению concentra-

ции промежуточных и конечных продуктов ПОЛ.

При коррекции пробиотиком в условиях аномального магнитного поля уровень МДА в плазме крови и колоноцитах увеличился в 1,3 и 1,9 раза соответственно по сравнению с определяемым показателем интактной группы. Содержание АГП в плазме крови увеличилось в 1,2 раза по сравнению со значением определяемого показателя в группе «Дисбиоз АМП» и превысило значение определяемого показателя в 2,6 раза в опытной группе «Контроль ГМП».



Заключение

Таким образом, при коррекции дисбиоза пробиотическим препаратом «Бифидумбактерин» наблюдались положительные изменения в качественном составе микрофлоры толстой кишки у экспериментальных животных. В группе «Коррекция “Бифидумбактерин” ГМП» наблюдалось достоверное восстановление 9 из 14 исследуемых показателей микробиоты толстой кишки (*бифидобактерий, лактобактерий, типичных и лактозонегативных эшерихий, энтерококков, бактерий рода Proteus spp., негемолитического и золотистого стафилококка, грибов рода Candida*). В то же время в группе «Коррекция “Бифидумбактерин” АМП» произошло достоверное восстановление 6 из 14 представителей исследуемой микрофлоры (*бифидобактерий, энтерококков, типичных и лактозонегативных эшерихий, а также золотистого стафилококка, бактерий рода Citobacter*).

Говоря о количественных изменениях, все же не удалось достичь полной элиминации условно-патогенных микроорганизмов, в частности золотистого и негемолитического стафилококка, которые, по мнению ряда авторов, могут приводить к различным дисбиотическим нарушениям.

Применение пробиотика «Бифидумбактерин» как в группе «Коррекция ГМП», так и в другой опытной группе «Коррекция АМП» оказало положительное влияние на активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание продуктов перекисного окисления липидов, но только в колоноцитах кишечника мышей. Изменения в плазме крови были незначительны.

Для восстановления нормальной микробиоты толстой кишки и коррекции функционально-метаболической активности антиоксидантной системы и процессов перекисного окисления липидов в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза и влияния магнитного поля повышенной напряженности необходимо осуществлять комплексную коррекцию патологических изменений пробиотиками, в состав которых входят антиоксиданты.

Список литературы

1. *Bäckhed F., Crawford P. A., O'Donnell D., Gordon J. I.* Postnatal lymphatic partitioning from the blood vasculature in the small intestine requires fasting-induced adipose factor // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. № 2. P. 104–106.
2. *Tang M. L. K., Hsiao K. C., Ponsonby A. L., Axelrad C., Pitkin S.* Long-term clinical and immunological effects of probiotic and peanut oral immunotherapy after treatment cessation: 4-year follow-up of a randomised, double-blind, placebo-controlled trial // *Lancet. Child Adolesc. Health.* 2017. № 1. P. 97–105. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(17\)30041-X](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(17)30041-X)
3. *Медведева О. А., Калуцкий П. В., Беседин А. В., Жильева Л. В., Медведева С. К.* Влияние лактобактерина на состав пристеночной микрофлоры толстого кишечника и функционально-метаболическую активность нейтрофилов крови мышей при экспериментальном лекарственном дисбиозе в условиях воздействия магнитного поля повышенной напряженности // *Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье».* 2011. № 1. С. 10–15.
4. *Balcavage X., Alvager T., Swetz J., Goff C., Fox M., Abdulyava S., King M.* A mechanism for action of extremely low frequency electromagnetic fields on biological systems // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996. № 2. P. 374–378. DOI: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.0751>
5. *Panagopoulos J., Karabarbounis A., Margaritis H.* Mechanism for action of electromagnetic fields on cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002. № 1. P. 95–102.
6. *Grassi C., Ascenzo D. M., Torsello A., Martinotti G., Wolf F., Cittadini A., Azzena B.* Effects of 50 Hz electromagnetic fields on voltage-gated Ca₂ channels and their role in modulation of neuroendocrine cell proliferation and death // *Cell Calcium.* 2014. № 4. P. 307–315. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2003.09.001>
7. *Oncul S., Cuce E. M., Aksu B., Inhan Garip A.* Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on bacterial membrane // *Intern. J. Radiat. Biol.* 2016. № 3. P. 42–49. DOI: <https://doi.org/10.3109/09553002.2015.1101500>
8. *Durackova Z.* Some Current Insights into Oxidative Stress // *Physiol. Res.* 2010. № 2. P. 459–469.
9. *Кашкин К. П., Караева З. О.* Иммунная реактивность организма и антибиотическая терапия. Л.: Медицина, 1984. 200 с.
10. *Богданова Е. А., Несвижский Ю. В., Воробьев А. А.* Исследование пристеночной микрофлоры желудочно-кишечного тракта крыс при пероральном введении пробиотических препаратов // *Вестн. РАМН.* 2006. № 2. С. 6–10.
11. *Воробьев А. А.* Особенности микробиоценоза пристеночного муцина желудочно-кишечного тракта крыс // *Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2005. № 6. С. 3–7.
12. *Несвижский Ю. В.* Микробиоценоз пристеночного муцина желудочно-кишечного тракта крыс с индуцированным дисбиозом // *Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2007. № 3. С. 57–60.
13. *Макаренко Е. В.* Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах больных с хроническими заболеваниями печени // *Лабораторное дело.* 1988. № 11. С. 48–50.
14. *Королюк М. А.* Метод определения активности каталазы // *Лабораторное дело.* 1988. № 1. С. 16–19.
15. *Реброва О. Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica. М.: МедиаСфера, 2006. 312 с.
16. *Медведева О. А.* Состояние микрофлоры толстого кишечника человека и животных при воздействии аномального геомагнитного поля: автореф. ... д-ра биол. наук. Оренбург, 2012. 48 с.



Образец для цитирования:

Веревкина Н. А., Медведева О. А., Королев В. А., Шевченко А. В., Калуцкий П. В. Влияние пробиотика «Бифидумбактерин» на состояние микробиоты толстой кишки, активность антиоксидантной системы и процессов перекисного окисления липидов в условиях гентамицин-ассоциированного дисбиоза и аномальных характеристик магнитного поля // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 94–102. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-94-102>

Influence of Probiotic “Bifidumbacterin” on the State of Large Intestine Microbiocenosis, Activity of the Antioxidant System and Processes of Lipid Peroxidation in the Conditions of Gentamycin-Associated Dysbiosis and Anomalous Characteristics of the Magnetic Field

**N. A. Verevkin, O. A. Medvedeva,
V. A. Korolev, A. V. Shevchenko, P. V. Kalutsky**

Natalia N. Verevkin, <https://orcid.org/0000-0002-5616-6750>, Kursk State Medical University, 3 K. Marx Str., Kursk 305041, Russia, nataliverev@ya.ru

Olga A. Medvedeva, <https://orcid.org/0000-0002-2889-155X>, Kursk State Medical University, 3 K. Marx Str., Kursk 305041, Russia, olgafrida@rambler.ru

Vladimir A. Korolev, <https://orcid.org/0000-0002-4376-4284>, Kursk State Medical University, 3 K. Marx Str., Kursk 305041, Russia, medecol1@yandex.ru

Alina V. Shevchenko, <https://orcid.org/0000-0003-2261-1577>, Kursk State Medical University, 3 K. Marx Str., Kursk 305041, Russia, alina7227@mail.ru

Pavel V. Kalutsky, <https://orcid.org/0000-0002-1907-681X>, Kursk State Medical University, 3 K. Marx Str., Kursk 305041, Russia, pvk62@mail.ru

Disturbances in the composition of microbiocenoses are warnings of changes in the physiological status of the organism, associated with the inhibition of immunobiological protection of the organism, its allergization, chronic intoxication, and increased susceptibility to infectious diseases. Some studies confirm the effect of magnetic radiation on abnormal characteristics both on the viability and growth rate of bacteria, and on the activity of various systems, in particular the antioxidant system and the lipid peroxidation system. The aim of our study was to determine the influence of the probiotic “Bifidumbacterin” on the large intestine microbiota and the functional-metabolic activity of the antioxidant system and the processes of lipid peroxidation of colonocytes and blood plasma of experimental animals under conditions of gentamicin-associated dysbiosis weighed down by simultaneous exposure to a magnetic field of increased tension. The study was carried out on 120 mice of the BALB / c line, which were divided into six groups of 20 individuals each. Using experimental animals of all studied groups, we studied the quantitative and qualitative composition of the mucosal microflora of the colon, as well as the content of products of lipid peroxidation and enzymes, of the antioxidant system of colonocytes and blood plasma. The use of the probiotic “Bifidumbacterin”, both in the group “Correction of GMP” and in another experimental group “AMP Correction” had a positive effect on the activity of antioxidant protection enzymes and the

content of lipid peroxidation products, but only in colonocyte in the large intestine of mice. Changes in blood plasma were insignificant. **Keywords:** dysbiosis, antioxidant system, lipid peroxidation, magnetic field.

Reference

1. Bäckhed F., Crawford P. A., O'Donnell D., Gordon J. I. Postnatal lymphatic partitioning from the blood vasculature in the small intestine requires fasting-induced adipose factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, no. 2, pp. 104–106.
2. Tang M. L. K., Hsiao K. C., Ponsonby A. L., Axelrad C., Pitkin S. Long-term clinical and immunological effects of probiotic and peanut oral immunotherapy after treatment cessation: 4-year follow-up of a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet. Child Adolesc. Health*, 2017, no. 1, pp. 97–105. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(17\)30041-X](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(17)30041-X)
3. Medvedeva O. A., Kaluckij P. V., Besedin A. V., Zhilyayeva L. V., Medvedeva S. K. Influence of lactobacterian on the musine large intensive microflora structure and mice blood neutrophils functional-metabolic activity in experimental antibiotic-induced dysbiosis in the condition of the anomalous characteristics of the magnetic field. *Man and his Health. Kursk Scientific and Practice Bulletin*, 2011, no. 1, pp. 10–15 (in Russian).
4. Balcavage X., Alvager T., Swez J., Goff C., Fox M., Abdullyaya S., King M. A mechanism for action of extremely low frequency electromagnetic fields on biological systems. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996, no. 2, pp. 374–378. DOI: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.0751>
5. Panagopoulos J., Karabarbounis A., Margaritis H. Mechanism for action of electromagnetic fields on cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, no.1, pp. 95–102.
6. Grassi C., Ascenzo D. M., Torsello A., Martinotti G., Wolf F., Cittadini A., Azzena B. Effects of 50 Hz electromagnetic fields on voltage-gated Ca₂ channels and their role in modulation of neuroendocrine cell proliferation and death. *Cell Calcium.*, 2014, no. 4, pp. 307–315. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2003.09.001>
7. Oncul S., Cuce E. M., Aksu B., InhanGarip A. Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on bacterial membrane. *Intern. J. Radiat. Biol.*, 2016, no. 3, pp. 42–49. DOI: <https://doi.org/10.3109/09553002.2015.1101500>
8. Durackova Z. Some Current Insights into Oxidative Stress. *Physiol. Res.*, 2010, no. 2, pp. 459–469.
9. Kashkin K. P., Karaeva Z. O. Immunnaya reaktivnost' organizma i antibioticheskaya terapiya [Body's immune reactivity and antibiotic therapy]. Leningrad, Medicina Publ., 1984. 200 p. (in Russian).



10. Bogdanova E. A., Nesvizhskij Yu. V, Vorob'ev A. A. A study of pariental gastrointeantinal microflora of rats after oral administration of probiotics. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2006, no. 2, pp. 6–10 (in Russian).
11. Vorob'ev A. A. Features of the microbiocenosis of parietal mucin of the gastrointestinal tract of rats. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2005, no. 6, pp. 3–7 (in Russian).
12. Nesvizhskij Yu. V. Microbiocenosis of parietal mucin of the gastrointestinal tract of rats with dysbiosis induced. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*, 2007, no. 3, pp. 57–60 (in Russian).
13. Makarenko E. V. Complex determination of superoxiddismutase and glutathionereductase activity in erythrocytes of patients with chronic liver diseases. *Laboratory Case*, 1988, no. 11, pp. 48–50 (in Russian).
14. Korolyuk M. A. Metod of limiting catalase activity. *Laboratory Case*, 1988, no. 1, pp. 16–19 (in Russian).
15. Rebrova O. Yu. *Statisticheskij analiz medicinskih dannyh. Primenenie paketa program Statistica* [Statistical analysis of medical data. Application software Statistica]. Moscow, Media Sfera Publ., 2006. 312 p. (in Russian).
16. Medvedeva O. A. *Sostoyanie mikroflory tolstogo kischechnika cheloveka i zivotnyh pri vozdeystvii anomal'nogo geomagnitnogo polya* [The state of microflora of the large intestine of humans and animals when exposed to an anomalous geomagnetic field]. Thesis Diss. Doct. Sci. (Biol.). Orenburg, 2012. 48 p. (in Russian).

Cite this article as:

Verevkina N. A., Medvedeva O. A., Korolev V. A., Shevchenko A. V., Kalutsky P. V. Influence of Probiotic “Bifidumbacterin” on the State of Large Intestine Microboicenos, Activity of the Antioxidant System and Processes of Lipid Peroxidation in the Conditions of Gentamycin-Associated Disbiozis and Anomalous Characteristics of the Magnetic Field. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 94–102 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-94-102>



ЭКОЛОГИЯ

УДК 579.262

Влияние загрязняющих веществ на интенсивность образования биопленки штаммом *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245

А. В. Гильдебрант, Д. Н. Кушнарева, А. В. Каплина,
А. И. Мозговая, И. С. Сазыкин, М. А. Сазыкина

Гильдебрант Анастасия Викторовна, аспирант кафедры экологии и природопользования Академии биологии и биотехнологии имени Д. И. Ивановского, Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, gildebrent@sfned.ru

Кушнарева Дарья Николаевна, студент Академии биологии и биотехнологии имени Д. И. Ивановского, Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, dkushnaryova@sfned.ru

Каплина Алина Владимировна, студент бакалавриата Академии биологии и биотехнологии имени Д. И. Ивановского, Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, akaplina@sfned.ru

Мозговая Анастасия Игоревна, студент бакалавриата Академии биологии и биотехнологии имени Д. И. Ивановского, Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, anasyu@sfned.ru

Сазыкин Иван Сергеевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии и молекулярной биологии Академии биологии и биотехнологии имени Д. И. Ивановского, Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, issa@sfned.ru

Сазыкина Марина Александровна, доктор биологических наук, доцент, заведующая лабораторией экологии и молекулярной биологии, профессор кафедры биохимии и микробиологии Академии биологии и биотехнологии имени Д. И. Ивановского, Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, samara@sfned.ru

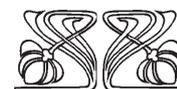
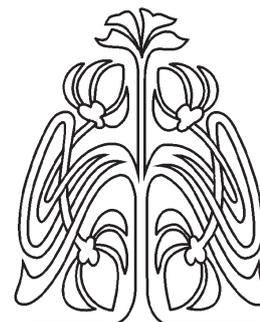
Большинство микроорганизмов в природе существует в форме биопленок. В связи с этим актуален вопрос исследования влияния различных веществ на процесс их формирования. В статье представлены данные о влиянии различных групп загрязняющих веществ, таких как антибиотики (ампициллин, окситетрацилин), антисептики (диоксидин, хлоргексидин), гербициды (глифосат, клопиралид) и соли тяжелых металлов (CuSO_4 , HgCl_2) в различных концентрациях на интенсивность образования биопленки штаммом *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245. Для определения интенсивности образования биопленки использован метод окрашивания кристаллическим фиолетовым. Показано, что внутри каждой группы исследованных веществ отдельные вещества по-разному влияют на биопленкообразование. Максимальное стимулирующее действие оказывает HgCl_2 в концентрации 0,27 мг/мл, максимальное угнетающее – окситетрацилин (2,5 и 25 мг/мл) и диоксидин (100 и 1000 мг/мл) – в данных концентрациях развитие биопленки не было выявлено.

Ключевые слова: биопленка, *Vibrio aquamarinus*, ампициллин, окситетрацилин, глифосат, клопиралид, диоксидин, хлоргексидин, сульфат меди, хлорид ртути.

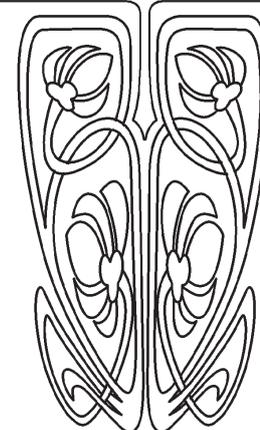
DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-103-111>

Введение

Биопленка – сообщество микроорганизмов, прикрепленных к поверхности или границе раздела фаз, в котором клетки погружены в экзополимерный матрикс, состоящий из полисахаридов, белков и ДНК [1]. Более 90 % микроорганизмов, встречающихся в природе,



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





существуют в форме биопленок [2]. В составе биопленок микроорганизмы лучше защищены от антибиотиков и дезинфицирующих средств [3, 4].

Биопленки могут играть как положительную, так и отрицательную роль в природе. С одной стороны, микроорганизмы в форме биопленок вступают в симбиозы с другими организмами [5], а также приносят пользу в области биоремедиации, например, при очистке промышленных сточных вод [6]. С другой стороны, многие отрасли промышленности страдают от неблагоприятного воздействия образования биопленок, что может привести к большим расходам на уборку и техническое обслуживание. Примеры таких отраслей – медицина (стоматология и больницы), производство продуктов питания, бумаги, масла, оптики [7]. Опасными для здоровья человека являются бактерии, образующие биопленки на хирургических инструментах, таких как сердечные клапаны и катетеры. Около 65% бактериальных инфекций связано с биопленками [8]. Биопленки, образующиеся в трубах систем канализации, нефтепроводов, участвуют в биокоррозионных процессах. Биопленки, образованные в системах питьевого водоснабжения, могут стать резервуаром патогенных микроорганизмов [9].

Из-за широкого распространения в природе бактериальных биопленок и их вовлеченности во множество процессов существует необходимость изучения влияния различных веществ на процесс их образования.

Материалы и методы

Для исследования образования биопленок использовался штамм *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245, выделенный сотрудниками лаборатории экологии и молекулярной биологии микроорганизмов АБиБ ЮФУ из прибрежных вод Черного моря в районе поселка Абрау-Дюрсо.

Для исследования влияния на образование биопленок были выбраны представители следующих групп веществ: 1) антибиотики: ампициллин («Синтез») и окситетрациклина гидрохлорид («Агрофарм»), 2) гербициды: глифосат (глифосата кислоты изопропиламидная соль, «Агрокиллер») и клопиралид («Лонтрел»), 3) антисептики: диоксидин («Новосибхимфарм») и хлоргексидина биглюконат («Росбио»), 4) соли тяжелых металлов: CuSO_4 («Акватест»), HgCl_2 («Акватест»).

Для количественного определения образования биопленок использовали метод окрашивания кристаллическим фиолетовым [10] с некоторыми модификациями.

Культуру *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 выращивали в течение суток на среде LB [11]

с 3%-ным содержанием NaCl при температуре 25 °С. Затем суспензию суточной культуры разводили средой LB с 3%-ным содержанием NaCl до мутности, соответствующей 1 единице Мак Фарланда (концентрация $3 \cdot 10^8$ клеток/мл). Мутность измерялась при помощи денситометра DEN-1 («BioSan»). После чего культуру разводили до плотности $1 \cdot 10^8$ клеток/мл.

Полученную суспензию в количестве 180 мкл вносили в лунки полистиролового планшета (Wallac, Финляндия). В качестве отрицательного контроля служил стерильный бульон. Затем к суспензии добавляли 20 мкл исследуемых веществ в различной концентрации. Часть лунок служила положительным контролем, в них добавляли 20 мкл деионизированной воды.

Планшет накрывали крышкой, заворачивали пленкой Parafilm (Bemis Company, США). После инкубации при 25 °С в течение 72 ч проводилось окрашивание. Содержимое каждой лунки удаляли при помощи дозатора, после чего лунки промывали три раза 250 мкл стерильного физиологического раствора. Планшеты интенсивно встряхивали для удаления всех неадгезированных бактерий. Адгезированные бактерии фиксировали 200 мкл 96% этанола в течение 15 мин. После того как планшеты высыхали на воздухе, в лунки вносили 200 мкл 0,5% кристаллического фиолетового по Хукеру [12]. Через 10 мин краситель удаляли. Избыточный краситель отмывали путем трехкратной промывки 250 мкл водопроводной воды. После того как планшет высыхал на воздухе, краситель в лунках, связанный с адгезированными клетками, растворяли 200 мкл 96% этанола. Уровень экстракции (абсорбции) кристаллического фиолетового этанолом измеряли через 60 мин при длине волны 570 нм с использованием планшетного ридера FLUOstarOmega (BMG LABTECH, Германия) в единицах оптической плотности (Ед, ОП570). Интенсивность окрашивания содержимого лунок красителем была пропорциональна интенсивности образования биопленки.

Статистический анализ проводили методом вычисления *t*-критерия Стьюдента [13].

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования представлены на рис. 1–4.

Микроорганизмы в составе биопленок обладают большей устойчивостью к антибиотикам [14]. Поэтому важно, чтобы антибиотик был способен проявлять свою активность по отношению к микроорганизмам в их составе.

Ампициллин – полусинтетический антибиотик группы пенициллинов, является бактерицид-



ным, антибактериальным препаратом широкого спектра действия, ингибирует транспептидазу, препятствует образованию пептидных связей и, нарушая поздние этапы синтеза пептидогликана клеточной стенки делящегося микроорганизма, вызывает лизис бактерий [15].

Окситетрациклина гидрохлорид относится к антибактериальным препаратам из группы тетрациклинов, обладает широким спектром антибактериального действия. Связываясь с 30S субъединицей на бактериальных рибосомах, окситетрациклин нарушает доступ tRNA- к mRNA-рибосомному комплексу, что приводит к блокаде синтеза белка и гибели микробной клетки. Применяется для лечения сельскохозяйственных животных при болезнях бактериальной этиологии [15].

Для исследования влияния антибиотиков на интенсивность образования биопленки были приготовлены растворы в соответствии с инструкцией к данным препаратам, а также растворы, разведенные в 10 и 100 раз.

Из полученных данных видно, что антибиотики по-разному влияют на процесс образования биопленки (см. рис. 1). При внесении в питательную среду минимальной исследуемой концентрации ампициллина (0,25 мкг/мл) не зарегистрировано статистически значимых различий между интенсивностью образования биопленок в контроле и опыте. В концентрациях 2,5 мкг/мл и 25 мкг/мл ампициллин оказывает подавляющее действие на интенсивность образования биопленки – значение ОП ниже на 32,16 и 26,25% соответственно.

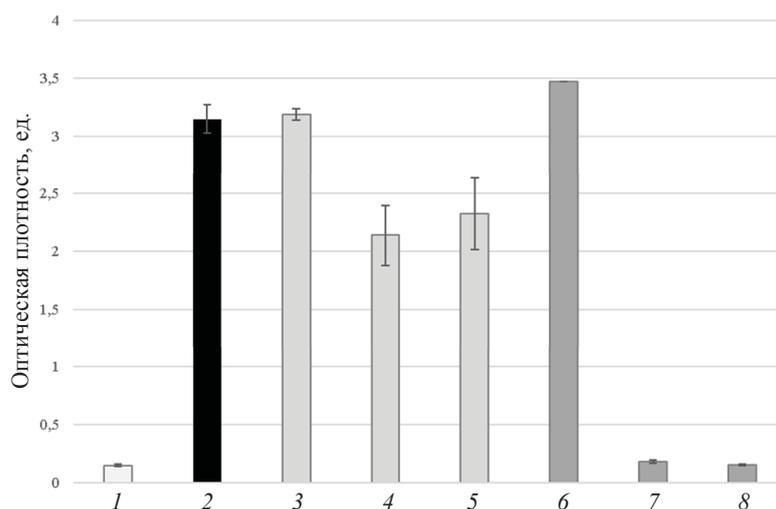


Рис. 1. Интенсивность образования биопленки (Ед. ОП 570) *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 в присутствии антибиотиков: 1 – отрицательный контроль; 2 – положительный контроль; 3 – ампициллин (0,25 мкг/мл); 4 – ампициллин (2,5 мкг/мл); 5 – ампициллин (25 мкг/мл); 6 – окситетрациклин (0,25 мкг/мл); 7 – окситетрациклин (2,5 мкг/мл); 8 – окситетрациклин (25 мкг/мл)

Окситетрациклин в минимальной концентрации (0,25 мкг/мл) оказывает стимулирующее воздействие на интенсивность образования биопленки – значения ОП в опыте выше контрольных на 10%. При увеличении концентрации в 10 и 100 раз окситетрациклин полностью подавляет развитие биопленки – значения ОП равны отрицательному контролю.

Антисептические препараты, так же как и антибиотики, должны подавлять развитие не только планктонных форм бактерий, но и биопленок.

Диоксидин (гидроксиметилхиноксалиндиоксид) – антибактериальный препарат широкого спектра действия из группы производных хинок-

салина, обладает химиотерапевтической активностью при инфекциях, вызванных вульгарным протеем, дизентерийной палочкой, клебсиеллой, синегнойной палочкой, сальмонеллами, стафилококками, стрептококками, патогенными анаэробами (в том числе возбудителями газовой гангрены). Действует на штаммы бактерий, устойчивые к другим химиопрепаратам, включая антибиотики [16].

Хлоргексидин (N,N)-бис(4-хлорфенил)-3,12-диимино-2,4,11,13-тетраазатетрадекандиимидамид (в виде ацетата, дигидрохлорида или ди-D-глюконата) – антисептический препарат, активен (бактерициден) в отношении большин-



ства грамположительных и грамотрицательных аэробных и анаэробных бактерий, трепонем, гонококков, трихомонад. Не действует на вирусы

и споры [17]. Результаты по влиянию антисептических препаратов на интенсивность образования биопленки представлены на рис. 2.

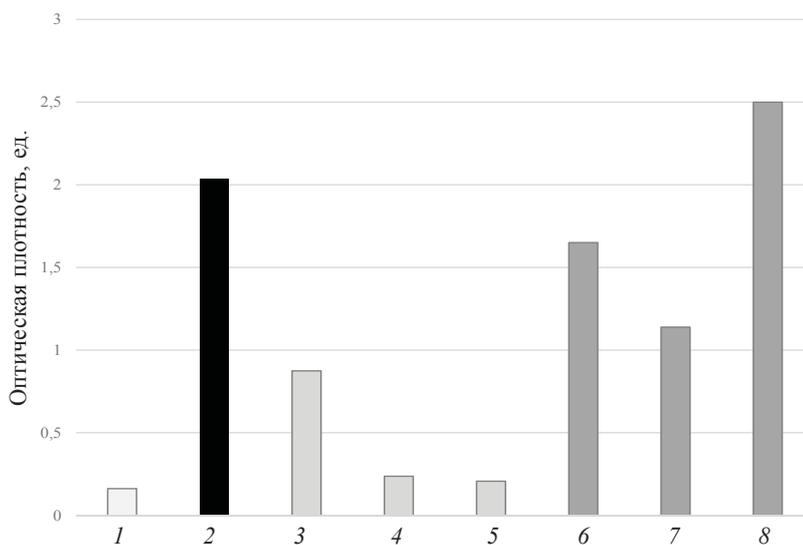


Рис. 2. Интенсивность образования биопленки (Ед. ОП 570) *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 в присутствии антисептиков: 1 – отрицательный контроль; 2 – положительный контроль; 3 – диоксидин (10 мкг/мл); 4 – диоксидин (100 мкг/мл); 5 – диоксидин (1000 мкг/мл); 6 – хлоргексидина биглюконат (0,5 мкг/мл); 7 – хлоргексидина биглюконат (5 мкг/мл); 8 – хлоргексидина биглюконат (50 мкг/мл)

Диоксидин проявляет выраженный подавляющий эффект в исследованных концентрациях. При максимальной концентрации (1000 мкг/мл), а также при ее уменьшении в 10 раз значения ОП не имеют достоверных различий с отрицательным контролем, следовательно, биопленка не развивается. При уменьшении концентрации в 100 раз (10 мкг/мл) регистрируемая ОП ниже контрольной на 57,05%.

При концентрациях хлоргексидина биглюконата 0,5 и 5 мкг/мл обнаружено подавляющее действие – ОП ниже контрольных на 18,92 и 44,03% соответственно. При концентрации 50 мкг/мл выражено стимулирующее действие – ОП выше контрольных значений на 22,80%.

Широкое применение пестицидов в сельском хозяйстве привело к загрязнению окружающей среды. В последние годы актуален вопрос безопасности пестицидов по отношению к человеку. В препаративных формах для повышения растворимости глифосат переводят в солевую форму. Большинство применяемых препаратов в качестве действующего вещества содержат его изопропиламмонийную соль [18].

Глифосат [N-(фосфометил)-глицин] – пестицид, арборицид, гербицид с широким спектром активности. Обладает избирательным и сплош-

ным действием, применяется для подавления однолетних и многолетних сорняков. В последние годы появились данные об острой токсичности глифосата для людей. Контакт с глифосатом ассоциируется с увеличением риска выкидышей, преждевременными родами и неходжкинской лимфомой. По данным ВОЗ, существует связь между воздействием глифосата и развитием раковых заболеваний, таких как неходжкинская лимфома и рак легких, также ВОЗ признала глифосат «потенциально канцерогенным» для людей [19].

Клопиралид [3,6-дихлорпиридин-2-карбоновая кислота] – пестицид, послевсходовый гербицид с высокой гербицидной активностью по отношению к сорнякам, устойчивым к арил-оксикалканкарбоновым кислотам и их производным. Относится к веществам 3-го класса опасности (умеренно опасное соединение) для млекопитающих [20]. В инструкции к данному препарату указано, что клопиралид практически безопасен для людей, обитателей водной, почвенной и наземно-воздушной сред.

Для исследования гербицидов были приготовлены растворы с концентрацией, указанной в инструкции к данным препаратам, а также растворы, разведенные в 10 и 100 раз. Растворы, приготовленные по инструкции, соответствовали



следующим конечным концентрациям действующих веществ: 6700 мкг/мл для глифосата и 30 мкг/мл для клопиралида. Глифосат и клопирала-

лид оказывают разное воздействие в исследованных концентрациях на интенсивность образования биопленки (см. рис. 3).

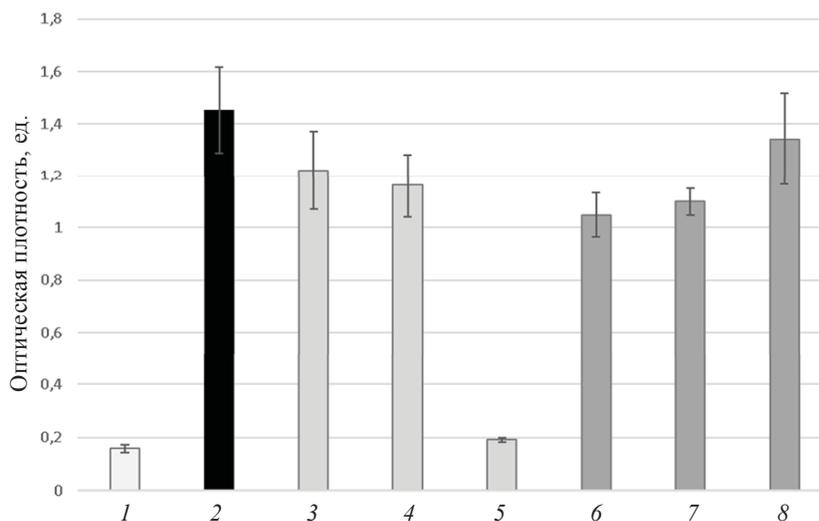


Рис. 3. Интенсивность образования биопленки (Ед. ОП 570) *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 в присутствии гербицидов: 1 – отрицательный контроль; 2 – положительный контроль; 3 – глифосат (67 мкг/мл); 4 – глифосат (670 мкг/мл); 5 – глифосат (6700 мкг/мл); 6 – клопиралид (0,3 мкг/мл); 7 – клопиралид (3 мкг/мл); 8 – клопиралид (30 мкг/мл)

Глифосат оказывает зависимое от дозы подавляющее действие на интенсивность образования биопленки. В концентрации глифосата 6700 мкг/мл значение ОП ниже контроля на 86,79%, то есть практически полностью подавляет развитие биопленки. Клопиралид же, напротив, оказывает подавляющее действие в минимальных концентрациях, при концентрации 0,3 и 3 мкг/мл, ОП ниже

контроля на 27,87 и на 24,36% соответственно.

Тяжелые металлы – стойкие химические загрязнители кумулятивного действия, обладающие специфическими токсическими свойствами [21]. В связи с возрастающим загрязнением окружающей среды солями тяжелых металлов необходимость изучения их биологических эффектов весьма актуальна.

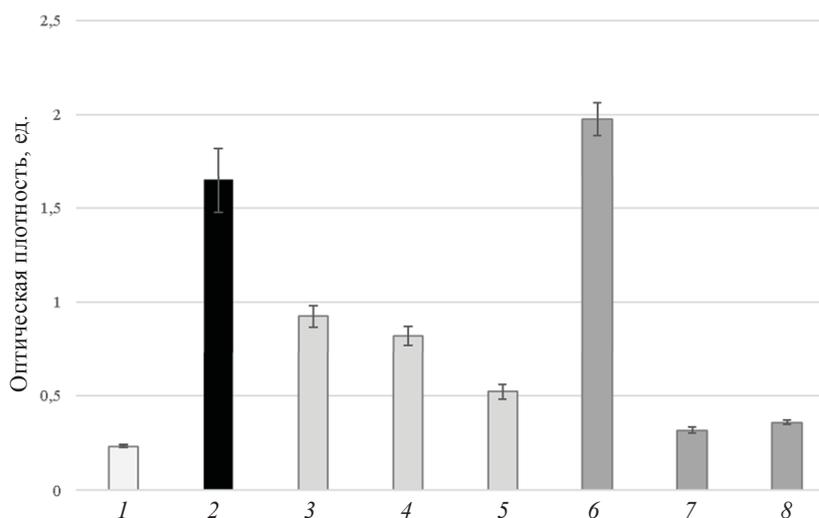


Рис. 4. Интенсивность образования биопленки (Ед. ОП 570) *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 в присутствии солей тяжелых металлов: 1 – отрицательный контроль; 2 – положительный контроль; 3 – CuSO₄ (1 мкг/мл); 4 – CuSO₄ (10 мкг/мл); 5 – CuSO₄ (100 мкг/мл); 6 – HgCl₂ (0,27 мкг/мл); 7 – HgCl₂ (2,7 мкг/мл); 8 – HgCl₂ (27 мкг/мл)



Для исследования были выбраны такие концентрации солей тяжелых металлов, при которых не подавляется клеточный метаболизм [22].

Соли тяжелых металлов показали различия во влиянии на интенсивность образования биопленки. CuSO_4 оказывает подавляющее действие, причем с повышением концентрации оно все более выражено. При концентрациях 1; 10 и 100 мкг/мл ОП ниже значений контроля на 44,03, 50,33 и на 68,56% соответственно (см. рис. 4).

HgCl_2 в минимальной из исследованных концентраций (0,27 мкг/мл) оказывает стимулирующее действие на интенсивность образования биопленки – ОП выше контрольной на 19,8%. При повышении концентрации в 10 и 100 раз HgCl_2 подавляет развитие биопленки – ОП ниже контрольных значений на 80,86 и 78,38% соответственно.

Заключение

Ампициллин подавляет развитие биопленки в концентрациях 2,5 и 25 мкг/мл (ОП ниже контрольных на 32,16 и 26,25% соответственно). Однако столь незначительного подавления развития биопленки недостаточно для эффективного лечения бактериальных инфекций. Это согласуется с данными, полученными А. В. Игнатенко [23]. Рост биопленки *E. coli* в присутствии ампициллина в концентрации 1 мкг/мл замедляется [23].

Окситетрациклин в концентрации 0,25 мкг/мл оказывает небольшое стимулирующее воздействие на интенсивность образования биопленки штаммом *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 – значения ОП выше контроля на 10%. При концентрации 2,5 и 25 мкг/мл окситетрациклин полностью подавляет развитие биопленки. Использование пониженных концентраций окситетрациклина стимулирует рост биопленок. При концентрации, указанной в инструкции к данному препарату, развитие биопленки полностью подавляется. Таким образом, чтобы добиться терапевтического эффекта, необходимо применять данный препарат строго по инструкции. Также следует проводить мониторинг окружающей среды на наличие окситетрациклина в связи с тем, что он может нанести вред природным микробным сообществам.

Исследованные антибиотики в той или иной степени подавляют развитие биопленок, что является их предназначением при лечении бактериальных инфекций. С другой стороны, они представляют угрозу для полезной микрофлоры кишечника, что свидетельствует о необходимости приема пребиотических и пробиотических препаратов во время лечения.

Диоксидин подавляет развитие биопленок – в концентрации 10 мкг/мл ОП ниже контрольной на 57,05%. При концентрации диоксидина 100 и 1000 мкг/мл биопленка не развивается. Это согласуется с результатами исследований других авторов [16], в которых отмечен бактерицидный эффект диоксидина в отношении биопленок MRSA – воздействие раствора диоксидина (10000 мкг/мл) привело к гибели 72,5% микроорганизмов. Таким образом, вышеприведенные данные говорят о том, что диоксидин является весьма эффективным антисептическим средством.

Хлоргексидин оказывает двойное воздействие на интенсивность образования биопленки. При низких концентрациях хлоргексидина (0,5 и 5 мкг/мл) формирование биопленки подавляется – ОП ниже контрольных значений на 18,92 и 44,03% соответственно. При концентрации 50 мкг/мл хлоргексидин стимулирует образование биопленки – ОП выше контроля на 22,80%. В работе Bonez с соавт. [24] также показано, что хлоргексидин по-разному влияет на различные штаммы микроорганизмов. Так, в концентрации 145 мкг/мл хлоргексидин подавляет развитие биопленок штаммов *Candida albicans* ATCC 90028 и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. В то же время биопленка штамма *Escherichia coli* (ATCC 35218) оказалась устойчивой к хлоргексидину в данной концентрации. Более того, показан стимулирующий эффект для биопленок штаммов *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и MRSA, что согласуется с результатами настоящего исследования. Полученные данные свидетельствуют о том, что хлоргексидин в концентрации, рекомендованной производителем, неэффективен в качестве антисептического средства.

Глифосат оказывает значительное подавляющее действие на развитие биопленок – в концентрации 6700 мкг/мл значение ОП ниже контроля на 86,79%. Это может существенно нарушать микробоценозы почв. Кроме того, попадая в организм человека с продуктами питания, глифосат может быть опасен для микрофлоры кишечника, тем самым нанося вред здоровью. Клопиралид оказывает подавляющее действие в концентрациях 0,3 и 3 мкг/мл, ОП ниже контроля на 27,87 и на 24,36% соответственно. В концентрации, рекомендованной для применения данного гербицида, подавляющего эффекта не выражено. Полученные результаты говорят о том, что при данной концентрации идет стимулирование образования биопленки, то есть микроорганизмы таким образом защищаются от негативного влияния данного вещества.



CuSO₄ снижает интенсивность образования биопленок во всех исследованных концентрациях, причем при повышении концентрации усиливается подавляющий эффект. Так, при концентрациях 1 и 10 мкг/мл ОП ниже значений контроля на 44,03 и 50,33% соответственно, а при концентрации 100 мкг/мл – на 68,56%.

HgCl₂ в концентрации 0,27 мкг/мл стимулирует процесс биопленкообразования – ОП выше контрольной на 19,80%. При концентрациях 2,7 и 27 мкг/мл HgCl₂, напротив, подавляет развитие биопленки – ОП ниже контроля на 80,86 и 78,38% соответственно. Такие результаты говорят о том, что при концентрации 0,27 мкг/мл микроорганизмы в составе биопленки способны защититься от негативного воздействия хлорида ртути (II). Но при повышении концентрации в 10 и 100 раз HgCl₂ демонстрирует интенсивное подавляющее действие. В целом соли тяжелых металлов показали значительное угнетающее воздействие на интенсивность образования биопленок. Однако низкие концентрации HgCl₂ способны стимулировать процесс образования биопленки штаммом *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект № 6.2379.2017/ПЧ) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-04-00787 А).

Список литературы

- Rabin N., Zheng Y., Opoku-Temeng C., Du Y., Bonsu E., Sintim H.O. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents // *Future*. 2015. Vol. 7, № 4. P. 493–512.
- Rittmann B. E. Biofilms, active substrata, and me // *Water research*. 2018. Vol. 132. P. 135–145.
- Goldberg J. Biofilms and antibiotic resistance : a genetic linkage // *TRENDS in Microbiology*. 2002. Vol. 10, № 6. P. 264.
- Peng J. S., Tsai W. C., Chou C. C. Inactivation and removal of *Bacillus cereus* by sanitizer and detergent // *Intern. Journal of Food Microbiol.* 2002. Vol. 77, № 1–2. P. 11–18.
- Hobley L., Harkins C., MacPhee C. E., Stanley-Wall N. R. Giving structure to the biofilm matrix : an overview of individual strategies and emerging common themes // *FEMS Microbiol. Rev.* 2015. Vol. 39, № 5. P. 649–669.
- Sekoulov I., Brinke-Seiferth S. Application of biofiltration in the crude oil processing industry // *Water Science and Technology*. 1999. Vol. 39, № 8. P. 71–76.
- Garrett T. R., Bhakoo M., Zhang Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces // *Progress in Natural Science*. 2008. Vol. 18, № 9. P. 1049–1056.
- Jamal M., Ahmad W., Andleeb S., Jalil F., Imran M., Nawaz M. A., Hussain T., Ali M., Rafic M., Kamil M. A. Bacterial biofilm and associated infections // *J. of the Chinese Medical Association*. 2018. Vol. 81, № 1. P. 7–11.
- Петрухина М. И., Юценко Г. В., Полтова Н. Г. Эпидемиологическое значение бактериальных плёнок // *Журнал МедиАль*. 2015. № 3 (17). С. 9–17.
- Stepanović S., Vuković D., Dakić I., Savić B., Švabić-Vlahović M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation // *J. of Microbiol. Methods*. 2000. Vol. 40, № 2. P. 175–179.
- Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular cloning : a Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory press, 1982. 479 p.
- Герхардт Ф. *Методы общей бактериологии* : в 4 т. М. : Мир, 1984. Т. 3. 264 с.
- Лакин Г. Ф. *Биометрия*. М. : Высш. шк., 1990. 351 с.
- Chambless J. D., Hunt S. M., Stewart P. S. A three-dimensional computer model of four hypothetical mechanisms protecting biofilms from antimicrobials // *Appl. and Environ. Microbiol.* 2006. Vol. 72, № 3. P. 2005–2013.
- Желдакова Р. А. Механизмы биосинтеза антибиотиков и их действие на клетки микроорганизмов : учеб.-метод. комплекс для студентов специальности 1-31 01 01 «Биология». Минск : БГУ, 2004. 111 с.
- Пиружева Т. А. Оценка антисептического воздействия на возбудителей хирургических инфекций в составе биопленок // *Всерос. итоговая 74-я студ. науч. конф. им. Н. И. Пирогова (Томск, 27–29 апреля 2015 г.)* : сб. материалов / под ред. Г. Э. Черногорюка. Томск : СГМУ, 2015. С. 97–98.
- Регистр лекарственных средств России [Электронный ресурс]. URL: https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_142.htm (дата обращения: 14.03.18).
- Кузнецова Е. М., Чмиль В. Д. Глифосат : поведение в окружающей среде и уровни остатков // *Современные проблемы токсикологии*. 2010. № 1. С. 87–95.
- Мирошникова Д. И., Моталова Т. В. Токсикологическая характеристика пестицидов на основе глифосата // *Материалы ежегодной науч. конф. Рязанского гос. мед. ун-та имени акад. И. П. Павлова*. Рязань : РИО РязГМУ, 2016. С. 313–316.
- Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. М. : Минсельхоз РФ, 2017. 938 с.
- Соколов Э. М., Панарин В. М., Рылеева Е. М. Антропогенное загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами // *Экология и промышленность России*. 2008. Т. 11. С. 4–6.
- Сазыкина М. А., Чистяков В. А., Сазыкин И. С., Лагутова Л. П., Новикова Е. М., Латышев А. И. Использование бактериального lux-биосенсора для детекции загрязнения природных вод ртутью // *Вода : химия и экология*. 2010. № 5. С. 24–29.
- Игнатенко А. В. Изучение образования биопленок бактерий и оценка их устойчивости к биоцидам // *Тр. БГТУ. Сер. 4. Химия, технология органических веществ и биотехнология*. 2008. Т. 1, № 4. С. 173–176.
- Bonez P. C., dos Santos Alves C. F., Dalmolin T. V., Agertt V. A., Mizdal C. R., Flores Vda C., Marques J. B., Santos R. C., Anraku de Campos M. M. Chlorhexidine activity against bacterial biofilms // *Amer. J. of Infection Control*. 2013. Vol. 41, № 12. P. e119–e122.



Образец для цитирования:

Гильдебрант А. В., Кушнарева Д. Н., Каплина А. В., Мозговая А. И., Сазыкин И. С., Сазыкина М. А. Влияние загрязняющих веществ на интенсивность образования биопленки штаммом *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 103–111. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-103-111>

The Effect of Pollutants on the Intensity of Biofilm Formation by the Strain *Vibrio aquamarinus* VKPM В-11245

**A. V. Gildebrant, D. N. Kushnareva, A. V. Kaplina,
A. I. Mozgovaya, I. S. Sazykin, M. A. Sazykina**

Anastasia V. Gildebrant, <https://orcid.org/0000-0001-9308-2022>, Southern Federal University, 194/1 Stachki Ave., Rostov-on-Don 344090, Russia, gildebrant@sfnu.ru

Daria N. Kushnareva, <https://orcid.org/0000-0003-0859-3982>, Southern Federal University, 194/1 Stachki Ave., Rostov-on-Don 344090, Russia, dkushnaryova@sfnu.ru

Alina V. Kaplina, <https://orcid.org/0000-0003-3271-7957>, Southern Federal University, 194/1 Stachki Ave., Rostov-on-Don 344090, Russia, akaplina@sfnu.ru

Anastasia I. Mozgovaya, <https://orcid.org/0000-0002-7376-3020>, Southern Federal University, 194/1 Stachki Ave., Rostov-on-Don 344090, Russia, anasuyu@sfnu.ru

Ivan S. Sazykin, <https://orcid.org/0000-0002-0864-1473>, Southern Federal University, 194/1 Stachki Ave., Rostov-on-Don 344090, Russia, issa@sfnu.ru

Marina A. Sazykina, <https://orcid.org/0000-0001-6974-3361>, Southern Federal University, 194/1 Stachki Ave., Rostov-on-Don 344090, Russia, samara@sfnu.ru

Most microorganisms in natural conditions exist in the form of biofilms. Due to this fact, the question of research of various substances influence on their formation process is relevant. This article presents data on the influence of various groups of pollutants, such as antibiotics (ampicillin, oxytetracycline), antiseptics (dioxidine, chlorhexidine), herbicides (glyphosate, clopyralid) and salts of heavy metals (CuSO_4 , HgCl_2) in various concentrations on the intensity of biofilm formation by the strain *Vibrio aquamarinus* VKPM В-11245. To determine the intensity of biofilm formation the method of staining by crystal violet was used. It is shown that within each group of the investigated substances, the individual substances have different effects on biofilms formation. HgCl_2 in the concentration of 0.27 $\mu\text{g/ml}$ has the maximum stimulating effect, and the maximum inhibitory effect was displayed by oxytetracycline (2.5 $\mu\text{g/ml}$ and 25 $\mu\text{g/ml}$) and dioxidine (100 $\mu\text{g/ml}$ and 1000 $\mu\text{g/ml}$), as in these concentrations biofilm formation was not detected.

Keywords: biofilm, *Vibrio aquamarinus*, ampicillin, oxytetracycline, glyphosate, clopyralid, dioxidine, chlorhexidine, copper sulfate, mercuric chloride.

Acknowledgements: This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (project no. 6.2379.2017/PC)

and by the Russian Foundation for Basic Research (project no. 17-04-00787 A).

References

1. Rabin N., Zheng Y., Opoku-Temeng C., Du Y., Bonsu E., Sintim H. O. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future*, 2015, vol. 7, no. 4, pp. 493–512.
2. Rittmann B.E. Biofilms, active substrata, and me. *Water Research*, 2018, vol. 132, pp. 135–145.
3. Goldberg J. Biofilms and antibiotic resistance: a genetic linkage. *TRENDS in Microbiology*, 2002, vol. 10, no. 6, pp. 264.
4. Peng J. S., Tsai W. C., Chou C. C. Inactivation and removal of *Bacillus cereus* by sanitizer and detergent. *International Journal of Food Microbiology*, 2002, vol. 77, no. 1–2, pp. 11–18.
5. Hobbey L., Harkins C., MacPhee C. E., Stanley-Wall N. R. Giving structure to the biofilm matrix: an overview of individual strategies and emerging common themes. *FEMS Microbiology Reviews*, 2015, vol. 39, no. 5, pp. 649–669.
6. Sekoulov I., Brinke-Seiferth S. Application of biofiltration in the crude oil processing industry. *Water science and technology*, 1999, vol. 39, no. 8, pp. 71–76.
7. Garrett T.R., Bhakoo M., Zhang Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science*, 2008, vol. 18, no. 9, pp. 1049–1056.
8. Jamal M., Ahmad W., Andleeb S., Jalil F., Imran M., Nawaz M.A., Hussain T., Ali M., Rafic M., Kamil M. A. Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 2018, vol. 81, no. 1, pp. 7–11.
9. Petruhina M. I., Yushchenko G. V., Politova N. G. Epidemiologicheskoe znachenie bakterial'nyh plynok [Epidemiological value of bacterial slimes]. *Zhurnal MediAl' [Journal MediAl']*, 2015, no. 3 (17), pp. 9–17 (in Russian).
10. Stepanović S., Vuković D., Dakić I., Savić B., Švabić-Vlahović M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*, 2000, vol. 40, no. 2, pp. 175–179.
11. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1982. 479 p.
12. *Manual of methods for general bacteriology* / by Ph. Gerhardt, Editor-in-chief R. G. E. Murray, editor I. Morphology ... [et al.]. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1981. 524 p.



13. Lakin G. F. *Biometriya* [Biometry]. Moscow, Vyssh. Shk. Publ., 1990. 351 p.
14. Chambless J. D., Hunt S. M., Stewart P. S. A three-dimensional computer model of four hypothetical mechanisms protecting biofilms from antimicrobials. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, vol. 72, no. 3, pp. 2005–2013.
15. Zheldakova R. A. *Mekhanizmy biosinteza antibiotikov i ih dejstvie na kletki mikroorganizmov* [Mechanisms of biosynthesis of antibiotics and their effect on microorganisms cells]. Minsk, BGU, 2004. 111 p.
16. Pirueva T. A. Ocenka antisepticheskogo vozdeystviya na vzbuditelej hirurgicheskikh infekcij v sostave bioplenok [Assessment of antiseptic effects on pathogens of surgical infections in the composition of biofilms]. *Vserossiyskaya Itogovaya 74-ya studencheskaya nauchnaya konferenciya im. N. I. Pirogova (Tomsk, 27–29 aprelya 2015 g.)*: sb. materialov. Ed. G. E. Chernogoryuka. Tomsk, SGMU, 2015, pp. 97–98 (in Russian).
17. *Registr lekarstvennykh sredstv Rossii* (Register of medicinal preparations of Russia). Available at: https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_142.htm (accessed 14 March 2018) (in Russian).
18. Kuznetsova E. M., Chmil V. D. Glifosat: povedenie v okruzhayushchej srede i urovni ostatkov [Glyphosate: environmental fate and levels of residues]. *Sovremennye problemy toksikologii* [Modern Problems of Toxicology], 2010, no. 1, pp. 87–95 (in Russian).
19. Mirosnikova D. I., Motalova T. V. Toksikologo-gigienicheskaya karakteristika pesticidov na osnove glifosata [Toxicological and hygienic characteristics of glyphosate-based pesticides]. *Materialy ezhegodnoj nauchnoj konferencii Ryazanskogo gos. medicinskogo un-ta im. akademika I. P. Pavlova* [Materials of the Annual. Sci. Conf. of the Ryazan State Medical University named after acad. I. P. Pavlova]. Ryazan', RIO RyazGMU, 2016, pp. 313–316 (in Russian).
20. *Gosudarstvennyj katalog pesticidov i agrohimitov, razreshennykh k primeniyu na territorii Rossijskoj Federacii* [State catalogue of pesticides and agrochemicals permitted for use on the territory of the Russian Federation]. Moscow, Minsel'hoz RF, 2017. 938 p. (in Russian).
21. Sokolov E. M., Panarin V. M., Ryleyeva E. M. Antropogennoe zagryaznenie okruzhayushchej srede tyazhelyimi metallami [The Universal Device for Sewage Purification with Closed System of Water Rotation]. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii* [Ecology and Industry of Russia], 2008, vol. 11, pp. 4–6 (in Russian).
22. Sazykina M. A., Chistyakov V. A., Sazykin I. S., Lagutova L. P., Novikova E. M., Latyshev A. I. Ispol'zovanie bakterial'nogo lux-biosensora dlya detekcii zagryazneniya prirodnykh vod rtut'yu [Bacterial lux-biosensor for detection of mercury pollution]. *Voda: himiya i ekologiya* [Water: Chemistry and Ecology], 2010, no. 5, pp. 24–29 (in Russian).
23. Ignatenko A. V. Izuchenie obrazovaniya bioplenok bakterij i ocenka ih ustojchivosti k biocidam [Bacteria biofilms formation and estimation of their stability to biocides]. *Trudy BGTU. Ser. 4: Himiya, tekhnologiya organicheskikh veshchestv i biotekhnologiya* [Proceeding of BSTU. Ser. 4. Chemistry, Organic Substances Technology and Biotextology], 2008, vol. 1, no. 4, pp. 173–176 (in Russian).
24. Bonez P. C., dos Santos Alves C. F., Dalmolin T. V., Agertt V. A., Mizdal C. R., Flores Vda C., Marques J. B., Santos R. C., Anraku de Campos M. M. Chlorhexidine activity against bacterial biofilms. *American Journal of Infection Control*, 2013, vol. 41, no. 12, pp. e119–e122.

Cite this article as:

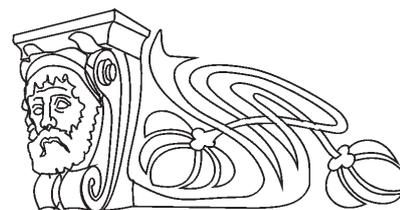
Gildebrant A. V., Kushnareva D. N., Kaplina A. V., Mozgovaya A. I., Sazykin I. S., Sazykina M. A. The Effect of Pollutants on the Intensity of Biofilm Formation by the Strain *Vibrio aquamarinus* VKPM B-11245. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 103–111 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-103-111>



УДК 581.524.1(581.524.442)(581.526.53)

Экологическая характеристика местообитаний ковыля перистого (*Stipa pennata* L.) в разных частях ареала

Т. А. Полянская, Г. Ф. Сулейманова



Полянская Татьяна Аркадьевна, доктор биологических наук, заместитель директора по науке, Национальный парк «Марий Чодра», п. Красногорский, Республика Марий Эл, zampanki@mail.ru

Сулейманова Гузалия Фаттяховна, аспирант кафедры ботаники и экологии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, suleymanovagf@mail.ru

Авторы проанализировали экологическое разнообразие ценопопуляций *Stipa pennata* в разных частях ареала с помощью амплитудных экологических шкал Д. Н. Цыганова (1983) по 10 параметрам среды. Объект исследования: сообщества с ковылем перистым в центре ареала на северо-востоке Саратовского правобережья в национальном парке «Хвалынский» и на северной границе ареала в восточной части Русской равнины в национальном парке «Марий Чодра». Отмечено расширение шкалы по показателям переменности увлажнения (*Fh*) от 4.00 до 8.00 (по Цыганову 5–7). Экологические показатели местообитаний в разных частях ареала и в разные годы различаются. Диапазон реализованной экологической валентности (*REV*) по климатическим показателям в НП «Хвалынский» шире, чем таковые на границе ареала в НП «Марий Чодра». По шкале богатства почв азотом и переменности увлажнения наиболее полно свои экологические возможности ЦП ковыля перистого реализуют вне основного ареала распространения на территории НП «Марий Чодра». Широкие диапазоны *REV* факторов характерны для НП «Марий Чодра» в 2017 г., а для НП «Хвалынский» в 2013 г.

Ключевые слова: экологические шкалы, реализованная экологическая валентность (*REV*), ковыль перистый, национальный парк «Хвалынский», национальный парк «Марий Чодра».

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-112-119>

Введение

В биосфере формируются экосистемы, в которых составляющие их компоненты тесно взаимосвязаны и взаимозависимы. Это означает, что изменение одного элемента биосистемы может вызывать изменение остальных. На этом принципе базируется фитоиндикация – использование растений и образуемых ими сообществ в качестве индикаторов условий среды (параметров местообитания) [1, 2]. Методы фитоиндикации базируются на двух подходах. Во-первых, методы, основанные на морфологических и эндогенных реакциях растений в ответ на воздействие неблагоприятных факторов окружающей среды. Во-вторых, методы, опирающиеся на связь видов с определенными местообитаниями

(абиотические факторы) или фитоценозами (биотические факторы). Фитоиндикационная оценка местообитаний охраняемых и фоновых видов растений с помощью метода экологических шкал и эколого-ценотических групп является актуальной, традиционной и глубоко информативной в современной фитоценологии.

Ковыль перистый (*Stipa pennata* L.) – многолетний плотнодерновинный, степной, ксероморфный злак с широким ареалом распространения – включен в Красную книгу Российской Федерации [3] с категорией редкости 2(V) – уязвимый вид. Изучение и сохранение популяций редких видов растений и животных – одна из основных задач, поставленных перед особо охраняемыми природными территориями. *S. pennata* имеет огромный палеарктический ареал распространения от юго-востока Скандинавии до степей Западного Забайкалья. В границах ареала *S. pennata* проявляет широкую экологическую амплитуду, местообитания которого формируются в условиях как различного уровня увлажнения, так и различной литологии [4]. Ковыль перистый является доминантом в перисто-ковыльных и субдоминантом в типчаково-перистоковыльных ассоциациях на супесчаных, каменистых и карбонатных разностях черноземов [5].

Цель данной работы: выявить экологическое разнообразие ценопопуляций (ЦП) ковыля перистого (*Stipa pennata* L.) в разных частях ареала с помощью амплитудных экологических шкал Д. Н. Цыганова [6].

Национальный парк (НП) «Хвалынский» расположен в северо-восточной окраине Саратовского правобережья в Хвалынском районе на стыке Среднего и Нижнего Поволжья и занимает останцовый массив («Хвалыньские горы») Приволжской возвышенности и часть долины реки Терешки. Его площадь 26037 га. В соответствии с ботанико-географическим районированием исследованный регион относится к Среднерусской (Верхнедонской) подпровинции Восточно-европейской лесостепной провинции Евразийской степной области. Хвалыньские горы – самые высокие на Приволжской возвышенности – достигают высоты 100–379 м над уровнем моря.



Зональным типом почв являются черноземы различной степени карбонатности, отмеченные на вершинах и склонах Хвалынских гор. Черноземы обыкновенные глинистые и тяжелосуглинистые, обыкновенные солонцеватые глинистые, а также аллювиальные дерновые насыщенные почвы занимают пойму реки Терешка – правого притока реки Волга. Темно-серые лесные почвы имеются на склонах гор [7, 8]. Климат в целом континентальный: характеризуется теплым и сухим летом (средняя температура июля +20°C) и умеренно холодной зимой (средняя температура января –12°C) [9, 10]. Зональными типами растительности являются широколиственные леса и луговые степи [11]. Как правило, леса тяготеют к возвышенностям, на равнинах уступая луговым степям. Господствующими типами лесной растительности являются липово-дубовые леса с кленом, а также сосняки в возрасте 80–100 лет и более в большинстве искусственного происхождения. Сообщества с участием *S. pennata* образуют лесостепной пояс на склонах и вершинах гор по границе с лесом, большей частью в охранной зоне национального парка. Эколого-фитоценотический состав ассоциаций перисто-ковыльной формации, а именно численное преобладание в нем лугово-степных мезоксерофитных и ксеромезофитных элементов, свидетельствует об оптимальном тепловом и водном режиме их местообитаний [12].

Территория национального парка «Марий Чодра» расположена в восточной части Русской равнины, на южных отрогах Марийско-Вятского увала, в бассейне р. Илеть – левого притока р. Волги, в юго-восточной части Республики Марий Эл и занимает 36800 га. Климат района расположения национального парка умеренно-континентальный, характеризуется сравнительно жарким летом и морозной зимой с устойчивым снежным покровом. Парк находится в природной зоне хвойно-широколиственных лесов с бореальными и лесостепными элементами. Наблюдается чередование равнинных (Марийская низменность) и возвышенных участков Марийско-Вятского увала, осложненных возвышенностями, изрезанных оврагами, боками, ложбинами, перепадами рельефа. Почвообразующие породы на лесных площадях представлены древне-аллювиальными песками и супесями, залегающими пластами разной мощности на коренных пермских породах тяжелого механического состава. На территории национального парка ЦП ковыля перистого встречаются на остепненных участках вдоль железной дороги Йошкар-Ола – Казань и автодороги Йошкар-Ола – Зеленый Дол.

Материалы и методы

Для получения экологических параметров местообитаний в местах произрастания ковыля перистого нами были заложены площадки и сделаны геоботанические описания в течение 2013–2017 гг. [13] на территории двух национальных парков. Флористические списки сосудистых растений соответствующих геоботанических описаний были обработаны с использованием компьютерной программы EcoScaleWin [14] по десяти амплитудным шкалам Д. Н. Цыганова. Оценка экологических режимов лесных фитоценозов произведена с помощью метода средневзвешенной середины интервала [6] по десяти амплитудным шкалам Д. Н. Цыганова [15]: *Tm* – термоклиматической, *Kn* – континентальности климата, *Om* – омброклиматической аридности-гумидности, *Cr* – криоклиматической, *Hd* – увлажнения почвы, *Tr* – солевого режима почв, *Nt* – богатства почв азотом, *Rc* – кислотности почв, *Fh* – переменности увлажнения, *Lc* – освещенности-затенения. Экологическое разнообразие *S. pennata* оценивалось с помощью фракций экологической валентности, предложенных Л. А. Жуковой [15]. Экологическая валентность – мера приспособленности популяций конкретного вида к изменению только одного экологического фактора. Потенциальная экологическая валентность вида (*PEV*) равна доле диапазона баллов (степеней) конкретного вида ко всей шкале изучаемого фактора [16]:

$$PEV = \frac{(A_{\max} - A_{\min} + 1)}{n},$$

где A_{\max} и A_{\min} – максимальные и минимальные значения баллов (степеней) шкалы, занятых отдельным видом; n – общее число баллов (степеней) в шкале; 1 – добавляется как 1-е деление шкалы, с которого по данному фактору начинается диапазон вида.

При проведении исследований конкретных ЦП в сообществе можно определить реализованную экологическую валентность (*REV*) по следующей формуле:

$$REV = \frac{(A_{\max} - A_{\min} + 0,01)}{n},$$

где A_{\max} и A_{\min} – максимальные и минимальные значения баллов (степеней) шкалы, занятые конкретными ЦП на шкале; n – общее число баллов (степеней) в шкале; 0.1 – добавляется как 1-е деление шкалы, с которого встречаются изученные ЦП [16].

Эффективность освоения экологического пространства вида конкретными ЦП оценивается



при помощи коэффициента экологической эффективности ($K_{ec,eff}$) [17], вычисляемого по формуле

$$K_{ec,eff} = \frac{REV}{PEV} \times 100\%,$$

где PEV – потенциальная экологическая валентность, REV – реализованная экологическая валентность.

В основе распределения видов по фракциям валентности лежит экспертная оценка, согласно которой стеновалентными считаются виды, занимающие менее 1/3 шкалы, эвривалентными – более 2/3 шкалы, остальные виды – мезовалентными [16]. При идентификации растений использовались известные руководства [18, 19]. Латинские названия видов растений приведены по сводке С. К. Черепанова [20].

Экологическое разнообразие модельных бореальных видов оценивалось с помощью фракций экологической валентности [15]. Согласно классификации Л. А. Жуковой по климатическим шкалам наиболее узкими являются показатели потенциальной экологической валентности ковыля перистого по термоклиматической (Tm) и омброклиматической (Om) шкалам ($PEV = 0.35$ и $PEV = 0.33$) соответственно. По криоклиматической шкале (Cr) позиция этого вида является мезовалентной и гемизэвривалентной по шкале континентальности климата (Kn). По почвенным

факторам ЦП ковыля перистого занимают более широкие экологические позиции (табл. 1, 2). Они мезовалентны или гемизэвривалентны. По шкале переменности увлажнения и освещенности ковыль перистый занимает стеновалентную и гемистеновалентные позиции.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований показали, что ежегодно в изученных ЦП *Stipa pennata* наблюдаются колебания экологических характеристик местообитаний [21]. По **термоклиматическому** фактору, показывающему распределение тепла, ЦП ковыля перистого способны обитать в условиях от 7 (суббореальный) до 12 (субсредиземноморский) типов режима. Исследованные ЦП в НП «Хвалынский» занимают центральную часть шкалы и составляют две ступени данной шкалы от 8.18 (суббореальный / неморальный) до 10.0 (неморальный/субсредиземноморский) (см. табл. 1). ЦП в НП «Марий Чодра» располагаются левее по шкале фактора и изменяются в пределах от 7.46 (суббореальный) – 8.50 (суббореальный / неморальный) ступени данной шкалы (см. табл. 2). Следовательно, полученные экологические характеристики по шкале Tm для ЦП исследованных видов находятся в пределах потенциальных диапазонов, указанных Д. Н. Цыгановым [6].

Таблица 1

Экологические характеристики местообитаний ковыля перистого в национальном парке «Хвалынский»

Диапазон шкалы	Позиция по шкале фактора	Годы наблюдений /реализованная экологическая валентность					
		2013	2014	2015	2016	2017	2013–2017
<i>Tm</i> (1–17)	7–12	8.18–10.00	8.56–9.00	8.49–9.00	8.50–8.78	8.74–8.97	8.18–10.00
<i>Kn</i> (1–15)	6–14	9.00–9.47	8.92–11.00	8.81–11.00	8.00–9.37	9.10–10.50	8.00–11.00
<i>Om</i> (1–15)	5–9	6.00–7.53	6.89–7.25	7.00–7.53	7.51–8.00	6.75–7.51	6.00–8.00
<i>Cr</i> (1–15)	4–11	7.22–10.00	7.00–7.88	7.00–7.73	7.66–8.50	7.50–7.82	7.00–10.00
<i>Hd</i> (1–23)	3–13	7.00–7.88	8.32–9.52	8.91–9.74	8.09–10.05	7.75–9.42	7.00–10.05
<i>Tr</i> (1–19)	3–11	8.02–11.00	8.00–8.10	7.48–8.00	7.59–8.00	7.79–8.35	7.48–11.00
<i>Nt</i> (1–11)	1–7	4.09–7.00	4.53–5.41	3.55–5.25	4.00–4.29	4.29–5.36	3.55–7.00
<i>Rc</i> (1–13)	5–12	8.04–9.00	8.26–9.00	7.92–9.00	7.00–8.32	8.28–9.75	7.00–9.75
<i>Fh</i> (1–11)	5–7	6.93– 7.30	6.71– 7.10	6.48– 7.28	7.18– 8.00	6.60– 7.23	6.48– 8.00
<i>Lc</i> (1–9)	1–4	2.00–2.38	2.00–2.78	2.00–2.97	2.44–3.50	2.00–2.76	2.00–3.50

Примечание. Жирным шрифтом показано расширение по шкале переменности увлажнения.

С помощью **шкалы континентальности климата (Kn)** Д. Н. Цыганова мы определили потенциальные экологические амплитуды исследуемого вида по отношению к режиму континентальности климата (см. табл. 1, 2). Потенциальные диапазоны ковыля перистого колеблются от 6 до 14 баллов и характеризуются гемизэвривалентной позицией. По этой шкале исследованные ЦП

отличаются узкими реальными диапазонами в НП «Марий Чодра» ($REV = 0.06$), шире диапазоны в НП «Хвалынский» ($REV = 0.20$). Таким образом, в пределах своего ареала изученные ЦП используют очень незначительную часть потенциальной экологической амплитуды шкалы континентальности климата при достаточно широкой потенциальной амплитуде ($PEV = 0.60$).



Таблица 2

Экологические характеристики местообитаний ковыля перистого в национальном парке «Марий Чодра»

Диапазон шкалы	Позиция по шкале фактора	Годы наблюдений / реализованная экологическая валентность					
		2013	2014	2015	2016	2017	2013–2017
<i>Tm</i> (1–17)	7–12	7.46–8.12	7.64–8.20	7.67–8.33	8.00–8.42	7.95–8.43	7.46–8.50
<i>Km</i> (1–15)	6–14	8.48–9.09	8.35–9.14	8.38–9.00	8.56–9.24	8.59–9.23	8.35–9.24
<i>Om</i> (1–15)	5–9	7.43–7.77	7.20–7.89	7.26–7.71	7.56–8.00	7.43–8.05	7.20–8.05
<i>Cr</i> (1–15)	4–11	6.62–7.35	6.59–7.41	6.73–7.51	6.88–7.71	6.00–7.62	6.00–7.71
<i>Hd</i> (1–23)	3–13	9.36–11.00	9.11–10.25	8.40–10.14	8.85–10.41	8.64–10.66	8.40–11.0
<i>Tr</i> (1–19)	3–11	6.42–8.35	6.35–7.71	6.70–8.40	6.56–8.12	6.29–7.92	6.29–8.40
<i>Nt</i> (1–11)	1–7	3.92–5.10	4.06–5.05	3.69–5.04	3.81–5.34	3.38– 8.50	3.69–8.50
<i>Rc</i> (1–13)	5–12	6.70–7.80	6.56–7.59	7.00–7.87	7.10–8.04	6.00–8.77	6.00–8.77
<i>Fh</i> (1–11)	5–7	4.00 –6.89	5.38–6.53	5.43–6.82	5.78–6.82	5.00–6.86	4.00 –6.89
<i>Lc</i> (1–9)	1–4	2.24–2.88	2.56–2.81	2.40–2.86	2.62–3.17	2.00–3.16	2.00–3.17

Примечание. Жирным шрифтом показано расширение по шкале богатства почв азотом и по шкале переменности увлажнения.

Следовательно, ЦП ковыля перистого используют незначительную часть потенциальной экологической амплитуды шкалы континентальности климата, несмотря на географическую удаленность районов исследования. Это свидетельствует о достаточной приспособленности *S. pennata* к континентальному климату европейской части России.

По **омброклиматической шкале**, показывающей соотношение осадков и испарения, полученные экологические амплитуды *S. pennata* соответствуют потенциальным диапазонам Д. Н. Цыганова [6]. Наиболее полно ЦП данного вида реализуют свои возможности в условиях НП «Хвалынский» (см. табл. 1). Здесь показатели реализованной экологической валентности составляют 0.14 ($K_{э.эф} = 40\%$).

По **криоклиматической шкале (Cr)**, показывающей наличие и продолжительность морозных дней с низкими температурами, *S. pennata* встречается в условиях от 6.00 (довольно суровых зим / умеренных зим) до 7.71 (умеренных зим/мягких зим) в НП «Марий Чодра» и от 7.0 (умеренных зим) до 10.00 (мягких зим/теплых зим) в НП «Хвалынский». Это реальная иллюстрация местонахождения ЦП данного вида в разных частях ареала. Следовательно, полученные экологические характеристики по криоклиматической шкале находятся в пределах потенциальных диапазонов факторов, указанных Д. Н. Цыгановым [6].

Таким образом, по климатическим шкалам ЦП ковыля перистого в НП «Марий Чодра» занимают достаточно узкие экологические диапа-

зоны, шире диапазоны и соответственно показатели реализованной экологической валентности в НП «Хвалынский».

Почвенные условия, характеризующиеся пятью факторами, демонстрируют значительное экологическое разнообразие диапазонов. По шкале **увлажнения почвы (Hd)** ковыль перистый является мезовалентным видом. Это свидетельствует о достаточно низком разнообразии возможных местообитаний по фактору почвенного увлажнения. Потенциальные диапазоны исследуемого вида по этой шкале составляют от 3 до 13 баллов. Для большинства ЦП данного вида нами получены довольно низкие показатели реализованной экологической валентности (0.11–0.13).

По **шкале солевого режима почв** данный вид также является мезовалентным. По шкале, состоящей из 19 баллов, ковыль перистый встречается в диапазоне значений от 6.29 (небогатых почв/довольно богатых почв) до 8.4 (довольно богатых почв/богатых почв) балла шкалы в НП «Марий Чодра» (в левой части шкалы) и от 7.48 (довольно богатых почв) до 11.0 (слабозасоленных почв) баллов (в правой части шкалы) в НП «Хвалынский» (рисунок). Наиболее полно ЦП данного вида реализуют свои возможности в условиях НП «Хвалынский». Здесь показатели реализованной экологической валентности составляют 0.19 ($K_{э.эф} = 40\%$).

По **шкале богатства почв азотом (Nt)** ковыль перистый является гемизивалентным видом ($PEV = 0.64$). Реальный диапазон для ЦП этого вида составил 3.55–8.50 баллов (см. табл. 1 и 2). Наиболее высокие показатели REV для этого



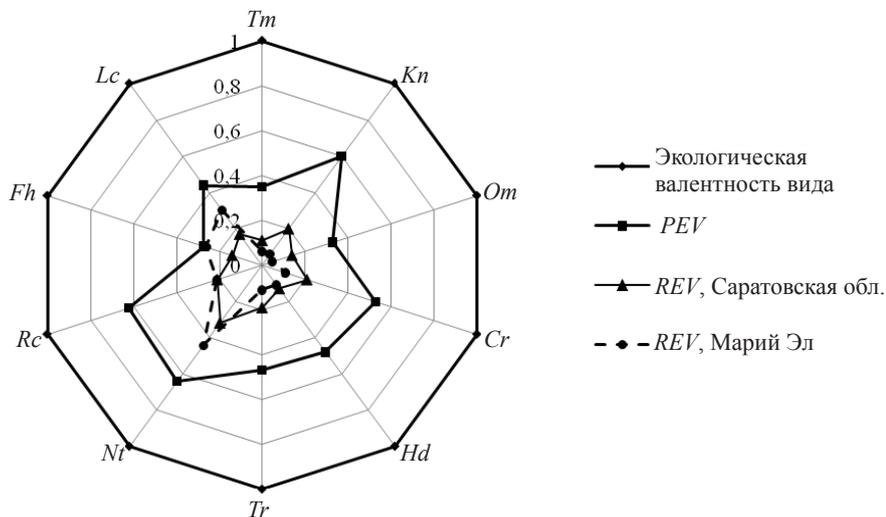
вида выявлены нами в НП «Марий Чодра» ($REV = 0.44$). По этой шкале у *S. pennata* наблюдается увеличение реального диапазона в сторону увеличения действия фактора в Республике Марий Эл. Реальный диапазон этого вида в исследованных ЦП составляет от 3.55 (промежуточного между очень бедными азотом почвами и бедными азотом почвами) до 8.5 баллов (достаточно обеспеченных азотом почв/богатых азотом почв). Таким образом, по шкале богатства почв азотом наиболее полно свои экологические возможности ЦП ковыля перистого реализуют вне основного ареала распространения.

По шкале кислотности почв (Rc) исследуемый вид также является мезовалентом. Потенциальный диапазон варьирует от 5 до 12 баллов. В результате обработки геоботанических описаний нами получены реальные характеристики. Так же, как и по шкале солевого режима почв, диапазоны экологических характеристик местообитаний в НП «Марий Чодра» занимают левую часть шкалы, а в НП «Хвалынский» – правую, хотя показатели реализованной экологической валентности одинаковы.

По шкале переменности увлажнения почвы ковыль перистый стеновалентен, т.е. должен занимать узкое экологическое пространство по шкале фактора. В исследованных местообитаниях ЦП этого вида располагаются в таких

экологических условиях, где они имеют реальный диапазон шире, чем потенциальный. В НП «Марий Чодра» ЦП располагаются в диапазоне от 4.00 (относительно устойчивого увлажнения/слабо переменного увлажнения) до 6.89 (слабо переменного /умеренно переменного увлажнения) баллов и занимают левую часть шкалы, а в НП «Хвалынский» – от 6.48 (слабо переменного /умеренно переменного увлажнения) до 8.00 (умеренно переменного увлажнения/сильно переменного увлажнения) баллов и размещаются в правой части шкалы. Таким образом, нами уточнены экологические границы расширения шкалы переменности увлажнения для *S. pennata*.

По шкале освещенности–затенения (Lc) ковыль перистый имеет значение потенциальной экологической валентности 0.44. ЦП модельного вида в разных частях ареала имеют схожие показатели и распространены в местообитаниях, где они имеют реальный диапазон от 2.02 до 3.50 баллов, поэтому их реализованная экологическая валентность имеет низкие показатели: 0.13–0.17. Наибольшие значения REV нами получены для НП «Хвалынский» ($REV = 0.17$). Таким образом, нами подтверждены экологические характеристики для ковыля перистого по шкале освещенности–затенения. Обобщенные значения валентностей изученного вида представлены на рисунке.



Значения потенциальной (PEV) и реализованной экологической валентности (REV) в национальном парке «Хвалынский» (Саратовская область) и «Марий Чодра» (Марий Эл)

Заключение

Данные исследования подтвердили экологические характеристики *S. pennata* по следующим показателям: по распределению тепла (Tm), продолжительности морозного периода (Cr), увлажнения почвы (Hd) и условиям освещенности–затенения (Lc).

Отмечено расширение шкалы по показателям переменности увлажнения (Fh) от 4.00 до 8.00 (по Цыганову, 5–7). Экологические показатели местообитаний в разных частях ареала и в разные годы различаются. Диапазон реализованной экологической валентности (REV)



по климатическим показателям в НП «Хвалынский» шире, чем таковые на границе ареала в НП «Марий Чодра». Наиболее полно ЦП *S. pennata* реализуют свои возможности в условиях НП «Хвалынский» по значениям континентальности климата, соотношению количества осадков и испарения, а также засоления почвы. По шкале богатства почв азотом и переменности увлажнения наиболее полно свои экологические возможности ЦП ковыля перистого реализуют вне основного ареала распространения на территории НП «Марий Чодра». Широкие диапазоны *REV* факторов характерны для НП «Марий Чодра» в 2017 г., а для НП «Хвалынский» в 2013 г.

Следовательно, в ЦП ковыля перистого в различных частях ареала в разные годы наблюдаются неодинаковые экологические показатели местообитаний. Ежегодно формируется своеобразный экологический микроклимат, создаваемый абиотическими и биотическими факторами. Вследствие колебаний параметров окружающей среды, внедрения в местообитания ковыля перистого ЦП других видов растений изменяются экологические условия для произрастания ЦП ковыля перистого, следовательно, меняется устойчивость ЦП.

Список литературы

1. Горин В., Болдырев В. Расширение шкал Л. Г. Раменского. Дополнение шкал данными по экологии видов флоры Саратовской области. Saarbrücken : LAP LAMBERT, 2013. 62 с.
2. Уланова Н. Г., Жмылев П. Ю. Эколого-ценотический анализ растительных сообществ: учеб. пособие. М. : МАКС Пресс, 2014. 80 с.
3. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) М. : Т-во науч. изд. КМК, 2008. 855 с.
4. Носова Л. М. Флоро-географический анализ северной степи европейской части СССР. М. : Наука, 1973. С. 131–139.
5. Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Изд-во торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. 528 с.
6. Цыганов Д. Н. Фитоиндикация экологических режимов в подзоне хвойно-широколиственных лесов. М. : Наука, 1983. 198 с.
7. Болдырев В. А., Степанов М. В., Архипова Е. А. Национальный парк «Хвалынский» // Почвы заповедников и национальных парков Российской Федерации. М. : НИИ-Природа – Фонд «Инфосфера», 2012. С. 251–253.
8. Гришин П. Н., Кравченко В. В., Болдырев В. А. Почвы Саратовской области, их происхождение, состав и агрохимические свойства : учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений, обучающихся по направлению «Агрохимия и агропочвоведение». Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2011. 176 с.
9. Макаров В. З., Чумаченко А. Н., Савинов В. А., Данилов В. А. Национальный парк «Хвалынский» : ландшафтная характеристика и географическая информационная система. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2006. 146 с.
10. Учебно-краеведческий атлас Саратовской области / В. В. Аникин [и др.]. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2013. 144 с.
11. Тарасов А. О. Основные географические закономерности растительного покрова Саратовской области. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1977. 24 с.
12. Мальшева Г. С., Малаховский П. Д. Таксономический анализ перистоковыльной формации национального парка «Хвалынский» // Фиторазнообразие Восточной Европы. 2015. Т. 9, № 3. С. 165–184.
13. Ипатов В. С., Кирикова Л. В. Фитоценология. СПб. : Изд-во СПб. ун-та, 1997. 316 с.
14. Грохлина Т. И., Ханина Л. Г. Автоматизация обработки геоботанических описаний по экологическим шкалам // Принципы и способы сохранения биоразнообразия : сб. материалов II Всерос. науч. конф. Йошкар-Ола : МарГУ, 2006. С. 87–89.
15. Жукова Л. А., Дорогова Ю. А., Турмухаметова Н. В., Гаврилова М. Н., Полянская Т. А. Экологические шкалы и методы анализа экологического разнообразия растений. Йошкар-Ола : МарГУ, 2010. 368 с.
16. Жукова Л. А. Оценка экологической валентности основных эколого-ценотических групп: подходы и методы // Восточноевропейские леса : история в голоцене и современность : в 2 кн. Кн. 1. М. : Наука, 2004. С. 256–259.
17. Жукова Л. А., Турмухаметова Н. В., Акиенцев Е. В. Экологическая характеристика некоторых видов растений // Онтогенетический атлас растений. Т. 7. Йошкар-Ола : МарГУ, 2007. С. 318–331.
18. Маевский П. Ф. Флора средней полосы европейской части России. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2006. 600 с.
19. Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Определитель сосудистых растений Саратовской области. Саратов : Изд-во ИП «Баженов», 2009. 248 с.
20. Czerepanov S. K. Vascular plants of Russia and adjacent states (former USSR). Cambridge : Cambridge University Press, 1995. 516 p.
21. Полянская Т. А., Сулейманова Г. Ф. Экологические особенности местообитаний ковыля перистого (*Stipa pennata* L.) в разных частях ареала // Проблемы популяционной биологии : материалы XII Всерос. популяционного семинара памяти Николая Васильевича Глотова (1939–2016). Йошкар-Ола : ООО ИПФ «СТРИНГ», 2017. С. 173–175.

Образец для цитирования:

Полянская Т. А., Сулейманова Г. Ф. Экологическая характеристика местообитаний ковыля перистого (*Stipa pennata* L.) в разных частях ареала // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 112–119. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-112-119>



Ecological Characteristic of Feather Grass Habitat (*Stipa pennata* L.) in Various Parts of the Range

T. A. Polianskaya, G. F. Suleymanova

Tatjana A. Polianskaya, <https://orcid.org/0000-0003-0482-9564>, National Park «Mari Chodra», 73 Tsentralnaya Str., Krasnokornyy village, Republic of Mari El 425090, Russia, zamnayki@mail.ru

Guzyalya F. Suleymanova, <https://orcid.org/0000-0003-4722-6608>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, suleymanovagf@mail.ru

The article gives an analysis of the ecological diversity of *Stipa pennata* cenopopulations in different parts of the range using D. N. Tsyganov's amplitude ecological scales (1983) for 10 environmental parameters. Communities with *S. pennata* in the center of the range in the northeast of the Saratov right bank in the "Khvalynsky" National Park and at the northern border of the range in the eastern part of the Russian plain in the «Mari Chodra» National Park are considered. The scale is expanded according to the indicators of variability of humidification (Fh) from 4.00 to 8.00 (according to Tsyganov 5–7). Ecological indicators of habitats differ in different parts of the range and in different years. The range of realized ecological valence (REV) according to climatic parameters in the NP "Khvalynsky" is wider than that at the border of the range in the NP "Mariy Chodra". On the scale of soil fertility with nitrogen and the variability of hydration, the most complete ecological capabilities of the *S. pennata* are realized outside the main distribution area on the territory of the "Mari Chodra" NP. Wide ranges of REV factors are typical for the "Mari Chodra" NP in 2017, and for the NP "Khvalynsky" in 2013.

Keywords: ecological scales, realized ecological valence (REV), feather grass, National Park "Khvalynsky", National Park "Mari Chodra".

Reference

1. Gorin V., Boldyrev V. *Rasshirenie shkal L. G. Ramenskogo. Dopolnenie shkal dannymi po ekologii vidov flory Saratovskoy oblasti* [Expansion of the L.G. Ramensky scales. Addition of scales with data on the ecology of flora species of the Saratov region]. Saarbrücken, LAP LAMBERT, 2013. 62 p. (in Russian).
2. Ulanova N. G., Zhmylev P. Yu. *Ekologo-cenoticheskij analiz rastitel'nyh soobshchestv* [Ecological and coenotic analysis of plant communities. Education guidance]. Moscow, MAKS Press Publ., 2014. 80 p. (in Russian).
3. *Krasnaya kniga Rossijskoj Federacii (rasteniya i griby)* [Red data Book of the Russian Federation (plants and mushrooms)]. Moscow, T-vo nauch. izd. KMK, 2008. 855 p. (in Russian).
4. Nosova L. M. *Floro-geograficheskij analiz severnoj stepi evropejskoj chasti SSSR* [Floro-geographical analysis of the northern steppes of the European part of the USSR]. Moscow, Nauka Publ., 1973. 187 p. (in Russian).
5. *Krasnaya kniga Saratovskoy oblasti : Griby. Lishajniki. Rasteniya. Zhivotnye* [Red data Book of the Saratov region: Mushrooms. Lichens. Plants. Animals]. Saratov, Publishing House of the Chamber of Commerce and Industry of the Saratov Region, 2006. 528 p. (in Russian).
6. Tsyganov D. N. *Fitoindikaciya ekologicheskikh rezhimov v podzone hvojno-shirokolistvennyh lesov* [Phytoindication of ecological regimes in the subzone of coniferous-deciduous forests]. Moscow, Nauka Publ., 1983. 198 p. (in Russian).
7. Boldyrev V. A., Stepanov M. V., Arkhipova E. A. *Nacional'nyj park "Hvalynskij"* [National Park "Khvalynsky"]. In: *Pochvy zapovednikov i nacional'nyh parkov Rossijskoj Federacii* [Soils of reserves and national parks of the Russian Federation]. Moscow, NIA-Priroda – Infosfera Foundation, 2012, pp. 251–253 (in Russian).
8. Grishin P. N., Kravchenko V. V., Boldyrev V. A. *Pochvy Saratovskoj oblasti, ih proiskhozhdenie, sostav i agrokhimicheskie svoystva : ucheb. posobie dlya stud. vyssh. ucheb. zavedenij, obuchayushchihya po napravleniyu "Agrohimiya i agropochvedenie"* [Soils of the Saratov region, their origin, composition and agrochemical properties]. Saratov, Izd-vo Sarat. un-ta, 2011. 176 p. (in Russian).
9. Makarov V. Z., Chumachenko A. N., Savinov V. A., Danilov V. A. *Nacional'nyj park "Hvalynskij": landshaftnaya harakteristika i geograficheskaya informacionnaya sistema* [Khvalynsky National Park: Landscape Characteristics and Geographical Information System]. Saratov, Izd-vo Sarat. un-ta, 2006. 146 p. (in Russian).
10. *Uchebno-kraevedcheskij atlas Saratovskoj oblasti* [Educational Atlas of the Saratov Region]. Saratov, Izd-vo Sarat. un-ta, 2013. 144 p. (in Russian).
11. Tarasov A. O. *Osnovnye geograficheskie zakonomernosti rastitel'nogo pokrova Saratovskoj oblasti* [Basic geographical patterns of vegetation of the Saratov region]. Saratov, Izd-vo Sarat. un-ta, 1977. 24 p. (in Russian).
12. Malycheva G. S., Malakhovsky P. D. *Taksonomicheskij analiz peristokovyl'noj formacii nacional'nogo parka "Hvalynskij"* [Taxonomic analysis of the stipeta pennatae formation in the National Park "Khvalynsky"]. *Fitoraznoobrazie Vostochnoj Evropy* [Phytodiversity of Eastern Europe], 2015, vol. 9, no. 3, pp. 165–184 (in Russian).
13. Ipatov V. S., Kirikova L. V. *Fitocenologiya* [Phytocenology]. St. Petersburg, Izd-vo St. Petersburg un-ta, 1997. 316 p. (in Russian).
14. Grokhlina T. I., Khanina L. G. *Avtomatizaciya obrabotki geobotanicheskikh opisaniy po ekologicheskim shkalam* [Automation of the processing for of geobotanical descriptions on ecological scales]. *Principy i sposoby sohraneniya bioraznoobraziya : sb. materialov II Vseros. nauch. konf.* [Principles and Methods of Biodiversity Conservation: Collection of Materials of the II All-Russian Scientific Conference]. Yoshkar-Ola, MarSU, 2006, pp. 87–89 (in Russian).
15. Dorogova Yu. A., Zhukova L. A., Turmukhametova N. V., Gavrilova M. N., Polyanskaya T. A. *Ekologicheskije shkaly i metody analiza ekologicheskogo raznoobraziya rastenij* [Ecological scales and methods for analyzing the ecological diversity of plants]. Yoshkar-Ola, MarSU, 2010. 368 p. (in Russian).
16. Zhukova L. A. *Ocenka ekologicheskoy valentnosti*



- osnovnykh ekologo-cenoticheskikh grupp: podhody i metody [Evaluation of the ecological valence of the basic ecological-cenotic groups: approaches and methods]. In: *Vostochnoevropejskie lesa: istoriya v golocene i sovremennost'*. Kn. 1. [Eastern European forests: history in the Holocene and modernity]. Moscow, Nauka Publ., 2004, vol. 1, pp. 256–259 (in Russian).
17. Zhukova L. A., Turmukhametova N. V., Akshentsev E. V. Ekologicheskaya harakteristika nekotoryh vidov rastenij [Ecological characteristics of some plant species]. In: *Ontogeneticheskij atlas rastenij. T. 7* [Ontogenetic Atlas of Plants]. Yoshkar-Ola, MarSU, 2007, vol. 7, pp. 318–331 (in Russian).
18. Mayevsky P. F. *Flora srednej polosy evropejskoj chasti Rossii* [Midland flora of the European part of Russia]. Moscow, T-vo nauch. izd. KMK, 2006. 600 p. (in Russian).
19. Yelenevsky A. G., Bulany Yu. I., Radygina V. I. *Opre-*
delitel' sosudistyh rastenij Saratovskoj oblasti [The determinant of vascular plants in the Saratov region]. Saratov, IP Bazhenov, 2009. 248 p. (in Russian).
20. Czerepanov S. K. *Vascular plants of Russia and adjacent states (former USSR)*. Cambridge, Cambridge University Press, 1995. 516 p.
21. Polyanskaya T. A., Suleymanova G. F. Ekologicheskie osobennosti mestoobitanij kovylya peristogo (*Stipa pennata* L.) v raznykh chastyakh areala [Ecological features of the habitat of feather grass (*Stipa pennata* L.) in different parts of the range]. *Problemy populyacionnoj biologii: materialy XII Vseros. populyacionnogo seminara pamyati Nikolaya Vasil'evicha Glotova (1939–2016)* [Problems of population biology: materials of the XII All-Russian population seminar in memory of Nikolai Vasilievich Glotov (1939–2016)]. Yoshkar-Ola, OOO IPF "String", 2017, pp. 173–175 (in Russian).

Cite this article as:

Polianskaya T. A., Suleymanova G. F. Ecological Characteristic of Feather Grass Habitat (*Stipa pennata* L.) in Various Parts of the Range. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 112–119 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-112-119>



PERSONALIA

ЮБИЛЕЙ ШТЫКОВА СЕРГЕЯ НИКОЛАЕВИЧА

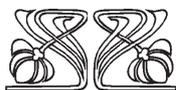
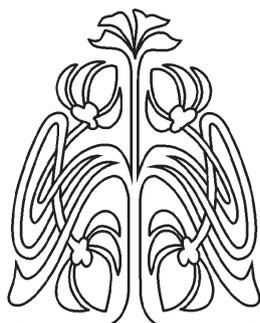
Сергей Николаевич Штыков – доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. Сергей Николаевич – известный в широких кругах российской и мировой научной общественности ученый, активно работающий в области аналитической химии организованных сред и наносистем.



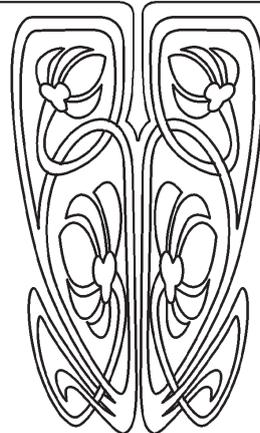
С. Н. Штыков родился 29 октября 1948 г. в г. Красноуфимске Свердловской области в семье заводских химиков-аналитиков. После окончания средней школы поступил на химический факультет СГУ, который окончил в 1971 г. Работал инженером, лаборантом на кафедре аналитической химии. С 1974 г. – ассистент той же кафедры, одновременно поступил в заочную аспирантуру. В 1980 г. в Пермском госуниверситете защитил кандидатскую диссертацию на тему «Исследование влияния поверхностно-активных веществ на химио-аналитические свойства хромофорных органических реагентов в водных растворах» (специальность – аналитическая химия). С 1981 г. – старший преподаватель, с 1984 г. – доцент, с 1991 г. – профессор этой же кафедры. В 1995–2004 гг. по совместительству работал заместителем директора по науке НИИ Химии СГУ, в 2000–2004 гг. – декан химического факультета. Проходил зарубежные стажировки в университетах г. Окаяма (Япония), г. Уденсе (Дания), Чалмерском технологическом университете, г. Гетеборг (Швеция).

В 1990 г. в Институте геохимии и аналитической химии им. В. И. Вернадского (ГЕОХИ) РАН СССР (г. Москва) С. Н. Штыков защитил докторскую диссертацию «Сольватационные эффекты в системах органические реагенты – их комплексы с металлами – поверхностно-активные вещества» (по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия и 02.00.01 – Неорганическая химия). В 1993 г. получил ученое звание профессора. За достигнутые успехи в педагогической, научной и общественной деятельности Указом Президента Российской Федерации от 2 мая 2014 г. С. Н. Штыкову присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации».

Сергей Николаевич Штыков проводит огромную научно-организационную работу. С 1998 г. он является председателем Поволжского отделения научного совета (НС) РАН по аналитической химии (член этого совета с 1993 г.), с 2005 г. – член бюро НСАХ РАН, член НС РАН по коллоидной хи-



ПРИЛОЖЕНИЯ





мии и физико-химической механике (с 2006 г.), НС РАН по люминесценции (Отделение общей физики и астрономии – председатель секции с 1997 г.); иностранный член НС по аналитической химии НАН Украины (с 2003 г.); член аналитического отделения Европейской ассоциации по химическим и молекулярным наукам (DAS EuCheMS, с 2005 г.), в котором с 2017 г. возглавляет рабочую группу «Наноаналитика»; ассоциированный (1998–1999 гг.), титулярный (2000–2001 гг.) член комиссии по спектроскопическим и другим оптическим методам анализа ИУРАС; член Президиума (с 2007 г.) и Правления (с 1999 г.) Российского химического общества (РХО) им. Д. И. Менделеева; председатель Саратовского регионального отделения РХО им. Д. И. Менделеева (с 1995 г.); действительный член РАЕН (с 1999 г.), член Диссертационного совета Д 212.243.07 (2005–2006 гг. – ученый секретарь); член Ученого совета Института химии СГУ; член редакционных советов журналов «Chemical and Environmental Research» (Индия); «Методы и объекты химического анализа» (Украина, Scopus); «Аналитика и контроль» (Россия, Scopus).

Достижения С. Н. Штыкова отмечены большим числом премий и наград: Соросовский профессор (2001 г.); лауреат премии Международной академической издательской компании (МАИК) «Наука/Интерпериодика» за лучшую публикацию (2004 г.), премии РФФИ за лучшую научно-популярную статью (журнал «Природа» 2009 г.), двух стипендий Президиума РАН; премии НСАХ РАН по аналитической химии за «За пионерские работы в области наноаналитики, значительный вклад в люминесцентный анализ, тонкослойную хроматографию и другие аналитические методы» (2016 г.). Награжден грамотой Министерства промышленности и энергетики Саратовской области (2011 г.), дипломом Международного фонда «Научное партнерство» (2004 г.). Одним из факторов признания вклада в аналитическую химию является членство в оргкомитетах 5 зарубежных, 7 международных и 10 всероссийских конференций.

С. Н. Штыковым опубликовано более 800 работ, в том числе более 350 статей, 3 монографии, 10 глав в монографиях, 6 авторских свидетельств и 10 патентов РФ, 14 учебных пособий. С 1993 г., за 25 лет, лично выступил с 95 устными докладами, включающими 15 пленарных, 11 ключевых, 9 приглашенных и 37 устных (из которых 28 докладов на английском языке), на всероссийских, международных и зарубежных конференциях в Японии и Европе, включая Евроанализ-2013, 2016 и 2017. Руководитель 17 грантов РФФИ, 2 госконтрактов,



Полномочный представитель Президента по Поволжскому округу М. В. Бабич и профессор С. Н. Штыков после вручения ему звания «Заслуженный деятель науки РФ» (18 июня 2014 г.)

1 проектного задания, 4 грантов Минобрнауки РФ. Научный руководитель 20 кандидатских диссертаций, научный консультант 7 докторских диссертаций. С. Н. Штыков – эксперт ФЦП «О мерах по привлечению ведущих учёных в российские образовательные учреждения ВПО»; федерального реестра экспертов научно-технической сферы Минобрнауки России; эксперт РФФИ и РФФИ, член экспертного совета ВАК (2016–2018 гг.).

С. Н. Штыковым предложена стратегия совершенствования методов химического анализа, основанная на принципах нано- и супрамолекулярной химии, нанотехнологий и самоорганизации. Им создана концепция наноаналитики, согласно которой она трактуется как «Раздел аналитической химии, развивающий принципы и методы применения в анализе нанотехнологий и особых свойств вещества в наноразмерном состоянии». Наноаналитика выделена в отдельную область химического анализа, определены направления, составляющие её предмет.

Теоретическая часть исследований посвящена разработке концепции и предмета наноаналитики, термодинамике организованных сред. Физико-химические основы развиваемого направления базируются на эффектах среды, самоорганизации и самосборки, переноса энергии электронного возбуждения, сенсбилизации люминесценции, концентрирования и сближения компонентов аналитических реакций и процессов в жидких микрогетерогенных организованных средах на основе наноразмерных прямых и обратных мицелл и микроэмульсий, а также молекул-рецепторов (циклодекстрины, каликса-



рены) и магнитных наночастиц. Изучаются процессы сорбции дифильных молекул поверхностно-активных веществ (ПАВ) на неподвижных фазах хроматографии, самоорганизация ПАВ, полимеров и молекул-рецепторов на поверхности воды, получение и физико-химические свойства наноразмерных пленок Ленгмюра С.Н. Блоджетт, самособирающихся слоев полиэлектролитов, золь-гель-технология, технология нанокапсулирования молекулярных зондов. Направление последних пяти лет посвящено синтезу, модификации и применению в анализе магнитных наночастиц.

Для изучения структуры, свойств и межмолекулярных взаимодействий в организованных средах, их влияния на гидратацию веществ, протолитические, таутомерные равновесия, реакции комплексообразования применяются метод молекулярного зонда и термодинамические методы исследования, а также методы атомно-силовой, конфокальной люминесцентной и просвечивающей микроскопии, спектроскопии комбинационного рассеяния (КР), усиленного поверхностью, и спектроскопии гигантского КР.

Указанные наносистемы и молекулы-рецепторы используются для развития фотометрического, флуоресцентного, фосфориметрического методов анализа, оптических и пьезокварцевых сенсоров, мицеллярной экстракции, тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии при определении неорганических и органических веществ и планируются при изучении визуализации и полуколичественного анализа клетки.

Основные научные результаты, полученные научной группой под руководством С. Н. Штыкова:

- предложена стратегия совершенствования методов химического анализа, основанная на принципах нано- и супрамолекулярной химии, нанотехнологий и самоорганизации; выявлена роль и предложено определение наноаналитики;
- развит новый термодинамический подход к исследованию структурных состояний и переходов в микроэмульсиях и предложен новый параметр для оценки инверсии их фаз;
- предложены новые подходы к селективному раздельному определению токсикантов на основе сенсibilизированной фосфоресценции при комнатной температуре и эффекте «триплет-триплетной аннигиляции» в мицеллах и микроэмульсиях;
- развивается подход к определению биологически активных веществ, основанный на сенсibilизированной флуоресценции и эффекте «антенны» в организованных средах;

– предложены нанотехнологические подходы к созданию чувствительных покрытий оптических и пьезокварцевых сенсоров на основе наноразмерных пленок Ленгмюра–Блоджетт и пленок, полученных методом полиионного наслаивания;

– предложен подход к определению токсикантов методом капиллярной газовой хроматографии с атомно-эмиссионным детектором в отсутствие стандартов определяемых веществ;

– развит подход, состоящий в замене органических растворителей в подвижных фазах в ТСХ нетоксичными организованными средами, реализующий принципы «зеленой химии» (мицеллярная, микроэмульсионная и циклодекстриновая ТСХ);

– развивается новый вариант ТСХ, состоящий в направленном регулировании в динамическом режиме свойств сорбатов и подвижной фазы при воздействии управляемой газовой фазы;

– развивается метод мицеллярной экстракции, состоящий в замене токсичных органических растворителей мицеллярными растворами анионных и неионных ПАВ – «зелёная химия»;

– систематически исследовано влияние мицелл ПАВ на таутомерию органических реагентов;

– развит автоматизированный титриметрический метод определения основного вещества в продуктах деструкции отравляющих веществ;

– развивается подход к применению магнитных наночастиц в методах разделения и концентрирования.

Кафедра аналитической химии и химической экологии стала одной из лидирующих в области наноаналитики в России. В 2015 г. под редакцией С. Н. Штыкова вышла монография по наноаналитике в издательстве «Наука» на русском языке. В апреле 2018 г. в старейшем немецком издательстве DE GRUYTER под редакцией С. Н. Штыкова выпущена монография «*Nanoanalytics: Nanoobjects and Nanotechnologies in Analytical Chemistry*».

Являясь высококвалифицированным педагогом, С. Н. Штыков умело сочетает все виды учебных занятий, применяя новейшие технологии и обсуждая актуальные проблемы современной науки. Им на высоком профессиональном уровне читаются лекционные курсы «Нанотехнологии в аналитике», «Нанохимия и нанотехнологии», «Аналитическая химия нанообъектов», «Спектроскопические методы анализа и исследования», проводится повышение квалификации в ИДПО СГУ.

Сергей Николаевич не только выдающийся ученый, но и успешный спортсмен. Главное увлечение, конечно, лыжный спорт, которым начал заниматься в 9 классе школы, и продолжил в зна-

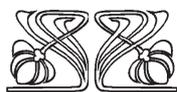
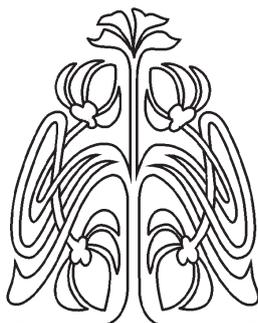


менитой в СГУ лыжной секции у Константина и Александра Гурьевичей Смятских. С 1970 по 1980 г. С. Н. Штыков был лучшим лыжником, чемпионом СГУ. В 1974 г. стал чемпионом Саратовской области на дистанции 50 км. Сергей Николаевич до настоящего времени продолжает выступать за сборную СГУ среди преподавателей вузов Саратова, занимая ежегодно 1–2-е места. В 2005 и 2010 гг. участвовал в Швеции в знаменитой гонке Васа-лоппет на 90 км, заняв 82-е и 53-е места соответственно из 4.5 тысяч участников. Кроме того, в 2011–2017 гг. 5 раз участвовал в полумарафонах в г. Майнц (Германия) и Саратове, занимая 1–2-е места в своей возрастной группе. Около 15 лет занимался спортивным ориентированием на уровне 1–2-го разряда. Спорт и наука в его жизни эффективно дополняют друг друга.

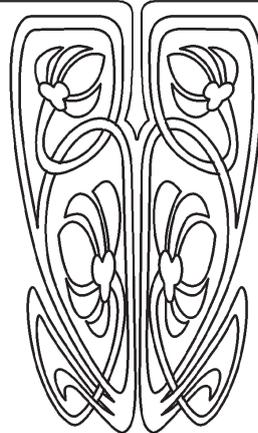
Сергей Николаевич пользуется заслуженным авторитетом и уважением среди научно-педагогической общественности, коллег и студентов, а его научные труды известны и достойно представляют российскую науку за рубежом. Он – великий труженик, прирожденный педагог и воспитатель молодежи. У него много учеников в разных городах России и за рубежом. Благодарные ученики развивают идеи своего учителя, плодотворно работают в разных сферах аналитической химии и химической науки.

Пожелаем Сергею Николаевичу дальнейших творческих успехов, новых талантливых учеников, крепкого здоровья.

*Т. Ю. Русанова,
доктор химических наук,
зав. кафедрой аналитической химии
и химической экологии*



ПОДПИСКА



Подписка на II полугодие 2019 года

Индекс издания в объединенном каталоге
«Пресса России» 36012, раздел 30
«Научно-технические издания.
Известия РАН. Известия вузов»

Журнал выходит 4 раза в год

Цена свободная

Оформить подписку онлайн можно
в интернет-каталоге «Пресса по подписке» (www.akc.ru)

Адрес издательства:

410012, Саратов, Астраханская, 83;
Тел.: +7 (845-2) 51-45-49, 52-26-89
Факс: +7 (845-2) 27-85-29
E-mail: izvestiya@info.sgu.ru

Адрес редколлегии серии:

410012, Саратов, Астраханская, 83,
СГУ имени Н. Г. Чернышевского,
биологический факультет
Тел./факс: +7 (845-2) 22-51-38
E-mail: ichbe-sgu@yandex.ru
Website: <http://ichbe.sgu.ru>