



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

# ИЗВЕСТИЯ

САРАТОВСКОГО  
УНИВЕРСИТЕТА  
Новая серия



Научный журнал  
2017 Том 17

ISSN 1816-9775 (Print)

ISSN 2541-8971 (Online)

Издается с 2005 года

## Серия Химия. Биология. Экология, выпуск 3

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

### СОДЕРЖАНИЕ

#### Научный отдел

##### Химия

- Вердизаде Н. А., Кулиев К. А.** Синтез и строение смешаннолигандных комплексов Fe, Co и Ni с димеркаптофенолами и гетероциклическими аминами 247
- Василькова Н. О., Брудник С. В., Кривенько А. П.** Исследование строения и путей образования изомерных тиенилзамещенных триазологексагидрохиназолинов методами ЯМР-спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии 263
- Губина Т. И., Ухова А. А., Исаева С. В., Тумский Р. С., Аниськов А. А., Ключкова И. Н.** Определение характера биологического действия новых полигетероциклических соединений на растения и оценка экологической безопасности их применения 267
- Кулапина Е. Г., Кулапина О. И.** Планарные потенциометрические сенсоры для определения цефуроксима аксетила в малых объемах проб 274
- Монахова Ю. Б., Чернова Р. К., Варыгина О. В.** Хемометрический метод ПЛС в обработке титриметрических данных при определении лизина и аргинина в смешанных растворах 280
- Панкратов А. Н., Цивилева О. М., Белобородая А. С., Цымбал О. А., Древо Я. Б.** Антиоксидантный статус мицелия макробазидиомицетов, выращенных с добавлением селенорганических соединений 286
- Смотров М. П., Чепурина З. В., Курский В. Ф., Черкасов Д. Г.** Равновесие жидкость–жидкость–твердое и критические явления в четверной системе нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота в интервале 5–60°C 299

##### Биология

- Чумаков Д. С., Голубев А. А., Коннова С. А., Дыкман Л. А., Богатырев В. А.** Оценка цитотоксичности ионного и коллоидного золота для микроводоросли *Dunaliella salina* в микропланшетной тест-системе 305
- Минжал М. Ш., Болдырев В. А., Касаткин М. Ю.** Анатомическое строение семян видов рода Ирис (*Iris* L.) флоры Саратовской области 312
- Телешева Е. М., Снякин Д. Н., Шелудько А. В., Филипчева Ю. А., Пономарева Е. Г., Петрова Л. П., Кацы Е. И.** Анализ влияния протеаз на структуру биопленок штамма *Azospirillum brasilense* Sp245 и его дефектных по жгутикованию *mmsB1* и *fabG1* мутантов 322
- Воробьева С. А., Купряшина М. А., Пономарёва Е. Г., Петерсон А. М., Никитина В. Е.** Биодegradация синтетических красителей бактериями рода *Azospirillum* 328
- Каргатова А. М., Степанов С. А.** Морфологическая характеристика главной почки зародыша зерновки озимой ржи 330
- Баландина С. А., Позднякова Н. Н., Турковская О. В.** Участие лакказы гриба *Stropharia rugosoannulata* DSM 11372 в деградации ПАУ 331
- Поверенный Н. М., Аникин В. В.** Изучение филогенетических связей представителей рода *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) на основе молекулярного анализа ДНК 333
- Потапова О. А., Сигида Е. Н., Коннова С. А.** Особенности структуры липополисахаридов *Azospirillum zeae* и *Azospirillum formosense* 335
- Севрюкова Г. А., Исупов И. Б., Товмасын Л. А.** К вопросу о взаимном соответствии переходной зоны в грудных отведениях ЭКГ, сердечного ритма и церебральной гемодинамики 337

##### Экология

- Чумаченко А. Н., Шляхтин Г. В.** Экологические проблемы Саратовской области в Год экологии и Год особо охраняемых природных территорий 345
- Аникин В. В., Синичкина О. В.** Краевой эффект видовой состава молей-чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) в лесостепных экотонах Поволжья 358
- Бохина О. Д., Болдырев В. А.** Геоинформационная модель распределения европейского барсука (*Meles meles* L., 1758) в саратовском Правобережье 363
- Марцоха К. С., Башинская А. Г., Беляченко А. В.** Сравнительный анализ питания лошади Пржевальского (*Equus ferus przewalskii*, Poliakov, 1881) и верблюда двугорбого (*Camelus bactrianus* L., 1758) при полувольном содержании в условиях дерновиннозлаковых степей Кумо-Манычской впадины 365

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

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

Багаева Ольга Львовна

#### 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@sgu.ru

Подписано в печать 31.08.2017.

Формат 60x84 1/8.

Усл. печ. л. 14,41 (15,5).

Тираж 500 экз. Заказ 96-Т.

Отпечатано в типографии Саратовского университета.

#### Адрес типографии:

410012, Саратов, Б. Казачья, 112А

© Саратовский университет, 2017



## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал публикует научные статьи по всем основным разделам химии, биологии и экологии (антропология, биофизика, биохимия, биотехнология, ботаника, вирусология, генетика, гидробиология, гистология, зоология, иммунология, микология, микробиология, молекулярная биология, физиология, паразитология, почвоведение, цитология, эмбриология, факториальная экология, популяционная экология, экология сообществ, системная экология, прикладная экология, экология человека, аналитическая химия, биоорганическая химия, неорганическая химия, катализ, органическая химия, физическая химия, химия высокомолекулярных соединений и др.).

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

Статья должна быть аккуратно оформлена и тщательно отредактирована.

Последовательность предоставления материала:

– на русском языке: индекс УДК, название работы, инициалы и фамилии авторов, сведения об авторах (ученая степень, должность и место работы, e-mail), аннотация, ключевые слова, текст статьи, благодарности и ссылки на гранты, библиографический список;

– на английском языке: название работы, инициалы и фамилии авторов, сведения об авторах (ученая степень, должность и место работы, e-mail), аннотация, ключевые слова.

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 500–600 знаков;

– 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/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](mailto:ichbe-sgu@yandex.ru); 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, биологический факультет, ответственному секретарю журнала «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология».

## CONTENTS

### Scientific Part

#### Chemistry

- Verzadeh N. A., Kuliev K. A.** Synthesis and Structure Mixedligand Complexes of Fe, Co and Ni with Dimerkaptophenols and Heterocyclic Diamines 247
- Vasilkova N. O., Brudnik S. V., Kriven'ko A. P.** Investigation of the Structure and Ways of Formation of Isomeric Tyenylsubstituted Triazolohexohydroquinazolines by Methods of NMR Spectroscopy and Chromato-mass-spectrometry 263
- Gubina T. I., Ykhova A. A., Isaeva S. V., Tumskiy R. S., Aniskov A. A., Klochkova I. N.** The Determination of Biological Effects of New Heterocyclic Compounds on Plants and the Evaluation of Environmental Safety of Their Application 267
- Kulapina E. G., Kulapina O. I.** Screen-printed Potentiometric Sensors for Cefuroxime Axetil Determination in Small Sample Volumes 274
- Monakhova Yu. B., Chernova R. K., Varigina O. V.** Chemometric Method of PLS in the Treatment of Titrimetric Data when Opredeleniye of Arginine and Lysine in Mixed Solutions 280
- Pankratov A. N., Tsivileva O. M., Beloborodaya A. S., Tsymbal O. A., Drevko Ya. B.** Antioxidant Status of Macrobasidiomycetes Mycelium Grown in the Presence of Organoselenium Compounds 286
- Smotrov M. P., Chepurina Z. V., Kurskii V. F., Cherkasov D. G.** Equilibrium Liquid-Liquid-Solid and Critical Phenomena in the Quaternary System Cesium Nitrate+Water+Pyridine+Butyric Acid with in the Range of 5 to 60°C 299

#### Biology

- Chumakov D. S., Golubev A. A., Konnova S. A., Dykman L. A., Bogatyrev V. A.** Cytotoxicity Evaluation of Ionic and Colloidal Gold on the Microalga *Dunaliella salina* in Microplate Test System 305
- Minjal M. Sh., Boldyrev B. A., Kasatkin M. Yu.** Anatomical Structure of Seed which Belong to *Iris* L. Species of Saratov Flora 312
- Telesheva E. M., Sinyakin D. N., Shelud'ko A. V., Filip'echeva Yu. A., Ponomareva E. G., Petrova L. P., Katsy E. I.** Analysis of Protease Effect on Biofilm Structure of *Azospirillum brasilense* Strain Sp245 and Its Flagellation-Defective mmsB1 and fabG1 Mutants 322
- Vorobeva S. A., Kupryashina M. A., Ponomareva E. G., Peterson A. M., Nikitina V. E.** Biodegradation of Synthetic Dyes Bacteria of the Genus *Azospirillum* 328
- Cargatova A. M., Stepanov S. A.** Morphological Characteristics of the Main Bud of the Embryo the Grains of Winter Rye 330
- Balandina S. A., Pozdnyakova N. N., Turkovskaya O. V.** The Involvement of Laccase of the Fungus *Stropharia rugosoannulata* DSM 11372 in Pah Degradation 331
- Poverenniy N. M., Anikin V. V.** Study of Phylogenetic Connections of Representatives of the Genus *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) on the Basis of Molecular DNA Analysis 333
- Potapova O. A., Sigida E. N., Konnova S. A.** Peculiarities of the Structure of *Azospirillum zeae* and *Azospirillum formosense* Lipopolysaccharides 335
- Sevriukova G. A., Isupov I. B., Tovmasyan L. A.** To the Question about the Reciprocal Conformity of the Transition Zone in the Chest Leads ECG, Heart Rate and Cerebral Hemodynamics 337

#### Ecology

- Chumachenko A. N., Shlyakhtin G. V.** Ecological Problems of the Saratov Region in Year Environment and the Year of Specially Protected of Natural Territories 345
- Anikin V. V., Sinichkina O. V.** The Edge Effect of Casebearer Species (Lepidoptera, Coleophoridae) in the Forest-steppe Ecotones of Lower Volga Region 358
- Bokhina O. D., Boldyrev V. A.** Geoinformation Models of the Spatial Distribution of the *Meles meles* L., 1758 within Saratov Right Bank 363
- Marcocha K. S., Bashinsky A. G., Belyachenko A. V.** Comparative Analysis of Rations of Przewalski's Horse (*Equus ferus przewalskii*, Poliakov, 1881) and Bactrian Camel (*Camelus bactrianus* L., 1758) Breded in Environment of Kuma-Manuch Depression's Steppe 365



**РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ ЖУРНАЛОВ  
«ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА. НОВАЯ СЕРИЯ»**

**Главный редактор**

Чумаченко Алексей Николаевич, доктор геогр. наук, профессор (Саратов, Россия)

**Заместитель главного редактора**

Короновский Алексей Александрович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

**Ответственный секретарь**

Халова Виктория Анатольевна, кандидат физ.-мат. наук, доцент (Саратов, Россия)

**Члены редакционного совета:**

Балаш Ольга Сергеевна, кандидат экон. наук, доцент (Саратов, Россия)

Бучко Ирина Юрьевна, директор Издательства Саратовского университета (Саратов, Россия)

Данилов Виктор Николаевич, доктор ист. наук, профессор (Саратов, Россия)

Ивченков Сергей Григорьевич, доктор социол. наук, профессор (Саратов, Россия)

Коссович Леонид Юрьевич, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

Макаров Владимир Зиновьевич, доктор геогр. наук, профессор (Саратов, Россия)

Прозоров Валерий Владимирович, доктор филол. наук, профессор (Саратов, Россия)

Усанов Дмитрий Александрович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

Устьянцев Владимир Борисович, доктор филос. наук, профессор (Саратов, Россия)

Шамионов Раиль Мунирович, доктор психол. наук, профессор (Саратов, Россия)

Шляхтин Геннадий Викторович, доктор биол. наук, профессор (Саратов, Россия)

**EDITORIAL COUNCIL OF THE JOURNALS  
«IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY. NEW SERIES»**

**Editor-in-Chief** – Aleksey N. Chumachenko (Saratov, Russia)

**Deputy Editor-in-Chief** – Aleksei A. Koronovskii (Saratov, Russia)

**Executive Secretary** – Victoria A. Khalova (Saratov, Russia)

**Members of the Editorial Council:**

Olga S. Balash (Saratov, Russia)

Irina Yu. Buchko (Saratov, Russia)

Victor N. Danilov (Saratov, Russia)

Sergei G. Ivchenkov (Saratov, Russia)

Leonid Yu. Kossovich (Saratov, Russia)

Vladimir Z. Makarov (Saratov, Russia)

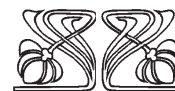
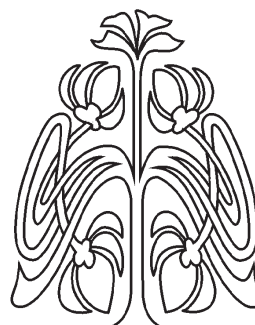
Valeri V. Prozorov (Saratov, Russia)

Dmitry A. Usanov (Saratov, Russia)

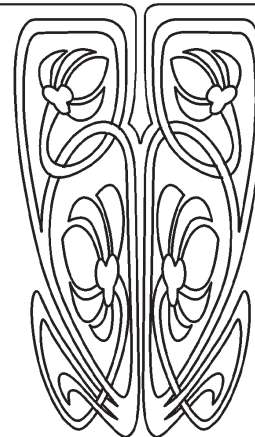
Vladimir B. Ustiantsev (Saratov, Russia)

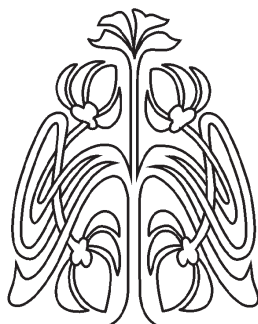
Rail M. Shamionov (Saratov, Russia)

Gennadiy V. Shliakhtin (Saratov, Russia)

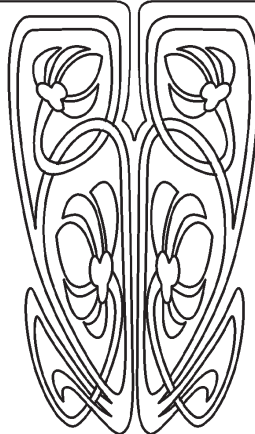


**РЕДАКЦИОННЫЙ  
СОВЕТ**





**РЕДАКЦИОННАЯ  
КОЛЛЕГИЯ**



**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).

Болдырев Владимир Александрович, доктор биологических наук, профессор  
(Саратов, Россия)

Грибов Лев Александрович, доктор физико-математических наук, профессор, чл.-кор. РАН  
(Москва, Россия)

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Кузьмина Раиса Ивановна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Муштакова Светлана Петровна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Розенберг Геннадий Самуилович, доктор биологических наук, профессор, чл.-кор. РАН  
(Тольятти, Россия)

Чернова Римма Кузьминична, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Шиповская Анна Борисовна, доктор химических 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:**

Vasilii V. Anikin (Saratov, Russia)

Vladimir A. Boldyrev (Saratov, Russia)

Rimma K. Chernova (Saratov, Russia)

Lev A. Gribov (Moscow, Russia)

Alexandr S. Kashin (Saratov, Russia)

Svetlana A. Konnova (Saratov, Russia)

Raisa I. Kuzmina (Saratov, Russia)

Svetlana P. Mushtakova (Saratov, Russia)

Gennadiy S. Rozenberg (Toliaty, Russia)

Anna B. Shipovskay (Saratov, Russia)



## ХИМИЯ

УДК 543. 42. 062: 546.72.2

### СИНТЕЗ И СТРОЕНИЕ СМЕШАННОЛИГАНДНЫХ КОМПЛЕКСОВ Fe, Co И Ni С ДИМЕРКАПТОФЕНОЛАМИ И ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИМИ АМИНАМИ

Н. А. Вердизаде, К. А. Кулиев

Вердизаде Наиля Аллахвердиқызы, профессор кафедры аналитической и органической химии, Азербайджанский государственный педагогический университет (Баку), доктор химических наук. E-mail: kerim.kuliev.69@mail.ru

Кулиев Керим Авазоглы, доцент кафедры аналитической и органической химии, Азербайджанский государственный педагогический университет (Баку), кандидат химических наук. E-mail: kerim.kuliev.69@mail.ru

Физико-химическими методами исследовано комплексообразование Fe(II,III), Co(II) и Ni(II) с димеркаптофенолами (2,6-димеркаптофенол, 2,6-димеркапто-4-метилфенол, 2,6-димеркапто-4-этилфенол, 2,6-димеркапто-4-пропилфенол и 2,6-димеркапто-4-трет-бутилфенол) и гидрофобными аминами. В качестве гидрофобного амина использованы гетероциклические диамины: 1,10-фенантролин, 2,2'-дипиридил и 4,7-дифенил-1,10-фенантролин (батифенантролин). Найдены оптимальные условия образования и экстракции смешаннолигандных соединений и установлены соотношения компонентов в комплексах. Разработаны фотометрические методики определения Fe(II,III), Co(II) и Ni(II) в различных объектах. Предлагаемые методики характеризуются хорошей воспроизводимостью и низкими пределами обнаружения.

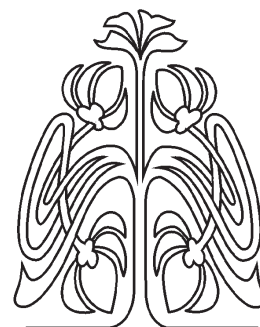
**Ключевые слова:** железо, кобальт, никель, димеркаптофенолы, гетероциклические диамины, экстракционно-фотометрический метод.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-247-262

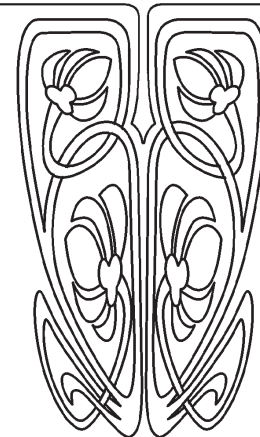
В живых организмах железо является важным микроэлементом, катализирующим процессы обмена кислородом. Недостаток железа проявляется как болезнь организма (хлороз у растений и анемия у животных). Избыток тоже вреден: соединения железа откладываются в тканях глаз и легких, вызывая их сидероз [1]. Кобальт и никель являются биологически активными металлами. Установлено, что избыточное «техногенное» поступление соединений данных металлов в организм оказывает токсичное действие на метаболизм. Избыток солей кобальта и никеля вызывает морфологические изменения в клетке и тем самым оказывает канцерогенное действие на нее [2].

Поскольку ионы Fe<sup>2+</sup> и Fe<sup>3+</sup> обладают хромоформными свойствами, в большинстве методов используют реагенты, не содержащие хромоформных групп [3].

Железо образует очень прочные координационные связи с любыми донорными атомами. Избирательными реагентами на Fe(III) являются соединения, содержащие фенольные ОН-группы. Чувствительность повышается при введении еще одной фенольной ОН-группы в орто- или периположение, но это приводит к значительному ухудшению селективности определения [4]. Реагенты, содержащие ОН-группы и донорные атомы азота, считаются наиболее подходящими для определения Fe(III) [4, 5].



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





Методики фотометрического определения Fe(III) в виде разнолигандных комплексов (РЛК) с этими реагентами в присутствии третьих компонентов различного класса обладают высокой чувствительностью и избирательностью [6–8]. Для фотометрического определения железа важнейшими являются ферроиновые хелатообразующие реагенты. В основном используют 1,10-фенантролин, 2,2'-дипиридил и 2,2',2''-трипиридил [3]. Одним из классических фотометрических методов определения Fe(III) является роданидный метод [3].

Для фотометрического определения кобальта довольно селективными являются реагенты с о-нитрозофенольной группировкой или аналогичного строения с оксимной группировкой. Наибольшее распространение получили методы, в которых используются органические реагенты – производные нитрозоафтолов, пиридиновые азосоединения, из которых большое распространение получил 4-(2-пиридилазо)-резорцин [9].

Для фотометрического определения никеля пригодны многие хелатообразующие реагенты, относящиеся к разным классам соединений и содержащие в качестве донорных атомов N, O или S. Наиболее часто применяют диоксимы, оксиазосоединения, а также тиокарбоновые кислоты [4].

В наиболее важных фотометрических методиках определения никеля используют реакции с диоксимами и дитизонами [9].

Методами спектрофотометрии исследованы РЛК Fe(III) с гетероциклическими диаминами и азопроизводными салициловой кислоты [10]. Разработаны методики фотометрического определения Fe(III) с 1-фенил-2,3-диметилпиразолом-5-азопиригалоном в присутствии 1,10-фенантролина и  $\alpha, \alpha'$ -дипиридила. Разработанная методика применена для определения микроколичеств железа в фруктах [11].

Исследованы смешанные фенантролин-тиосалицилатные комплексы железа, кобальта, никеля и меди в водных растворах. Определен состав комплексов и механизм комплексообразования [12, 13].

Изучено равновесие реакций комплексообразования ионов железа(III) с 5-нитро-салициловой кислотой и  $\alpha$ -аланином, серином и валином [14].

Спектрофотометрическим методом найдены оптимальные условия комплексообразования ионов переходных металлов [Cu(II), Ni(II), Co(II, III) и Fe(II, III)] с 1-нитрозо-2-нафтол-3,6-дисульфокислотой в присутствии катион-

ных (бромидов цетилпиридиния и цетилтриметиламмония) и неионных (ОП-10, неонол) поверхностно-активных веществ (ПАВ) [15].

Спектрофотометрическим методом исследованы РЛК Co(II) с ароматическими диаминами: 2,2'-дипиридил, 1,10-фенантролином, 4,7-дифенилфенантролином и хромогенным органическим лигандом – 2,4-динитробензолазопирокатехином. Разработаны методики экстракционно-фотометрического определения кобальта в разных объектах [16]. Исследован РЛК никеля с 2,2-дипиридил и динитробензолазосалициловой кислотой [17].

Для определения следовых количеств никеля предложен экстракционно-спектрофотометрический метод с использованием 2-[(2-меркаптофенилимино) метил] фенола. Методика была применена для определения никеля в сточных водах и сплавах [18]. Методика определения никеля с 2-гидрокси-5-иодотиофенолом и дифенилгуанидином приведена в [19].

Исследовано комплексообразование никеля с 2,6-дителиол-4-этилфенолом и гетероциклическими диаминами (фенантролин и батофенантролин) [20]. Методом абсорбционной спектроскопии изучено взаимодействие никеля (II) с 2,2'-дипиридил в водном растворе. Установлены комплексы различного состава и определены их константы устойчивости [21].

Спектрофотометрическим методом изучены равновесия в двойных и тройных системах, содержащих соли Co(II) и Ni(II), а также нитрилтриуксусную кислоту и дикарбоксилаты [22]. Синтезированы новые комплексы нитратов Cu(II), Co(II) и Ni(II) с 1,3-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)пропаном [23].

Изучены процессы комплексообразования в водно-этанольных растворах катионов *s*-, *p*-, *d*- и *f*-металлов с гетероциклическими производными азопиразолона-5 [24].

По данным pH-метрического исследования, было установлено образование разнолигандного комплекса никель – лимонная кислота – 2,2-дипиридил [25].

Нами исследованы РЛК Fe(II, III), Co(II) и Ni(II) с димеркаптофенолами (ДФ) {2,6-димеркаптофенол (ДМФ), 2,6-димеркапто-4-метилфенол (ДММФ), 2,6-димеркапто-4-этилфенол (ДМЭФ), 2,6-димеркапто-4-пропилфенол (ДМПФ) и 2,6-дителиол-4-трет-бутилфенол (ДМБФ)} и гетероциклическими диаминами (1,10-фенантролин (Фен), 2,2'-дипиридил (Дип) и 4,7-дифенил-1,10-фенантролин (батофенантролин (Бфен))).



### Экспериментальная часть

**Реагенты и растворы.** Стандартный раствор железа (III), (1 мг/мл) готовили растворением точной навески  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  в воде, содержащей 5 мл конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Стандартный раствор Fe(II) (1 мг/мл) был приготовлен растворением навески соли Мора в воде при подкислении 10 мл конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Содержание железа в растворе определялось титриметрически [3].

Исходный раствор (1 мг/мл) Co(II) готовили растворением точной навески  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  в воде, содержащей 2 мл конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , и разбавляли водой до 1 л [3].

Стандартный раствор (1 мг/мл) Ni(II) готовили растворением точной навески  $(\text{NH}_4)_2\text{Ni}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  в воде, содержащей 2 мл конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  [3].

Растворы с меньшей концентрацией получали разбавлением исходных соответствующей кислотой непосредственно перед экспериментом.

В работе использовали 0,01 М растворы ДФ и Ам в хлороформе. ДФ очищали переосаждением из этанольных растворов прибавлением воды и затем перегонкой. В качестве экстрагента применен очищенный хлороформ.

Ионную силу растворов, равную  $\mu = 0,1$ , поддерживали постоянной введением рассчитанного количества KCl. Для создания необходимой кислотности растворов применяли 1 М раствор КОН. Все использованные реагенты имели квалификацию ч. д. а. или х. ч.

**Аппаратура.** Оптическую плотность органической фазы измеряли на КФК-2. Спектрофотометрические исследования окрашенных реагентов проводили на спектрофотометре СФ-26. Величину pH растворов контролировали с помощью иономера И-130 со стеклянным электродом. ИК-спектры снимали на спектрофотометре «Bruker». Процесс термолитического разложения соединений изучали с использованием дериватографа системы «Shimadzu TGA-50Н» на воздухе в интервале 20–1000 °С, скорость нагревания – 10 град/мин.

**Методика.** В градуированные пробирки с притертыми пробками вводили 0,1–0,8 мл, с интервалом 0,1 мл исходного раствора М(II), 1,5–2,0 мл 0,01М раствора ДФ и 2,0–2,5 мл 0,01М раствора Ам. Необходимое значение pH устанавливали добавлением 0,1М раствора КОН. Объем органической фазы доводили до 5 мл хлороформом, а водной фазы – до 20 мл дистиллированной водой. Спустя 10 минут органический слой отделяли и измеряли его оптическую плотность при комнатной температуре на КФК-2 при 540 нм (в случае Ni-ДФ-Ам при 490 нм).

### Результаты и их обсуждение

Fe(II, III), Co(II) и Ni(II) с димеркаптофенолами образуют окрашенные комплексы, нерастворимые в неполярных органических растворителях. Заряд комплексов был установлен методом электромиграции ионов и по анионному обмену на анионообменнике ЭДЭ-10 П. При изучении электромиграции данных комплексов наблюдалось движение окрашенных в красный цвет ионов к положительному полюсу, на основании чего был сделан вывод о том, что окрашенные комплексы Ме-ДФ являются анионами. Перенос ионов изучали в обычной U-образной трубке с двумя кранами, при напряжении 180 В и силе тока 0,5–0,8 мА. Электролиз проводили на протяжении 3 часов. Как и следовало ожидать, комплексы с гетероциклическими аминами переходят в катодное пространство. При определении знака заряда однороднолигандных комплексов Ме-ДФ методом ионообменной хроматографии анионообменник ЭДЭ-10 П полностью поглощает окрашенную часть раствора. При введении в систему гидрофобных аминов наблюдается экстракция анионных комплексов в органическую фазу в виде РЛК. Опыты показали, что РЛК Fe(II) и Fe(III) ведут себя при экстракции совершенно аналогично: спектры поглощения и интервал pH оптимальной экстракции практически одинаковы. Это дает основание заключить, что Fe(III) восстанавливается дитиолфенолами и в обоих случаях образуется одно и то же соединение Fe(II).

Комплексообразующие реагенты (ДФ, ДМФ, ДМЭФ, ДМПФ и ДМБФ) представляют собой трехосновную слабую кислоту ( $\text{H}_3\text{R}$ ) и в зависимости от pH среды могут существовать в молекулярной и двух анионных формах. Реагенты синтезированы по известной методике [26] и охарактеризованы физико-химическими методами ИК- и ЯМР-спектроскопии [27, 28] (табл. 1).

**Влияние pH водной фазы.** Изучение зависимости комплексообразования от pH показывает, что взаимодействия Ме(II) с ДФ и аминами и извлечение (выход РЛК) их в органическую фазу максимален при pH 5,2–8,6. Присутствие второго лиганда привело к смещению оптимальной кислотности комплексообразования в более кислую область,  $\text{pH}_{\text{опт}}$  шире, чем в случае двухкомпонентного соединения.

В начале с увеличением кислотности исходного раствора экстракция Ме(II) возрастает, а при дальнейшем увеличении постепенно уменьшается, что, очевидно, связано с уменьшением



Таблица 1

## Результаты исследований ИК- и ЯМР-спектроскопии

Реагент	ИК (KBr)	<sup>1</sup> H ЯМР (300,18 МГц, C <sub>6</sub> D <sub>6</sub> )
ДТФ	3470 см <sup>-1</sup> ν(OH), 3050 см <sup>-1</sup> ν(CH), 2580 см <sup>-1</sup> ν(SH), 1580 см <sup>-1</sup> ν(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )	δ 5.48 (s, 1H-OH), δ 3.57 (s, 2H-2SH), δ 7.28 (s, 2H-Ar-H), δ 6.95 (s, 1H-Ar-H)
ДТМФ	3460 см <sup>-1</sup> ν(OH), 3050 см <sup>-1</sup> ν(CH), 2570 см <sup>-1</sup> ν(SH), 2962 и 2872 см <sup>-1</sup> ν(-CH <sub>3</sub> ), 1555 см <sup>-1</sup> δ(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 1390 см <sup>-1</sup> δ <sub>as</sub> (-CH <sub>3</sub> )	δ 5.24 (s, 1H-OH), δ 3.32(s, 2H-2SH), δ 7.11 (s, 2H-Ar-H), δ 2.38 (s, 3H-CH <sub>3</sub> )
ДТЭФ	3460 см <sup>-1</sup> ν(OH), 3050 см <sup>-1</sup> ν(CH), 2575 см <sup>-1</sup> ν(SH), 2965 и 2874 см <sup>-1</sup> ν(-CH <sub>3</sub> ), 1555 см <sup>-1</sup> δ(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 1460 см <sup>-1</sup> δ <sub>as</sub> (-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> )	δ 5.29 (s, 1H-OH), δ 3.38(s, 2H-2SH), δ 7.15 (s, 2H-Ar-H), δ 2.59 (s, 2H-CH <sub>2</sub> -), δ 1.22 (s, 3H-H <sub>3</sub> )
ДТПФ	3465 см <sup>-1</sup> ν(OH), 3050 см <sup>-1</sup> ν(CH), 2572 см <sup>-1</sup> ν(SH), 2950 и 2874 см <sup>-1</sup> ν(-CH <sub>3</sub> ), 1565 см <sup>-1</sup> δ(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 1460 см <sup>-1</sup> δ <sub>as</sub> (-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> )	δ 5.39 (s, 1H-OH), δ 3.42(s, 2H-2SH), δ 7.21 (s, 2H-Ar-H), δ 2.59 (s, 2H-CH <sub>2</sub> -), δ 1.22 (s, 3H-CH <sub>3</sub> )
ДТБФ	3458 см <sup>-1</sup> ν(OH), 2568 см <sup>-1</sup> ν(SH), 3040 см <sup>-1</sup> ν(CH), 1535 см <sup>-1</sup> ν(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 1395 δ(-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )	δ 5.15 (s, 1H-OH), δ 3.28 (s, 2H-2SH), δ 7.05 (s, 2H-Ar-H), δ 1.42 (s, 9H-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )

концентрации ионизованной формы ДФ и, вероятнее всего, в растворе они находятся в недиссоциированном виде. При pH ≥ 9 комплексы практически не экстрагируются, что, видимо, связано с увеличением концентрации в водном растворе неэкстрагирующихся комплексов [Me(ДФ)<sub>2</sub>]<sup>4-</sup> и [Me(ДФ)<sub>3</sub>]<sup>7-</sup>, так как диссоциация ДФ по второй сульфгидрильной группе (pK<sub>2</sub> = 8.36–8.72) продолжает возрастать.

Зависимость оптической плотности от pH представлена на рис. 1. Наличие одного максимума оптической плотности в указанных пределах pH подтверждает предположение об образовании одного комплексного соединения.

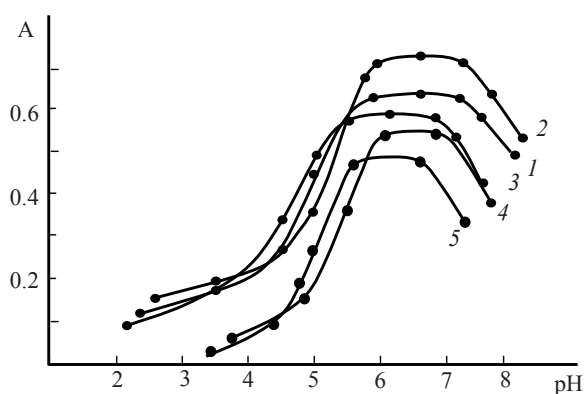


Рис. 1. Зависимость оптической плотности РЛК от pH водной фазы: 1 – Fe(II)-ДММФ-Фен, 2 – Fe(II)-ДММФ-БФен, 3 – Fe(II)-ДММФ –Дип, 4 – Со-ДТПФ-Фен, 5 – Ni – ДТЭФ БФен; C<sub>Fe</sub> = 3.57 × 10<sup>-5</sup> М; C<sub>Со(II)</sub> = 3.38 × 10<sup>-5</sup> М; C<sub>Ni(II)</sub> = 3.44 × 10<sup>-5</sup> М; C<sub>ДФ</sub> = (0,6-0,8) × 10<sup>-3</sup> М; C<sub>Ам</sub> = (0,8-1,2) × 10<sup>-3</sup> М, КФК-2, λ = 490 нм, l = 0,5 см

**Выбор экстрагента.** Для выяснения возможности экстракции РЛК испытаны неводные растворители: хлороформ, 1,2-дихлорэтан,

четырёххлористый углерод, бензол, хлорбензол, толуол, ксилол, изобутанол, изопентанол и диэтиловый эфир и смеси органических растворителей. Наиболее эффективными для извлечения Me(II) в виде РЛК и быстроты достижения равновесия является хлороформ, дихлорэтан и четырёххлористый углерод. За одну экстракцию Me(II) извлекается хлороформом на 98,4–99,6% в виде РЛК. В пределах соединений одного класса экстракционная способность снижается с ростом числа атомов углерода в молекуле растворителя. В зависимости от природы органических растворителей устойчивость и максимум светопоглощения РЛК меняется. Быстрое разделение слоев и максимальное значение молярного коэффициента поглощения получены при экстракции комплексов хлороформом. При этом основность аминов не оказывает заметного влияния на условия и экстракцию комплексов.

**Влияние концентрации лигандов и времени выдерживания.** РЛК Me(II) образуются в присутствии большого избытка комплексообразующих реагентов. Оптимальным условием образования и экстракции этих соединений является (0,6 – 0,8) × 10<sup>-3</sup> моль/л концентрация ДФ и (0,8 – 1,2) × 10<sup>-3</sup> моль/л – Ам. Концентрация ДФ, необходимая для образования и экстракции РЛК, в зависимости от основности аминов не меняется. Изменение концентрации реагентов не изменяет их состава (при pH 5–9). В случае гетероциклических диаминов изменение концентрации Ам приводит к изменению состава РЛК.

РЛК устойчивы в водных и органических растворителях и не разлагаются в течение трех суток, а после экстракции – больше месяца. Максимальная оптическая плотность достигается в течение 5–10 минут. При слабом нагревании (до





30 °С) окраска развивается мгновенно. Нами исследовалась зависимость оптической плотности экстрактов от времени при избытке реагентов и при оптимальном рН.

**Спектры поглощения.** Максимальный аналитический сигнал при комплексообразовании РЛК Me(II) наблюдается при 450–586 нм (рис. 2), где отсутствуют спектры поглощения реагентов, так как они в видимой части спектра не поглощают. ДФ максимально поглощает при 270–280 нм. Таким образом, батохромный сдвиг составляет 176–306 нм. Контрастность реакций высока: исходные реагенты – бесцветны, а комплексы – интенсивно окрашены.

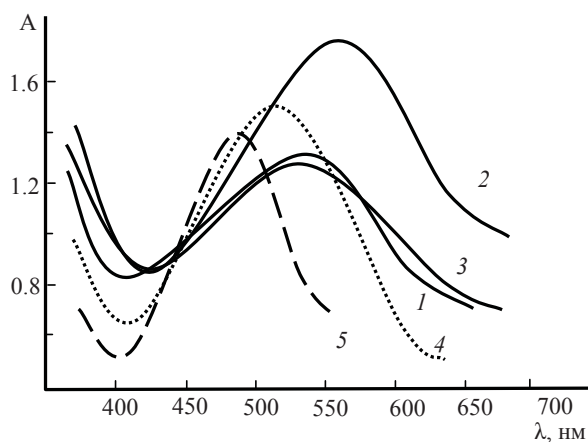


Рис. 2. Спектры светопоглощения РЛК с ДФ и Ам: 1 – Fe(II)-ДМЭФ-Фен, 2 – Fe(II)-ДМЭФ-БФен, 3 – Fe(II)-ДМЭФ-Дип, 4 – Co-ДТМФ-Фен, 5 – Ni – ДТЭФ-Фен;  $C_{Fe} = 3.57 \cdot 10^{-5}$  М;  $C_{Co(II)} = 3.38 \cdot 10^{-5}$  М;  $C_{Ni(II)} = 3.44 \cdot 10^{-5}$  М;  $C_{ДФ} = (0,6-0,8) \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{Am} = (0,8-1,2) \cdot 10^{-3}$  М, КФК-2,  $\lambda = 490$  нм,  $l = 1$  см

**Влияние соотношений объемов фаз.** Степень извлечения М(II) в виде РЛК не зависит от соотношения объемов водной и органической

фаз в широком интервале (от 5 : 5 до 100 : 5), что позволяет проводить одновременное концентрирование и фотометрическое определение Me(II). Таким образом, увеличение объема водной фазы в 20 раз по отношению к органической не оказывает влияния на полноту извлечения.

**Состав комплексов М(II) с дитиолфенолами и гидрофобными аминами.** Стехиометрию исследуемых комплексов устанавливали методом сдвига равновесия и подтвердили методами относительного выхода, прямой линии Асмуса и пересечения кривых [29]. Данные, приведенные на рис. 3, показывают, что в составе РЛК соотношение Me: ДФ : Ам=1:1:2.

Константа протонизации исследованных ароматических диаминов ( $pK_a$ ) в порядке 4.4–4.88 показывает, что в условиях образования и экстракции комплексов ароматические диамины не протонизированы. В условиях образования и экстракции комплексов (рН 5–10) ДФ в растворе может существовать как в виде однозарядного, так и в виде двухзарядного аниона ( $pK_1 = 6.30-6.98$ ;  $pK_2 = 8.36-8.72$ ).

**ИК-спектроскопическое исследование комплексов.** Для выделения комплекса Me-ДФ-Ам в твердом виде к предварительно подготовленному этанольному раствору ДФ добавляли при перемешивании красный этанольный раствор  $[Me(Am)_3]Cl_2$ . Комплекс немедленно осаждался в виде темно-красного порошка, который отфильтровывали, промывали последовательно водой, этанолом и диэтиловым эфиром и высушивали над силикагелем. Сняты ИК-спектры комплексов Fe(II)-ДТМФ-Фен; Co(II)-ДТМФ-Дип и Ni(II)-ДТМФ-Дип. Они сопоставлены с ИК-спектрами ДТМФ, Фен и Дип. В ИК-спектрах комплексов исчезновение ярко выраженной полосы при  $2580 \text{ см}^{-1}$ , наблюдаемое в спектре ДТМФ, и

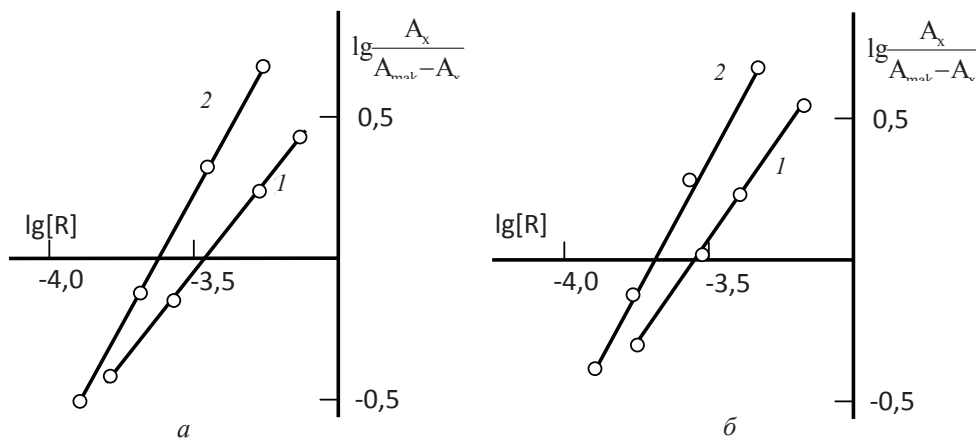


Рис. 3. Определение состава РЛК методом сдвига равновесия для Co-ДТМФ-Фен (а) и Ni-ДТМФ-Дип (б): 1 – Me : ДТМФ; 2 – Me : Ам;  $C_{Co(II)} = 2.035 \cdot 10^{-5}$  М;  $C_{Ni(II)} = 3.44 \cdot 10^{-5}$  М; СФ-26,  $l = 1$  см



появление в спектрах комплексов двух полос поглощения, одна из которых смещена в сторону меньших частот, говорит о том, что одна из сульфгидрильных групп участвует в образовании комплекса. Исчезновение полосы поглощения при  $3460\text{ см}^{-1}$  показывает, что гидроксильная группа принимает участие в образовании связи. Обнаружение полос поглощения при  $1375\text{--}1385\text{ см}^{-1}$  указывает на наличие координированного амина [28, 29]. Предполагается, что в экстрагируемом соединении ионы  $\text{Me(II)}$  связаны основной валентной связью с атомом кислорода, а координационно связаны с атомом серы. В области валентных колебаний C-N и C-S связей колец наблюдается смещение полос  $1585\text{ см}^{-1}$  в молекуле Фен до  $1565\text{ см}^{-1}$  и  $1400\text{--}1385\text{ см}^{-1}$  в комплексах, что указывает на связь металла с азотом.

**Термогравиметрическое исследование комплексов  $\text{Me(II)}$ -ДММФ-Фен.** Термогравиметрическое исследование комплексов показало, что комплексы термически стабильны до  $382^\circ\text{C}$ . Термическое разложение комплекса протекает в две отдельные стадии: при  $405\text{--}560^\circ\text{C}$  разлагается Фен (61.1–61.4% потери массы), а при  $570\text{--}680^\circ\text{C}$ –ДФ (28.8–29.0% потери массы). Конечным продуктом термолиза комплекса является  $\text{Me}_2\text{O}_3$ .

Способность гетероциклических диаминов образовывать комплексные соединения с различными металлами широко используется во многих областях химии и технологии. Применение этих комплексов в анализе обусловлено их специфическими химико-аналитическими свойствами. Сильные лигандные поля и образование обратных  $\pi$ -связей с металлами способствуют высокой термической и термодинамической устойчивости комплексов железа, меди, никеля, кобальта и других металлов, а наличие системы сопряженных связей в молекулах 1,10-фенантролина и 2,2-дипиридила обуславливает глубокую окраску комплексных соединений, что позволяет использовать их в фотометрическом анализе [30].

**Химизм образования РЛК  $\text{Me(II)}$  с дитиолфенолами и гидрофобными аминами.** Для выяснения химизма процесса комплексообразования необходимы сведения о числе протонов, вытесняемых из ФАГ реагента, а также установление формы катиона  $\text{Me(II)}$ , вступающего во взаимодействие с реагентом. При определении реакционной формы  $\text{Me(II)}$  и числа вытесняемых протонов использовали метод Назаренко [31, 32].

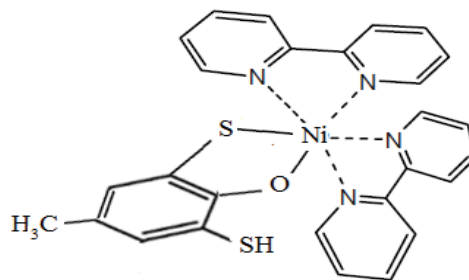
Построенная зависимость  $-\lg B$  от pH с целочисленным значением тангенса угла наклона наблюдается для ионов  $\text{Me}^{2+}$ . Таким образом,

при образовании РЛК координирующим является ион  $\text{Me}^{2+}$ . Поскольку тангенс угла в данном случае равен 1, комплексообразование идет с вытеснением одного протона из одной молекулы ДФ.

Произведенные расчеты показали, что РЛК в органической фазе не полимеризуются и находятся в мономерной форме ( $\gamma=1,02\text{--}1,18$ ) [33].

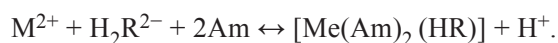
При формировании комплексов образуются пятичленные хелатные циклы. При использовании аммиачного раствора  $\text{Me(II)}$  и ДФ количественно переходят в водную фазу, при этом Ам остаются на дне посуды в виде осадка.

На основании установления соотношения реагирующих компонентов, состояния образующихся комплексов в органической фазе и ИК-спектроскопических исследований, а также литературных данных можно предположить следующую вероятную формулу образующихся экстрагируемых смешаннолигандных РЛК на примере  $\text{Me(ДФ)(Am)}_2$ . Принимая во внимание, что координационное число  $\text{M(II)}$  равно 6, а дентатность лигандов равна 2, предполагаемые структуры октаэдрических комплексов можно представить следующей схемой:



Предложенный состав подтвержден элементным анализом. Содержание Fe, Co и Ni в комплексах определяли после их разложения царской водкой фотометрически, используя фенантролин, 1-нитрозоафтол-2 и диметилглиоксим соответственно.

Реакции образования смешаннолигандных комплексов можно представить следующим образом:



**Химико-аналитические характеристики РЛК  $\text{Me(II)}$  с ДФ и гидрофобными аминами.** Кажущиеся молярные коэффициенты поглощения комплексов  $\text{Me(II)}$ -ДФ-Ам при  $\lambda_{\text{макс}}$  вычислены методом насыщения (по спектрам поглощения). Истинные значения молярных коэффициентов поглощения вычислены методом Комаря. Молярные коэффициенты поглощения комплексов составляют  $\varepsilon = (2,6\text{--}2,8) \times 10^4$ . Для сравнения: молярный коэффициент поглощения

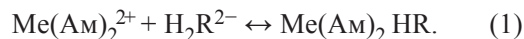


комплекса никеля с традиционно применяемым реагентом на никель – диметилглиоксимом составляет всего  $3.5 \times 10^3$ .

Условные константы устойчивости комплексов рассчитывали, используя метод пересечения кривых [29]. Результаты вычислений представлен в табл. 2. Комплексы металлов с Фен и БФен более прочные и интенсивно окрашенные, чем комплексы с дипиридилем. По-видимому, расширение сопряжения за счет включения еще одного ароматического кольца в случае Фен и БФен создает энергетически более выгодные орбитали для образования обратной  $\pi$ -связи. Наиболее прочные связи в тех случаях, когда один из лигандов имеет свободные или с малой заселенностью низко расположенные орбитали, а второй лиганд является донором электронов.

При расчете константы равновесия экстракцию РЛК представляли как реакцию взаимодей-

ствия между катионным комплексом  $Me(II)$  с гидрофобными аминами и ДФ



Константа равновесия реакции

$$K_p = \frac{\{Me(HR)(AM)_2\}}{[Me^{2+}][AM]^2[HR^{2-}]} \quad (2)$$

Как известно,

$$\frac{\{Me(HR)(AM)_2\}_0}{\{[Me(AM)_2^{2+}]_B\}} = D, \quad (3)$$

$$K_p = \frac{D}{[HR^{2-}]} \quad (4)$$

Прологарифмировав последнее выражение, получим

$$\lg K_p = \lg D - \lg [HR^{2-}]. \quad (5)$$

Величины  $K_p$ , вычисленные по формуле (5), приведены в табл. 2.

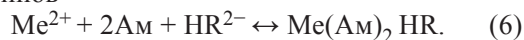
Таблица 2

Основные химико-аналитические характеристики РЛК  $M(II)$  с ДФ и Ам

Соединение	рН		$\lambda$ , нм	$\Delta\lambda$ , нм	$\epsilon \cdot 10^{-4}$	$\lg\beta$	$\lg K_p$	$\lg K_{эк}$
	Образования	Оптимальная						
Fe-ДМФ-Фен	3,8–8,0	5,5–6,8	558	288	3.25	14.68	–	–
Fe-ДМФ-БФен	3,6–7,9	5,3–6,6	565	295	4.05	15.05	–	–
Fe-ДМФ-Дип	3,5–7,6	5,3–6,5	552	282	3.08	14.62	–	–
Fe-ДММФ-Фен	3,8–8,2	5,9–7,2	565	291	3.42	18.46	5.71	21.2
Fe-ДММФ-БФен	3,6–8,1	5,8–7,0	574	300	4.22	18.45	5.86	21.3
Fe-ДММФ-Дип	3,1–7,8	5,7–6,8	562	288	3.15	18.12	–	–
Fe-ДМЭФ-Фен	3,8–7,8	5,8–7,1	572	296	3.60	18.10	5.82	21.1
Fe-ДМЭФ-БФен	3,5–7,6	5,7–6,8	582	306	4.33	17.23	5.94	21.2
Fe-ДМЭФ-Дип	3,4–7,4	5,6–6,6	568	292	3.26	16.79	–	20.4
Fe-ДМБФ-Фен	4,1–8,9	6,0–7,5	580	300	3.91	18.95	5.89	–
Fe-ДМБФ-БФен	4,0–8,8	5,9–7,4	586	306	4.40	19.28	5.96	21.2
Fe-ДМБФ-Дип	3,9–8,7	5,8–7,2	578	298	3.55	17.92	–	–
Co-ДМПФ-Фен	3.0–8.3	5.5–7.1	515	237	3.05	16.36	–	–
Co-ДМБФ-Дип	3.0–8.0	5.2–7.6	520	240	3.17	16.7	6.03	19.9
Co-ДМБФ-Фен	3.2–8.5	5.6–7.8	525	245	3.25	18.4	6.11	20.5
Co-ДМБФ-БФен	3.0–8.6	5.6–7.9	520	240	3.75	19.6	6.15	20.4
Ni-ДММФ-Дип	2.5–8.5	5.4–7.8	450	176	1.75	17.20	–	–
Ni-ДММФ-Фен	2.8–8.8	5.8–8.5	465	191	1.94	17.65	6.15	19.5
Ni-ДММФ-БФен	3.0–9.0	5.9–8.6	475	201	2.53	17.89	–	–
Ni-ДМЭФ-Фен	4.0–8.0	5.5–6.3	465	189	2.15	18.54	–	–
Ni-ДМЭФ-БФен	4.0–8.2	5.6–6.5	475	199	2.83	19.08	6.24	21.05



**Константа экстракции.** При расчетах принимали, что в реакцию вступают непротонированные молекулы гетероциклических диаминов



Величину  $K_{\text{эк}}$  можно рассчитать из уравнения (6):

$$K_{\text{эк}} = \frac{\{[\text{Me}(\text{Am})\text{HR}]\}_o}{\{[\text{Me}^{2+}]\}_в \{[\text{Am}]^2\}_o \{[\text{HR}^{2-}]\}_в}. \quad (7)$$

Концентрацию гетероциклических диаминов находили из уравнения

$$[\text{Am}]_o = \frac{C_{\text{Am}} - C_{\text{к}}}{1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_{\text{и}}}}, \quad (8)$$

где  $C_{\text{Am}}$  – общая концентрация амина, моль/л;  $K_{\text{и}}$  – константа его кислотной ионизации. Концентрацию  $\text{HR}^{2-}$  находили из уравнения

$$[\text{HR}^{2-}]_в = \frac{C_{\text{исх}} - C_{\text{к}} - C_o}{1 + \frac{K_2}{[\text{H}^+]} + \frac{[\text{H}^+]}{K_1}}, \quad (9)$$

где  $C_o$  – концентрация  $\text{HR}^{2-}$  в органической фазе при данном значении pH.

Константы экстракции, вычисленные по формуле (1), приведены в табл. 2.

В табл. 2 приведены основные спектрофотометрические характеристики методики определения  $\text{Me}(\text{II})$ .

**Спектрофотометрическое определение  $\text{Fe}(\text{II})$ ,  $\text{Co}(\text{II})$  и  $\text{Ni}(\text{II})$ .** Применение РЛК во многих случаях приводит к повышению селективности, контрастности реакций, улучшению экстракционных и других свойств. Введение второго реагента часто приводит к улучшению экстракционных свойств комплексов и снижению предела обнаружения. Так, дитизонат никеля очень плохо экстрагируется неводными растворителями. Для полной его экстракции тетрахлоридом углерода требуется примерно 24 ч. Если же ввести третий компонент – Фен или Дип, то комплекс экстрагируется очень быстро, а предел обнаружения никеля снижается в пять раз [34].

Способность гетероциклических диаминов образовывать комплексные соединения с различными металлами широко используется во многих областях химии и технологии. Сильные лигандные поля и образование обратных  $\pi$ -связей с металлами способствуют высокой термической и термодинамической устойчивости комплексов железа, меди, никеля, кобальта и других металлов, а наличие системы сопряженных связей в молекулах 1,10-фенантролина, 4,7-дифенил-1,10-фенантролина и 2,2-дипиридила обуславливает глубокую окраску комплексных соединений, что позволяет использовать их в фотометрическом анализе [30].

Экстракты РЛК  $\text{Me}(\text{II})$  подчиняются основному закону светопоглощения при концентрациях 0.03–4.4 мкг/мл.

Данные, полученные для построения градуировочных графиков, были обработаны методом наименьших квадратов [35]. Уравнение градуировочных графиков приведены в табл. 3. На основании уравнений градуировочных графиков рассчитывали предел фотометрического обнаружения (ПрО) и предел количественного определения (ПрКО)  $\text{Me}(\text{II})$  в виде РЛК. Видно, что с возрастанием угла наклона ( $a$ ) линейных уравнений увеличиваются молярные коэффициенты поглощения комплексов, соответственно увеличивается отрезок оси ординат ( $b$ ), т.е. снижается предел обнаружения  $\text{Me}(\text{II})$  по реакции комплексообразования с ДФ и Ам.

**Влияние посторонних ионов.** Для оценки применимости экстрактов РЛК для разделения и определения  $\text{Me}(\text{II})$  изучено мешающее влияние посторонних ионов. Избирательность спектрофотометрического определения  $\text{Me}(\text{II})$  в виде изученных комплексов представлена в табл. 4–6. Определению  $\text{Me}(\text{II})$  с ДФ и Ам не мешают ионы щелочных, щелочно-земельных элементов и РЗЭ. Мешающее влияние ионов устранено изменением pH среды с помощью маскирующих веществ и применением экстракции. Мешающее влияние  $\text{Nb}(\text{V})$ ,  $\text{Ta}(\text{V})$ ,  $\text{Ti}(\text{IV})$  устранено с повышением pH и с помощью фторид-иона. Мешающее влияние  $\text{Zn}(\text{II})$ ,  $\text{Mn}(\text{II})$ ,  $\text{Co}(\text{II})$ ,  $\text{Ni}(\text{II})$ ,  $\text{Cd}(\text{II})$  и  $\text{Ag}(\text{I})$  при определении железа устраняли осаждением  $\text{Fe}(\text{III})$  аммиаком.

Мешающее влияние  $\text{Ti}(\text{IV})$  – аскорбиновой кислотой,  $\text{Cu}(\text{II})$  – тиомочевинной, а  $\text{Mo}(\text{VI})$  и  $\text{Nb}(\text{V})$  – оксалат-ионом. При использовании 0,01M раствора ЭДТА определению не мешают  $\text{Ti}(\text{IV})$ ,  $\text{V}(\text{IV})$ ,  $\text{Nb}(\text{V})$ ,  $\text{Ta}(\text{V})$ ,  $\text{Mo}(\text{VI})$ . В аммиачно-ацетатном буфере  $\text{Mn}^{2+}$  более прочно связывается с ЭДТА, чем с фенантролином, что и используется для его маскировки при определении  $\text{Ni}$ ,  $\text{Co}$ .

Мешают также анионы-окислители ( $\text{MnO}_4^-$ ,  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  и т. д.) и лиганды, образующие с железом прочные комплексы ( $\text{F}^-$ ,  $\text{Sal}^-$ ,  $\text{SalSO}_3^-$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , комплексон III). Установлено, что цинк в десятикратном количестве мешает при определении железа с ДФ и 1,10-фенантролином. Мешающее влияние  $\text{Zn}$  слабо маскируется небольшим количеством ЭДТА.

Сравнение аналитических возможностей исследованных реагентов и гидрофобных аминов показывает, что контрастность и чувствительность реакции уменьшается в ряду ДМБФ – ДМПФ – ДМЭФ – ДММФ – ДМФ.



Таблица 3

## Аналитические характеристики смешаннолигандных комплексов Me(II) с димеркаптофенолами и Ам

Комплексы	ПрО нг/см <sup>3</sup>	ПрКО нг/см <sup>3</sup>	Чувствительность, нг/см <sup>2</sup>	Линейный диапазон градуировочных графиков, мкг/мл	Уравнение градуировочных графиков
[Fe(ДМФ)(Фен) <sub>2</sub> ]	11	36	1.72	0.03–3.6	0.049+0.265x
[Fe(ДМФ)(БФен) <sub>2</sub> ]	10	33	1.38	0.02–3.8	0.055+0.334x
[Fe(ДМФ)(Дип) <sub>2</sub> ]	11	36	1.81	0.04–3.6	0.042+0.249x
[Fe(ДММФ)(Фен) <sub>2</sub> ]	10	33	1.64	0.03–4.0	0.037+0.286x
[Fe(ДММФ)(БФен) <sub>2</sub> ]	9	30	1.32	0.03–4.2	0.045+0.354x
[Fe(ДММФ)(Дип) <sub>2</sub> ]	10	33	1.77	0.05–3.6	0,025+0,315x
[Fe(ДМЭФ)(Фен) <sub>2</sub> ]	10	33	1.55	0.04–3.8	0.045+0.230x
[Fe(ДМЭФ)(БФен) <sub>2</sub> ]	9	30	1.29	0.03–4.2	0.071+0.351x
[Fe(ДМЭФ)(Дип) <sub>2</sub> ]	10	33	1.72	0.04–4.0	0.063+0.260x
[Fe(ДМБФ)(Фен) <sub>2</sub> ]	9	30	1.43	0.03–4.2	0.045+0.326x
[Fe(ДМБФ)(БФен) <sub>2</sub> ]	8	28	1.27	0.02–4.4	0.059+0.363x
[Fe(ДМБФ)(Дип) <sub>2</sub> ]	9	31	1.58	0.05–4.0	0.065+0.285x
[Co(ДМПФ) <sub>2</sub> (Фен) <sub>2</sub> ]	12	39	1.93	0.05–2.8	0.028+0.141x
[Co(ДМБФ)(Дип) <sub>2</sub> ]	12	39	1.86	0.05–2.8	0.051+0.135x
[Co(ДМБФ)(Фен) <sub>2</sub> ]	10	33	1.81	0.05–3.0	0.046+0.165x
[Co(ДМБФ)(БФен) <sub>2</sub> ]	9	31	1.57	0.04–3.2	0.050+0.166x
[Ni(ДММФ)(Дип) <sub>2</sub> ]	13	42	3.31	0.2–2.4	0.047+0.127x
[Ni(ДММФ)(Фен) <sub>2</sub> ]	13	45	2.98	0.1–2.8	0.038+0.148x
[Ni(ДММФ)(БФен) <sub>2</sub> ]	10	33	2.92	0.1–2.8	0.078+0.179x
[Ni(ДМЭФ)(Фен) <sub>2</sub> ]	11	36	2.69	0.1–2.8	0.026+0.159x
[Ni(ДМЭФ)(БФен) <sub>2</sub> ]	10	33	2.05	0.1–3.0	0.037+0.226x

Таблица 4

## Влияние посторонних ионов на определение железа с ДМБФ и Фен (n=6, P=0,95 (взято 50 мкг Fe(II)))

Ион	Мольный избыток иона	Маскирующий реагент	Найдено, мкг (S <sub>r</sub> )
Co(II)	50	–	50,0(0,04)
Ni(II)	50	–	49,8(0,02)
Cd(II)	200	–	49,5(0,04)
Bi(III)	200	–	50,2(0,02)
Cu(II)	20	Тиомочевина	49,2(0,04)
Zr(IV)	50	–	49,8(0,03)
W(VI)	25	Щавелевая кислота	49,6(0,05)
Hg(II)	40	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	50,3(0,05)
Ti(IV)	30	–	49,8(0,03)
V(IV)	20	–	50,6(0,03)
Mo(VI)	15	Фторид натрия	49,4(0,04)
Cr(III)	120	–	49,5(0,06)
Nb(V)	50	Фторид натрия	50,2(0,04)
Ta(V)	50	Фторид натрия	49,6(0,06)
UO <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	50	Ацетилацетон	49,2(0,03)
Салициловая кислота	50	–	50,5(0,03)
Сульфосалициловая кислота	45	–	49,2(0,04)
Тиомочевина	25	–	50,8(0,06)



Таблица 5

Влияние посторонних ионов на определение кобальта с ДМБФ и Дип (взято 30 мкг Co(II),  $n = 3$ ,  $P = 0,95$ )

Ион	Мольный избыток иона	Маскирующий реагент	Найдено, мкг ( $S_p$ )
Ni(II)	50	–	29,8(0,02)
Fe(II)	200	–	29,8(0,05)
Cd(II)	200	–	30,3(0,02)
Al(III)	180	–	29,6(0,04)
Fe(III)	60	Аскорбиновая кислота	30,2(0,05)
Zr(IV)	50	–	29,8(0,03)
Cu(II)	25	Тиомочевина	30,1(0,02)
Hg(II)	40	–	30,2(0,05)
Ti(IV)	30	Аскорбиновая кислота	29,8(0,02)
V(IV)	20	–	29,6(0,02)
Mo(VI)	10	ЭДТА	30,4(0,03)
Cr(III)	120	–	29,8(0,02)
Nb(V)	50	$C_2O_4^{2-}$	29,8(0,05)
Ta(V)	50	Аскорбиновая кислота	29,7(0,05)
$UO_2^{2+}$	50	–	30,2(0,02)
Салициловая кислота	75	–	30,4(0,03)
Сульфосалициловая кислота	60	–	29,8(0,02)
Тиомочевина	40	–	29,8(0,05)

Таблица 6

Влияние посторонних ионов на определение никеля(II) с ДМЭФ и БФен (взято 30 мкг Ni(II),  $n = 3$ ,  $P = 0,95$ )

Ион	Мольный избыток иона	Маскирующий реагент	Найдено, мкг ( $S_p$ )
Co(II)	50	–	30,2(0,02)
Fe(II)	200	–	29,8(0,03)
Cd(II)	200	–	30,3(0,04)
Al(III)	180	–	29,6(0,03)
Fe(III)	60	Аскорбиновая кислота	30,2(0,05)
Zr(IV)	50	–	29,8(0,03)
Cu(II)	25	Тиомочевина	30,1(0,05)
Hg(II)	40	–	30,2(0,05)
Ti(IV)	30	Аскорбиновая кислота	29,8(0,04)
V(IV)	20	–	29,6(0,03)
Mo(VI)	10	ЭДТА	30,4(0,04)
Cr(III)	120	–	29,8(0,04)
Nb(V)	50	$C_2O_4^{2-}$	29,8(0,04)
Ta(V)	50	Аскорбиновая кислота	29,7(0,05)
$UO_2^{2+}$	50	–	30,2(0,04)
Салициловая кислота	70	–	29,8(0,04)
Сульфосалициловая кислота	60	–	30,1(0,05)
Тиомочевина	45	–	29,6(0,03)



**Сопоставление методов определения Me(II) с известными реагентами и ДФ в присутствии аминов.** В табл. 7–9 приведены данные, позволяющие сравнить аналитические характеристики разработанных нами фотометрических методик определения Me(II) с некоторыми уже известными методиками.

Результаты исследований образования и экстракции РЛК Me(II) с ДФ и гетероциклическими диаминами, физико-химические и аналитические характеристики этих соединений послужили основой для разработки новых методик экстракционно-фотометрического определения Me(II) в различных природных и промышленных материалах.

Таблица 7

Сравнительные характеристики методик определения железа

Реагент	pH (растворитель)	$\lambda$ , нм	$\epsilon \cdot 10^{-4}$
Галловая кислота+анилин [36]	4–5 (n-амиловый спирт)	560	0,44
Сульфосалициловая кислота [3]	1,2	528	0,38
Фенантролин [25]	2–9 (изоамиловый спирт)	512	1,1
Батофенантролин [2]	4–7(хлороформ-этанол)	533	2,24
ДММФ+Дип	5,7–6,8 (хлороформ)	562	3.15
ДМБФ+Фен	6,0–7,5 (хлороформ)	580	3.91
ДМБФ+Бфен	5,9–7,4 (хлороформ)	586	4.40

Таблица 8

Сравнительные характеристики методик определения кобальта в хлороформе

Реагент	pH	$\lambda$ , нм	$\epsilon \cdot 10^{-4}$	Бер
1-нитрознафтол-2	pH $\geq$ 3	415	2,9	–
Нитрозо R-соль	Слабокислая	500	1,5	–
1-окси-2-нафтойная кислота+анилин [37]	6–8	575	1.08	0.0125–5.5
Бромпиригаллол красный [38]	2.0	575	1.08	0.25–110
ДМПФ-Фен	5.5–7.1	515	3.05	0.05–2.8
ДМБФ-Дип	5.2–7.6	520	3.17	0.05–2.8
ДМБФ-Фен	5.6–7.8	525	3.25	0.05–3.0
ДМБФ-БФен	5.6–7.9	520	3.75	0.04–3.2

Таблица 9

Сравнительные характеристики методик определения никеля(II)

Реагент	pH	$\lambda_{\max}$	$\epsilon$	Бер
Диметилглиоксим [39]	12	470	–	0.26–2.1
N-этил-3-карбазолекарбоксальдегид-3-тиосемикарбазон [40]	6.0	400	1.114	–
7-Метил-2-хлорхинолин-3-карбальдегид-тиосемикарбазон [41]	6.0	410	$1.67 \times 10^2$	–
Тиазол-2-карбальдегид-2-хинолилгидразон [42]	8.7–9.5	522	$7.17 \times 10^4$	0–0.7
Пиридоксал-4-фенил-3-тиосемикарбазон [43]	4-6	430	1.92	0.5–5
4-4-Гидроксibenзальдегид-4-бромфенилгидразин [44]	4	497	12.85	0.01-0.1
ДМЭФ-Фен	5.5–6.3	465	2.15	0.1–2.8
ДМЭФ-БФен	5.6–6.5	475	2.83	0.1–3.0

**Определение железа в почвах.** Навеску, тонко растертую в агатовой ступке (0,5–1.0 г), прокаливали в муфельной печи в течение 3 час. После охлаждения навеску обрабатывали и растворяли в графитовой чашке при температуре 50–60 °С смесью 16 мл конц. HF, 5 мл конц. HNO<sub>3</sub>

и 15 мл конц. HCl. С целью удаления избытка фтороводорода 3 раза добавляли в раствор по 8 мл конц. HNO<sub>3</sub> и выпаривали каждый раз до 5–6 мл. После этого раствор переводили в мерную колбу объемом 100 мл и объем доводили до метки дистиллированной водой. Отбирали алик-



вотную часть полученного раствора, переносили в делительную воронку, добавляли 1 М КОН до получения pH 6 и 2.0 мл 0,01 М ДММФ. После тщательного перемешивания прибавляли 2.5 мл 0,01 М Ам. Объем органической фазы доводили до 5 мл хлороформом, а общий объем – до 25 мл дистиллированной водой. Смесь встряхивали в течение 5 мин. После расслаивания фаз светопоглощение экстрактов измеряли на КФК-2 при

540 нм в кювете с толщиной 0.5 см. Содержание железа находили по градуировочному графику.

Полученные результаты представлены в табл. 10 и сопоставлены с данными анализа с широкоприменяемыми фотометрическими методами (роданидом и сульфосалициловой кислотой) и атомно-абсорбционным методом (ААС). Результаты предлагаемой методики и ААС хорошо согласуются между собой.

Таблица 10

Результаты определения железа в почве ( $n = 6, P = 0,95$ )

Метод	$\bar{X} \%$	$S$	$S_r$	$\bar{X} \pm \frac{t_p \cdot S}{\sqrt{n}}$
ААС	$2,72 \cdot 10^{-2}$	0,00204	0,075	$(2,72 \pm 0,21) \cdot 10^{-2}$
Роданидный	$2,71 \cdot 10^{-2}$	0,00191	0,070	$(2,71 \pm 0,20) \cdot 10^{-2}$
ДММФ+Фен	$2,67 \cdot 10^{-2}$	0,00121	0,045	$(2,67 \pm 0,12) \cdot 10^{-2}$
ДММФ+БФен	$2,70 \cdot 10^{-2}$	0,00112	0,041	$(2,70 \pm 0,12) \cdot 10^{-2}$

**Определение железа(III) в фруктах.** Навеску образца фруктов массой 200 г после высушивания помещают в графитовую чашку, сжигают в муфельной печи при 550–750 °С до полного разложения органических веществ. Полученную золу растворяют в смеси 15 мл HCl и 5 мл HNO<sub>3</sub> в чашке из стеклоуглерода и обрабатывают три

раза 4–5 мл HCl при 60–70 °С до полной отгонки оксидов азота. Далее смесь растворяют в дистиллированной воде, фильтруют в колбе емкостью 100 мл и разбавляют до метки. В аликвотной части определяли содержание железа с ДФ и Ам. Результаты определения представлены в табл. 11.

Таблица 11

Результаты определения железа(II) в фруктах ( $n = 6, P = 0,95$ )

Объект анализа	Методика	Найдено в образце, мг/кг	$S$	$S_r$	$\bar{X} \pm \frac{t_p \cdot S}{\sqrt{n}}$
Вишня	Сульфосалициловая кислота	5.2	0.14	0.024	$5.2 \pm 0.07$
	8-меркаптохиолин	5.3	0.13	0.023	$5.3 \pm 0.05$
	ДММФ+Фен	5,1	0.09	0.014	$5.1 \pm 0.09$
	ДМЭФ+БФен	5.2	0.10	0.016	$5.2 \pm 0.08$
Белая черешня	Сульфосалициловая кислота	14.0	0.06	0.031	$1.9 \pm 0.063$
	8-меркаптохиолин	14.2	0.05	0.025	$2.1 \pm 0.052$
	ДМЭФ+БФен	13.8	0.03	0.015	$2.2 \pm 0.031$
	ДММФ+Дип	13.9	0.03	0.014	$2.1 \pm 0.031$
Красная черешня	Сульфосалициловая кислота	20.4	0.714	0.035	$20.4 \pm 0.75$
	Сульфосалициловая кислота	19.5	0.565	0.029	$19.5 \pm 0.59$
	ДМЭФ+БФен	20.2	0.727	0.036	$20.2 \pm 0.76$
	ДММФ+Дип	19.8	0.693	0.035	$19.8 \pm 0.73$
Клубника	Сульфосалициловая кислота	11.6	0.475	0.041	$11.6 \pm 0.50$
	8-меркаптохиолин	11.4	0.408	0.035	$11.4 \pm 0.42$
	ДМЭФ+БФен	11.3	0.282	0.025	$11.3 \pm 0.29$
	ДММФ+Дип	11.5	0.333	0.029	$11.5 \pm 0.35$
Шиповник	Сульфосалициловая кислота	13.0	0.403	0.031	$13.0 \pm 0.42$
	ДМЭФ+БФен	14.1	0.357	0.025	$14.1 \pm 0.37$
Земляника	Сульфосалициловая кислота	12.0	0.348	0.029	$12.0 \pm 0.37$
	ДМЭФ+БФен	11.3	0.495	0.045	$11.3 \pm 0.52$





**Определение кобальта(II) и никеля(II) в сточных водах.** Для анализа взяли 1 л сточной воды, выпарили до получения осадка, не доводя до кипения. Осадок растворили в 5 мл  $\text{HNO}_3$ ,

перевели в колбу емк. 50 мл и разбавили водой до метки. В аликвотной части определяли содержание  $\text{Co(II)}$  и  $\text{Ni(II)}$  с ДМБФ и Фен. Результаты определения представлены в табл. 12.

Таблица 12

Результаты определения кобальта(II) и никеля(II) в сточных водах и донных отложениях ( $n = 6, P = 0.95$ )

Объект анализа		Введено мг/л	Найдено, мг/кг		$S_r$
			С добавкой	$\bar{x} \pm \frac{t_p \cdot S}{\sqrt{n}}$	
Определение кобальта					
Сточная вода	Проба 1	2.0	2.45	0.45±0.05	0.07
	Проба 2	5.0	6.14	1.14±0.11	0.08
Донные отложения	Проба 1	5	6.26	1.26±0.05	0.06
	Проба 2	5	6.92	1.92±0.04	0.07
Определение никеля					
Сточная вода	Проба 1	2.0	2.55	0.55±0.05	0.10
	Проба 2	5.0	6.64	1.64±0.12	0.07
Донные отложения	Проба 1	2.0	3.46	1.46±0.07	0.08
	Проба 2	5.0	6.25	2.25±0.04	0.09

**Определение кобальта(II) и никеля(II) в растениях.** Надежный контроль содержания  $\text{Co(II)}$  и  $\text{Ni(II)}$  в биологических материалах важен

в связи с его высокой биологической активностью. Навеску растений разложили по методике [45]. Результаты определения представлены в табл. 13.

Таблица 13

Результаты определения кобальта(II) и никеля(II) в растениях ( $n = 6, P = 0.95$ )

Методика		Найдено в образце, мг/кг	S	$S_r$	$\bar{x} \pm \frac{t_p \cdot S}{\sqrt{n}}$
Результаты определения кобальта(II)					
Фасоль	1-нитрозонафтол-2	0.20	0.0048	0.024	0.20±0.005
	8-меркаптохинолин	0.19	0.0044	0.023	0.19 ±0.005
	ДММФ+Фен	0,18	0.0034	0.019	0.18±0.004
	ДМБФ+Фен	0.20	0.0032	0.016	0.32±0.003
Горох	1-нитрозонафтол-2	0.11	0.0038	0.035	0.11±0.0040
	8-меркаптохинолин	0.12	0.0046	0.038	0.12±0.0048
	ДМБФ+БФен	0.12	0.0031	0.026	0.12±0.0033
	ДМБФ+Дип	0.11	0.0053	0.048	0.11±0.0055
Результаты определения никеля(II)					
Фасоль	Диметилглиоксим	1.68	0.059	0.035	1.68 ±0.062
	8-меркаптохинолин	1.65	0.041	0.025	1.65 ±0.043
	ДММФ+Дип	1,71	0.048	0.028	1.71±0.050
	ДММФ+Фен	1.66	0.043	0.026	1.66±0.045
Горох	Диметилглиоксим	2.46	0.110	0.045	2.46±0.116
	8-меркаптохинолин	2.35	0.090	0.039	2.35±0.096
	ДТМФ+Фен <sub>3</sub>	2.28	0.088	0.039	2.28±0.093
	ДТМФ+БФен	2.39	0.081	0.034	2.39±0.085
Овес	Диметилглиоксим	0.43	0.0198	0.046	0.43±0.021
	8-меркаптохинолин	0.46	0.0133	0.029	0.46±0.014
	ДММФ+Дип	0.42	0.0172	0.041	0.42±0.018
	ДМЭФ+Фен	0.47	0.0136	0.029	0.47±0.014



## Выводы

Физико-химическими методами исследовано комплексобразование Fe(II, III), Co(II) и Ni(II) с димеркаптофенолами (2, 6- димеркаптофенол, 2,6- димеркапто-4-метилфенол, 2,6- димеркапто-4-этилфенол, 2,6- димеркапто-4-пропилфенол и 2,6-димеркапто-4-трет-бутилфенол) и гидрофобными аминами. В качестве гидрофобного амина использованы гетероциклические диаминны: 1,10-фенантролин, 2,2'-дипиридил и 4,7-дифенил-1,10-фенантролин (батифенантролин).

Взаимодействие Me(II) с ДФ и аминами и извлечение (выход РЛК) их в органическую фазу максимален при pH 5.2–8.6. За одну экстракцию Me(II) извлекается хлороформом на 98,4–99,6% в виде РЛК. Оптимальным условием образования и экстракции этих соединений является  $(0.6–0.8) \cdot 10^{-3}$  моль/л концентрация ДФ и  $(0.8–1.2) \cdot 10^{-3}$  моль/л – Ам.

Максимальный аналитический сигнал при комплексобразовании РЛК М(II) наблюдается при 450–586 нм, в составе РЛК соотношение Me : ДФ : Ам = 1:1:2.

Результаты исследований образования и экстракции РЛК Me(II) с ДФ и гетероциклическими диаминами, физико-химические и аналитические характеристики этих соединений послужили основой для разработки новых методик экстракционно-фотометрического определения Me(II) в различных природных и промышленных материалах.

## Список литературы

1. Скурихин И. М. Методы анализа пищевых продуктов // Проблемы аналитической химии. Т. VIII. М. : Наука, 1988. С. 132.
2. Садовникова Л. К., Орлов Д. С., Лозановская И. Н. Экология и охрана окружающей среды при химическом загрязнении. М. : Высш. шк., 2006. 334 с.
3. Марченко З., Бальцежаск М. К. Методы спектрофотометрии в УФ и видимой областях в неорганическом анализе. М. : Бинوم. Лаборатория знаний, 2007. 711 с.
4. Умланд Ф., Янсен А., Тириг Д., Вюни Г. Комплексные соединения в аналитической химии. М. : Мир, 1975. С. 286.
5. Коломиец Л. Л., Пилипенко Л. А., Жмудь И. М., Панфилова И. П. Использование производной спектрофотометрии для избирательного определения никеля, кобальта, меди и железа(III) 4-(2-пиридилазорезорцином) в бинарных смесях // Журн. аналит. химии. 1999. Т. 54, № 1. С. 34–36
6. Safavi A., Mir M., Abdollahi H. Simultaneous spectrophotometric determination of iron, titanium and aluminium by partial least-squares calibration method in micellar medium // J. Anal. lett. 2003. Vol. 36, № 3. P. 699–717.
7. Рустамов Н. Х., Алиева А. А., Агамалиева М. М. Экстракционно-фотометрическое определение железа(III) с ароматическими диаминами и динитробензолазосалициловой кислотой // Журн. хим. проблем. 2003. № 2. С. 83–86.
8. Алиева А. А., Мамедова М. Ф., Чырагов Ф. М. Спектрофотометрическое определение железа(III) с бис-[2,3,4]-тригидроксифенилазобензидином и гидрофобными аминами в виде разнолигандных комплексов // Вестн. БГУ. 2006. № 2. С. 35–39.
9. Пешкова В. М., Совостина В. М. Аналитическая химия никеля. М. : Наука, 1966. 200 с.
10. Рустамов Н. Х., Керимова А. А. Экстракционно-фотометрическое определение железа (III) с гетероциклическими диаминами и азопроизводными салициловой кислоты // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2009. Т. 75. № 5. С. 3–8.
11. Нагиев Х. Д., Еспанди Ф., Алиева Р. А. Определение микроколичеств железа в фруктах // Аналитика и контроль. 2013. Т. 17, № 1. С. 107–111.
12. Пятницкий И. В., Трочинская Г. Н. Смешанные фенантролин-тиосалицилатные комплексы железа, кобальта, никеля и меди в водных растворах // Журн. аналит. химии. 1973. Т. 28, № 4. С. 643–647.
13. Пятницкий И. В., Трочинская Г. Н. Экстракция смешанных фенантролин-тиосалицилатных комплексов железа(II), кобальта и никеля // Журн. аналит. химии. 1973. Т. 28, № 4. С. 704–708.
14. Мигаль П. К., Гэрбелеу А. П., Тюникова А. П. Спектрофотометрическое исследование равновесия реакций комплексобразования в тройных системах железа(III) – 5-нитросалициловая кислота- $\alpha$ -аминокислота в водном растворе // Журн. неорг. химии. 1981. Т. 26, № 7. С. 1826–1831.
15. Самарина Т. О., Иванов В. М., Фигуровская В. Н. Оптические и цвето-метрические характеристики комплексов переходных металлов с 1-нитрозо-2-нафтол-3,6-дисульфокислотой в присутствии поверхностно-активных веществ // Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67, № 4. С. 364.
16. Рустамов Н. Х., Багбанлы С. И., Рустамова У. Н. Экстракционно-фотометрическое определение кобальта(II) с ароматическими диаминами и 2,4-динитробензолазопирокатехином // Азербайдж. хим. журн. 2013. № 4. С. 35–43.
17. Рустамов Н. Х., Мустафаев Н. М. Разнолигандный комплекс никеля с 2,2-дипиридиллом и динитробензолазосалицилоой кислотой // Органические реагенты в аналитической химии : 7-я Всерос. конф. : тез. докл. Саратов, 1999. С. 151.
18. Haji-Shabani A. M., Dadfarnia S., Shahbaazi Z., Jafari A. A. Extraction-spectrophotometric determination of nickel at microgram level in water and wastewater using 2-[(2-mercaptophenylimino)methyl]phenol // Bull. Chem. Soc. Ethiop. 2008. Vol. 22, № 3. P. 323–329.
19. Zalov A. Z., Gavazov K. B. Extractive Spectrophotometric



- Determination of Nickel with 2-hydroxy-5-iodothiophenol and Diphenylguanidine // Chem. J. 2014. Vol. 04, № 5. P. 20–25.
20. Кулиев К. А., Вердизаде Н. А. Спектрофотометрическое исследование комплексов никеля (II) с 2,6-дителиол-4-этилфенолом и гетероциклическими диаминами // Kost-2015 : Book of abstracts. Intern. Congr. on Heterocyclic Chem. M., 2015. С. 457.
21. Булдакова Н. С., Корнев В. И., Кропачева Т. Н. Моделирование равновесий в водных растворах солей никеля(II) в присутствии 2,2'-дипиридила // Вестн. Удмурт. ун-та. 2012. Физика. Химия. № 4. С. 75–81.
22. Корнев В. И., Семенова М. Г., Меркулов Д. А. Одно- и смешаннолигандные комплексы кобальта (II) и никеля (II) с нитрилотриуксусной кислотой и дикарбоновыми кислотами // Координац. химия. 2009. Т. 35, № 7. С. 527–534.
23. Домина Г. А., Потапов А. С., Хлебников А. И., Цзидэ Ван. Синтез комплексов 1,3-бис (пирозол-1-ил)пропанов с ионами переходных металлов // Ползуновский вестн. 2008. № 3. С. 10–13.
24. Нгуен Ван, Страшинов П. В., Ковальчукова О. В. Успехи синтеза и комплексообразования : Третья Всерос. науч. конф. (с междунар. участием), посвящ. 55-летию РУДН. М., 2014. Ч. 2. С. 132.
25. Жаманбаева М. К., Абилова М. У., Мусабекова А. А., Шалдыбаева А. М. ИК-Спектроскопическое исследование комплексов никеля с 2,2-дипиридилом и лимонной кислотой // Вестн. КазНУ. Сер. хим. 2012. № 1 (65). С. 58–61.
26. А. с. 595304. 2,6-димеркапто-4-трет-бутилфенол как ингибитор окисления углеводов / Фарзалиев В. М., Кулиев Ф. А., Джафарова Н. А. Опубл. 28.02.78.
27. Иоффе Б. В., Костиков Р. Р., Разин В. В. Физические методы определения строения органических соединений. М. : Высш. шк., 1984. 336 с.
28. Анисимова Н. А. Идентификация органических соединений. Горно-Алтайск : РИО Горно.-Алт. госун-та, 2009. 118 с.
29. Пилипенко А. Т., Фалендыш Е. Р. Химико-аналитические свойства комплексов металлов с азотсодержащими лигандами типа 2,2'-дипиридила // Успехи химии. 1972. Т. 51, № 11. С. 2094.
30. Булатов М. И., Калинин И. П. Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа. Л. : Химия. Ленингр. отд-ние, 1986. 432 с.
31. Назаренко В. А., Бирюк Е. А. Исследование химизма реакций ионов многовалентных элементов с органическими реагентами // Журн. аналит. химии. 1967. Т. 22, № 1. С. 57–64.
32. Назаренко В. А. Взаимодействие ионов многовалентных элементов с органическими реагентами // Тр. комис. по аналит. химии АН СССР. М. : Наука, 1969. Т. 17. С. 22.
33. Ахмедли М. К., Клыгин А. Е., Иванова Л. И., Баширов Э. А. О химизме взаимодействия ионов галлия с некоторыми сульфоталейнами // Журн. неорг. химии. 1974. Т. 19, № 8. С. 2007.
34. Пилипенко А. Т., Тананайко М. М. Разнолигандные и разнометалльные комплексы и их применение в аналитической химии. М. : Химия, 1983. 221 с.
35. Дорохова Е. Н., Прохорова Г. В. Аналитическая химия (физико-химические методы анализа). М. : Высш. шк., 1991. 250 с.
36. Ализаде Т. Д., Гамидзаде Г. А., Ганиева Е. М. Разнолигандные комплексы железа(III) с галловой кислотой и анилином. Экстракционно-фотометрическое определение железа // Журн. аналит. химии. 1978. Т. 33, № 2. С. 332–335.
37. Салахова Ф. И. Спектрофотометрическое исследование комплексообразования кобальта с 1-окси-2-нафтойной кислотой и анилином // Азербайдж. хим. журн. 2011. № 4. С. 184–190.
38. Sharp G. A., Soomro G. A. Spectrophotometric determination of cobalt (II) as complexes with brompirogallol red in micellar media // J. Chem. Soc. Pak. 2006. Vol. 22, № 5. P. 444–447.
39. Yoshikuni N., Baba T., Tsunoda N., Oguma K. Aqueous two-phase extraction of nickel dimethylglyoximate complex and its application to spectrophotometric determination of nickel in stainless steel // Talanta. 2005. Vol. 66, № 1. P. 40–44.
40. Ramachandriah C., Kumar J. R., Reddy K. J. Development of a highly sensitive extractive spectrophotometric method for the determination of nickel(II) from environmental matrices using N-ethyl-3-carbazolecarboxaldehyde-3-thiosemicarbazone // J. Environ Manage. 2008. Vol. 88, № 4. P. 729–736.
41. Jadhav V. A., Kulkarni M. U. 7-Methyl-2-chloroquinoline-3-carbaldehyde thiosemicarbazone analytical reagent for copper, cobalt and nickel(II) // J. Indian Chem. Soc. 1992. Vol. 69. P. 287–288.
42. Otomo M., Watanabe T., Moriya M. Solvent Extraction and Spectrophotometric Determination of Nickel (II) with Thiazole-2-carbaldehyde 2-Quinolyhydrazone // Analyt. Sci. 1986. Vol. 2, № 6. P. 549–552.
43. Sarma L. S., Kumar J. R., Reddy K. J. Development of highly sensitive extractive spectrophotometric determination of nickel(II) in medicinal leaves, soil, industrial effluents and standard alloy samples using pyridoxal-4-phenyl-3-thiosemicarbazone // J. of Trace Elements in Med. and Biol. 2008. Vol. 22. P. 285–295.
44. Rekha D., Kumar J. D., Jayaraj B. Nickel(II) Determination by Spectrophotometry Coupled with Preconcentration Technique in Water and Alloy Samples // Bull. Korean Chem. Soc. 2007. Vol. 28, № 3. P. 373–378.
45. Минеев В. Г., Сычев В. Г., Амельянчик О. А., Большеева Т. Н., Гомонова Н. Ф., Дурынина Е. П., Егоров В. С., Егорова Е. В., Едемская Н. Л., Карпова Е. А., Прижукова В. Г. Практикум по агрохимии : учеб. пособие. 2-е изд., перераб. и доп. / под ред. акад. РАСХН В. Г. Минеева. М. : Изд-во МГУ, 2001. 689 с.



**Synthesis and Structure Mixedligand Complexes of Fe, Co and Ni with Dimerkaptophenols and Heterocyclic Diamines**

**N. A. Verdizadeh, K. A. Kuliev**

Naila A. Verdizadeh, Azerbaijan State Pedagogical University, 68, Uzeir Hajibekov Str., Baku, 370000, Azerbaijan, kerim.kuliev.69@mail.ru

Kerim A. Kuliyeu, Azerbaijan State Pedagogical University, 68, Uzeir Hajibekov Str., Baku, 370000, Azerbaijan, kerim.kuliev.69@mail.ru

Physico-chemical methods investigated complexing Fe (II, III), Co (II) and Ni (II) with dimerkaptophenols (2,6-dimerkaptophenol, 2,6-dimercapto-4-methylphenol, 2,6-dimercapto-4-ethylphenol, 2,6-dimercapto-4-propylphenol and 2,6-dimercapto-4-tert-butylphenol), and hydrophobic amines. The hydrophobic amine were used as heterocyclic diamine-1,10-phenanthroline, 2,2'-bipyridyl and 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline (batofenantrolin). The optimal conditions for the formation and extraction mixedligand complexes and set the ratio of the components in the complexes. Developed photometric methods for determination Fe (II, III), Co (II) and Ni (II) in various objects. The proposed techniques are characterized by good reproducibility and low detection limits.

**Key words:** ferrum, cobalt, nickel, dimerkaptophenol, heterocyclic diamines, photometric method.

**Образец для цитирования:**

Вердизаде Н. А., Кулиев К. А. Синтез и строение смешаннолигандных комплексов Fe, Co и Ni с димеркаптофенолами и гетероциклическими аминами // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 247–262. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-247-262.

**Cite this article as:**

Verdizadeh N. A., Kuliev K. A. Synthesis and Structure Mixedligand Complexes of Fe, Co and Ni with Dimerkaptophenols and Heterocyclic Diamines. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 247–262 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-247-262.



УДК 547.796.1+547.791.9

## ИССЛЕДОВАНИЕ СТРОЕНИЯ И ПУТЕЙ ОБРАЗОВАНИЯ ИЗОМЕРНЫХ ТИЕНИЛЗАМЕЩЕННЫХ ТРИАЗОЛОГЕКСАГИДРОХИНАЗОЛИНОВ МЕТОДАМИ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ И ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ



Н. О. Василькова, С. В. Брудник, А. П. Кривенько

Василькова Наталья Олеговна, ассистент кафедры органической и биоорганической химии, Институт химии Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: vasilkovano@mail.ru

Брудник Сергей Витальевич, студент Института химии Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: sbrud@mail.ru

Кривенько Адель Павловна, профессор кафедры органической и биоорганической химии, Институт химии Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, доктор химических наук. E-mail: krivenko@info.sgu.ru

При трехкомпонентной конденсации тиофенкарбальдегида, циклогексанона и 3-амино-1,2,4-триазола образуются триазологексагидрохиназолины, изомерные по типу сочленения колец и положению в них двойной связи, строение которых установлено спектрами ЯМР  $^1\text{H}$ . С помощью GC-EI-MS -анализа состава реакционной массы при различных температурах установлено, что интермедиатом при образовании конечных продуктов является азометин (вместо возможного  $\alpha,\beta$ -непредельного кетона).

**Ключевые слова:** триазологексагидрохиназолины, трехкомпонентный синтез, маршрут реакции, хромато-масс-спектрометрия, спектры ЯМР.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-263-266

Разработка способов получения, изучение строения, свойств и механизмов образования азолахиназолинов являются актуальными проблемами, решение которых включает открытие новых химических реакций, имеет практическое значение для направленного синтеза, создания новых биологически активных соединений и технических материалов [1, 2].

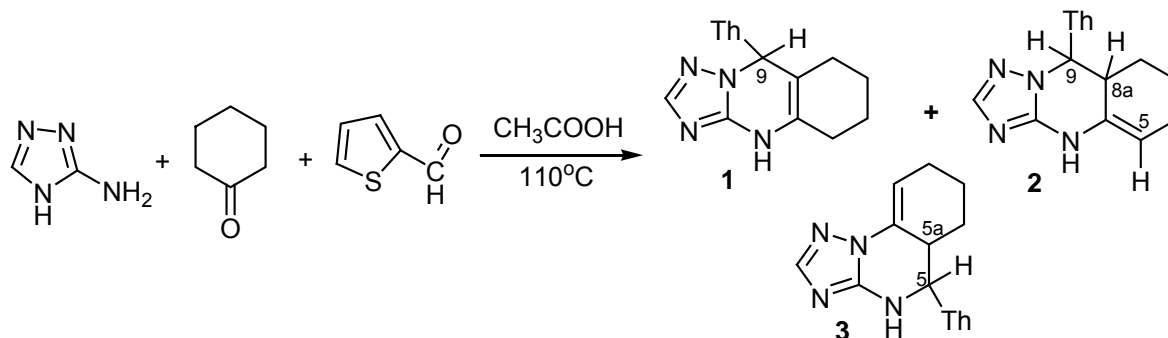
В этих аспектах объектами пристального внимания химиков-органиков являются триазо-

лохиназолины, позволяющие решать вопросы конкурентного влияния триазольного, пиримидинового, хиназолинового ядер и сочетающие в своей структуре фармакоформные фрагменты.

Среди синтетических подходов к триазолохиназолинам широко используются реакции  $\alpha,\beta$ -непредельных кетонов с аминотриазолами, а в последние годы трехкомпонентная конденсация аминотриазолов, кетонов и ароматических альдегидов, соответствующая принципам «зеленой химии» [3].

Так, при реакции 3-амино-1,2,4-триазола, тиофенкарбальдегида и циклогексанона (кипячение эквимольных соотношений реагентов, 120–130°C) был получен 9-(тиофен-2-ил)-4,5,6,7,8,9-гексагидро-1,2,4-триазоло[5,1-*b*] хиназолин (1). При замене альдегидной компоненты на 5-нитро-тиофенкарбальдегид и использовании кислотного катализа ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 110°C) возникает смесь четырех триазологексагидрохиназолинов, изомерных по типу сочленения колец и положению в них кратной связи, строение которых установлено спектрами ЯМР  $^1\text{H}$ , COSY [4].

В настоящей работе представлены новые данные по изучению направления и маршрута реакции 3-амино-1,2,4-триазол, тиофенкарбальдегид, циклогексанон в условиях кислотного катализа ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 110°C). В выбранных условиях образуется смесь трех изомерных тиенилзамещенных триазологексагидрохиназолинов – 9-(тиофен-2-ил)-4,5,6,7,8,9-гексагидро-1,2,4-триазоло[5,1-*b*] хиназолина (1), 9-(тиофен-2-ил) 4,6,7,8,8<sub>a</sub>,9-гексагидро-1,2,4-триазоло[5,1-*b*] хиназолина (2), 5-(тиофен-2-ил)-4,5,5<sub>a</sub>,6,7,8-гексагидро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*] хиназолина (3).





В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  (Varian-400,  $\text{DMSO-d}_6$ ) выделены ключевые сигналы для отнесения изомеров: протонов NH (с, 8.59 м.д.) и Н-9 (с, 5.30 м.д.) для линейного изомера 1; NH (с, 6.45 м.д.), Н-9 (д, 4.47 м.д.), Н-5 (м, 3.97–4.04 м.д.), Н-8а (м, 2.21–2.24 м.д.) для линейного изомера 2 и NH (с, 6.67 м.д.), Н-5 (д, 4.66 м.д.), Н-9 (м, 3.97–4.04 м.д.), Н-5а (м, 3.14–3.17 м.д.) для углового изомера 3 при сохранении сигналов протонов триазольного цикла (с, 7.39 м.д.), тиофенового кольца (м, 6.98–7.17 м.д.; м, 7.43–7.84 м.д.) и алицикла (м, 1.29–2.23 м.д.).

В ИК-спектре присутствуют полосы валентных колебаний связей NH ( $3276\text{ см}^{-1}$ ), C=N ( $1486\text{ см}^{-1}$ ), алицикла ( $2840\text{--}2950\text{ см}^{-1}$ ) и C=C ( $1583\text{ см}^{-1}$ ).

С целью установления маршрута реакции проведен GC-EI-MS-анализ состава реакционной смеси через 20, 40, 60 минут после начала реакции (кипячение эквимольного соотношения реагентов в уксусной кислоте,  $110^\circ\text{C}$ ). Масс-спектр с ионизацией ЭУ (EI) регистрировался на хромато-масс-спектрометре Hewlett-Packard GC HP 5890, Ser.2-MSD HP 5972. Хроматографическая колонка HP-1701  $30\text{-м} \times 0,25\text{ мм} \times 0,25\text{ мкм}$  (длина  $\times$  диаметр  $\times$  толщина слоя неподвижной фазы), растворители (гексан, этиловый спирт). Идентификация компонентов реакционной смеси, отражающихся в виде пиков на хро-

тограмме, проводилась на основе анализа масс-спектров каждого из них.

Через 20 минут в реакционной смеси присутствуют, кроме исходных соединений 3-амино-1,2,4-триазола ( $[\text{M}]^+ m/z 84$ , 30.404 мин), тиофен-2-карбальдегида ( $[\text{M}]^+ m/z 111$ , 18.420 мин), циклогексанона ( $[\text{M}]^+ m/z 98$ , 13.730 мин), уксусной кислоты ( $[\text{M}]^+ m/z 60$ , 5.420 мин), продукты конденсации альдегида и кетона 2-(2-тиенилметилден)-циклогексанон (4) ( $[\text{M}]^+ m/z 192$ , 37.362 мин) и альдегида и амина – N-(2-тиенилметилден)-1,2,4-триазолил-3-амин (5) ( $[\text{M}]^+ m/z 177$ , 40.199 мин).

При более длительном нагревании (анализ через 40 минут) в реакционной смеси наблюдалось сохранение пика  $\alpha,\beta$ -непредельного кетона 4, исчезновение пика азометина 5, что свидетельствует о том, что именно последний является интермедиатом при формировании триазологексагидрохиназолинов 1–3, которые регистрируются с одинаковыми  $[\text{M}]^+ m/z 258$  и различными временами удерживания (37.56 мин, 40.591 мин, 41.594 мин).

Согласно хроматографическим данным через 60 минут после начала реакции изменений не происходит.

Масс-спектры каждого пика на хроматограмме соответствующие изомерам 1, 2, 3, имеют идентичную картину фрагментации (рисунок).

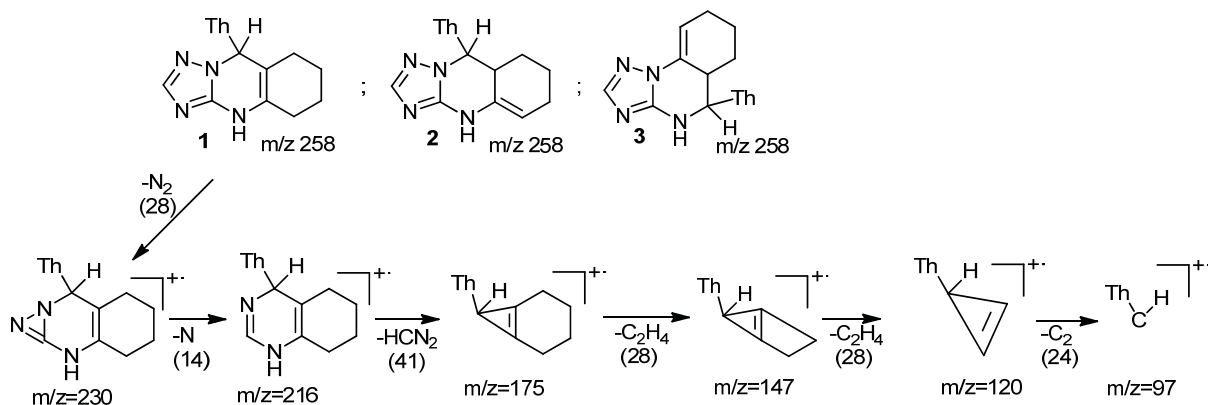


Схема фрагментации триазолохиназолинов 1–3

Азометин 5 получен нами в чистом виде посредством конденсации 3-амино-1,2,4-триазола с тиофенкарбальдегидом (выход 68%) и проведен анализ его масс-спектра, данные которого полностью соответствуют (время удерживания 40.199 мин,  $[\text{M}]^+ m/z 177$ ) отнесениям, сделанным при его регистрации в реакционной смеси.

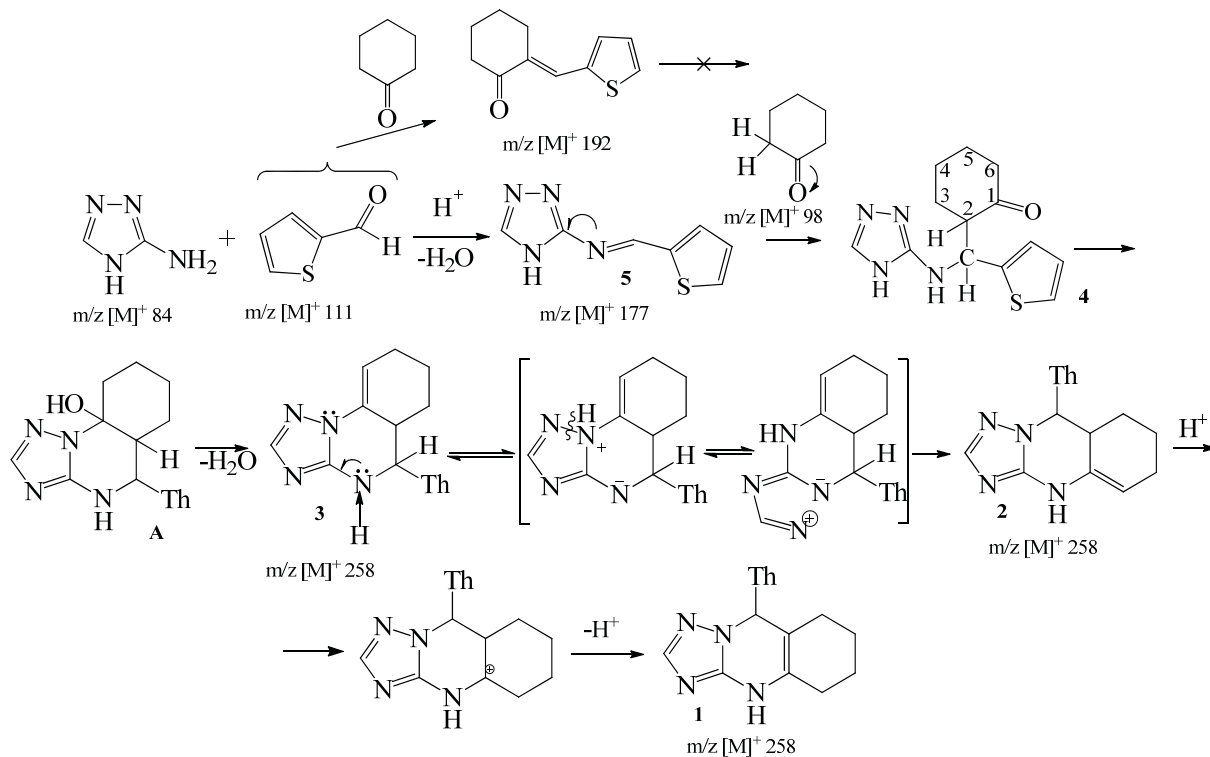
Таким образом, в результате хромато-масс-спектрометрического мониторинга обнаружены интермедиат и продукты реакции (помимо различных побочных веществ)

Исходя из полученных данных с привлечением ранее известных [4,5] можно предложить маршрут изученной реакции, который включает



первоначальное образование основания Шиффа 5 с последующим присоединением циклогексана, дегидратацию гидроксизамещенной системы А, приводящую к изомеру 3, его пере-

группировку азоло-азидного типа с формированием изомера 2 и изомеризацию последнего в термодинамически более стабильную форму 1 (под действием кислотного катализатора):



Таким образом, хромато-масс-спектрометрический мониторинг реакции позволил установить схему образования изомерных тиенилзамещенных триазологексагидрохиназолинов через первоначальное образование азометина, а не возможного  $\alpha,\beta$ -непредельного кетона (2-тиенилиденциклогексана).

### Список литературы

1. Хажиева И. С., Глухарева Т. В., Ельцов О. С. Синтез и цитотоксическая активность производных 1,2,3-триазола на клеточных культурах глиомы // Хим.-фарм. журн. 2015. Т. 49, № 5. С. 12–15.
2. Аكوпова О. Б., Ковалева М. И. Молекулярный дизайн и синтез звездообразных дискотических мезогенов гетероциклической природы // Жидкие кристаллы и их практическое использование. 2014. Т. 14, № 2. С. 21–57.
3. Kidwai M., Chauhan R. Nafion-H® catalyzed efficient one-pot synthesis of triazolo[5,1-b]quinazolines and triazolo[1,5-a]pyrimidines: A green strategy // J. of Molecular Catalysis A : Chemical. 2013. № 377. P. 1–6.
4. Василькова Н. О., Аниськов А. А., Кривенько А. П. Особенности трехкомпонентной циклоконденсации

5-нитротиофен-2-карбальдегида, циклогексана и С-аминотри(тетр)азолов. Образование изомерных триазологексагидрохиназолинов и пути их формирования // Журн. орг. химии. 2015. Т. 51, № 12. С. 1799–1802.

5. Василькова Н. О., Борисова М. Ю., Юрасов Н. А., Кривенько А. П. Перегруппировка позиционных изомеров тетразологексагидрохиназолина // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 1. С. 5–8.

### Investigation of the Structure and Ways of Formation of Isomeric Tyenylsubstituted Triazolo[5,1-b]quinazolines by Methods of NMR Spectroscopy and Chromato-mass-spectrometry

N. O. Vasilkova, S. V. Brudnik, A. P. Kriven'ko

Natalia O. Vasilkova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, vasilkovano@mail.ru

Sergey V. Brudnik, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, sbrud@mail.ru

Adele P. Kriven'ko, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, krivenko@info.sgu.ru



In the three-component condensation of thiophenecarbaldehyde, cyclohexanone and 3-amino-1,2,4-triazole triazolohexahydroquinazolines are formed, which are isomeric in the type of the ring junction and the double bond position in them, the structure of which is established by <sup>1</sup>H NMR spectra. With the GC-EL-MS-analysis of the composition of the reaction mass at various

temperatures, it has been established that an intermediate in the formation of final products is azomethine (instead of a possible  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketone).

**Key words:** triazolohexahydroquinazolines, three-component synthesis, route of reaction, chromatography-mass spectrometry, NMR spectra.

---

**Образец для цитирования:**

Василькова Н. О., Брудник С. В., Кривенько А. П. Исследование строения и путей образования изомерных тиенил-замещенных триазологексагидрохиназолинов методами ямр-спектроскопии и хромото-масс-спектрометрии // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 263–266. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-263-266.

**Cite this article as:**

Vasilkova N. O., Brudnik S. V., Krivenko A. P. Investigation of the Structure and Ways of Formation of Isomeric Tyenylsubstituted Triazolohexohydroquinazolines by Methods of NMR Spectroscopy and Chromato-mass-spectrometry. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 263–266 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-263-266.

---

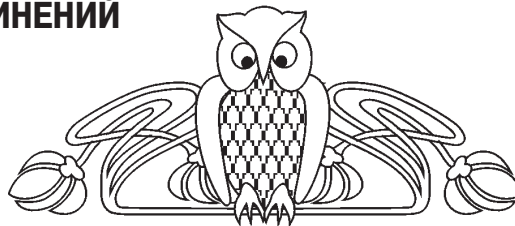




УДК 544.723.212

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХАРАКТЕРА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ПОЛИГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА РАСТЕНИЯ И ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Т. И. Губина, А. А. Ухова, С. В. Исаева,  
Р. С. Тумский, А. А. Аниськов, И. Н. Клочкова



Губина Тамара Ивановна, профессор кафедры «Экология», Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., доктор химических наук. E-mail: gubinati@mail.ru

Ухова Альбина Александровна, магистрант кафедры «Природная и техносферная безопасность», Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: uxovaaa@rambler.ru

Исаева Светлана Владимировна, аспирант кафедры «Природная и техносферная безопасность», Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А. E-mail: isaevav@yandex.ru

Тумский Роман Сергеевич, аспирант кафедры органической и биоорганической химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: roma\_ronaldinho@rambler.ru

Аниськов Александр Андреевич, доцент кафедры органической и биоорганической химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат химических наук. E-mail: aniskovalvis@gmail.com

Клочкова Ираида Николаевна, профессор кафедры органической и биоорганической химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, доктор химических наук. E-mail: v-klochkov1@yandex.ru

Проведена экотоксикологическая оценка двух новых полигетероциклических соединений. Определена острая токсичность исследуемых веществ, их летальная и безопасная концентрации (ЛК и БК). Исследован характер биологического действия этих соединений на растения. Вещества являются стимуляторами при прорастании семян пшеницы и гороха и ингибиторами роста корней и стеблей проростков. Определено действие различных концентраций изучаемых соединений на ростовые характеристики растений. Их концентрационные зависимости имеют немонотонный характер, для пшеницы исследуемые вещества практически во всех концентрациях обладают ингибирующим действием, для гороха они проявляют стимулирующую и ингибирующую активность.

**Ключевые слова:** полигетероциклические соединения, токсичность, рострегулирующая активность.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-267-273

В последние годы выявлена высокая биологическая активность многих гетероциклических соединений, в результате чего созданы эффективные антибактериальные, противогрибковые,

противоопухолевые и другие препараты [1]. Научный и практический интерес представляет изучение возможности применения новых веществ в качестве пестицидов [2]. Известно, что мишенью действия пестицидов в большей степени являются растения (гербицидное или рострегулирующее действие) и микроорганизмы.

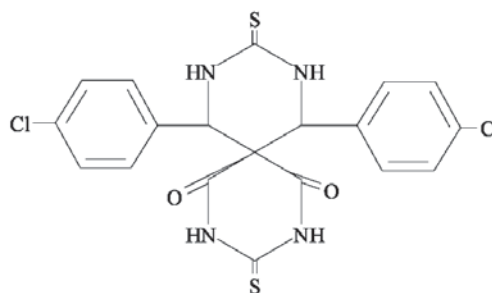
Для обеспечения экологической безопасности вновь синтезированных химических соединений, предполагаемых для использования в качестве биологически активных веществ, обязательным является экотоксикологическая оценка, включающая в себя изучение эффектов их воздействия на тест-объекты, в качестве которых используются дафнии, светящиеся бактерии, простейшие, водоросли.

Целью данной работы является изучение характера биологического действия двух новых полигетероциклических соединений на всхожесть семян и ростовые характеристики пшеницы и гороха и определение их токсичности в действующих концентрациях на тест-объекты: цериодафнии *C. affinis* и лиофилизированные люминесцентные генно-инженерные бактерии *E. coli M-17*.

### Экспериментальная часть

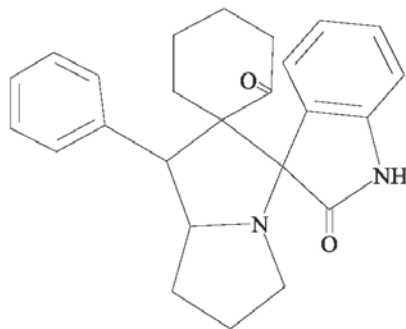
В качестве объектов исследования взяты следующие полигетероциклические соединения гидроазинового (1) и гидроазолового (2) рядов, синтезированные на кафедре органической и биоорганической химии Саратовского государственного университета [3, 4]:

Соединение (1)





Соединение (2)



В работе использовались семена пшеницы сорта «Яровая» и гороха сорта «Сенатор».

**Приготовление модельных растворов.** Рабочие растворы исследуемых соединений 1 и 2 готовили следующим образом: навески веществ (0,1 г) растворяли в 1 мл диметилсульфоксида и добавляли до 100 мл дистиллированной воды (в случае опытов с дафниями – отстойной) при интенсивном перемешивании в течение 0,5–1 ч. Следующие концентрации готовили последовательным разбавлением исходных растворов.

В качестве тест-объекта использовали культуру рачков цериодафний, выращенных в климатостате P2, в котором обеспечивалось искусственное освещение интенсивностью 500–1000 лк в течение 16 ч дневного периода с температурой  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ . Кормление рачков проводили суспензией водорослей *S.quadricauda* ежедневно [5].

Вторым тест-объектом служили биосенсоры серии «Эколюм», представляющие собой лиофилизированные культуры люминесцентных генно-инженерных бактерий *E.coli M-17*, содержащиеся в среде инертных газов в специальных стеклянных флаконах.

Для получения суспензии бактерий вскрывали флакон с лиофилизированным биореагентом, добавляли 10 мл дистиллированной воды и выдерживали суспензию в течение 30 мин, периодически перемешивая [6].

Определение токсичности исследуемых растворов проводили по смертности *C.affinis* в течение 48 ч согласно аттестованной методике [5].

Эксперимент проводили в 10 химических стаканах вместимостью 30 мл, которые заполняли 15 мл водных растворов исследуемых соединений определённой концентрации (1,0; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 г/л), в каждый стакан помещали по одной *C.affinis* не более 24-часового возраста. Эксперимент для каждого значения концентраций проводили в 10 повторностях. Кормили цериодафний ежедневно, один раз в сутки.

В конце эксперимента визуально определяли количество погибших цериодафний в растворах каждой концентрации и рассчитывали процент погибших особей в тестируемой пробе ( $A$ , %) по сравнению с контролем:

$$A = X_k - X_r / X_k \cdot 100\%$$

где  $X_k$  – количество выживших цериодафний в контроле;  $X_r$  – количество выживших цериодафний в тестируемой пробе.

Острое токсическое действие исследуемых растворов определяли по гашению биолюминесценции на тест-системе «Эколюм» за 30-минутный период экспозиции. Для этого отбирали из флакона по 0,1 мл рабочей суспензии бактерий и помещали в кюветы, затем в них добавляли по 0,9 мл исследуемых растворов, а в контрольный образец – аналогичное количество дистиллированной воды. Исследование проводили в 3 повторностях. Через 30 мин попарно измеряли интенсивность свечения бактерий в контроле и кюветах с исследуемыми растворами, записывали показания прибора по индексу токсичности. Измерение проводили на приборе «Биотокс-10».

Индекс токсичности в тестируемой пробе по отношению к контролю рассчитывали по формуле

$$T = 100 (I_o - I) / I_o,$$

где  $I_o$  – соответственно интенсивность биолюминесценции контроля,  $I$  – биолюминесценция опытной пробы при фиксированном времени экспозиции.

Влияние растворов соединений 1 и 2 на всхожесть семян пшеницы и гороха и их ростовые характеристики проводили следующим образом: семена в количестве 10 штук помещали на фильтровальную бумагу в несколько стерильных чашек Петри и заливали исследуемыми растворами соединений 1 и 2 в объеме 10 мл с концентрацией 1,0; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 г/л. В качестве контроля использовали дистиллированную воду. Чашки с семенами выдерживали при естественном освещении и температуре  $26\text{--}30^\circ\text{C}$  двое суток. Результаты экспериментов определяли на вторые сутки.

Измерение длины корня и стеблей проростков с помощью линейки с ценой деления, равной 1 мм, проводили на пятые и седьмые сутки. Эксперименты осуществляли в трёхкратной повторности. Статистическую обработку результатов проводили по методике [7] с использованием  $t$ -критерия Стьюдента, расчеты выполняли с применением пакета Microsoft Office Excel.



### Результаты и их обсуждение

Изучено действие растворов соединений 1 и 2 в концентрациях 1,0; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 г/л на численность *C. affinis*. По полученным данным построена диаграмма зависимости выживаемости цериодафний от концентрации соединений 1 и 2 в течение 48 ч эксперимента (рис. 1).

Известно, что острой считается токсичность, при которой погибает 50% рачков в течение 48 ч. Из рисунков видно, что соединение 1

(см. рис. 1, а) проявляет острую токсичность при концентрациях 0,1 и 1 г/л, а соединение 2 (рис. 1, б) – 1,0 г/л на первые сутки опыта.

По графической зависимости пробитов от  $\lg C$  [5] определены значения летальной ( $LK_{50}$ ) и безвредной ( $BK_{10}$ ) концентраций исследуемых растворов соединений 1 и 2, вызывающих 50%-ную и 10%-ную гибель тест-организмов, которые равны соответственно для соединения 1 – 0,006 г/л и 0,0005 г/л, для соединения 2 – 0,04 г/л и 0,005 г/л.

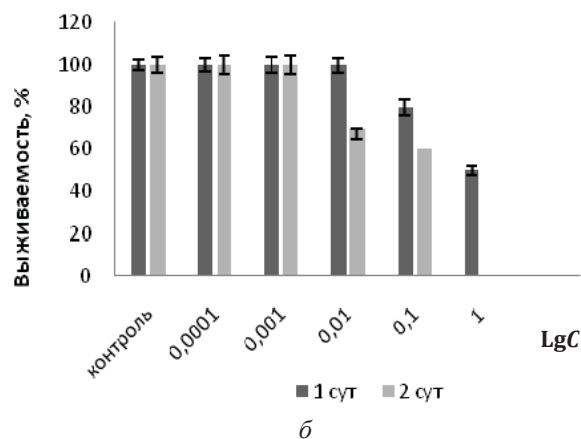
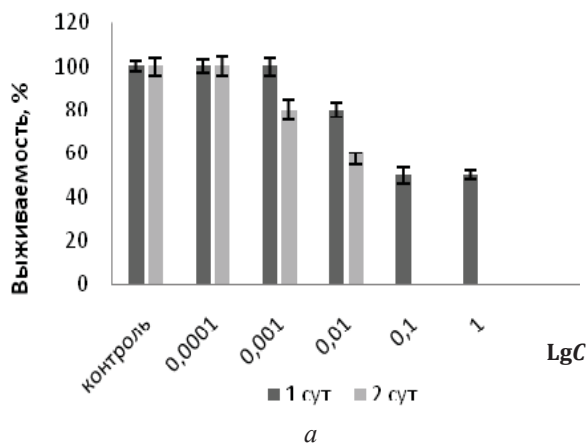


Рис. 1. Диаграмма зависимости выживаемости *C. affinis* от концентрации соединения 1 (а) и 2 (б) в растворе

Изучены действия соединений 1 и 2 в растворах вышеуказанных концентраций на интенсивность бактериальной биолюминесценции тест-системы «Эколюм» на приборе люцинометр «Биотокс-10». Результаты экспериментов представлены в табл. 1, 2. Оценку токсичности пробы

(индекс токсичности  $T$ ) устанавливали исходя из значений интенсивности биолюминесценции контрольной и исследуемой проб согласно методике [6]. По значению индекса  $T$  проведено отнесение каждой пробы к определённому классу токсичности.

Таблица 1

Влияние различных концентраций соединения 1 на интенсивность биолюминесценции бактерий, индекс токсичности, токсичность пробы

С, г/л	$I$ конт.	$I$ опыт.	Значение индекса токсичности ( $T$ )	Токсичность пробы
1	38485	10241	73,96±0,56	Сильно токсична
		9814		
		10015		
0,1	37285	27515	27,98±1,90	Токсична
		26937		
		26105		
0,01	36161	32568	11,45±1,90	Не токсична
		31251		
		32247		
0,001	33973	32141	5,46±0,15	Не токсична
		32057		
		32154		
0,0001	34919	35121	0±0	Не токсична
		36017		
		36914		



Таблица 2

**Влияние различных концентраций соединения 2 на интенсивность биолюминесценции бактерий, индекс токсичности, токсичность пробы**

C, г/л	I конт.	I опыт.	Значение индекса токсичности (T)	Токсичность пробы
1,0	33557	21420	40,70±4,40	Токсична
		19811		
		18468		
0,1	32587	26065	17,96±1,79	Не токсична
		27121		
		27019		
0,01	33213	29902	9,13±0,93	Не токсична
		30121		
		30514		
10 <sup>-3</sup>	31983	30121	5,98±0,52	Не токсична
		29884		
		30202		
10 <sup>-4</sup>	31416	36374	0±0	Не токсична
		33995		
		32914		

Изучено действие соединений 1 и 2 в концентрациях 1,0; 0,1; 0,001; 0,001; 0,0001 г/л на

всхожесть пшеницы и гороха. Результаты экспериментов представлены на диаграммах (рис. 2).

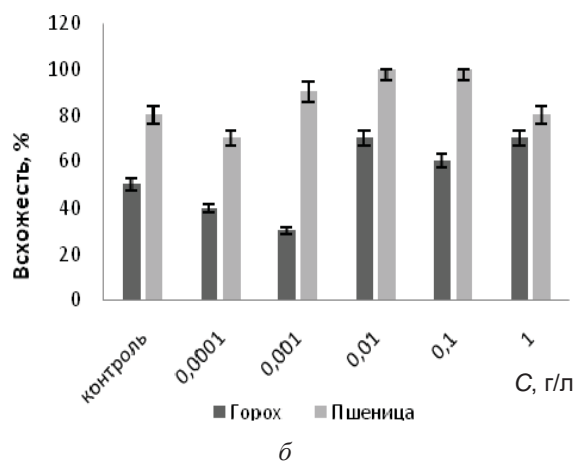
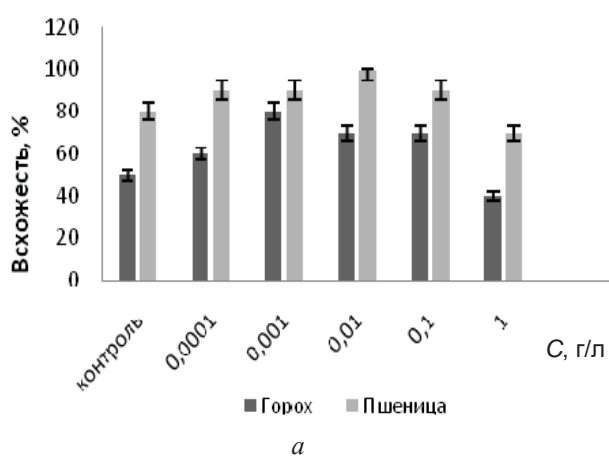


Рис. 2. Диаграмма зависимости всхожести семян пшеницы и гороха от концентрации соединения 1 (а) и 2 (б) в растворе через 1 сутки

На основании построенных диаграмм (см. рис. 2, а) можно заключить, что всхожесть семян пшеницы и гороха в присутствии соединения 1 увеличивается. Для гороха при концентрации вещества 0,001 г/л она возрастает по сравнению с контролем почти в два раза, а для пшеницы наибольшее увеличение всхожести семян наблюдается при концентрации вещества 0,01 г/л, вещество в концентрации 1 г/л ингибирует всхожесть семян гороха. Соединение 2 в низких концентрациях ингибирует

всхожесть семян гороха (0,0001 и 0,001 г/л) и пшеницы (0,0001 г/л), незначительно стимулирует всхожесть семян гороха (0,01 и 0,1 г/л) и пшеницы (0,001, 0,01 и 0,1 г/л), а в концентрации 1 г/л всхожесть семян пшеницы – на уровне контроля.

Определено действие соединений 1 и 2 в концентрациях 1,0; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 г/л на длину корня и стебля проростков пшеницы на 5-е и 7-е сутки. Результаты эксперимента представлены на графиках (рис. 3).

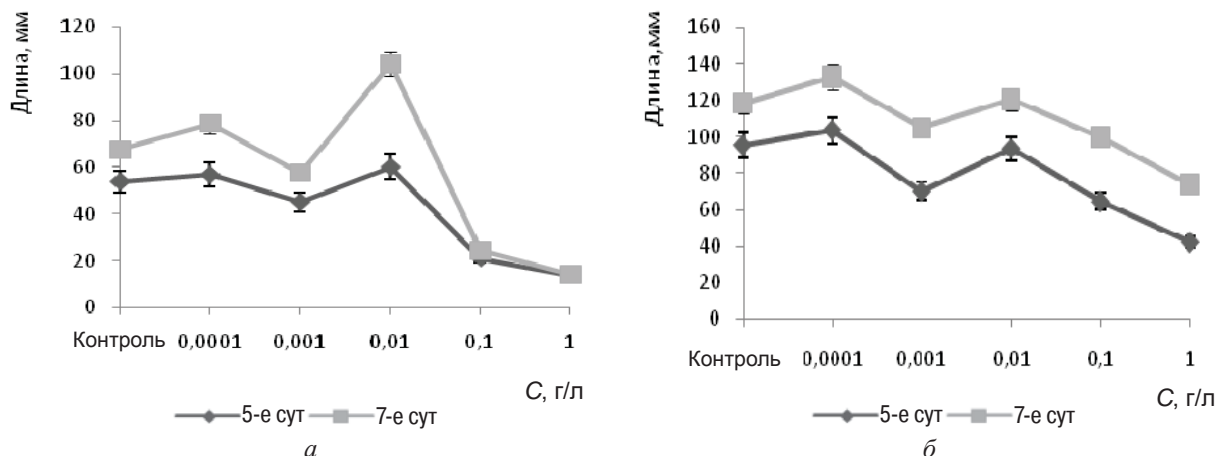


Рис. 3. Графическая зависимость длины корня (а) и стебля (б) проростков пшеницы от концентрации соединения 1 на 5-е и 7-е сутки эксперимента

Из рис. 3, а видно, что длины корней проростков пшеницы, выращенных в присутствии соединения 1 в концентрациях 0,0001, и 0,01 г/л, на 5-е и 7-е сутки превосходят контрольные показатели, а в концентрациях 0,001; 0,1 и 1 г/л исследуемое вещество ингибирует рост корней проростков.

Что касается действия соединения 1 на рост стеблей проростков пшеницы, то только самая низкая концентрация 0,0001 г/л стимулирует

рост длины стебля проростков пшеницы на 5-е и 7-е сутки. Начиная с концентрации 0,001 г/л соединение 1 ингибирует рост стеблей проростков, оказывая наибольшее действие в концентрациях 0,1; 1 г/л.

На рис. 4 представлена графическая зависимость длины корня и стебля проростков пшеницы, выращенных в присутствии соединения 2 в изучаемых концентрациях на 5-е и 7-е сутки эксперимента.

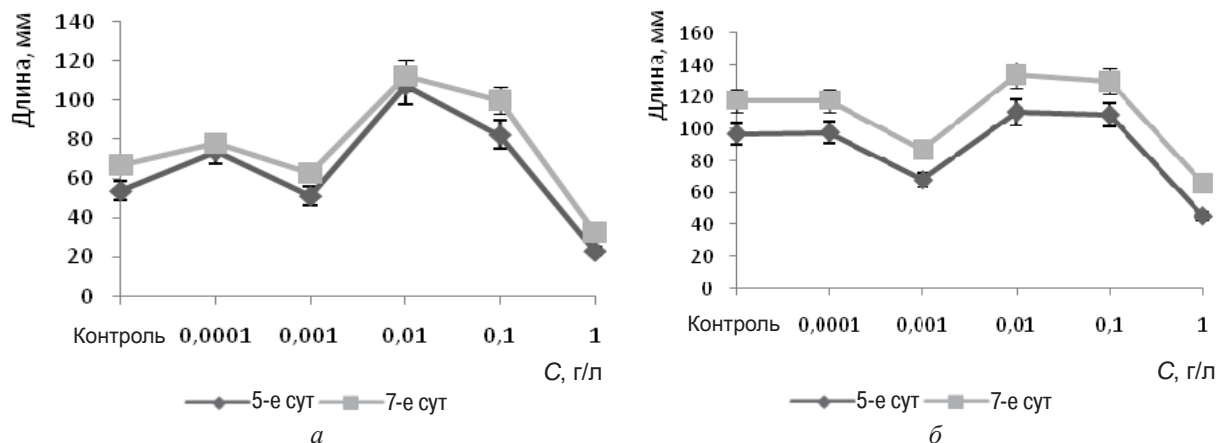


Рис. 4. Графическая зависимость длины корня (а) и стебля (б) проростков пшеницы от концентрации соединения 2 на 5-е и 7-е сутки эксперимента

Из рис. 4, а видно, что соединение 2 в концентрациях 0,0001; 0,01; 0,1 г/л является стимулятором роста корней пшеницы, а в концентрациях 0,001 и 1 г/л оно ингибирует их рост.

Похожая зависимость получена при действии соединения 2 на длину стеблей проростков пшеницы: концентрации 0,0001; 0,01; 0,1 г/л стимулируют рост стебля, а концентрации 0,001 и 1 г/л ингибируют его рост.

На рис. 5 представлена графическая зависимость длины корня (см. рис. 5, а) и стебля (см. рис. 5, б) проростков гороха от концентрации соединения 1 на 5-е и 7-е сутки эксперимента.

Из рис. 5, а видно, что соединение 1 на 5-е сутки в основном стимулирует рост корня гороха и только в концентрации 1 г/л ингибирует его. Зависимость не имеет выраженного колебательного характера: с понижением концентрации

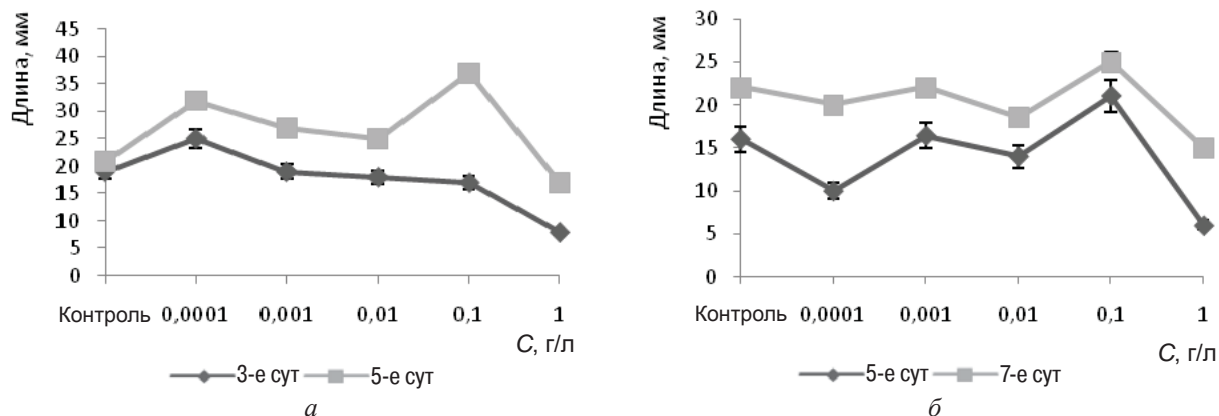


Рис. 5. Графическая зависимость длины корня (а) и стебля (б) проростков гороха от концентрации соединения 1 на 5-е и 7-е сутки эксперимента

вещества увеличивается его стимулирующая активность. На 7-е сутки полученная зависимость имеет выраженный немонотонный характер. Соединение 1 в концентрациях 1; 0,001 г/л ингибирует рост корней гороха, а в концентрациях 0,1; 0,01; 0,0001 г/л является стимулятором роста корня проростков гороха.

Из рис. 5, б следует, что полученные зависимости на различных днях эксперимента имеют аналогичный немонотонный характер, при этом

соединение 1 только в концентрации 0,1 г/л стимулирует рост длины стебля проростков гороха, в большинстве концентраций (0,0001; 0,01; 1 г/л) проявляет в той или иной степени ингибирующую активность. В концентрации 0,001 г/л оказывает действие, аналогичное контролю.

Результаты опытов по действию соединения 2 в концентрациях 1,0; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 г/л на длину корня (а) и стебля гороха (б) на 5-е и 7-е сутки эксперимента представлены на рис. 6.

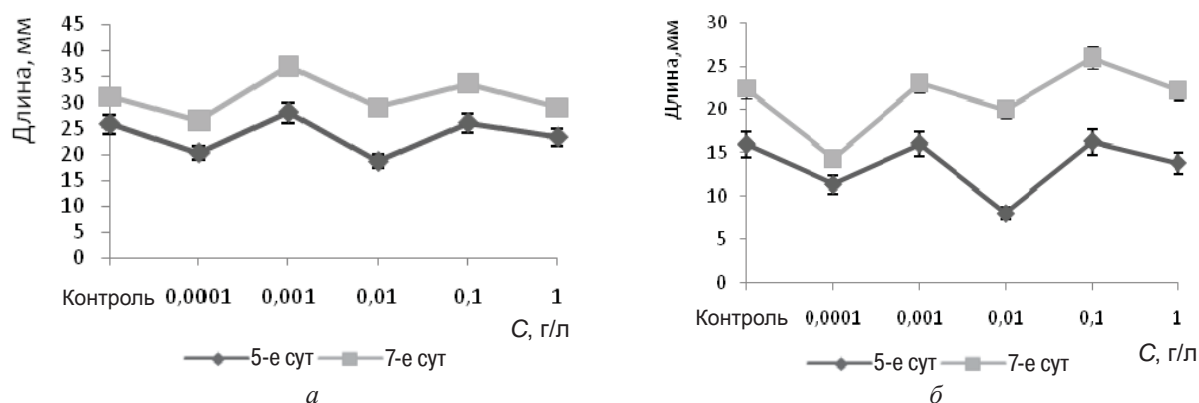


Рис. 6. Графическая зависимость длины корней (а) и стебля (б) проростков гороха от концентрации соединения 2 на 5-е и 7-е сутки эксперимента

Из рис. 6 видно, что зависимости длины корня и стебля проростков гороха от концентрации соединения 2 имеют выраженный немонотонный характер. Соединение 2 (см. рис. 5, а) в концентрациях 0,0001; 0,01; 1 г/л ингибирует рост корня проростков гороха, а в концентрациях 0,001 и 0,1 г/л является стимулятором его роста. Аналогичная зависимость построена для длины стебля гороха от концентрации соединения 2: наибольшее ингибирующее действие соединения 2 оказывает в концентрациях 0,0001; 0,01 (на 7-е сутки); 1 г/л. В концентрациях 0,001; 0,1 г/л вещество незначительно стимулирует рост стебля гороха.

### Выводы

На двух тест-объектах *C. affinis* и бактериях *E. coli* определено токсическое действие двух новых полигетероциклических соединений; определены их летальные (ЛК) и безвредные концентрации (БК): установлено, что соединение 1 является более токсичным, чем соединение 2. Острое токсическое действие соединения 1 проявляется на бактериях в концентрации 1,0 г/л, а на цериодафниях в концентрации 0,1–1 г/л, а соединения 2 токсично в отношении всех тест-объектов в концентрации 1,0 г/л.



Установлено, что оба изучаемых соединения различаются рострегулирующим действием на всхожесть семян пшеницы и гороха: соединение 1 стимулирует всхожесть во всех изучаемых концентрациях, а соединение 2 в низких концентрациях ингибирует всхожесть семян гороха (0,0001–0,001 г/л) и пшеницы (0,0001 г/л), а в более высоких стимулирует их всхожесть (0,01–1,0 г/л для гороха и 0,001; 0,01; 0,1 г/л для пшеницы).

При изучении действия различных концентраций соединений 1 и 2 на ростовые характеристики проростков пшеницы и гороха установлено, что рострегулирующая активность изученных соединений имеет немонотонный характер, при определенных концентрациях стимулируя или ингибируя рост корня и стебля растений, что позволяет воздействовать на ростовые характеристики растений путем изменения концентраций биостимуляторов.

Таким образом, можно заключить, что при концентрациях ниже 1 г/л изученные вещества экологически не опасны и могут использоваться в качестве регуляторов роста и развития некоторых зерновых и овощных сельскохозяйственных культур.

#### Список литературы

1. Мельников Н. Н. Пестициды : химия, технология и применение. М. : Химия, 1987. 312 с.
2. Клочкова И. Н., Аниськов А. А., Щекина М. П., Тумский Р. С. Синтез спиросочлененных гидропиримидинтионов с использованием тиобарбитуровой кислоты // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 1. С. 43–47.
3. Клочкова И. Н., Аниськов А. А., Щекина М. П., Чувайкина С. В., Андреев К. А. Взаимодействие несимметричных  $\alpha,\beta$ -непредельных кетонов с тиобарбитуровой кислотой // Журн. орг. химии. 2013. Т. 49, № 9. С. 1359–1362.
4. Клочкова И. Н., Аниськов А. А., Щекина М. П. Синтез спиropирролидинов и спиropирролизидинов на основе азометинилидов // ХГС. 2014. Т. 50. С. 527–536.
5. Федеральный реестр (ФР) ФР.1.39.2007.03222. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости периодафний. М. : АКВА-РОС, 2007. С. 8–25.
6. Михайлова Р. И., Ревазова Ю. А., Севостьянова Е. М. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биоломнессценции тест-системой «Эколюм» (ПНД ФТ 14. 1:2:3:4, 11-04 16. 1:2:3:3. 8-04). М., 2004. С. 5–11.
7. Губина Т. И. Свойства ксенобиотиков и их определение в объектах окружающей среды и пищевых продуктах : лабораторный практикум. Саратов : Изд-во СГТУ, 2015. 44 с.

#### The Determination of Biological Effects of New Heterocyclic Compounds on Plants and the Evaluation of Environmental Safety of Their Application

T. I. Gubina, A. A. Ykhova, S. V. Isaeva,  
R. S. Tumskiy, A. A. Aniskov, I. N. Klochkova

Tamara I. Gubina, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, 77, Politechnicheskaya Str., Saratov, 410054, Russia, gubinati@mail.ru

Al'bina A. Ykhova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, yxovaaa@rambler.ru

Svetlana V. Isaeva, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, 77, Politechnicheskaya Str., Saratov, 410054, Russia, isaevavsv@yandex.ru

Roman S. Tumskiy, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, roma\_ronaldinho@rambler.ru

Alexander A. Aniskov, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, aniskovalvis@gmail.com

Iraida N. Klochkova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, v-klochkov1@yandex.ru

Ecotoxicological evaluation of two new polyheterocyclic compounds was spending. Acute toxicity of test substances, their lethal and safe concentration (LC and BC) were determined. The nature of the biological effect of these compounds on the plants was investigated. The substances were stimulants during the germination of seeds of wheat and peas and inhibitors of the growth of the roots and stems of seedlings. It was determined the effect of various concentrations of tested compounds on the growth characteristics of plants. Their concentration dependences were nonmonotonic, wheat test substances in nearly all concentrations, had an inhibitory effect, for the pea, they exhibited a stimulating and inhibitory activity.  
**Key words:** polyheterocyclic compounds, toxicity, growth-regulating activity.

#### Образец для цитирования:

Губина Т. И., Ухова А. А., Исаева С. В., Тумский Р. С., Аниськов А. А., Клочкова И. Н. Определение характера биологического действия новых полигетероциклических соединений на растения и оценка экологической безопасности их применения // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 267–273. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-267-273.

#### Cite this article as:

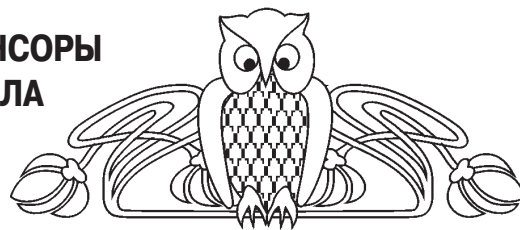
Gubina T. I., Ukhova A. A., Isaeva S. V., Tumskiy R. S., Aniskov A. A., Klochkova I. N. The Determination of Biological Effects of New Heterocyclic Compounds on Plants and the Evaluation of Environmental Safety of Their Application. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 267–273 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-267-273.



УДК 543.554.615.33

## ПЛАНАРНЫЕ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИЕ СЕНСОРЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦЕФУРОКСИМ АКСЕТИЛА В МАЛЫХ ОБЪЕМАХ ПРОБ

Е. Г. Кулапина, О. И. Кулапина



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

Кулапина Ольга Ивановна, доцент кафедры детских болезней, лечебный факультет, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского. E-mail: olgakulapina@mail.ru

Разработаны планарные потенциометрические сенсоры, чувствительные к цефуроксим аксетилу, установлен оптимальный состав мембран и углеродсодержащих чернил. Определены основные электроаналитические и операционные характеристики сенсоров. Показана возможность применения сенсоров для определения цефуроксим аксетила в модельных водных растворах и на фоне ротовой жидкости в малых объемах проб. Модернизация конструкций сенсоров открывает новые возможности их применения для исследований фармакокинетики антибиотиков по анализу смешанной слюны на их содержание, оптимизации корректировки курса лечения различных патологических процессов.

**Ключевые слова:** планарные «screen-printed» сенсоры, цефуроксим аксетил, потенциометрия, модельные водные растворы, смешанная слюна.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-274-279

### Введение

Антибиотики принадлежат к самым различным классам химических соединений; наиболее значимые  $\beta$ -лактамы антибиотики (пенициллины и цефалоспорины).

Беталактамы ( $\beta$ -лактамы) – большая группа антибиотиков, которых объединяет наличие в структуре  $\beta$ -лактамного кольца, отвечающего за антимикробную активность, при разрушении которого антимикробная активность препарата теряется.

С учётом высокой клинической эффективности и низкой токсичности  $\beta$ -лактамы антибиотики составляют основу антимикробной химиотерапии на современном этапе, занимая ведущее место при лечении большинства инфекций [1, 2].

Наряду с цефалоспориновыми антибиотиками всех поколений наиболее широко в амбулаторной практике применяются пероральные цефалоспорины II поколения. Замена в цефуроксиме карбокси группы более сложным эфирным

радикалом позволило получить соединение, устойчивое в кислом содержимом желудка и разлагающееся в кишечнике с высвобождением активного цефуроксима. После приема внутрь цефуроксим аксетил медленно всасывается из желудочно-кишечного тракта и быстро гидролизуется в слизистой оболочке тонкой кишки и в крови с высвобождением цефуроксима [3]. Так, цефуроксим аксетил в настоящее время рассматривается как основной препарат для лечения любых внебольничных респираторных инфекций, причем при внебольничной пневмонии и хроническом бронхите он является препаратом выбора. Высокая эффективность цефуроксим аксетила отмечена у детей и взрослых с острым средним отитом, а также при стрептококковом тонзиллите, фарингите и синусите. Цефуроксим аксетил может назначаться при стафилококковых инфекциях кожи и мягких тканей (мастит, фурункулы), а также при внебольничных инфекциях мочевыводящих путей, главным образом пиелонефрите [4].

Потенциометрические сенсоры позволяют экспрессно детектировать  $\beta$ -лактамы антибиотики [5]. Современные сенсорные технологии позволяют модернизировать конструкции сенсоров. Так, по технологии трафаретной печати возможно изготовление планарных («screen-printed») сенсоров, обладающих малыми размерами, что позволяет использовать их для количественного определения веществ в микрообъемах проб в режиме on-line.

Планарные сенсоры на основе разнообразных материалов применены для электрохимических определений различных органических соединений, при мониторинге объектов окружающей среды, анализе биологических сред, лекарственных препаратов, пищевых продуктов и др. [6–8]. Ряд исследований показывает, что на электрохимические характеристики сенсоров влияют способы их изготовления, составы мембран [9–11]. Авторами [12, 13] разработаны оптимальные конструкции планарных сенсоров, селективных к поверхностно-активным веществам. Определены составы мембран и углеродсодержащих чернил, пока-





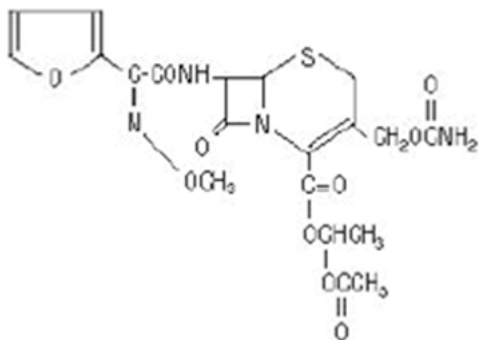
зано применение сенсоров для тест-контроля содержания ПАВ в микрообъемах проб.

Для изучения фармакокинетики антибиотиков, выбора терапевтической дозы препаратов, корректировки процесса лечения необходимо совершенствование методик определения антибиотиков по различным критериям: снижение трудоемкости, быстрый отклик при мониторинге по типу on-line, надежность, селективность определения и повышение его чувствительности, снижение финансовых затрат, повышение производительности для охвата большего числа пациентов и т.д. В этом плане заслуживает внимание анализ смешанной слюны – жидкости ротовой полости в связи с неинвазивностью взятия проб, многократностью и почти неограниченного объема забора материала [14].

Цель настоящего исследования заключалась в разработке планарных сенсоров для экспрессного определения цефуроксим аксетила в водных средах и в жидкости ротовой полости в малых объемах проб.

#### Экспериментальная часть

Цефуроксим аксетил (II поколение). Коммерческое название препарата: «Зиннат», фирма-производитель: GlaxoOperations UK Limited, UK, форма выпуска: таблетки по 10 штук в упаковке; состав: 1 таблетка содержит цефуроксим аксетила 250 мг и дополнительные вещества.



Определение основного вещества в препарате «Зиннат» и отделение вспомогательных веществ проведено по методике [15].

Раствор цефуроксимаксетила  $1 \cdot 10^{-2}$  М концентрации готовят путем растворения навески препарата  $m = 0,0193$  г, содержащей 0,0106 г антибиотика, в небольшом количестве дистиллированной воды, фильтруют, полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят до метки дистиллированной водой. Рабочие растворы концентрацией  $1 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-6}$  М готовят последовательным разбавлением исходного.

Синтез электроактивного вещества цефуроксим-тетрадециламмоний (Cefur-ТДА), изготовление мембран потенциометрических сенсоров описано в работе [16].

**Изготовление сенсоров методом трафаретной печати.** В качестве основы сенсоров были разработаны планарные структуры, изготовленные по методу трафаретной печати. Для изготовления рабочего электрода использовали подложку с графитовыми чернилами, содержащими электродно-активное вещество, и токоотвод. На рис. 1 представлена конструкция планарного сенсора, изготовленного по методу трафаретной печати.

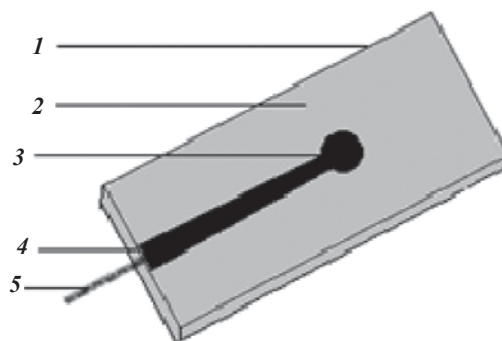


Рис. 1. Конструкция сенсора, изготовленного по методу трафаретной печати: 1 – полимерная подложка, 2 – изоляционный слой, 3 – рабочая область, 4 – графитовые чернила, 5 – токоотвод

Рабочую поверхность подложки смазывали изолятором, в качестве которого выступал клей, изготовленный из ПВХ, дибутилфталата и циклогексанона. После высыхания с помощью трафарета на подложку кисточкой наносили слой токопроводящих чернил, на котором закрепляли металлический токоотвод. Токоотвод изолировали тремя слоями чернил. Вся поверхность полимерной подложки, кроме рабочей поверхности, изолировалась полимерным составом на основе ПВХ [12, 13].

Приготовление углеродсодержащих чернил осуществляли по следующей методике: навески электродно-активного соединения (ЭАС), пластификатора дибутилфталата (ДБФ) и порошка углерода помещали в бокс, в который при непрерывном перемешивании на магнитной мешалке и при небольшом нагревании добавляли 2 мл растворителя (смесь ацетона и циклогексанона в соотношении 1:1) и небольшими порциями навеску ПВХ. Полученную смесь тщательно перемешивали до полной гомогенизации.

Готовые углеродсодержащие чернила наносились кисточкой с помощью трафарета на



полиэфирную подложку. Общая площадь чернил и рабочая площадь поверхности составили 1 см<sup>2</sup> и 0,04 см<sup>2</sup> соответственно. Перед работой электроды кондиционировали в 10<sup>-3</sup>М растворе антибиотика в течение суток.

В табл. 1 приведены данные для приготовления углеродсодержащих чернил.

Таблица 1

Данные для приготовления углеродсодержащих чернил

ЭАС	Навески, г			
	ЭАС	ДФФ	С (порошок)	ПВХ
Cefur-ТДА	0,0200	0,1818	0,3091	0,5091

Электрохимические характеристики изучают методом ЭДС с использованием элемента с переносом:



Контакт между полуэлементами осуществляют с помощью солевого мостика, заполненного насыщенным раствором хлорида калия, техника измерений ЭДС описана в работе [16].

Время установления стационарного потенциала сенсоров определяли при скачкообразном изменении концентраций на порядок. Измерения проводили в растворах с концентрацией 1 · 10<sup>-5</sup> – 1 · 10<sup>-2</sup> М.

Для отделения белковых компонентов из смешанной слюны использовали центрифугу ТУ 5.375-4262-76, ОПн-8УХЛ4.2, №4835.

Пробу жидкости ротовой полости (ЖРП) здорового человека отбирали спустя 1–2 часа после приема пищи, перед сбором ротовую полость ополаскивали водой. Смешанную слюну центрифугировали в течение 15 мин при 3500 об/мин. При использовании электродов для определения цефуроксим аксетила в ЖРП индикаторный электрод предварительно кондиционировали в ЖРП здорового человека в течение 20–30 мин.

### Результаты и их обсуждение

Современным вариантом электрохимических датчиков являются так называемые «screen-printed» электроды, так как они обладают рядом преимуществ: высокая чувствительность, селективность, хорошая воспроизводимость измерений, возможность применения для определения веществ в микрообъемах проб. Доступная технология изготовления (метод трафаретной печати) дает возможность производить большое количество одноразовых сенсоров низкой стоимости и любой конфигурации.

В ходе данного исследования была оценена работа планарного сенсора на основе Cefur-ТДА в растворах цефуроксим аксетила.

На рис. 2 представлена зависимость ЭДС от отрицательного логарифма концентрации антибиотика.

Интервал линейности электродной функции составил 1 · 10<sup>-2</sup> – 1 · 10<sup>-5</sup> М, предел обнаружения цефуроксим аксетила 7 · 10<sup>-6</sup> М.

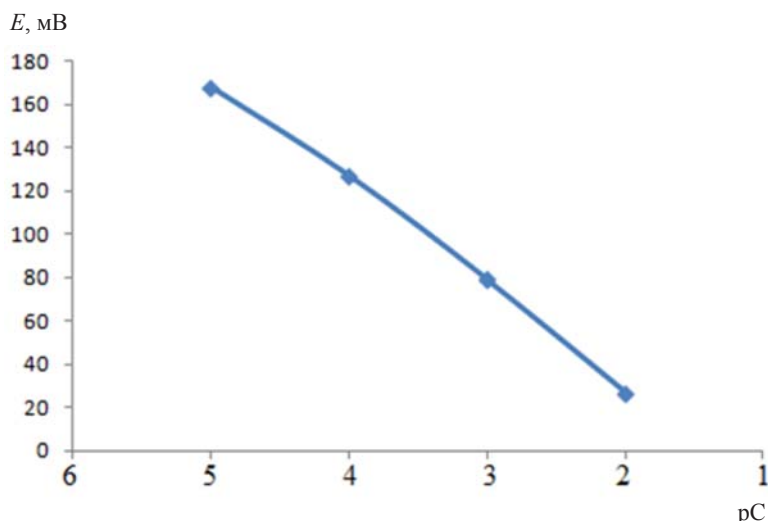
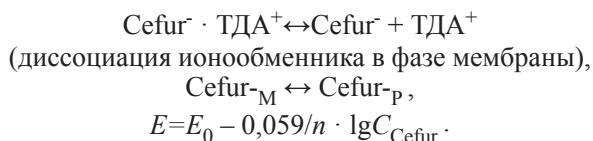


Рис. 2. Электродная функция планарного сенсора на основе Cefur-ТДА в растворах цефуроксимаксетила

Потенциалопределяющей является реакция ионного обмена на границе мембрана/раствор, с предварительно происходящей диссоциацией ионообменника в фазе мембраны:





Определены основные электрохимические и операционные характеристики планарного сенсора в растворах цефуроксим ацетила (угловой коэффициент электродных функций  $S$ , время отклика, дрейф потенциала, срок службы). Время отклика сенсоров в растворах антибиотика составил 1–2 мин; дрейф по-

тenciала – 2–4 мВ/сут, срок службы – 2 мес.

Таким образом, планарные сенсоры на основе Cefur-ТДА проявляют чувствительность к цефуроксим ацетила, что свидетельствует о возможности применения сенсоров для определения антибиотика в водных средах (табл. 2).

Таблица 2

Результаты определения цефуроксим ацетила в модельных водных растворах ( $V = 3$  мл,  $n = 3$ ,  $P = 0,95$ )

Введено				Найдено				
$C_x$	$V$ , мл	$C$ , моль/л	$m$ , мг	$E$ , мВ	$pC$	$C$ , моль/л	$m$ , мг	$D$ , %
$10^{-2}$	0,3	$3 \cdot 10^{-3}$	15,3	84,6	2,55	$2,8 \cdot 10^{-3}$	$14,3 \pm 0,4$	6,1
$10^{-2}$	0,2	$2 \cdot 10^{-3}$	10,2	88,4	2,65	$2,2 \cdot 10^{-3}$	$11,4 \pm 0,6$	12,0
$10^{-3}$	0,3	$3 \cdot 10^{-4}$	1,5	107,2	3,48	$3,3 \cdot 10^{-4}$	$1,7 \pm 0,2$	10,5

Величины  $Ki/j$  сенсоров к другим цефалоспориновым антибиотикам – цефазолину, цефалексину, цефтриаксону, к неорганическим ионам определяли методами бионных потенциалов и смешанных растворов. Выбор мешающих неорганических ионов обусловлен составом ротовой жидкости. Полученные величины  $Ki/j$  свидетельствуют о возможности определения индивидуальных цефалоспориновых антибиотиков или их суммарного содержания в присутствии значительных избытков неорганических ионов, что делает возможным применение сенсоров в анализе биологических сред [5, 17].

#### Характеристики сенсоров на фоне смешанной слюны

Ротовая жидкость является сложным фильтратом плазмы крови, отражает состояние

динамического постоянства внутренней среды организма. В то же время ротовая жидкость может весьма значительно меняться по составу, физико-химическим и биологическим свойствам при воздействии самых разных стимулов, то есть является индикатором реактивности организма. Слюна – единственная биологическая жидкость с уникальным набором исследовательских возможностей, предусматривающих полную неинвазивность, многократный и почти неограниченный по объему забор материала [18].

На рис. 3 представлена зависимость ЭДС планарного сенсора от отрицательного логарифма концентрации цефуроксим ацетила на фоне ротовой жидкости (для сравнения приведена аналогичная зависимость для твердоконтактного сенсора).

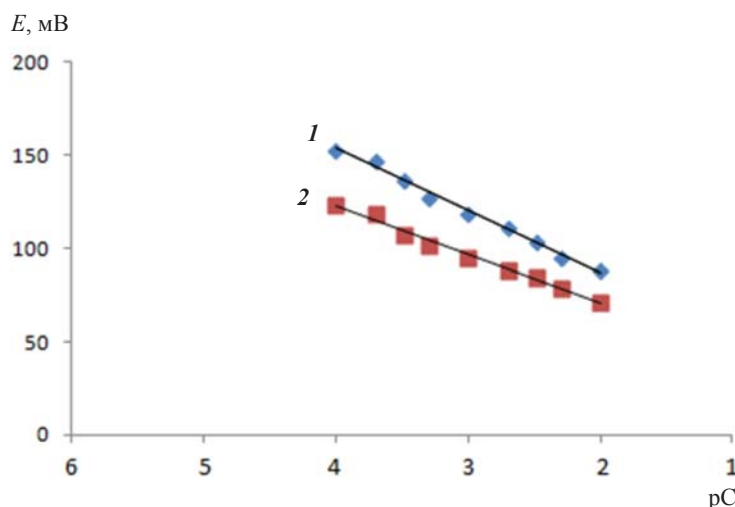


Рис. 3. Электродные функции твердоконтактного (1), планарного (2) сенсоров в растворах антибиотика на фоне ЖРП



Для приготовления серии растворов цефуроксим аксетила на фоне ЖРП с внесенными добавками антибиотика отбирали 0,3 мл водных растворов антибиотика соответствующих концентраций (внесенные добавки) и до 3 мл добавляли надосадочной жидкости ЖРП, перемешивали и измеряли ЭДС для построения зависимости ЭДС, мВ –  $-\lg C_{\beta\text{-лак}}$ .

Электродные функции сенсоров на фоне ЖРП проявляются в той же области, что и в водных растворах антибиотика. Полученные градуировочные графики являются воспроизводимыми и увеличение времени кондиционирования сенсоров не влияет на них. Проведено ионометрическое определение цефуроксим аксетила на фоне ЖРП с внесенными добавками антибиотика (табл. 3).

Таблица 3

Результаты определения цефуроксим аксетила на фоне ЖРП ( $V = 3\text{мл}$ ,  $n = 3$ ,  $P = 0,95$ )

Введено				Найдено				
$C_x$	$V$ , мл	$C$ , моль/л	$m$ , мг	$E$ , мВ	pC	$C$ , моль/л	$m$ , мг	$D$ , %
$10^{-2}$	0,3	$3 \cdot 10^{-3}$	4,6	70,1	2,55	$2,8 \cdot 10^{-3}$	$4,3 \pm 0,2$	6,8
$10^{-2}$	0,2	$2 \cdot 10^{-3}$	3,1	74,8	2,75	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$2,8 \pm 0,2$	11,1
$10^{-3}$	0,3	$3 \cdot 10^{-4}$	0,5	89,3	3,5	$3,2 \cdot 10^{-4}$	$0,46 \pm 0,1$	8,0

Относительные погрешности определения не превышают 12%.

Таким образом, изготовленные методом трафаретной печати планарные сенсоры на основе Cefur-ТДА могут быть применены для определения цефуроксим аксетила в водных и биологических средах, а также в лекарственных препаратах в малых объемах проб.

#### Список литературы

1. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках. М.: Наука, 2004. 528 с.
2. Страчунский Л. С., Козлов С. Н. Современная антимикробная химиотерапия. М.: Боргес, 2001. 432 с.
3. Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2014. Ч. 1, 2. 1216 с.
4. Яковлев С. В., Суворова М. П., Дворецкий Л. И., Власенко Н. А., Шахова Т. В. Ступенчатая терапия внебольничной пневмонии. Результаты исследования цефуроксима и цефуроксим аксетила // Антибиотики и химиотерапия. 1998. № 6. С. 7–11.
5. Кулапина Е. Г., Макарова Н. М., Кулапина О. И., Утц И. А., Барагузина В. В. Потенциометрические сенсоры с пластифицированными поливинилхлоридными мембранами, селективные к антибиотикам пенициллинового ряда: свойства, применение // Мембраны и мембранные технологии. 2011. Т. 1, № 4. С. 243–248.
6. Li M., Li Y.-T., Li D.-W., Long Y. T. Recent developments and applications of screen-printed electrodes in environmental assays // Anal. Chim. Acta. 2012. Vol. 734. P. 31–34.
7. Alonso-Lomillo M. A., Domínguez-Renedo O., Arcos-Martínez M. J. Screen-printed biosensors in microbiology // Talanta. 2010. Vol. 82, № 5. P. 1629–1636.
8. Honeychurch K. C., Hart J. P. Screen-printed electrochemical sensors for monitoring metal pollutants // Trac-Trend Anal. Chem. 2003. Vol. 22, № 7. P. 456–469.
9. Gornall D. D., Collyer S. D., Higson S. P. J. Investigations into the use of screen-printed carbon electrodes as templates for electrochemical sensors and sonochemically fabricated microelectrode arrays // Sensor. Actuat. B-Chem. 2009. Vol. 141, № 2. P. 581–591.
10. 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.
11. Trojanowicz M. Impact of nanotechnology on design of advanced screen-printed electrodes for different analytical applications // Trends in Anal. Chem. 2016. Vol. 84. P. 22–34.
12. 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.
13. Макарова Н. М., Кулапина Е. Г. Планарные потенциометрические сенсоры на основе углеродных материалов для определения додецилсульфата натрия // Электрохимия. 2015. Т. 51, № 7. С. 757–764.
14. Вавилова Т. П., Медведев А. Е. Биологическая химия. Биохимия полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 560 с.
15. Кулапина Е. Г., Каренко В. А., Кулапина О. И. Определение основного вещества в препаратах цефалексина и цефуроксимаксетила // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 1. С. 25–27.
16. Кулапина Е. Г., Кулапина О. И., Алиева И. К. Твердоконтактные потенциометрические сенсоры для определения цефуроксим аксетила в водных средах и ротовой жидкости // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 125–131.
17. Кулапина О. И., Макарова Н. М., Кулапина Е. Г. Потенциометрические сенсоры для определения



некоторых цефалоспориновых антибиотиков в биологических и лекарственных средах // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70, № 4. С. 399–406.

18. Постнова Ю. А., Мулик В. В., Новочадов В. В., Мулик А. Б., Назаров Н. О., Фролов Д. М. Ротовая жидкость как объект оценки состояния организма человека // Вестн. Волгогр. гос. ун-та. Сер. 3. Экономика. Экология. 2011. № 1 (18). С. 246–253.

**Screen-printed Potentiometric Sensors for Cefuroxime Axetil Determination in Small Sample Volumes**

**E. G. Kulapina, O. I. Kulapina**

Elena G. Kulapina, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, kulapinaeg@mail.ru

Olga I. Kulpina, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, 112, B. Kazachya Str., Saratov, 410012, Russia, olgakulapina@mail.ru

Potentiometric screen-printed cefuroxime axetil sensors were developed. The optimum membrane and carbon ink compositions were determined. The main sensor electroanalytical and operational characteristics were evaluated. The sensors were used to determination of cefuroxime axetil in small sample volumes of model water solutions and mixed saliva (oral fluid). Upgrading sensor designs opens up new sensor application for pharmaceutical kinetic antibiotic studies on the mixed saliva analysis and correction treatment of various pathological processes.

**Key words:** screen-printed sensors, cefuroxime axetil, potentiometry, model water solutions, mixed saliva.

**Образец для цитирования:**

Кулапина Е. Г., Кулапина О. И. Планарные потенциметрические сенсоры для определения цефуроксим аксетила в малых объемах проб // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 274–279. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-274-279.

**Cite this article as:**

Kulapina E. G., Kulapina O. I. Screen-printed Potentiometric Sensors for Cefuroxime Axetil Determination in Small Sample Volumes. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 274–279 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-274-279.



УДК 543. 25

## ХЕМОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ПЛС В ОБРАБОТКЕ ТИТРИМЕТРИЧЕСКИХ ДАННЫХ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ЛИЗИНА И АРГИНИНА В СМЕШАННЫХ РАСТВОРАХ

Ю. Б. Монахова, Р. К. Чернова, О. В. Варыгина



Монахова Юлия Борисовна, ведущий научный сотрудник кафедры общей и неорганической химии, Институт химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: yul-monakhova@mail.ru

Чернова Римма Кузьминична – начальник отдела наноаналитики, Образовательно-научный институт наноструктур и биосистем Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, доктор химических наук. E-mail: chernov-ia@yandex.ru

Варыгина Ольга Владимировна – инженер кафедры аналитической химии и химической экологии, Институт химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: varigini@mail.ru

Рассмотрены процессы гидролиза аргинина и лизина в водных средах. Проведено автоматическое рН-титрование 24 бинарных смесей аргинина и лизина (0,002 М) 0,05 М раствором HCl со стеклянным индикаторным электродом. Применен хемометрический метод ПЛС для обработки кривых титрования смешанных растворов аргинина и лизина. Показана возможность отдельного определения аргинина и лизина в проверочных наборах со средней квадратичной ошибкой предсказания (RMSEP) соответственно  $9,1 \times 10^{-4}$  М и  $9,8 \times 10^{-4}$  М.

**Ключевые слова:** аргинин, лизин, протолитические свойства, рН-метрическое титрование, хемометрика, ПЛС.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-280-285

Аргинин (2-амино-5-гуанидинпентановая кислота) – условно-незаменимая  $\alpha$ -аминокислота, является одним из ключевых метаболитов в процессах азотистого обмена.

L-аргинин входит в состав пептидов и белков, особенно высоко его содержание (до 85%) в основных белках – гистонах и протаминах. Высокая основность аргинина и соответственно способность образовывать ионные связи с фосфатны-

ми группами ДНК обуславливают образование нуклеопротеидов-комплексов: гистон – ДНК – хроматина и протамин – ДНК – гетерохроматина сперматозоидов.

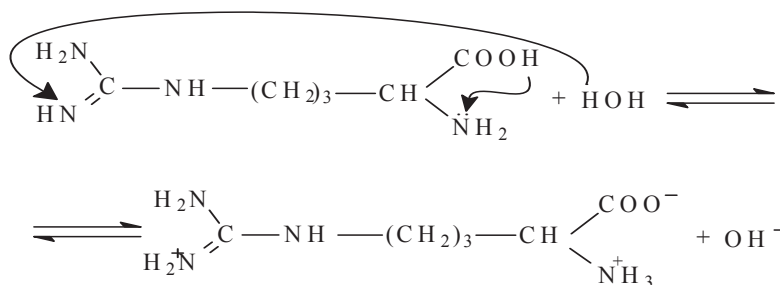
Лизин также – основная незаменимая  $\alpha$ -аминокислота, входящая в состав практически любых белков, необходима для роста, восстановления тканей, антител, гормонов, ферментов, альбуминов. Лизин оказывает противовирусное действие, особенно в отношении вирусов, вызывающих герпес и острые респираторные инфекции, участвует в формировании коллагена и восстановлении тканей. Данная аминокислота улучшает усвоение кальция из крови и транспорт его в костную ткань, поэтому он может быть неотъемлемой частью программы лечения и профилактики остеопороза.

Аргинин и лизин известны как диагностические факторы, лизин применяют в восстановительный период после операций и спортивных травм, в лечебном питании, при изготовлении лекарственных средств в фармацевтике.

Для отдельного определения данных аминокислот в смешанных растворах применимы современные хроматографические, капиллярно-электрофоретические и другие сравнительно сложные и редко применяемые в рядовых клинических и фармацевтических лабораториях методы анализа. Востребованы более доступные тестовые методы, одним из которых может являться рН-титриметрическое определение со стандартным стеклянным индикаторным электродом.

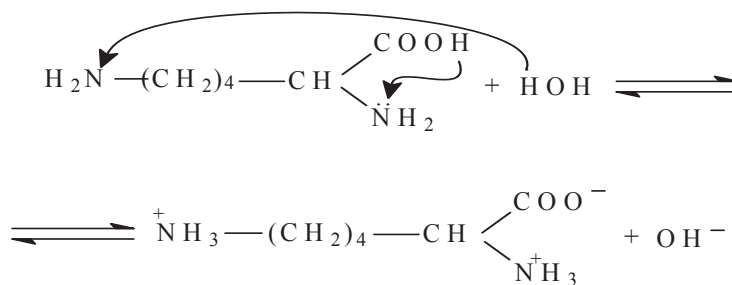
При растворении в воде гистидин, аргинин и лизин подвергаются протолиту, который согласно теории Бренстеда–Лоури может быть представлен схемами:

*Аргинин*





Лизин



Метод основан на титровании выделяющихся ионов гидроксила при гидролизе водных растворов аргинина и лизина.

Как видно из приведенных реакций, следствием гидролиза кислот является изменение рН 0,01 М водных растворов аргинина (11,08) и лизина (10,30). Значения рК диссоциации для протонированной гуанидиниевой группы аргинина и  $\xi$ -аминогруппы лизина составляют соответственно 12,48 и 10,54 [1]. В работе [1] показана возможность рН-потенциометрического определения аргинина в интервале концентраций 0,005–0,04 моль/л с погрешностью до 6%. Аналогично можно определить и концентрацию лизина в его водных растворах. Однако при совместном присутствии, в смешанных растворах аргинина и лизина, рН потенциометрическим титрованием раздельное определение этих аминокислот не представляется возможным, в связи с отсутствием выраженных скачков титрования для каждой из указанных аминокислот. Учитывая это для разделения сигналов лизина и аргинина в их смешанных растворах, нами был применен хемометрический метод в варианте ПЛС.

Хемометрические методы широко используются в аналитической практике для моделирования спектрометрических сигналов различной природы. Неоднократно установлено, что многомерный подход позволяет существенно расширить возможности спектрометрических методов анализа относительно установления «спрятанной» в спектрах информации (место производства, подлинность маркировки, тип продукта питания), а также количественного анализа смесей соединений в случае сильного перекрытия сигналов или невозможности непосредственного наблюдения откликов аналитов [2–5].

Анализу кривых потенциометрического титрования с использованием многомерных подходов посвящено небольшое количество работ. Так, в работе [6] показано, что на основе хемометрического моделирования данных потен-

циометрических кривых титрования возможно одновременное определение кислот, у которых значения рК отличаются на 0,5–1 единицы. Методика апробирована на смесях муравьиная–уксусная кислота в диапазоне концентраций 0–3 ммоль с погрешностью, не превышающей 0,05 ммоль.

В другом исследовании кислотно-основное титрование со спектрофотометрическим детектированием применено для анализа смесей слабых кислот: в качестве титранта выбрана смесь гидроксида натрия и кислотно-основного индикатора. Хемометрический алгоритм «регрессия на главные компоненты» (РГК) применен для моделирования спектров поглощения системы в зависимости от объема титранта; предложенный подход использован для анализа смесей бензойной и салициловой кислот, а также смесей фенола, о-хлорфенола и п-хлорфенола с удовлетворительными результатами [7].

При использовании сочетания титрования со спектрофотометрическим детектированием и метода чередующихся наименьших квадратов (MCR-ALS) была разработана методика определения общей кислотности в растительных маслах и биодизельном топливе. Основой подхода явилось моделирование спектров поглощения кислотно-основного индикатора ализарина, изменяющихся при введении в реактор свободных жирных кислот, содержащихся в объекте исследования [8].

В работе [9] сравнивается эффективность методов проекции на латентные структуры (ПЛС) и нейронных сетей для одновременного определения пищевых добавок – ванилина, ванилиновой кислоты и сиреневого альдегида в двух- и трехкомпонентных смесях, а также образцах воды по их спектрам поглощения. Предел обнаружения составил 0,12–0,15 мг/мл. Значения констант диссоциации аналитов были определены методом чередующихся наименьших квадратов [9].

В настоящей работе изучена возможность использования хемометрического метода про-



екции на латентные структуры для определения лизина и аргинина в бинарных смесях по кривым рН-метрического титрования.

**Материалы и методы**

При выполнении работы применяли следующие реагенты и их растворы:

1) α-аминокислоты:

L-Histidine, 98%, Acros Organics USA, Mг = 155,2. Для приготовления 100мл (0,05M) раствора гистидина растворяли навеску препарата (0,7758 г) в дистиллированной воде;

L-Arginine, 98%, Acros Organics USA, Mг = 174,2. Для приготовления 100 мл (0,05 M) раствора аргинина растворяли навеску препарата (0,8710 г) в дистиллированной воде;

2) для приготовления 1000 мл (0,1 M) рас-

твора соляной кислоты растворяли стандарт-титр в дистиллированной воде;

3) для титрования применяли титратор потенциометрический автоматический АПТ-2 (Аквилон). Индикаторный электрод – стеклянный (ЭСЛ-63-07), электрод сравнения – хлорид-серебряный.

Исследованы 24 бинарные смеси лизин–аргинин. Автоматические измерения проводили при введении 0.0005–12 мл 1M растворов HCl с шагом 0.05 мл. Матрица титриметрических данных для хемометрического анализа имела размерность 24×2682. Второй блок данных представлял собой молярные концентрации аргинина и лизина размером 2×24 соответственно. Содержание обеих аминокислот в модельных смесях приведено в табл. 1.

Таблица 1

Содержание аргинина и лизина в модельных смесях

№ смеси	Аргинин, М	Лизин, М	№ смеси	Аргинин, М	Лизин, М
1	0,0125	0	13	0,006	0,0065
2	0,012	0,0005	14	0,005	0,0075
3	0,0115	0,001	15	0,0045	0,008
4	0,0105	0,002	16	0,004	0,0085
5	0,01	0,0025	17	0,0035	0,009
6	0,0095	0,003	18	0,003	0,0095
7	0,009	0,0035	19	0,0025	0,01
8	0,0085	0,004	20	0,002	0,0105
9	0,008	0,0045	21	0,0015	0,011
10	0,0075	0,005	22	0,001	0,0115
11	0,007	0,0055	23	0,0005	0,012
12	0,0065	0,006	24	0	0,125

**Результаты и их обсуждение**

Кривые титрования указанных бинарных смесей представлены на рис.1. Очевидно, что в данных условиях построить классические модели одномерной градуировки не представляется возможным в силу нечетко выраженных точек перегиба для обеих аминокислот. В работе использован альтернативный подход – многомерная градуировка с применением метода ПЛС.

Модели ПЛС были построены для каждой из аминокислот в отдельности. В качестве примера на рис. 2 представлен график «введено–найдено» при определении аргинина и использовании полной перекрестной проверки. Точность многомерной градуировки принято характеризовать величиной RMSEC (среднеквадратичная ошибка градуировки) и коэффициента корреляции R<sup>2</sup>. В данном случае для аргинина RMSEC = 4×10<sup>-4</sup>M,

R<sup>2</sup> = 0,98 (см. рис. 2). Аналогичные результаты были получены для лизина (R<sup>2</sup> = 0,98, RMSEC = 4×10<sup>-4</sup>M) (рис. 3).

Очевидно, что построенные нами ПЛС модели нуждаются в полноценной проверке. Для этого был выбран метод тест-валидации. Все образцы разделены случайным образом на обучающий (19 образцов) и проверочный (5 образцов) наборы данных.

Разбиение на обучающий и проверочный наборы проводили случайным образом десять раз. Обучающие наборы образцов использовали для построения ПЛС моделей с помощью которых проводили анализ «новых» смесей. Полная перекрестная проверка применена для уменьшенных обучающих наборов для проверки оптимального числа значимых латентных переменных. При этом число латентных переменных



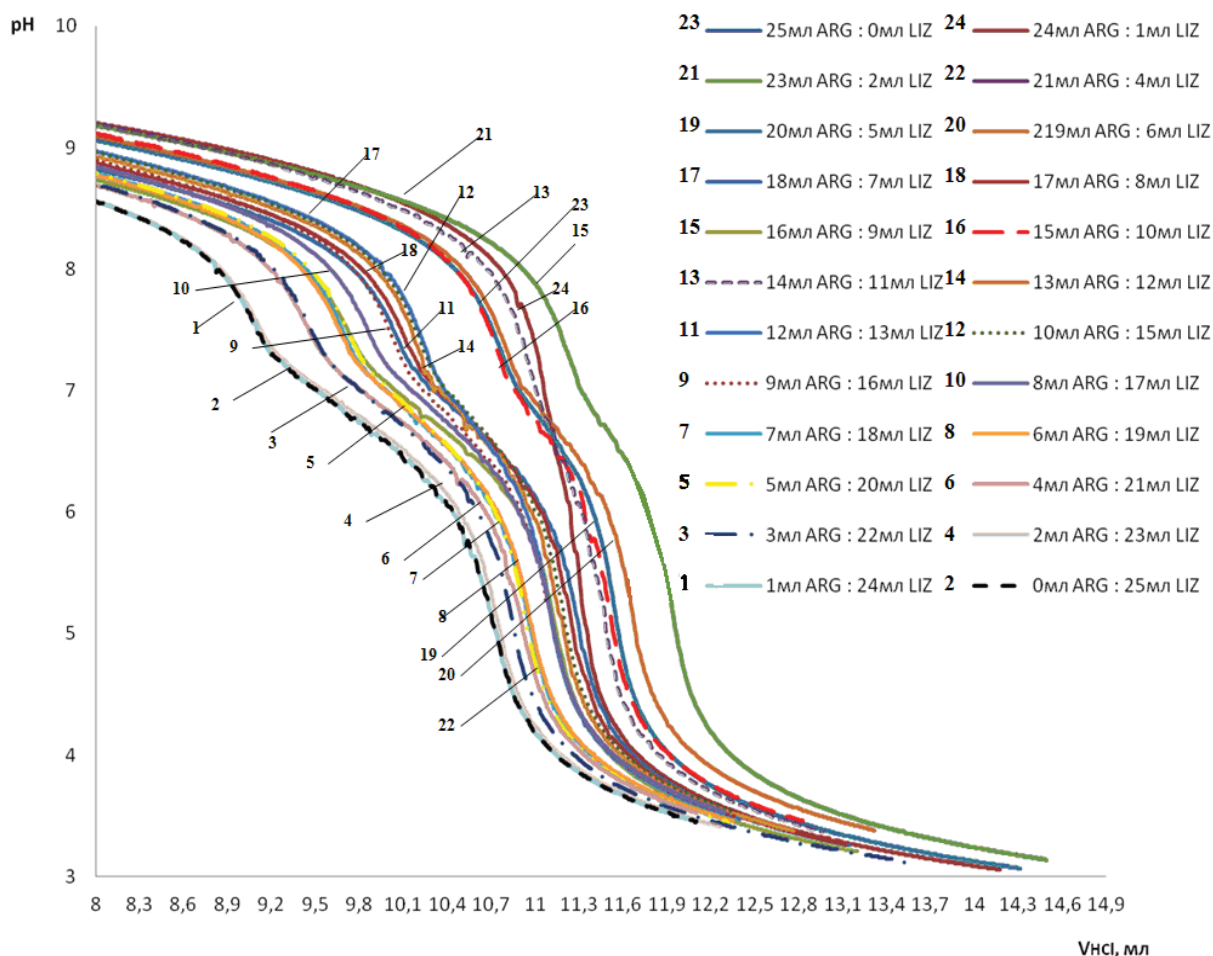


Рис. 1. Кривые титрования смесей аргинина и лизина

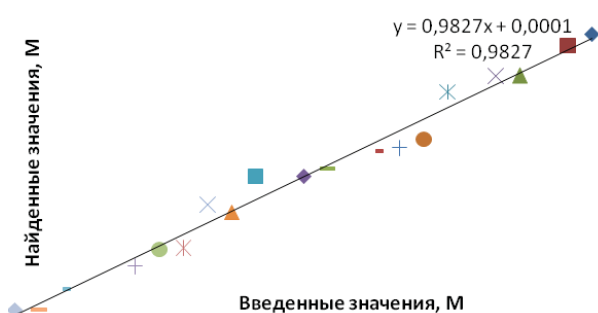


Рис. 2. График зависимости «введено–найдено» для аргинина

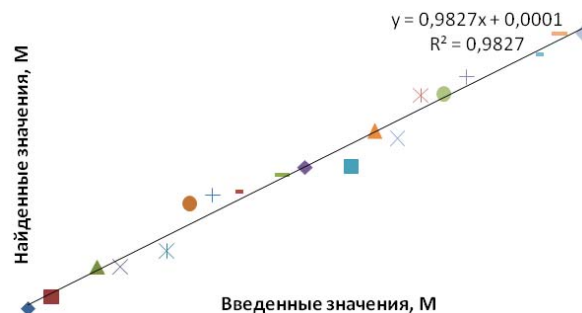


Рис. 3. График зависимости «введено–найдено» для лизина

(ПЛС факторов) в уменьшенных наборах данных совпадало с их числом для полных моделей, что свидетельствует об их репрезентативности. Оптимальное число ПЛС факторов соответствовало семи для полных и обучающих наборов данных для обоих аналитов.

В табл. 2 представлены результаты количественного определения аргинина и лизина в бинарных смесях из одного проверочного набо-

ра. Средняя квадратичная ошибка предсказания (RMSEP) составила  $9,1 \times 10^{-4} \text{M}$  и  $9,8 \times 10^{-4} \text{M}$  для аргинина и лизина соответственно.

Таким образом, нами показано, что хемометрический метод ПЛС может быть использован для совместного определения лизина и аргинина на основании моделирования кривых титрования их смесей. Для количественного анализа реальных объектов необходимо использование кали-



Таблица 2

## Молярные концентрации аргинина и лизина в проверочном наборе

Аргинин, М		RMSEP	Лизин, М		RMSEP
Введено	Найдено		Введено	Найдено	
0,0125	0,0116	9,8×10 <sup>-4</sup> М	0	0	9,1×10 <sup>-4</sup> М
0,0095	0,0088		0,0030	0,0036	
0,0070	0,0078		0,0055	0,0037	
0,0020	0,0023		0,0105	0,0101	
0,0015	0,0015		0,0110	0,0110	

бровочных смесей, содержащих большее число компонентов. Однако, имея в виду хорошую точность предсказания, полученную для проверочных наборов, метод может быть перспективен для эффективного контроля за содержанием аминокислот в объектах сложного состава.

*Авторы приносят благодарность профессору С. П. Муштаковой за консультации и помощь при выполнении данной работы.*

## Список литературы

1. Чернова Р. К., Варыгина О. В., Березкина Н. С. Избирательное определение гистидина в смешанных растворах  $\alpha$ -аминокислот // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2015. Т. 15, вып. 4. С. 10–15.
2. Monakhova Yu. B., Astakhov S. A., Kraskov A. V., Mush-takova S. P. Independent components in spectroscopic analysis of complex mixtures // Chemom. Intell. Lab. Syst. 2010. Vol. 103, № 3. P. 108–115.
3. Монахова Ю. Б., Астахов С. А., Муштакова С. П., Грибов Л. А. Методы декомпозиции спектров различной природы в анализе смесей сложного состава // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66, № 4. С. 361–372.
4. Монахова Ю. Б., Цикин А. М., Муштакова С. П. Метод независимых компонент как альтернатива методу главных компонент и дискриминантным алгоритмам в обработке спектрометрических данных // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70, № 9. С. 925–932.
5. Монахова Ю. Б., Кубална Т., Лахенмайер Д. В. Хемометрические методы в ЯМР-спектроскопическом анализе пищевых продуктов // Журн. аналит. химии. 2013. Т. 68, № 9. С. 837–849.
6. Moisio T., Heikonen M. A simple method for the titration of multicomponent acid-base mixtures // Anal. Bioanal. Chem. 1996. Jan. Vol. 354(3). P. 271–278.
7. Liao L., Yang J., Yuan J. Process monitored spectrophotometric titration coupled with chemometries for simultaneous determination of mixtures of weak acids // Anal. Chim. Acta. 2007. Vol. 591 (1). P. 123–154.
8. Rio V. del, Larrechi M. S., Callao M. P. Sequential injection titration method using second-order sialars: deter-

mination of acidity in plant oils and biodiesel samples // Talanta. 2010. Vol. 81. P. 1572–1579.

9. Rasouli Z., Ghavami R. Investigating the discrimination potential of linear and nonlinear spectral multivariate calibrations for analysis of phenolic compounds in their binary and ternary mixtures and calculation pKa values // Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2016. Vol. 165. P. 191–200.

**Chemometric Method of PLS in the Treatment of Titrimetric Data when Opredeleniye of Arginine and Lysine in Mixed Solutions****Yu. B. Monakhova, R. K. Chernova, O. V. Varigina**

Yuliya B. Monakhova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, yul-monakhova@mail.ru

Rimma K. Chernova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, chernov-ia@yandex.ru

Ol'ga V. Varigina, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, varigini@mail.ru

Arginine and lysine are the most important  $\alpha$ -amino acids that are part of many proteins, which play an important role in the processes of nitrogen metabolism, growth and restoration of body tissues. It is used in medical nutrition in the postoperative recovery period, as well as as diagnostic factors. The simple express methods of separately determining the main  $\alpha$ -amino acids of arginine and lysine in their mixed solutions are in demand. In this paper, the possibility of using the chemometric projection method for latent structures to determine lysine and arginine in binary mixtures from the pH-metric titration curves has been studied. 24 binary lysine-arginine mixtures with a titrimetric data matrix for chemometric analysis of  $24 \times 2682$  were investigated. The second data block was the molar concentrations of arginine and lysine,  $2 \times 24$ , respectively. An alternative approach was used in the work – multidimensional calibration was constructed by the method of FL. The PL models were constructed for each of the amino acids separately. The root-mean-square error of the RMSEC calibration and the correlation coefficient R2 for arginine were RMSEC =  $4 \times 10^{-4}$ М, R2 = 0.98, for lysine R2 = 0.98, RMSEC  $4 \times 10^{-4}$ М. The test was carried out by the test-validation method. All samples are randomly divided into a training set (19 samples) and a test (5 samples) data sets. The breakdown into the training and test kits was randomly performed ten times. Training sets of samples were used to construct the PLS models with



the help of which the analysis of "new" mixtures was carried out. A full cross-validation is applied for reduced training sets to test the optimal number of significant latent variables. In this case, the number of latent variables (PLS factors) in reduced data sets coincided with their number for complete models, which indicates their representativeness. The optimal number of factor PLs corresponded to seven for complete and training data sets for both analytes. The mean square prediction error (RMSEP) was  $9.1 \times 10^{-4}$  M and

$9.8 \times 10^{-4}$  M for arginine and lysine, respectively. It is shown that the chemometric method of PLS can be used for the separate determination of lysine and arginine in the joint presence on the basis of modeling the titration curves of their mixtures. Quantitative analysis of real objects requires the use of calibration mixtures containing a greater number of components

**Key words:** arginine, lysine, protolytic properties, pH-metric titration, chemometrics, PLS.

---

**Образец для цитирования:**

Монахова Ю. Б., Чернова Р. К., Варыгина О. В. Хемометрический метод ПЛС в обработке титриметрических данных при определении лизина и аргинина в смешанных растворах // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 280–285. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-280-285.

**Cite this article as:**

Monakhova Yu. B., Chernova R. K., Varigina O. V. Chemometric Method of PLS in the Treatment of Titrimetric Data when Opredeleniye of Arginine and Lysine in Mixed Solutions. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 280–285 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-280-285.

---



УДК (544.431.15+544.433.3+547.1'123+582.284):543.422.3

## АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС МИЦЕЛИЯ МАКРОБАЗИДИОМИЦЕТОВ, ВЫРАЩЕННЫХ С ДОБАВЛЕНИЕМ СЕЛЕНОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ



А. Н. Панкратов, О. М. Цивилева, А. С. Белобородая, О. А. Цымбал, Я. Б. Древо

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

Цивилева Ольга Михайловна, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), доктор биологических наук. E-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru

Белобородая Анастасия Сергеевна, бакалавр по направлению 04.03.01 "Химия", Институт химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: nastya365@mail.ru

Цымбал Олег Александрович, соискатель учёной степени кандидата химических наук кафедры аналитической химии и химической экологии, Институт химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: olegtsymbal1990@yandex.ru

Древо Ярослав Борисович, доцент кафедры микробиологии, биотехнологии и химии, Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова, кандидат химических наук. E-mail: drevko@list.ru

Спектрофотометрическим методом по реакциям со свободным радикалом 1,1-дифенил-2-пикрилгидразилом (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил, N,N-дифенил-N'-пикрилгидразил,ДФПГ, DPPH) (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>N-N'-C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>(NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-2,4,6 проанализирована антирадикальная активность водно-этанольных экстрактов мицелия макробазидиомицетов *Laetiporus sulphureus* (трутовик серно-жёлтый), *Pleurotus ostreatus* (вешенка обыкновенная), *Grifola umbellata* (грифола зонтичная), *Ganoderma applanatum* (трутовик плоский) и *Lentinula edodes* (шиитакэ), выращенных с добавлением селенорганических соединений в среду глубокого культивирования. В качестве добавок использованы 1,5-дифенилселенопентандион-1,5 (диацетофенилселенид, бис(бензоилметил)селенид, препарат ДАФС-25) C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>COCH<sub>2</sub>SeCH<sub>2</sub>COC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4Н-селенохромен, 2-(4-бромфенил)-4-фенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4Н-селенохромен и перхлорат 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромилия. Установлено, что положительное влияние на антирадикальную активность экстрактов и антиоксидантный статус мицелия оказывает диацетофенилселенид, селенсодержащий фрагмент молекулы которого имеет открытоцепное строение. Напротив, вещества с атомом селена в цикле – дигидроселенохромены и соль дигидроселенохромилия – снижают антирадикальную активность экстрактов. Диацетофенилселенид, в противоположность гетероциклическим соединениям селена, перспективен в качестве антиоксидантной и микроэлементной добавки при культивировании макробазидиомицетов. Наиболее выраженный позитивный эффект в отно-

шении возрастания антирадикальной активности экстрактов при добавлении диацетофенилселенида в среду культивирования проявляется для макробазидиомицета *Ganoderma applanatum*. Экстракт мицелия *Lentinula edodes* характеризуется сравнительно высокой антирадикальной активностью даже без добавок. Остальные рассмотренные высшие грибы не проявили отчётливой дифференциации эффективности антиоксидантных систем организмов.

**Ключевые слова:** антиоксидантный статус, антирадикальная активность, ДФПГ, селенорганические соединения, диацетофенилселенид, дигидроселенохромены, соли дигидроселенохромилия, макробазидиомицеты.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-286-298

Базидиомицеты – один из классов царства грибов [1]. Базидиомицеты с макроскопическим размером плодовых тел называются макробазидиомицетами [2]. Последние играют исключительно важную роль как объекты промышленного выращивания в пищевых и биомедицинских целях [3]. Исследование и оптимизация процессов культивирования высших грибов является актуальной научной задачей.

Не менее важны макробазидиальные грибы как биологические объекты для выявления закономерностей функционирования, развития живых систем, их отклика на действие эффекторов различной природы ([4–19] и др.).

Для живых организмов разных эволюционных ступеней остро стоит проблема окислительного стресса. Недостаточная активность антиоксидантной системы, не позволяющая преодолеть негативные последствия окислительного стресса (избыточный уровень свободных радикалов в клетках) – причина старения и отмирания организмов [20–22].

С другой стороны, окислительный стресс обеспечивает цитодифференцировку и переход к генеративной стадии. Поэтому необходимо поддерживать оптимальный антиоксидантный статус грибного организма.

Для направленного регулирования антиоксидантного статуса целесообразно на стадии глубокого культивирования вводить в состав питательных сред химические эффекторы – антиоксиданты в количестве, способствующем повышению стрессоустойчивости культур высших грибов.



Мощными антиоксидантами являются соединения селена, прежде всего селенопротеины, имеющие в своём составе остатки  $\alpha$ -аминокислот селеноцистеина (2-амино-3-селанилпропановая (-пропионовая) кислота,  $\alpha$ -амино- $\beta$ -селанилпропановая (-пропионовая) кислота, 2-амино-3-гидроселенопропановая (-пропионовая) кислота,  $\alpha$ -амино- $\beta$ -гидроселенопропановая (-пропионовая) кислота, 3-селанилаланин,  $\beta$ -селанилаланин, 3-гидроселеноаланин,  $\beta$ -гидроселеноаланин, 3-селенилаланин,  $\beta$ -селенилаланин, селеносерин)  $\text{H}_2\text{NCH}(\text{CH}_2\text{SeH})\text{COOH} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{N}^+\text{CH}(\text{CH}_2\text{SeH})\text{COO}^-$  и селенометионина (2-амино-4-(метилселанил)-бутановая (-масляная) кислота,  $\alpha$ -амино- $\gamma$ -(метилселанил)бутановая (-масляная) кислота, 2-амино-4-(метилселенил)бутановая (-масляная) кислота,  $\alpha$ -амино- $\gamma$ -(метилселенил)бутановая (-масляная) кислота, 2-амино-4-(метилселено)бутановая (-масляная) кислота,  $\alpha$ -амино- $\gamma$ -(метилселено)бутановая (-масляная) кислота,  $\gamma$ -метилселанил- $\alpha$ -аминобутановая (-масляная) кислота,  $\gamma$ -метилселенил- $\alpha$ -аминобутановая (-масляная) кислота,  $\gamma$ -метилселено- $\alpha$ -аминобутановая (-масляная) кислота)  $\text{H}_2\text{NCH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SeCH}_3)\text{COOH} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{N}^+\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SeCH}_3)\text{COO}^-$ , синтезируемые в организмах. Основной биологической ролью селена является его участие в синтезе и активности антиоксидантных ферментов: глутатионпероксидаз I-IV, селензависимой пероксидазы нейтрофилов, селенопротеинов P и W, тиоредоксинредуктазы и др., а также 5'-иодотирониндеиодиназа I, II и III. К настоящему моменту прочно сформулировано представление о том, что ключевой биохимической функцией селена, лежащей в основе его эссенциальности для человека, является участие в построении и функционировании глутатионпероксидаз – ключевых антиоксидантных ферментов, которые предотвращают накопление в тканях свободных радикалов, инициирующих пероксидное окисление липидов, белков, нуклеиновых кислот и других соединений (см. работы [23–76] и др., а также цитируемые в них многочисленные научные труды).

К тому же селен – жизненно важный микроэлемент с уникальными биологическими функциями и широким спектром биологического действия его соединений (см. литературные источники, ссылки на которые даны в предыдущем абзаце).

Одним из показателей антиоксидантного действия служит антирадикальная активность [77], определяемая спектрофотометрическим методом по реакциям [77] с участием стабильного свободного радикала 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил, N,N-дифенил-

N'-пикрилгидразил,ДФПГ, DPPH)  $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{N}-\text{N}'-\text{C}_6\text{H}_2(\text{NO}_2)_3-2,4,6$  ([78-81] и др.).

Цель настоящей работы – определение антирадикальной активности водно-этанольных экстрактов мицелия и выяснение антиоксидантного статуса мицелия некоторых высших грибов-макробазидиомицетов, выращенных с добавлением селенорганических соединений в среду глубинного культивирования.

## Экспериментальная часть

### 1. Оборудование для экспериментального исследования

Для изучения антирадикальной активности экстрактов грибного мицелия используют следующее аналитическое и исследовательское оборудование: ультразвуковую ванну «Сапфир» (напряжение питания 220 В; рабочая частота 30–40 кГц; таймер цифровой 1–99 мин; термостат цифровой 15–65 °С; объём 2.8 л; габариты ёмкости 240 мм × 135 мм × 100 мм; габаритные размеры 260 мм × 160 мм × 250 мм; масса 4 кг; в комплектацию входят ультразвуковая ванна, корзина из нержавеющей стали, крышка пластиковая, паспорт, упаковка); весы аналитические AND HR-200 (наибольший предел взвешивания 210 г; дискретность отсчёта 0.1 мг; класс точности специальный – I; диаметр платформы 85 мм; габариты 301 мм × 195 мм × 319.5 мм; масса 5.8 кг); спектрофотометр Shimadzu UV-1800 (оптическая система двулучевая; высокоэффективный монохроматор М. Черни – А. Ф. Тернера с голографической дифракционной решёткой; спектральный диапазон от 190.0 до 1100.0 нм; спектральная ширина щели 1 нм; дискретность отображения длины волны (шаг) 0.1 нм; точность установки длины волны 0.1 нм; воспроизводимость длины волны  $\pm 0.1$  нм; скорость сканирования до 3800 нм/мин; фотометрический диапазон: оптическая плотность от –4 до 4, пропускание от 0 до 400%; габариты 450 мм × 490 мм × 270 мм; масса 15 кг). Спектрофотометр имеет компактный дизайн, светосильный монохроматор, встроенный жидкокристаллический дисплей, клавиатуру, встроенную память для сохранения данных без персонального компьютера (до 24 файлов), USB-интерфейс и функцию USB-контроля. Предусмотрено двойное управление работой прибора по выбору оператора: от встроенного процессора или от персонального компьютера с помощью программного обеспечения UVProbe.

### 2. Приготовление растворов реагента и экстрактов образцов

Готовят 0.1 мМ раствор ДФПГ в 80 %-ном (по объёму) водном этаноле  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ . Массу



ДФПГ для приготовления раствора вычисляют по формуле

$$m(\text{ДФПГ}) = \frac{M(\text{ДФПГ})c(\text{ДФПГ})V}{10^6},$$

где  $m(\text{ДФПГ})$  – массаДФПГ, г;  $M(\text{ДФПГ})$  – молярная массаДФПГ, равная 394.33 г/моль;  $c(\text{ДФПГ})$  – миллимолярная концентрация раствораДФПГ (0.1 ммоль/л);  $V$  – необходимый объём раствора, мл.

На 25 мл раствора берут навеску 0.0010 гДФПГ. Для ускорения и обеспечения полноты растворения вещества используют ультразвук (частота акустических колебаний 30–40 кГц, время 10–15 мин, температура 27 °С). Раствор нестойк, хранится не более двух суток.

Для построения градуировочной зависимости используют раствор тролокса (Троlox, 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) (рис. 1).

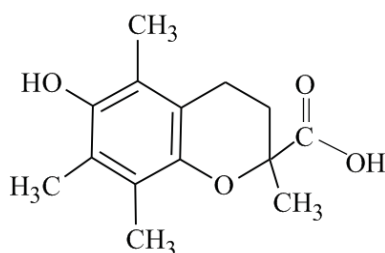


Рис. 1. Троlox (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота)

Растворяют 3 мг тролокса в 2.4 мл 80 об. %-ного этанола. Раствор устойчив в течение длительного времени.

Для приготовления экстрактов берут навески образцов мицелия, помещают в пробирки, заливают 4 мл 50 об. %-ного этанола, встряхивают в течение 10 мин и оставляют на сутки (первое экстрагирование). По истечении суток собирают надосадочную жидкость и переносят в другие пробирки. Осадки из первых пробирок с образцами заливают 3 мл 96 об. %-ного этанола, встряхивают в течение 10 мин и выдерживают в течение суток (второе экстрагирование). По истечении суток собирают надосадочную жидкость, объединяют оба экстракта, фильтруют через бумажный фильтр с белой лентой для крупнодисперсных осадков.

### 3. Построение градуировочной характеристики

В соответствии с табл. 1 в пробирки вносят определённый объём сток-раствора тролокса и добавляют 80 об. %-ный этанол до 2 мл. Иницирование реакции производят путём добавления в реакционную смесь по 2 мл раствораДФПГ. Пробирки хорошо встряхивают и оставляют на 30 мин в темноте. По истечении указанного времени измеряют оптическую плотность растворов, берут значения оптической плотности при длине волны  $\lambda = 517$  нм и строят градуировочную характеристику (градуировочный график).

Таблица 1

Данные для градуировочного графика, предназначенного для определения антирадикальной активности экстрактов мицелия

Объём сток-раствора, мкл	Объём 80 об. %-ного этанола, мкл	Количество вещества тролокса ( $q$ , мкмоль)	Оптическая плотность при $\lambda = 517$ нм	Процент ингибирования ( $I$ )*
0	2000	0.00	0.332	0.000
1	1999	2.50	0.308	7.229
2	1998	5.00	0.281	15.36
3	1997	7.50	0.261	21.39
4	1996	10.0	0.236	28.92
5	1995	12.5	0.211	36.45
6	1994	15.0	0.189	43.07
7	1993	17.5	0.161	51.51
8	1992	20.0	0.135	59.34
9	1991	22.5	0.116	65.06

Примечание. \*Значения процента ингибирования как величины, предназначенной для вывода уравнения градуировочной характеристики и промежуточной при вычислении содержания антиоксидантов, приведены с избыточной четвёртой значащей цифрой (кроме случая нулевого объёма сток-раствора).



### Результаты и их обсуждение

Объекты исследования в настоящей работе – культуры пяти высших грибов-макробазидиомицетов: *Laetiporus sulphureus* (трутовик серно-жёлтый), *Pleurotus ostreatus* (вешенка обыкновенная), *Grifola umbellata* (грифола зонтичная), *Ganoderma applanatum* (трутовик плоский), *Lentinula edodes* (шиитаке).

В качестве добавок взяты следующие органические соединения селена: 1,5-дифенилселенопентандион-1,5 (диацетофенонилселенид, бис(бензоилметил)селенид, препарат ДАФС-25) (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) [82–87] (рис. 2).

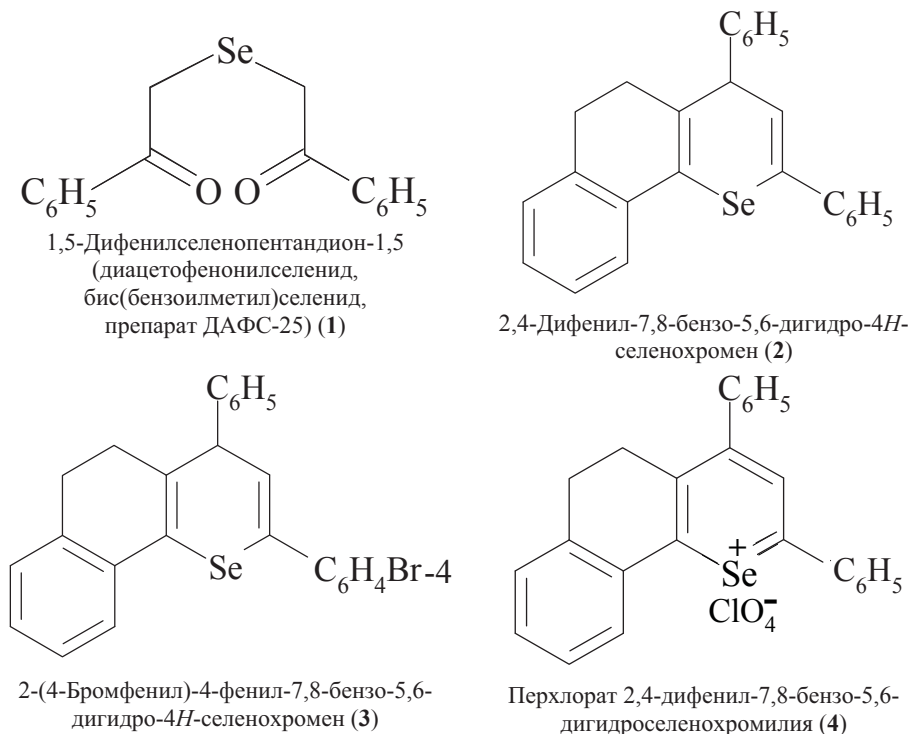


Рис. 2. Селенорганические соединения – добавки к средам культивирования макробазидиомицетов

Грибные культуры выращивали в присутствии веществ 1–4 в течение семи дней; также для сравнения были выращены контрольные образцы без добавок.

В качестве питательных сред для выращивания глубинных культур грибов использовали водные растворы состава (моль/л): *D*-глюкоза (*D*-глюкогексоза),  $2,22 \cdot 10^{-2}$ ; *L*-аспарагин (*L*-2-амино-3-карбамоилпропановая кислота, *L*-2,4-диамино-4-оксобутановая кислота, *L*-2-аминобутанамид-4-овая кислота)  $\text{H}_2\text{NC}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{NC}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$  в виде моногидрата,  $1,00 \cdot 10^{-2}$ ; селенорганическое соединение 1, 2, 3 или 4,  $1,00 \cdot 10^{-4}$ .

Готовили водно-этанольные экстракты образцов мицелия (табл. 2).

Суть способа [77] определения антирадикальной активности заключается в снижении оптической плотности раствора стабильного свободного радикала ДФПГ в присутствии антиоксидантов вследствие протекания реакций ДФПГ с радикалами  $\text{R}^*$ , образующимися в клетках культур при окислительном стрессе (рис. 3).

Радикал ДФПГ применяется также как мягкое дегидрирующее средство, ингибитор радикальных (гомолитических) реакций, аналитический реагент, стандарт в спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) ([78–81] и др.).

С использованием сток-раствора тролокса по данным табл. 1 нами построена градуировоч-

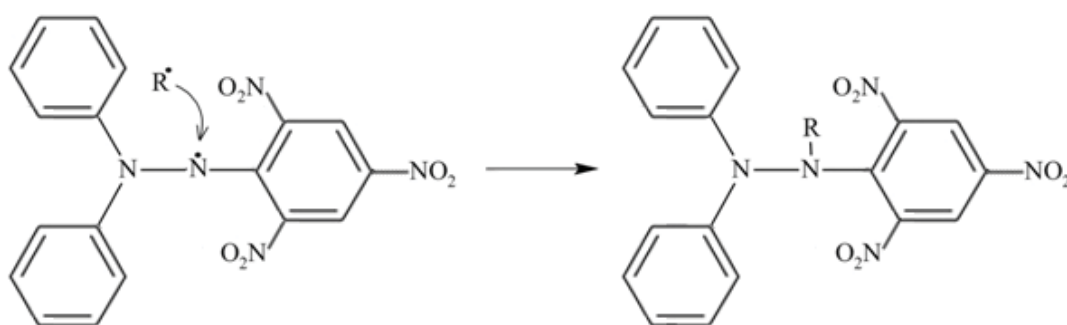


Таблица 2

Пример исследованных образцов мицелия

Номер образца	Макробазидиомицет	Добавка*	Масса навески образца ( $m$ , г)**
1	<i>L. sulphureus</i>	0	0.0505
2	<i>P. ostreatus</i>	0	0.0428
3	<i>Gr. umbellata</i>	0	0.0344
4	<i>G. applanatum</i>	0	0.0682
5	<i>L. edodes</i>	0	0.0208
6	<i>L. sulphureus</i>	1	0.1566
7	<i>P. ostreatus</i>	1	0.0350
8	<i>Gr. umbellata</i>	1	0.1952
9	<i>G. applanatum</i>	1	0.0084
10	<i>L. edodes</i>	1	0.0407
11	<i>L. sulphureus</i>	2	0.1712
12	<i>P. ostreatus</i>	2	0.0526
13	<i>Gr. umbellata</i>	2	0.1867
14	<i>G. applanatum</i>	2	0.1396
15	<i>L. edodes</i>	2	0.0565
16	<i>L. sulphureus</i>	3	0.0424
17	<i>P. ostreatus</i>	3	0.0576
18	<i>Gr. umbellata</i>	3	0.0501
19	<i>G. applanatum</i>	3	0.0467
20	<i>L. edodes</i>	3	0.0421
21	<i>L. sulphureus</i>	4	0.0607
22	<i>P. ostreatus</i>	4	0.0473
23	<i>Gr. umbellata</i>	4	0.0785
24	<i>G. applanatum</i>	4	0.029
25	<i>L. edodes</i>	4	0.0054

Примечание. \*Цифра 0 означает отсутствие добавки (контроль). Цифрами 1–4 обозначены добавки веществ 1–4. \*\*Одно из трёх параллельных определений для каждого образца.

Рис. 3. Схема взаимодействия радикалов  $R^\bullet$  с ДФПГ

ная характеристика для определения антирадикальной активности экстрактов мицелия (рис. 4).

Значения концентрации тролокса (и, следовательно, величины  $q$ ) подобраны так, чтобы на всём их интервале зависимость  $I$  vs  $q$  имела линейный характер.

Методом регрессионного анализа [88, 89] получены уравнения градуировочной зависимости процента ингибирования ( $I$ ) от количества тролокса ( $q$ , мкмоль) и обратной по отношению к ней зависимости для непосредственного вычисления количества вещества  $q$ .



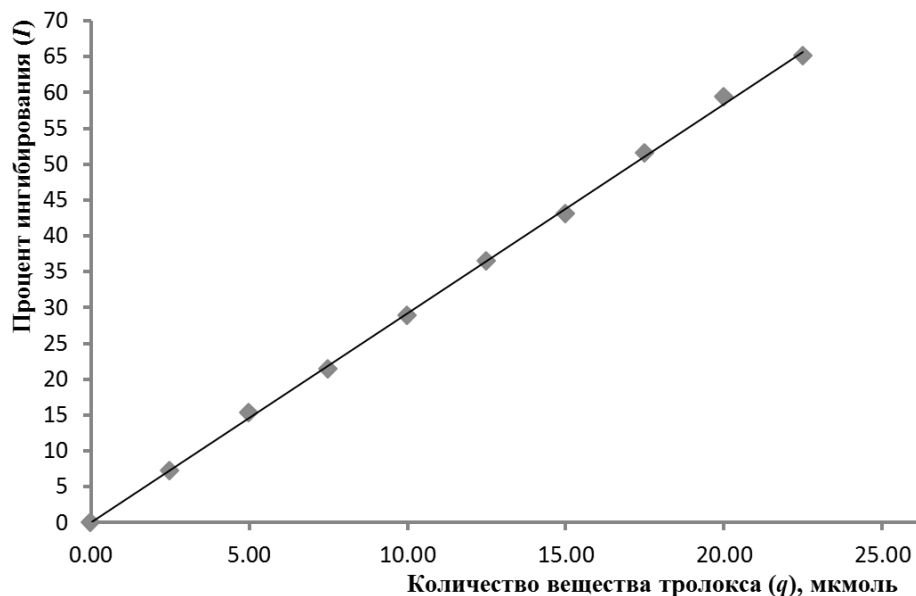


Рис. 4. Градуировочный график для определения антиоксидантной активности экстрактов мицелия

Уравнение прямой для градуировочного графика:

$$I = bq;$$

$$b = 2.918 \pm 0.030 \text{ \%}/\text{мкмоль};$$

дисперсия адекватности:  $S_0^2 = 0.3236 \text{ мкмоль}^2/\text{\%}^2$ .

Обратное выражение для расчёта количества вещества  $q$ :

$$q = b^{-1}I;$$

$$b^{-1} = 0.3426 \pm 0.0036 \text{ мкмоль}/\text{\%};$$

дисперсия адекватности:  $S_0^2 = 0.03799 \text{ мкмоль}^2/\text{\%}^2$ .

Общие параметры двух взаимно обратных зависимостей  $I = bq$  и  $q = b^{-1}I$ :

коэффициент корреляции К. Пирсона:  $r = 0.9997$ ;

величина достоверности линейной аппроксимации, полученная с использованием программного пакета Microsoft Excel:  $R^2 = 9993$ ;

На рис. 5 приведён пример электронных спектров поглощения реакционных смесей при определении антиоксидантной активности экстрактов мицелиальных образцов.

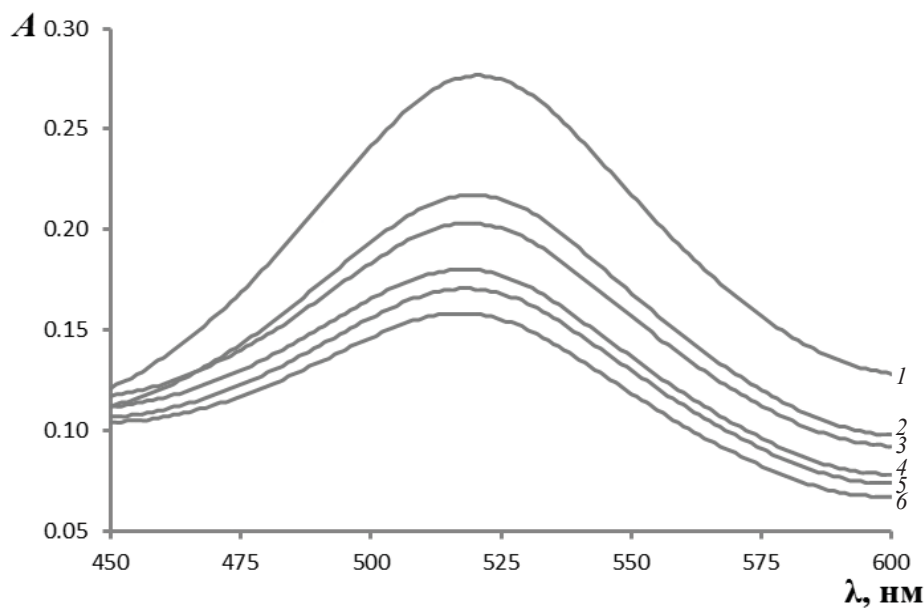


Рис. 5. Спектры поглощения реакционных смесей при определении антирадикальной активности экстрактов мицелия с добавкой диацетофенонилселенида 1: 1 – контрольный опыт, 2 – *L. sulphureus*, 3 – *P. ostreatus*, 4 – *Gr. umbellata*, 5 – *G. applanatum*, 6 – *L. edodes*



Для вычисления процента ингибирования ( $I$ ) использована формула

$$I = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \cdot 100,$$

где  $A_0$  – оптическая плотность в отсутствие антиоксидантов (контроль);  $A_x$  – оптическая плотность исследуемого раствора.

Для расчёта содержания антиоксидантов в образцах ( $c$ , мкмоль/г), то есть для выяснения антиоксидантного статуса мицелия, в предположении о полном извлечении антиоксидантов при экстрагировании применена формула

$$c = \frac{Kc_q}{m},$$

где  $K$  – коэффициент разведения экстрактов образцов мицелия ( $K = 28$ )  $c_q$  – условное (в пересчёте на тролокс) содержание антиоксидантов в 0.25 мл экстракта, мкмоль (получается

из градуировочной характеристики);  $m$  – масса навески образца, г.

Антирадикальная активность экстрактов передаёт тенденции изменения содержания антиоксидантов в мицелии, с высокой степенью достоверности отражая их антиоксидантный статус.

Результаты определения содержания антиоксидантов в образцах мицелия представлены в табл. 3. Для каждого из образцов 1–25 число измерений (*number of observations*) или объём выборки (*sample size*)  $n = 3$ , число степеней свободы (*degrees of freedom*)  $v = n - 1 = 2$ , уровень доверительной вероятности (*confidence level*)  $1 - \alpha = 0.95$  (где комплементарная величина  $\alpha$  известна как уровень значимости (*significance level*)), коэффициент Стьюдента (У. С. Госсет)  $t_{1-\alpha, v} = 4.30$ . Названия и обозначения величин при статистической обработке даны в соответствии с рекомендациями IUPAC [90].

Таблица 3

## Содержание антиоксидантов в образцах экстрактов мицелия

Номер образца	Макробазидиомицет	Добавка*	Содержание антиоксидантов ( $c$ , мкмоль/г)
1	<i>L. sulphureus</i>	0	1600 ± 550
2	<i>P. ostreatus</i>	0	3900 ± 770
3	<i>Gr. umbellata</i>	0	400 ± 270
4	<i>G. applanatum</i>	0	2300 ± 270
5	<i>L. edodes</i>	0	9000 ± 2900
6	<i>L. sulphureus</i>	1	1600 ± 120
7	<i>P. ostreatus</i>	1	6000 ± 800
8	<i>Gr. umbellata</i>	1	1900 ± 180
9	<i>G. applanatum</i>	1	38000 ± 5000
10	<i>L. edodes</i>	1	10000 ± 580
11	<i>L. sulphureus</i>	2	73 ± 17
12	<i>P. ostreatus</i>	2	700 ± 150
13	<i>Gr. umbellata</i>	2	30 ± 27
14	<i>G. applanatum</i>	2	220 ± 91
15	<i>L. edodes</i>	2	1400 ± 140
16	<i>L. sulphureus</i>	3	2200 ± 160
17	<i>P. ostreatus</i>	3	100 ± 60
18	<i>Gr. umbellata</i>	3	150 ± 91
19	<i>G. applanatum</i>	3	200 ± 90
20	<i>L. edodes</i>	3	4000 ± 1300
21	<i>L. sulphureus</i>	4	760 ± 64
22	<i>P. ostreatus</i>	4	820 ± 81
23	<i>Gr. umbellata</i>	4	280 ± 93
24	<i>G. applanatum</i>	4	500 ± 100
25	<i>L. edodes</i>	4	500 ± 170

Примечание. \*Цифра 0 означает отсутствие добавки (контроль). Цифрами 1–4 обозначены добавки веществ 1–4.



Таким образом, в ходе проведённых нами лабораторных экспериментов по реакциям с ДФПГ проанализирована антирадикальная активность экстрактов мицелия макробазидиомицетов *Laetiporus sulphureus* (трутовика серно-жёлтого), *Pleurotus ostreatus* (вешенки обыкновенной), *Grifola umbellata* (грифолы зонтичной), *Ganoderma applanatum* (трутовика плоского), *Lentinula edodes* (шиитаке). Выяснено, что положительное влияние на антирадикаль-

ную активность экстрактов и антиоксидантный статус мицелия оказывает 1,5-дифенилселенопентандион-1,5 (диацетофенонилселенид, бис(бензоилметил)селенид, препарат ДАФС-25)  $C_6H_5COCH_2SeCH_2COC_6H_5$  (**1**), селенсодержащий фрагмент молекулы которого имеет открытоцепное строение. Напротив, вещества с атомом селена в цикле – дигидроселенохромены **2, 3** и соль дигидроселенохромилия **4** – снижают антирадикальную активность культур (рис. 6).

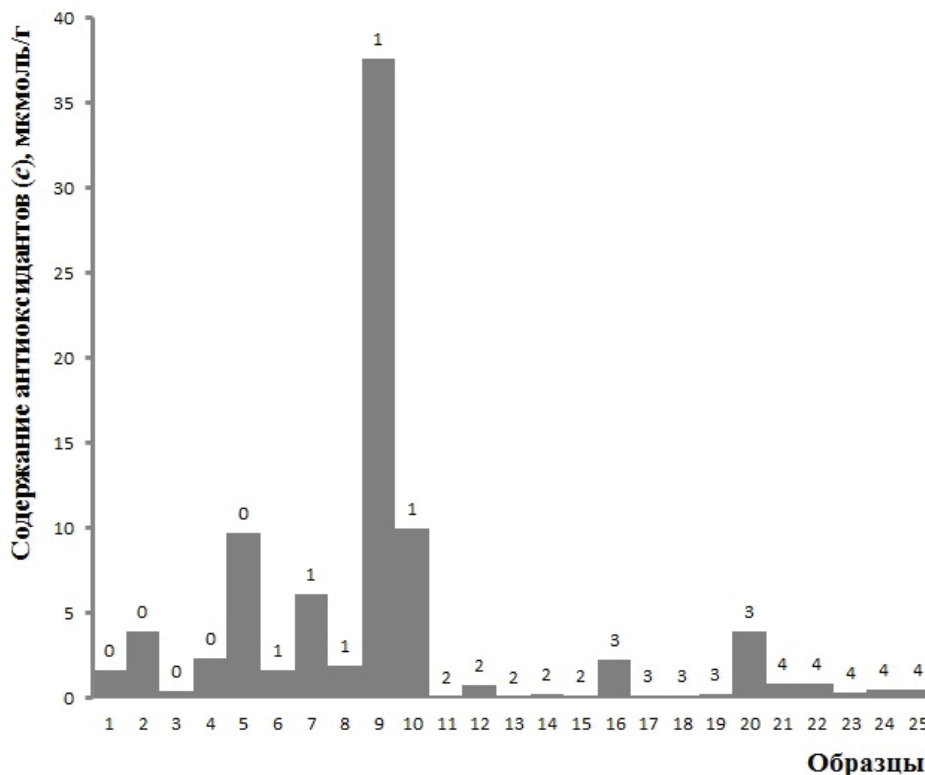


Рис. 6. Диаграмма содержания антиоксидантов в экстрактах мицелия. Обозначения образцов на оси абсцисс: 1, 6, 11, 16, 21 – *L. sulphureus*; 2, 7, 12, 17, 22 – *P. ostreatus*; 3, 8, 13, 18, 23 – *Gr. umbellata*; 4, 9, 14, 19, 24 – *G. applanatum*; 5, 10, 15, 20, 25 – *L. edodes*. Над каждым столбцом диаграммы цифра 0 означает отсутствие добавки (контроль). Цифрами 1–4 обозначены добавки веществ 1–4

Наиболее выраженный позитивный эффект в отношении возрастания антирадикальной активности при добавлении диацетофенонилселенида в среду культивирования проявляется для макробазидиомицета *Ganoderma applanatum* (трутовика плоского). Макробазидиальный гриб *Lentinula edodes* (шиитаке) характеризуется сравнительно высокой антирадикальной активностью даже без добавки (см. рис. 6). Остальные рассмотренные высшие грибы не проявили отчётливой дифференциации эффективности антиоксидантных систем организмов.

### Заключение

Полученные результаты позволяют констатировать, что диацетофенонилселенид, в противоположность гетероциклическим соединениям селена, перспективен в качестве антиоксидантной и микроэлементной добавки при культивировании макробазидиомицетов.

### Список литературы

1. Мюллер Э., Лёффлер В. Микология / пер. с нем. К. Л. Тарасова. М. : Мир, 1995. 343 с. (Müller E., Loeffler W.)



- Микология. Grundriß für Naturwissenschaftler und Mediziner. Stuttgart ; N.Y. : Georg Thieme Verlag, 1992. 366 S.).
- Беккер З. Э. Физиология и биохимия грибов / науч. ред. З. А. Туркова. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1988. 230 с.
  - Дудка И. А., Вассер С. П., Элланская И. А., Коваль Э. З., Горбик Л. Т., Никольская Е. А., Билай В. И., Билай Т. И., Борисова В. Н., Сиверс В. С., Мусич Е. Г., Лизак Ю. В., Стрижевская А. Я., Айзенберг В. Л., Кириллова Л. М., Безбородова С. П., Зайченко А. М., Загордонцев Л. А., Метейко Т. Я., Черменский Д. Н., Щербина С. М., Харченко С. Н., Курбацкая З. А., Безбородов А. М., Богомолова Л. А., Берестецкий О. А., Патыка В. Ф., Левитин М. М., Михайлова Л. А., Одинцова Н. Г., Афанасенко О. С., Жданова Н. Н., Василевская А. И., Кашкин П. Н., Кириленко Т. С., Бухало А. С., Редчиц Т. И. Методы экспериментальной микологии : справочник / отв. ред. В. И. Билай. Киев : Наук. думка, 1982. 551 с.
  - Билай В. И. Основы общей микологии. Киев : Вища школа. Головное изд-во, 1980. 360 с.
  - Цивилева О. М., Панкратов А. Н., Никитина В. Е., Гарибова Л. В. Взаимосвязь молекулярной структуры источника азота и активности внеклеточных лектинов при глубинном культивировании *Lentinus edodes* (Berk.) Sing [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] // Микробиология. 2004. Т. 73, № 4. С. 486–490 (Tsivileva O. M., Pankratov A. N., Nikitina V. E., Garibova L. V. Relationship Between the Molecular Structure of the Nitrogen Source and the Activity of the Extracellular Lectins of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] upon Submerged Cultivation // Microbiol. 2004. Vol. 73, № 4. P. 410–414).
  - Цивилева О. М., Никитина В. Е., Панкратов А. Н., Древкин Б. И., Лоцинина Е. А., Гарибова Л. В. Влияние селенсодержащего препарата ДАФС-25 на рост и лектиновую активность *Lentinus edodes* // Биотехнология. 2005. № 2. С. 56–62 (Tsivileva O. M., Nikitina V. E., Pankratov A. N., Drevko B. I., Loshchinina E. A., Garibova L. V. Effect of a selenium-containing preparation DAPS-25 on growth and lectin activity of *Lentinus edodes* // Biotechnology in Russia. 2005. № 2. P. 70–79.).
  - Tsivileva O. M., Pankratov A. N., Nikitina V. E., Garibova L. V. Effect of Media Components on the Mycelial Film Formation in Submerged Culture of *Lentinus edodes* (Shiitake) // Food Technol. Biotechnol. 2005. Vol. 43, № 3. P. 227–234.
  - Цивилева О. М., Панкратов А. Н., Лоцинина Е. А., Никитина В. Е. Экспериментальное и теоретическое исследование влияния катионов металлов триады железа на активность внеклеточных лектинов *Lentinus edodes* // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2 : Химия. 2006. Т. 47, № 2. С. 91–96 (Pankratov A. N., Tsivileva O. M., Loshchinina E. A., Nikitina V. E. Experimental and Theoretical Studies of the Influence of Iron Family Metal Cations on the Activity of Extracellular Lectins of *Lentinus Edodes* // Moscow Univ. Chem. Bull. Vol. 47, № 2. P. 15–21).
  - Цивилева О. М., Панкратов А. Н., Никитина В. Е., Бычков Н. А., Лоцинина Е. А. Влияние некоторых неорганических соединений на активность внеклеточных лектинов гриба *Lentinus edodes* // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2007. Т. 7, вып. 1. С. 21–27.
  - Pankratov A. N., Tsivileva O. M., Loshchinina E. A., Nikitina V. E. Effect of Fe(II), Co(II), Ni(II) on the Activity of Extracellular Lectins of the Mushroom *Lentinus edodes* : the Experiment and Quantum Chemical Modeling // Afinidad. 2009. Vol. 66, № 544. P. 498–504.
  - Цивилева О. М., Бычков Н. А., Панкратов А. Н., Щерба В. В., Пучкова Т. А., Никитина В. Е. Медь (II) индуцирует продукцию индолных соединений в глубоководной культуре гриба шиитаке // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2010. № 1. С. 35–36.
  - Цивилева О. М., Учаева И. М., Андреев К. В., Лоцинина Е. А., Панкратов А. Н., Дербенёва В. В., Никитина В. Е. Биосинтез компонентов микробного фактора автолиза клеток в присутствии триптофана при глубинном культивировании базидиомицета *Lentinus edodes* // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2010. № 1. С. 270–271.
  - Pankratov A. N., Tsivileva O. M., Drevko B. I., Nikitina V. E. Compounds of the 1,5-Di(4-R-phenyl)-3-selenopentanediones-1,5 Series Interaction with the Basidiomycete *Lentinula edodes* Lectins : Computations and Experiment // J. Biomol. Struct. Dynam. 2011. Vol. 28, № 6. P. 969–974.
  - Панкратов А. Н., Лоцинина Е. А., Цивилева О. М., Макаров О. Е., Юрасов Н. А., Никитина В. Е. Выявление участия индола в ростовых и метаболических процессах мицелиального гриба // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2011. Т. 11, вып. 2. С. 54–59.
  - Tsivileva O. M., Loshchinina E. A., Pankratov A. N., Burashnikova M. M., Yurasov N. A., Bylinkina N. N., Kazarinov I. A., Nikitina V. E. Biodegradation of an Organoselenium Compound to Elemental Selenium by *Lentinula edodes* (Shiitake) Mushroom // Biol. Trace Element Res. 2012. Vol. 149, № 1. P. 97–101.
  - Панкратов А. Н., Лоцинина Е. А., Цивилева О. М., Бурашиникова М. М., Казаринов И. А., Былинкина Н. Н., Никитина В. Е. Ростовые и метаболические эффекты ксенобиотической органической формы селена в культуре базидиомицета *Lentinula edodes* // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2012. Т. 12, вып. 1. С. 11–17.
  - Цивилева О. М., Учаева И. М., Панкратов А. Н., Маркович Ю. Д., Никитина В. Е. Акридон-N-уксусная кислота в искусственной культуре базидиомицета: первоначальное исследование на примере *Lentinula edodes* // Вестн. Казах. нац. ун-та им. аль-Фараби. Сер. биол. 2012. № 4 (56). С. 340–343.
  - Tsivileva O. M., Uchaeva I. M., Pankratov A. N., Kudryavtseva T. N., Markovich Yu. D., Nikitina V. E. First Estimations of Plant Acridone Alkaloid Implemented in Mushroom Mycelium Growth // J. Agric. Sci. Technol. B. 2013. Vol. 3, № 12. P. 873–879.
  - Цымбал О. А., Цивилева О. М., Панкратов А. Н., Маркин А. В., Аткин В. С. Потенциальное биомедицинское назначение селенизированного мицелия высших



- грибов // Рос. иммунол. журн. : Тем. вып. «Пермский научный форум». 2015. Т. 9 (18), № 2. С. 767–769.
20. *Vertuani S., Angusti A., Manfredini S.* The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview // *Current Pharmaceutical Design*. 2004. Vol. 10, № 14. P. 1677–1694.
  21. *Apel K., Hirt H.* Reactive Oxygen Species : Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction // *Annu Rev. Plant Biol.* 2004. Vol. 55. P. 373–399.
  22. *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, № 14. P. 3615–3626.
  23. *Rosenfeld I., Beath O. A.* Selenium : Geobotany, Biochemistry, Toxicity, and Nutrition. N.Y. ; L. : Academic Press, 1964. 411 p.
  24. *Organic Selenium Compounds : Their Chemistry and Biology / Eds. D. L. Klayman, W. H. N. Gunther. L. : Wiley-Interscience, 1973. 1188 p.*
  25. *Ермаков В. В., Ковальский В. В.* Биологическое значение селена. М. : Наука, 1974. 300 с.
  26. *Combs G. F., Jr., Combs S. B.* The Role of Selenium in Nutrition. Orlando, FL, USA : Academic Press, Inc., 1986. 532 p.
  27. Гигиенические критерии состояния окружающей среды 58. Селен. Женева : Всемирная организация здравоохранения, 1989. 272 с. (*Environmental Health Criteria 58 : Selenium. Geneva: World Health Organization, 1987. 306 p.*)
  28. *Авцын А. П., Жаворонков А. А., Риш М. А., Строчкова Л. С.* Микроэлементозы человека : этиология, классификация, органопатология. М. : Медицина, 1991. 496 с.
  29. *Иванов В. Н., Никитина Л. П., Аникина Л. В., Кулиш Н. И.* Селен в жизни человека и животных / под ред. Л. П. Никитина, В. Н. Иванова. М. : ТОО «Рос-универсал» ; МП «Калина», 1995. 242 с.
  30. *Trace Elements in Human Nutrition and Health. Geneva : World Health Organization, 1996. 343 p.*
  31. *Antioxidants and Disease Prevention / A. T. Diplock, H. S. Garewal, P. F. Inserra, S. K. Ardestani, R. R. Watson, Zhen Zhang, J. W. McLarty, S. T. Mayne, R. G. Ziegler, G. F. Combs, Jr., L. Clark, C. J. Fuller, I. Jialal, R. M. Hoffman, P. F. Jacques; ed. and introduction by H. S. Garewal. Boca Raton : CRC Press LLC, 1997. 186 p. (Modern nutrition).*
  32. *Вапиров В. В., Шубина М. Э., Вапирова Н. В., Беличенко В. И., Шубин И. В.* Селен. Некоторые аспекты химии, экологии и участия в развитии патологии : обзор. Петрозаводск : Петрозаводск. гос. ун-т, кафедра неорганической химии, кафедра пропедевтики внутренних болезней, 2000. 68 с. // Единое окно доступа к образовательным ресурсам. URL: <http://window.edu.ru/resource/032/28032/files/petsu014.pdf>.
  33. *Handbook of Antioxidants / eds. E. Cadenas, L. Packer. N.Y. : CRC Press (Taylor & Francis Group), 2001. 732 p.*
  34. *Тутельян В. А., Княжев В. А., Хотимченко С. А., Голубкина Н. А., Кушлинский Н. Е., Соколов Я. А.* Селен в организме человека : метаболизм, антиоксидантные свойства, роль в канцерогенезе. М. : Изд-во РАМН, 2002. 224 с.
  35. *Голубкина Н. А., Скальный А. В., Соколов Я. А., Щелкунов Л. Ф.* Селен в медицине и экологии. М. : Изд-во КМК, 2002. 136 с.
  36. *Reilly C.* Selenium in Food and Health. N.Y. : Springer Science + Business Media, LLC, 2006. 338 p.
  37. *Голубкина Н. А., Паназян Т. Т.* Селен в питании. Растения, животные, человек. М. : Печатный город, 2006. 255 с.
  38. *Reddy C. Ch., Massaro E. J.* Biochemistry of Selenium : A Brief Overview // *Fundamental Appl. Toxicol.* 1983. Vol. 3, № 5. P. 431–436.
  39. *Flohé L.* The Glutathione Peroxidase Reaction : Molecular Basis of the Antioxidant Function of Selenium in Mammals // *Current Topics in Cellular Regulation*. 1985. Vol. 27. P. 473–478.
  40. *Stadtman Th. C.* Selenium Biochemistry // *Ann. Rev. Biochem.* 1990. Vol. 59. P. 111–127.
  41. *Sunde R. A.* Molecular Biology of Selenoproteins // *Ann. Rev. Nutr.* 1990. Vol. 10. P. 451–474.
  42. *Bedwal R. S., Nair N., Sharma M. P., Mathur R. S.* Selenium – Its Biological Perspectives // *Med. Hypotheses*. 1993. Vol. 41, № 2. P. 150–159.
  43. *Foster L. H., Sumar S.* Selenium in the Environment, Food and Health // *Nutrition & Food Science*. 1995. Vol. 95, № 5. P. 17–23.
  44. *Блинохватов А. Ф.* О селене, которого нам не хватает // *Химия и жизнь*. 1995. № 4. С. 42–47.
  45. *Tamura T., Stadtman Th. C.* A New Selenoprotein from Human Lung Adenocarcinoma Cells: Purification, Properties, and Thioredoxin Reductase Activity // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1996. Vol. 93, № 3. P. 1006–1011.
  46. *Foster L. H., Sumar S.* Selenium in Health and Disease : A Review // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1997. Vol. 37, № 3. P. 211–228.
  47. *Гореликова Г. А., Маюрникова Л. А., Поздняковский В. М.* Нутрицевтик селен : недостаточность в питании, меры профилактики // *Вопросы питания*. 1997. Т. 66, № 5. С. 18–21.
  48. *Flohé L.* Selen im Peroxidstoffwechsel // *Medizinische Klinik*. 1997. Bd. 2, Suppl. 3. S. 5–7.
  49. *Gladyshev V. N., Hatfield D. L.* Selenocysteine-Containing Proteins in Mammals // *J. Biomed. Sci.* 1999. Vol. 6, № 3. P. 151–160.
  50. *Гмошинский И. В., Мазо В. К.* Селен в питании : краткий обзор // *Medicina Altera*. 1999. № 4. С. 18–22.
  51. *Patching S. G., Gardiner R. H. E.* Recent Developments in Selenium Metabolism and Chemical Speciation : A Review // *J. Trace Elements Med. Biol.* 1999. Vol. 13, № 4. P. 193–214.
  52. *Реушеник Л. А., Парфёнова Е. О.* Биогеохимическое и клиническое значение селена для здоровья человека // *Сиб. мед. журн. (Иркутск)*. 1999. Т. 18, № 3. С. 16–22 (Научная электронная библиотека «КиберЛенинка»). URL: <http://cyberleninka.ru/article/n/biogeohimicheskoe-i-klinicheskoe-znachenie-selena-dlya-zdorovya-cheloveka>.
  53. *Schrauzer G. N.* Selenomethionine : A Review of Its Nutritional Significance, Metabolism and Toxicity // *J. Nutr.* 2000. Vol. 130, № 7. P. 1653–1656.



54. Гмошинский И. В., Мазо В. К., Тутельян В. А., Хотимченко С. А. Микроэлемент селен: роль в процессах жизнедеятельности // Экология моря : республик. межвед. сб. науч. тр. / отв. ред. В. Е. Заика. Киев : Наук. думка, 2000. Вып. 54. С. 5–19.
55. Волкотруб Л. П., Андропова Т. В. Роль селена в развитии и предупреждении заболеваний (Обзор) // Гигиена и санитария. 2001. № 3. С. 57–61.
56. Combs G. F. Jr. Selenium in Global Food Systems // British J. Nutr. 2001. Vol. 85, № 5. P. 517–547.
57. Решетник Л. А., Парфёнова Е. О. Биогеохимическое и клиническое значение селена для здоровья человека // Микроэлементы в медицине. 2001. Т. 2, № 2. С. 2–8.
58. Whanger P. D. Selenocompounds in Plants and Animals and Their Biological Significance // J. Amer. Coll. Nutr. 2002. Vol. 21, № 3. P. 223–232.
59. Burk R. F., Hill K. E., Motley A. K. Selenoprotein Metabolism and Function : Evidence for More Than One Function for Selenoprotein P // J. Nutr. 2003. Vol. 133, № 5. P. 1517S–1520S.
60. Ермаков В. В. Биогеохимия селена и его значение в профилактике эндемических заболеваний человека // Вестн. Отд-ния наук о Земле РАН. 2004. № 1 (22). С. 1–17. URL: <http://geo.web.ru/conf/khitari-ada/1-2004/scpub-4.pdf>.
61. Барабой В. А., Шестакова Е. Н. Селен : биологическая роль и антиоксидантная активность // Укр. биохим. журн. 2004. Т. 76, № 1. С. 23–32.
62. McKenzie R. C., Arthur J., Beckett G. J. Selenium and the Regulation of Cell Signaling, Growth, and Survival : Molecular and Mechanistic Aspects // Antioxidants & Redox Signaling. 2004. Vol. 4, № 2. P. 339–351.
63. Willcox J. K., Ash S. L., Catignani G. L. Antioxidants and Prevention of Chronic Disease // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2004. Vol. 44, № 4. P. 275–295.
64. Gromer S., Eubel J.K., Lee B. L., Jacob J. Human Selenoproteins at a Glance // Cellular Mol. Life Sci. 2005. Vol. 62, № 21. P. 2414–2437.
65. Третьяк Л. Н., Герасимов Е. М. Специфика влияния селена на организм человека и животных (применительно к проблеме создания селеносодержащих продуктов питания) // Вестн. Оренб. гос. ун-та. 2007. № 12. С. 136–145. URL: <http://cyberleninka.ru/article/n/spetsifika-vliyaniya-selena-na-organizm-cheloveka-i-zhivotnyh-primenitelno-k-probleme-sozdaniya-selenosoderzhaschih-produktov-pitaniya>.
66. Margis R., Dunand Ch., Teixeira F. K., Margis-Pinheiro M. Glutathione Peroxidase Family – An Evolutionary Overview // FEBS Journal. 2008. Vol. 275, № 15. P. 3959–3970.
67. Reeves M. A., Hoffmann P. R. The Human Selenoproteome: Recent Insights into Functions and Regulation // Cellular Mol. Life Sci. 2009. Vol. 66, № 15. P. 2457–2478.
68. Степанов Ю. М., Белицкий В. В., Коссинская С. В. Селен как микроэлемент : характеристика и значение для человека // Сучасна гастроентерология. 2012. № 3 (65). С. 91–96. URL: [http://vitapol.com.ua/user\\_files/pdfs/gastro/gas65isgastro3-12-13.pdf](http://vitapol.com.ua/user_files/pdfs/gastro/gas65isgastro3-12-13.pdf);
69. Tapiero H., Townsend D. M., Tew K. D. The Antioxidant Role of Selenium and Seleno-Compounds // Biomedicine & Pharmacotherapy. 2003. Vol. 57, № 3–4. P. 134–144.
70. Гмошинский И. В., Мазо В. К. Минеральные вещества в питании человека. Селен : всасывание и биодоступность // Вопросы питания. 2006. Т. 75, № 5. С. 15–19.
71. Dumont E., Vanhaecke F., Cornelis R. Selenium Speciation from Food Source to Metabolites: A Critical Review // Analyt. Bioanal. Chem. 2006. Vol. 385, № 7. P. 1304–1323.
72. Ogra Y., Anan Y. Selenometabolomics: Identification of Selenometabolites and Specification of Their Biological Significance by Complementary Use of Elemental and Molecular Mass Spectrometry // J. Analyt. Atomic Spectrom. 2009. Vol. 24, № 11. P. 1477–1488.
73. Галочкин В. А., Галочкина В. П. Органические и минеральные формы селена, их метаболизм, биологическая доступность и роль в организме // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 4. С. 3–15. URL: <http://agrobiology.ru/4-2011galochkin.html>;
74. Hurst R., Collings R., Harvey L. J., King M., Hooper L., Bouwman J., Gurinovic M., Fairweather-Tait S. J. EUR-RECA – Estimating Selenium Requirements for Deriving Dietary Reference Values // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2013. Vol. 53, № 10. P. 1077–1096.
75. Bodnar M., Szczygłowska M., Konieczka P., Namiesnik J. Methods of Selenium Supplementation: Bioavailability and Determination of Selenium Compounds // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2016. Vol. 56, № 1. P. 36–55.
76. Moreda-Piñeiro J., Moreda-Piñeiro A. Bermejo-Barreira P. In vivo and in vitro Testing for Selenium and Selenium Compounds Bioavailability Assessment in Foodstuff // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2017. Vol. 57, № 4. P. 805–833.
77. Сибгатуллина Г. В., Хаертдинова Л. Р., Гумерова Е. А., Акулов А. Н., Костюкова Ю. А., Никонова Н. А., Румянцева Н. И. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений. Казань : Казан. (Приволжский) Федеральный ун-т, 2011. 61 с.
78. Бучаченко А. Л., Вассерман А. М. Стабильные радикалы. Электронное строение, реакционная способность и применение. М. : Химия, 1973. 408 с.
79. Розанцев Э. Г., Шолле В. Д. Органическая химия свободных радикалов. М. : Химия, 1979. 344 с.
80. Нонхубел 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 University Press, 1974. 572 p.).
81. Нонхубел 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 ;



- L.; N.Y.; Melbourne: Cambridge University Press, 1979. 200 p. (Cambridge chemistry texts).
82. 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., Антипов В. А., Жуков О. И., Фоменко Л. А., Маркова Л. И., Древо Р. И., Родионова Т. Н., Ефремов В. И., Харченко В. Г. Заявл. 24.09.1993, № 93045743/15; Опубл. 10.01.1996. 12 с. // Изобретения (заявки и патенты). 1996. Бюл. № 1 (II ч.). С. 161.
83. 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., Древо Р. И., Антипов В. А., Чернуха Б. А., Яковлев А. Н. Заявл. 26.05.1999, № 99111064/13; Опубл. 27.07.2001. 16 с. // Изобретения. Полезные модели. 2001. Бюл. № 21 (II ч.). С. 219.
84. Древо Я. Б., Федотова О. В. Синтез первых представителей бензannelированных дигидроселенохромонов // Химия гетероцикл. соед. 2006. № 10. С. 1586–1587 (Drevko Ya. B., Fedotova O. V. Synthesis of the First Representatives of Benzannelated Dihydroselenochromenes // Chem. Heterocyclic Compds. 2006. Vol. 42, № 10. P. 1372–1373).
85. 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 (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, № 1. P. 38–41).
86. 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 (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, № 1. P. 14–17).
87. Древо Я. Б., Осина Т. С., Федотова О. В., Древо Б. И. Реакция восстановления 2,4-диарил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромонов // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2015. Т. 15, вып. 2. С. 5–7.
88. Чарыков А. К. Математическая обработка результатов химического анализа. Методы обнаружения и оценки ошибок. Л.: Химия. Ленингр. отд-ние, 1984. 168 с.
89. Дёрффель К. Статистика в аналитической химии / пер. с нем. Л. Н. Петровой; под ред. и с предисл. Ю. П. Адлера. М.: Мир, 1994. 268 с. (Doerffel K. Statistik in der analytischen Chemie. Weinheim; Deerfield Beach, Florida; Basel: Verlag Chemie; 1985. 192 S.).
90. Представление результатов химического анализа (рекомендации IUPAC 1994 г.) // Журн. аналит. химии. 1998. Т. 53, № 9. С. 999–1008 (пер. М. А. Проскурным статьи: Currie L. A., Svehla G. Nomenclature for the Presentation of Results of Chemical Analysis (IUPAC Recommendations 1994) // Pure Appl. Chem. 1994. Vol. 66, № 3. P. 595–608).

#### **Antioxidant Status of Macrobasidiomycetes Mycelium Grown in the Presence of Organoselenium Compounds**

**A. N. Pankratov, O. M. Tsivileva, A. S. Beloborodaya, O. A. Tsybmal, Ya. B. Drevko**

Alexei N. Pankratov, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, pankratovan@info.sgu.ru

Olga M. Tsivileva, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, tsivileva@ibppm.sgu.ru

Anastasiya S. Beloborodaya, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, nastya365@mail.ru

Oleg A. Tsybmal, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, olegtsybmal1990@yandex.ru

Yaroslav B. Drevko, Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov, 1, Teatralnaya Sqr., Saratov, 410012, Russia, drevko@list.ru

Antioxidant status maintenance plays a significant role for mushroom cultures in respect to oxidative stress resistance, cytodifferentiation and transition to the generative stage. Strong antioxidants are the selenium compounds. One of the antioxidant action indices is the antiradical activity determined by means of the spectrophotometric method using the reactions with the free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, N,N-diphenyl-N'-picrylhydrazyl, DPPH) (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>N-N'-C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>(NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-2,4,6. Macrobasidiomycetes are important as edible, medicinal mushrooms and biological objects for research into regularities of the living systems functioning, development and response to the various-nature effectors impact. The work is aimed at the determination of the antiradical activity of the aqueous-ethanolic mycelial extracts, as well as at the elucidation of the antioxidant status of the mycelia grown with the addition of organoselenium compounds to the submerged cultivation medium. The macrobasidiomycetes under study were *Laetiporus sulphureus* (sulfur-yellow polypore), *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom), *Grifola umbellata* (umbrella polypore), *Ganoderma applanatum* (flat polypore), and *Lentinula edodes* (shiitake mushroom). The additives used were 1,5-diphenylselenopentanedione-1,5 (diacetophenonylselenide, bis(benzoylmethyl)selenide, preparation DAPS-25) C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>COCH<sub>2</sub>SeCH<sub>2</sub>COC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, 2,4-diphenyl-7,8-benzo-5,6-dihydro-4H-selenochromene, 2-(4-bromophenyl)-4-phenyl-7,8-benzo-5,6-dihydro-4H-selenochromene, and 2,4-diphenyl-7,8-benzo-5,6-dihydroselenochromilium perchlorate. The positive impact on the extracts antiradical activity and mycelium antioxidative status has



been stated to be exerted by diacetophenonylselenide, the molecular selenium-containing fragment of which is of an open-chain structure. On the contrary, the substances with the selenium atom in cycle – dihydroselenochromenes and dihydroselenochromilium salt – reduced the cultures antiradical activity. Diacetophenonylselenide, in contrast to the heterocyclic selenium species, is promising as the antioxidant and microelement additive at the basidiomycetes cultivation. The most pronounced positive effect in relation to the antiradical activity increase at diacetophenonylsel-

enide supplementation to the culture medium has manifested itself with the basidiomycete *Ganoderma applanatum*. *Lentinula edodes* mycelial extract is featured by rather high antiradical activity even without additives. The rest higher fungi under study do not exhibit any clear differentiation in their organisms' antioxidant systems efficiency.

**Key words:** antioxidant status, antiradical activity, DPPH, organoselenium compounds, diacetophenonylselenide, dihydroselenochromenes, dihydroselenochromilium salts, macrobasidiomycetes.

---

**Образец для цитирования:**

Панкратов А. Н., Цивилева О. М., Белобородая А. С., Цымбал О. А., Древки Я. Б. Антиоксидантный статус мицелия макробазидиомицетов, выращенных с добавлением селенорганических соединений // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 286–298. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-286-298.

**Cite this article as:**

Pankratov A. N., Tsivileva O. M., Beloborodaya A. S., Tsymbal O. A., Drevko Ya. B. Antioxidant Status of Macrobasidiomycetes 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: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-286-298.

---





УДК [544.344.016+536.44]:[544.344.013–14+544.344.4]

## РАВНОВЕСИЕ ЖИДКОСТЬ–ЖИДКОСТЬ–ТВЕРДОЕ И КРИТИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ В ЧЕТВЕРНОЙ СИСТЕМЕ НИТРАТ ЦЕЗИЯ–ВОДА–ПИРИДИН–МАСЛЯНАЯ КИСЛОТА В ИНТЕРВАЛЕ 5–60°C



М. П. Смотров, З. В. Чепурина, В. Ф. Курский, Д. Г. Черкасов

Смотров Максим Павлович, доцент кафедры общей и неорганической химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат химических наук. E-mail: ilinkk@info.sgu.ru

Чепурина Зинаида Валерьевна, старший преподаватель кафедры общей и неорганической химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат химических наук. E-mail: ilinkk@info.sgu.ru

Курский Виктор Федорович, доцент кафедры уголовного процесса, криминалистики и судебных экспертиз, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат химических наук. E-mail: ilinkk@info.sgu.ru

Черкасов Дмитрий Геннадиевич, заведующий кафедрой общей и неорганической химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, доктор химических наук. E-mail: ilinkk@info.sgu.ru

Визуально-политермическим методом исследованы фазовые равновесия и критические явления в смесях компонентов разреза тетраэдра состава четверной системы нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота в интервале 5–60°C. Фазовые равновесия в смесях компонентов изучены по сечениям одного разреза тетраэдра состава. Положение разреза выбирали таким образом, чтобы пересечь все объемы фазовых состояний с наличием твердой фазы, чтобы установить фазовое поведение объема монотектического состояния с изменением температуры. Построены политермы фазовых состояний и зависимость температуры фазового перехода, отвечающего критическим точкам критической ноды монотектического состояния, от состава раствора. На основе политермических данных построены изотермы фазовых состояний разреза тетраэдра состава четверной системы при четырех температурах: 5.0, 25.0, 40.0 и 60.0°C. На всех изотермах существует замкнутая кривая, отделяющая поле монотектического состояния от полей насыщенных растворов. Изотермы позволили выявить топологию объема монотектического состояния в данной четверной системе нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота и подтвердить одну из изотерм предложенной ранее схемы топологической трансформации фазовых диаграмм для четырехкомпонентных конденсированных систем соль–три растворителя с всаливанием–высаливанием, включающих тройную жидкостную систему с замкнутой областью расслаивания. Установлено, что с повышением температуры происходит увеличение высаливающего действия нитрата цезия на смеси пиридина, масляной кислотой и воды.

**Ключевые слова:** четверные системы соль–три растворителя, нитрат цезия, пиридин, масляная кислота, равновесие жидкость–жидкость–твердое, визуально-политермический метод, высаливание, критическая нода монотектики.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-299-304

Экстракция находит широкое применение в промышленной практике. В смесях компонентов экстракционных систем существуют равновесия двух жидких фаз. Эти системы разделяют в соответствии с причинами образования расслоения [1, 2]. Системы первого типа расслаиваются за счет ограниченной взаимной растворимости жидкостей. В системах второго типа причиной расслоения является высаливание органического компонента. В системах третьего типа между двумя компонентами системы образуется химическое соединение, которое плохо растворимо в третьем компоненте. Изотермы фазовых состояний таких систем характеризуются замкнутой бинодальной кривой. Примерами таких систем являются тройные системы вода–пиридин–масляная кислота [3] и вода–антипирин–моноклоруксусная кислота [4]. Системы третьего типа являются перспективными для экстракции ионов металлов.

Введение соли в системы третьего типа позволяет управлять температурно-концентрационными границами области расслоения. Для предсказания поведения таких систем большое значение имеют схемы топологической трансформации фазовых диаграмм с изменением температуры. В нашей лаборатории была разработана схема топологической трансформации фазовых диаграмм для четырехкомпонентных конденсированных систем соль–три растворителя с всаливанием–высаливанием, включающих тройную жидкостную систему с замкнутой бинодальной кривой [5]. Для подтверждения фрагмента указанной схемы нами визуально-политермическим методом исследованы фазовые равновесия и критические явления в четверной системе нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота в интервале 5–60°C. Литературных данных по фазовым равновесиям в этой четверной системе нами не найдено.



### Экспериментальная часть

Использованные в работе вещества подвергали тщательной очистке. Воду получали на бидистилляторе DEM-20 MERA – POLNA ( $n_D^{20} = 1.3330$ ). Препарат масляной кислоты квалификации «ч.» (Ереванский завод химреактивов) осушали над сульфатом магния в течение недели при периодическом встряхивании, далее отделяли от осадка декантацией, перегоняли на установке с елочным дефлегматором высотой 0.2 м и отбирали фракцию, кипящую в интервале 164–165°C. Показатель преломления, измеренный нами ( $n_D^{20} = 1.3979$ ), хорошо согласуется со справочными данными ( $n_D^{20} = 1.3977$ ) [6].

Препарат пиридина квалификации «ч.д.а.» осушали гидроксидом калия в течение недели, затем отделяли от осадка и фильтрат перегоняли на установке с елочным дефлегматором высотой 0.3 м. Отбирали фракцию, кипящую при 115.0–115.5°C. Температура кипения и показатель преломления очищенного пиридина ( $t_{\text{кип}} = 115.0^\circ\text{C}$ ,  $n_D^{20} = 1.5098$ ) хорошо согласуются с литературными данными ( $t_{\text{кип}} = 115.4^\circ\text{C}$ ,  $n_D^{20} = 1.5095$ ) [6].

Методика подготовки к работе нитрата цезия квалификации «х.ч.» подробно изложена в [7]. Подготовленные к работе препараты пиридина, масляной кислоты и соли хранили над прокаленным хлоридом кальция в эксикаторах, защищенных от прямого воздействия световых лучей.

Для политермического исследования растворимости и фазовых равновесий в четверной жидкостной системе использовали визуально-политермический метод [8]. Смеси четырех компонентов взвешивали на электронных аналитических весах «Невские весы» ВСЛ–60/0.1 А с абсолютной точностью  $\pm 1.0 \cdot 10^{-4}$  в стандартных ампулах ШПВ-6 из термостойкого стекла объемом 6 мл. Необходимую температуру поддерживали при помощи термостата Lauda A-100 с погрешностью  $\pm 0.1^\circ\text{C}$  и измеряли с той же самой погрешностью калиброванными децимальными ртутными термометрами. Признаком установления равновесия являлась воспроизводимость результатов измерений температур фазовых переходов при подходе к ним со стороны как более низких, так и более высоких температур. Состав критических точек критической ноды монотектического равновесия в четверной системе определяли подбором смеси, в которой две жидкие фазы ( $\ell_1$  и  $\ell_2$ ) образовывали критическую фазу К и имели равные объемы вблизи ( $\pm 0.1^\circ\text{C}$ ) температуры фазового перехода  $\ell + \text{SD}\ell_1 + \ell_2 + \text{S}$ , находясь в равновесии с твердой фазой S ( $\text{S} - \text{CsNO}_3$ ) [9].

Равновесную твердую фазу идентифицировали методами термического (дериватограф

Paulik-ErdeyOD-102) и рентгенофазового (дифрактометр ДРОН-2) анализов. При всех температурах твердая фаза насыщенных растворов и монотектического состояния отвечала по составу  $\text{CsNO}_3$ . Относительная погрешность определения составов смесей, отвечающих точкам фазовых переходов при выбранных температурах, была  $\pm 0.5$ –1.0%.

### Результаты и их обсуждение

Диаграмма растворимости системы вода–масляная кислота–пиридин в интервале 5–52°C характеризуется наличием замкнутой бинодальной кривой, отделяющей поле двух жидких фаз  $\ell_1 + \ell_2$  от поля гомогенно-жидкого состояния  $\ell$  [3]. На бинодальной кривой находятся две критические точки растворимости, которые обращены к сторонам треугольника состава, отвечающим двойным системам вода–масляная кислота и вода–пиридин. При температуре 52.0°C система становится полностью гомогенной. В составляющих тройных системах соль–бинарный растворитель нитрат цезия–вода–масляная кислота [10] и нитрат цезия–вода–пиридин [11] при всех температурах интервала исследования 5.0–60.0°C осуществляется простая растворимость соли в бинарных растворителях.

Фазовые равновесия в смесях компонентов изучены по семи сечениям *одного разреза* тетраэдра состава четырехкомпонентной системы нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота в интервале от 5 до 60°C. Разрез был проведен через ребро тетраэдра состава пиридин–масляная кислота и точку ребра, соответствующую системе нитрат цезия–вода и отвечающую 60 мас.% нитрата цезия (рис. 1).

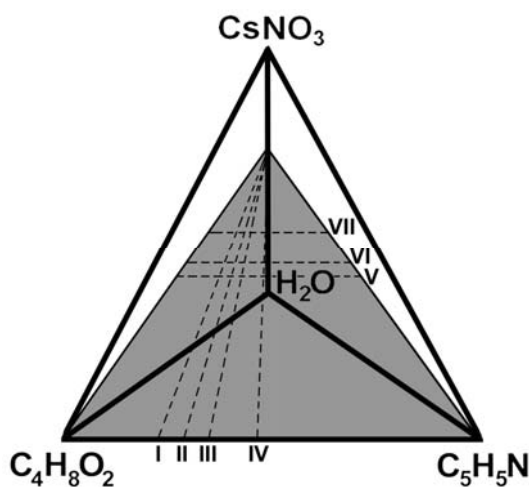


Рис. 1. Положение разреза и сечений на плоскости разреза тетраэдра состава в системе нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота



Выбор положения разреза определялся тем, чтобы пересечь все объемы фазовых состояний с наличием твердой фазы в тетраэдре состава с целью прояснения фазового поведения объема монотектического состояния с изменением температуры. Смеси компонентов сечений I–IV характеризовались переменным содержанием смеси пиридина с масляной кислотой и постоянным для каждого сечения соотношением масс пиридина и масляной кислоты: 23:77(I), 29:71(II), 35:65(III), 47:53(IV). Смеси компонентов по сечениям V–VII характеризовались переменным соотношением масс пиридина и масляной кислоты и постоянным для каждого сечения содержанием смеси нитрата

цезия с водой (мас. %): 56.00 (V), 60.00 (VI), 72.00 (VII). Положение сечений в разрезе тетраэдра состава показано на рис. 1. Политермы фазовых состояний системы по сечениям разреза представлены на рис. 2 (данные для их построения не приводятся).

Политермы сечений I, III–V и VII аналогичны: поле монотектики  $l_1+l_2+S$  отделено двумя плавными линиями от полей насыщенных растворов  $l_1+S$  и  $l_2+S$ . Смеси компонентов по сечениям II и VI исследованы в узком температурно-концентрационном интервале, поэтому на политермах этого сечения нет второй кривой, отделяющей поле монотектического состояния от поля насыщенных растворов (см. рис. 2).

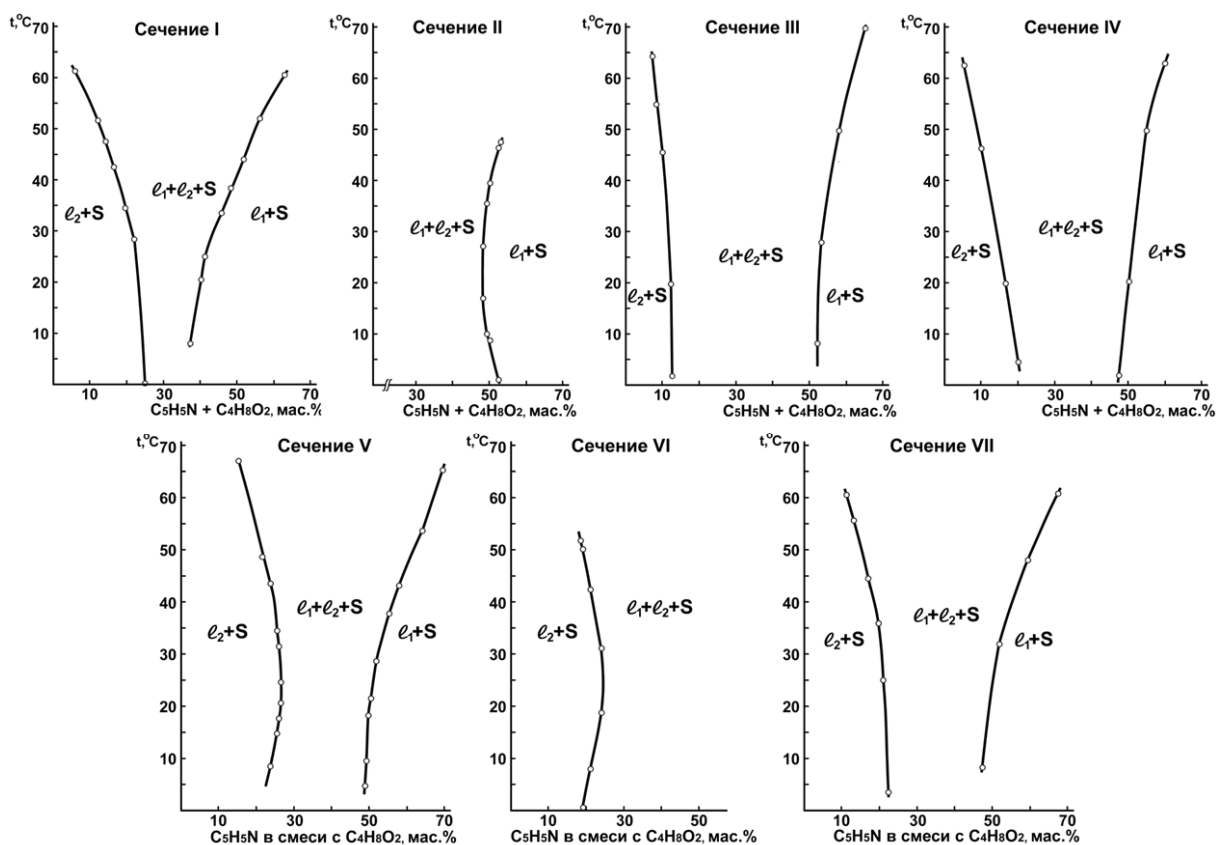


Рис. 2. Политермы фазовых состояний системы нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота по сечениям I–VII разреза тетраэдра состава

Для определения зависимости критической температуры от состава смеси, отвечающих критическим точкам критических нод  $K_1S$  и  $K_2S$  монотектического состояния, были исследованы смеси девяти дополнительных сечений, характеризующиеся переменным соотношением масс пиридина и масляной кислоты и постоянным для каждого сечения содержанием смеси

нитрата цезия с водой (таблица). Зависимости критической температуры от содержания пиридина в смеси с масляной кислотой и смеси пиридина с масляной кислотой в критических растворах, соответствующих критическим нодам  $K_1S$  и  $K_2S$  монотектического состояния, представлены на рис. 3. Они представляют собой плавные кривые.



**Составы и температуры, соответствующие критическим точкам растворимости четверной системы нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота**

$T, ^\circ\text{C}$	Мас.% смеси $\text{C}_5\text{H}_5\text{N} + \text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ по отношению к смеси $\text{CsNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ в критических точках перехода фазовых состояний	Мас.% $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ по отношению к $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ при постоянном содержании смеси $\text{CsNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ в критических точках перехода фазовых состояний
Критические точки критической ноды $\text{K}_1\text{S}$		
8.5	21.00	20.40
15.0	22.50	21.45
38.2	22.90	21.45
53.1	23.00	15.70
63.8	21.00	11.00
Критические точки критической ноды $\text{K}_2\text{S}$		
7.0	30.50	50.31
29.6	30.00	53.60
38.4	29.30	57.19
63.5	28.00	73.22

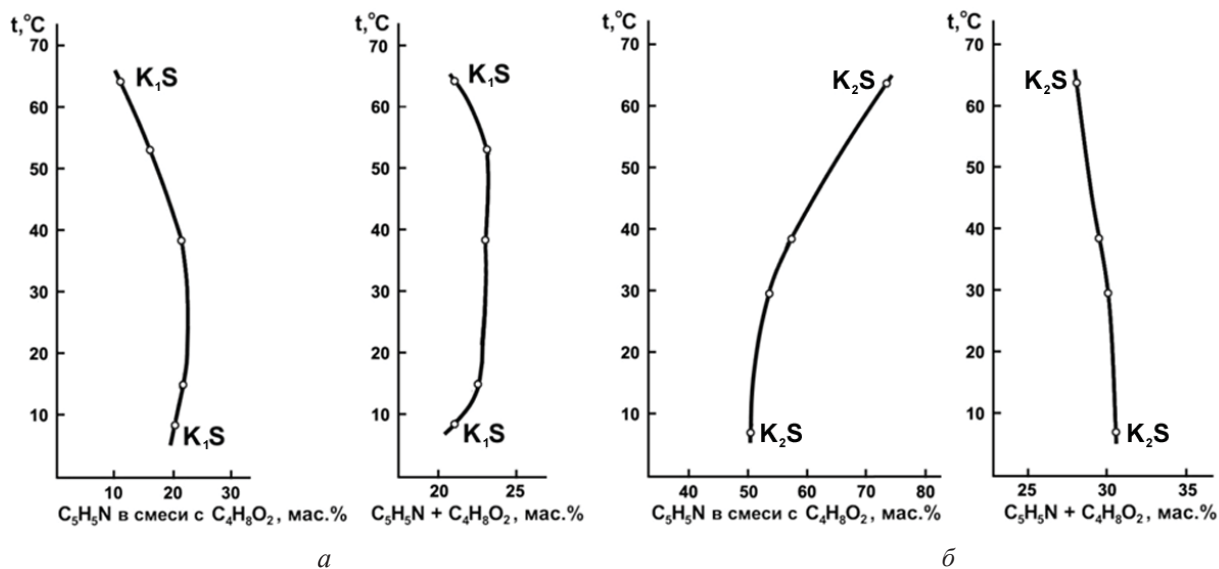


Рис. 3. Зависимости температуры фазовых переходов от содержания пиридина в смеси с масляной кислотой и смеси пиридина с масляной кислотой в смесях, отвечающих критическим точкам критических нод моноэктики  $\text{K}_1\text{S}$  (а) и  $\text{K}_2\text{S}$  (б), разреза тетраэдра состава системы нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота

Результаты политермических исследований (см. рис. 2 и 3) использовали для построения изотерм фазовых состояний системы на треугольнике разреза тетраэдра при четырех температурах: 5.0, 25.0, 40.0 и 60.0 $^\circ\text{C}$  (рис. 4–6). На всех изотермах существует *замкнутая кривая*, отделяющая поле монотектического состояния  $\ell_1 + \ell_2 + \text{S}$  (изолированное от сторон треугольника разреза) от полей насыщенных растворов  $\ell_1 + \text{S}$  и  $\ell_2 + \text{S}$ . На этой кривой находятся критические точки  $\text{K}_1\text{S}$  и  $\text{K}_2\text{S}$  (обозначены большими кружками), принадлежащие критическим нодам. Поле монотектики граничит со всех сторон с

полем насыщенных растворов  $\ell + \text{S}$ . Граница поля гомогенно-жидкого состояния  $\ell$  (обозначена на диаграммах пунктирной линией) при всех температурах не уточнялась, ввиду его очень малого размера.

Установлено, что с повышением температуры происходит усиление высаливающего действия нитрата цезия на смеси пиридина, масляной кислотой и воды, что выражается увеличением размеров поля монотектики на диаграммах разреза. Однако даже при высоких концентрациях соли нитрат цезия оказывает слабое высаливающее действие.

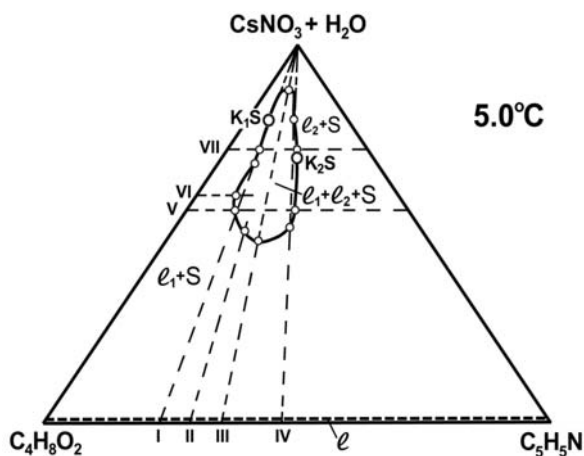


Рис. 4. Изотерма фазовых состояний разреза четверной системы нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота при 5.0°C

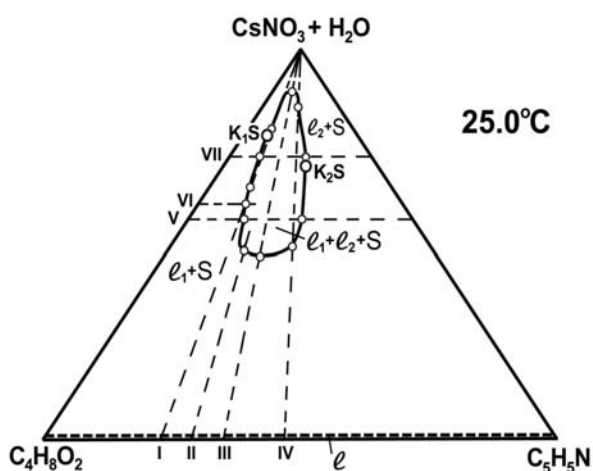


Рис. 5. Изотерма фазовых состояний разреза четверной системы нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота при 25.0°C

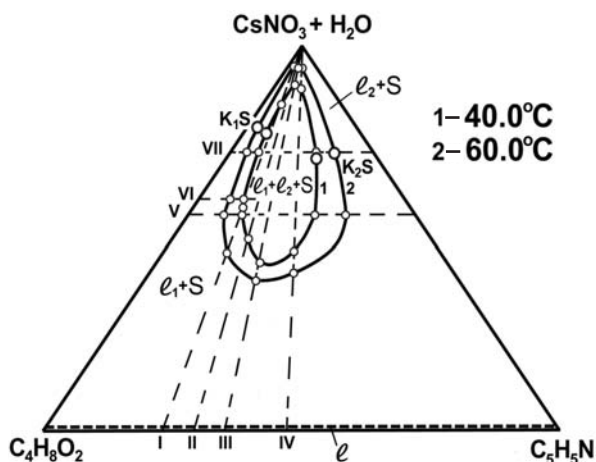


Рис. 6. Изотермы фазовых состояний разреза четверной системы нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота при 40.0 и 60.0°C

Полученные результаты позволили выявить топологическую трансформацию фазовой диаграммы разреза четверной системы нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота при изменении температуры, а также подтвердить одну из изотермических диаграмм предложенной схемы [5].

### Список литературы

1. Петров Б. И., Афендикова Г. Ю. Об устранении основного недостатка процессов жидкостной экстракции неорганических соединений // Журн. прикл. химии. 1985. Т. 85, № 10. С. 2194–2199.
2. Петров В. И., Яковлева Т. П., Чукин В. М., Егорова Л. С. Образование новых экстракционных систем при протолитическом взаимодействии и высаливании органических соединений // Журн. прикл. химии. 1993. Т. 66, № 8. С. 1751–1756.
3. Черкасов Д. Г., Смотров М. П., Ильин К. К. Равновесие жидкость–жидкость и критические явления в тройной системе вода–пиридин–масляная кислота в интервале 5–55°C // Журн. прикл. химии. 2008. Т. 81, № 2. С. 229–233.
4. Петров Б. И., Пригожин С. И. Аналитическое использование экстракции элементов в расслаивающейся системе вода–антипирин–моноклоруксусная кислота // Журн. аналит. химии. 1985. Т. 40, № 2. С. 247–251.
5. Чепурина З. В. Влияние солей на фазовое поведение тройных жидкостных систем с замкнутой областью расслоения : автореф. дис. ... канд. хим. наук. Саратов, 2015. 23 с.
6. Химическая энциклопедия : в 5 т. / гл. ред. И. Л. Кнунянц. М. : Сов. энциклопедия, 1988–1998.
7. Черкасов Д. Г., Курский В. Ф., Ильин К. К. Топологическая трансформация фазовой диаграммы тройной системы нитрат цезия–вода–ацетонитрил // Журн. неорганической химии. 2008. Т. 53, № 1. С. 146–152.
8. Аносов В. Л., Озерова М. Н., Фиалков Ю. Я. Основы физико-химического анализа М. : Наука, 1976. 504 с.
9. Ильин К. К., Никурашина Н. И. Изучение фазовых равновесий тройной системы вода–пиридин–хлорид калия в интервале температур 0–160°C // Журн. прикл. химии. 1980. Т. 53, № 10. С. 2211–2215.
10. Черкасов Д. Г., Чепурина З. В., Ильин К. К. Фазовые равновесия и критические явления в тройной системе нитрат цезия–вода–масляная кислота в интервале температур 5–100°C // Журн. физ. химии. 2015. Т. 89, № 8. С. 1258–1263.
11. Смотров М. П., Черкасов Д. Г., Ильин К. К. Фазовые равновесия и критические явления в тройной системе нитрат цезия–вода–пиридин // Журн. неорганической химии. 2017. Т. 62, № 3. С. 375–380.



**Equilibrium Liquid–Liquid–Solid  
and Critical Phenomena in the Quaternary System  
Cesium Nitrate+Water+Pyridine+Butyric Acid  
with in the Range of 5 to 60°C**

**M. P. Smotrov, Z. V. Chepurina,  
V. F. Kurskii, D. G. Cherkasov**

Maxim P. Smotrov, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str.,  
Saratov, 410012, Russia, ilinkk@info.sgu.ru

Zinaida V. Chepurina, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya  
Str., Saratov, 410012, Russia, ilinkk@info.sgu.ru

Victor F. Kurskii, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str.,  
Saratov, 410012, Russia, ilinkk@info.sgu.ru

Dmitry G. Cherkasov, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya  
Str., Saratov, 410012, Russia, ilinkk@info.sgu.ru

Phase equilibria and critical phenomena in the component mixtures  
of a cut of the composition tetrahedron of the quaternary system  
cesium nitrate + water + pyridine + butyric acid were studied in  
the range of 5–60°C by the visual-polythermic method. The phase  
equilibria in the component mixtures were studied using sections

of one cut of the composition tetrahedron. The cut position was  
chosen in such a way as to cross all figures of the phase states  
with the presence of a solid phase in order to observe the phase  
behavior of the monotectic state figure as temperature changes.  
Phase state polytherms and the dependence of the phase transition  
temperature corresponding to the critical points of the critical tie  
line of monotectic state on the solution composition were plotted.  
Phase state isotherms of the cut of the composition tetrahedron of  
the quaternary system were plotted on the basis of our polythermal  
data at four temperatures (5.0, 25.0, 40.0, and 60.0°C). There is  
a closed curve on all isotherms, separating the monotectic state  
field from the saturated solution fields. The isotherms have made  
it possible to reveal the topology of the monotectic state figure in  
the quaternary system cesium nitrate + water + pyridine + butyric  
acid and to confirm one of the isotherms of the previously proposed  
scheme for topological transformation of the phase diagrams of  
four-component condensed systems “salt–three solvents” with  
a salting-in–salting-out effect, involving a ternary liquid system  
with a closed delamination range. The salting-out effect of cesium  
nitrate on mixtures of pyridine, butyric acid, and water was found  
to increase with temperature.

**Key words:** quaternary system salt + three solvent, cesium nitrate,  
pyridine, butyric acid, equilibrium liquid–liquid–solid, visual–poly-  
thermal method, salting-out, critical tie line.

**Образец для цитирования:**

Смотров М. П., Чепурина З. В., Курский В. Ф., Черкасов Д. Г. Равновесие жидкость–жидкость–твердое и критические явления в четверной системе нитрат цезия–вода–пиридин–масляная кислота в интервале 5–60°C // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 299–304. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-299-304.

**Cite this article as:**

Smotrov M. P., Chepurina Z. V., Kurskii V. F., Cherkasov D. G. Equilibrium Liquid – Liquid – Solid and Critical Phenomena in the Quaternary System Cesium Nitrate+Water+Pyridine+Butyric Acid with in the Range of 5 to 60°C. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 299–304 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-299-304.



## БИОЛОГИЯ

УДК 57.084.01

### ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ИОННОГО И КОЛЛОИДНОГО ЗОЛОТА ДЛЯ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA SALINA* В МИКРОПЛАНШЕТНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЕ

Д. С. Чумаков, А. А. Голубев, С. А. Коннова, Л. А. Дыкман, В. А. Богатырев

Чумаков Даниил Сергеевич, аспирант кафедры биохимии и биофизики биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: laik2012@yandex.ru

Голубев Александр Андреевич, аспирант лаборатории иммунохимии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов). E-mail: zet111b@gmail.com

Коннова Светлана Анатольевна, заведующий кафедрой биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, профессор, доктор биологических наук. E-mail: Konnovasa@yandex.ru

Дыкман Лев Абрамович, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), доктор биологических наук. E-mail: dykman\_l@ibppm.ru

Богатырев Владимир Александрович, ведущий научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), доктор биологических наук. E-mail: bogatyrev\_v@ibppm.ru

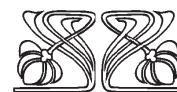
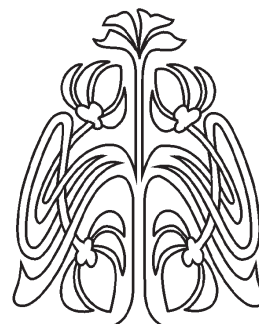
В настоящей работе проведено исследование токсичности ионного и коллоидного золота для солоноводной микроводоросли *Dunaliella salina*. Охарактеризовано влияние некоторых физико-химических параметров суспензий наночастиц на биологическую эффективность их действия. В качестве тест-функции использовалось содержание хлорофилла, определяемое *in vivo* спектрофотометрическим способом. Показано, что размер золотых наночастиц является важным параметром, определяющим их цитотоксичность.

**Ключевые слова:** токсикологическое тестирование, *Dunaliella salina*, золотые наночастицы.

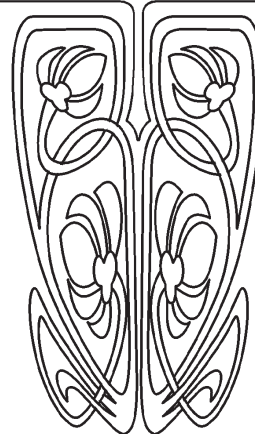
DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-305-311

Интерес к золотым наночастицам, обусловленный их уникальными физико-химическими свойствами, проявляется в широком применении данных структур в биомедицинских исследованиях [1], а также в различных отраслях промышленности. По оценке некоторых авторов [2], объем производства золотых наноматериалов в год уже составляет порядка 3 тонн, и намечается тенденция к значительному увеличению этой цифры в ближайшее время. В связи с этим важной задачей является оценка их биосовместимости и последствий воздействия на экосистемы.

При оценке влияния коллоидного золота на водные экосистемы большое внимание следует уделять микроводорослям, поскольку они являются первичными продуцентами и составляют основу трофической структуры водных биоценозов [3]. Однако к настоящему



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





моменту опубликовано лишь несколько работ экотоксикологической направленности на данную тему. Исследованы токсические эффекты различных видов золотых наночастиц по отношению к пресноводным и солоноводным микроводорослям и проведена их токсикометрическая оценка [4–6]. Исследованы мутантные штаммы микроводоросли *Chlamidomonas reinhardtii*, у которых отсутствует клеточная стенка для оценки влияния данной структуры на чувствительность культуры к частицам, функционализированным дендримерами [7]. В публикации [8] показана возможность переноса цитратных золотых наночастиц в пищевой цепи от микроводорослей *Dunaliella salina* к моллюску *Mytilus gallo provincialis* и их биоаккумуляции. При постановке токсикологических тестов исследователи использовали различные инокуляционные дозы микроводорослей при посеве: от  $10^4$  [6] до  $30 \times 10^6$  [4] мл<sup>-1</sup>. Это затрудняет сравнение результатов экспериментов, описанных в разных публикациях между собой, поскольку увеличение посевной дозы, как правило, снижает чувствительность культуры к токсиканту [9].

Важное значение имеет исследование влияния размера частиц на их цитотоксичность в отношении микроводорослей. Данный параметр многими авторами рассматривается как один из ключевых факторов, определяющих биологическое действие коллоидного золота [10, 11]. С уменьшением размеров наночастиц увеличивается соотношение поверхностных и внутренних атомов. Поскольку химической активностью обладают только атомы поверхностного слоя, сколько-нибудь заметной цитотоксичности следует ожидать у частиц с соизмеримым количеством поверхностных и внутренних атомов. При параметре кристаллической решетки золота  $a = 0,47$  нм такими свойствами обладают наночастицы с размерами  $< 5$  нм. Параметр  $a$  представляет собой среднюю длину ребер элементарной кристаллической ячейки золота.

Интересным и весьма перспективным тест-объектом для экотоксикологических исследований является солоноводная микроводоросль *D. salina*. Представители данного вида являются основными и зачастую единственными автотрофными продуцентами в экосистемах гипергалинных водоемов, а также обладают биотехнологической ценностью [12]. Наряду с этим токсиколого-диагностическую значимость данного вида обуславливает устойчивость микроводорослей ко многим неблагоприятным факторам окружающей среды, уникальность строения (отсутствие плотной клеточной стенки [13]) и высокая скорость роста в культурах. В наших предыдущих работах было

показано, что флуоресцентно-микроскопическая оценка соотношения мертвых и живых клеток и фотометрическая характеристика изменения скорости роста *D. salina* позволяют оценить токсичность поллютантов различной химической природы [14, 15].

Целью настоящей работы являлась оценка уровня цитотоксичности различных препаратов ионного и коллоидного золота по отношению к *D. salina* и выявление роли некоторых физико-химических факторов (размер частиц, влияние дисперсионной среды), ее определяющих.

### Материалы и методы

#### Поддержание культуры микроводорослей

Культура микроводорослей *D. salina* Teod. IP-PASD-294 была получена из коллекции ИФР РАН. Для наращивания растительной биомассы использовали культуральную среду Ben-Amotz [16], включающую в свой состав набор компонентов в следующих концентрациях: NaCl 1,5 М; NaHCO<sub>3</sub> 50 мМ; KNO<sub>3</sub> 25 мМ; MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O 5 мМ; CaCl<sub>2</sub> × 2H<sub>2</sub>O 0,3 мМ; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2 мМ; ЭДТА 30 мкМ; FeCl<sub>3</sub> 2 мкМ; MnSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O 7 мкМ; CuCl<sub>2</sub> 1 мкМ; ZnSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O 1 мкМ; CoSO<sub>4</sub> 1 мкМ; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> 1 мкМ; pH 8. Непосредственно перед инокуляцией раствор фильтровали через фильтр (0,22 мкм) Millipore (США).

Использовали трёхдневную культуру, находящуюся в начале стационарной стадии роста. Для экспериментов применяли частично синхронизированную культуру, полученную путем, как минимум, трех последовательных пересевов в 6 луночных планшетах (Biofilm, Китай).

#### Получение препаратов золота

Цитратные золотые наночастицы с размерами около 15 нм в диаметре (КЗ-15) получали по методу Френса [17], восстановлением HAuCl<sub>4</sub> (Sigma-Aldrich, США) с помощью цитрата натрия (Fluka, Швейцария) при кипячении. Полученные частицы функционализировали поливинилпирролидоном (ПВП). Исходный золь, содержащий 57,9 мг Au/л, концентрировали центрифугированием (15000 г, 10 минут) и редиспергированием осадка в супернатанте (10% от исходного объема жидкости).

Фосфиновое коллоидное золото (ФКЗ) с размерами частиц порядка 1-2 нм получали по методу Даффа [18] восстановлением HAuCl<sub>4</sub> хлоридом тетрааксигидроксиметилфосфония (Fluka, Швейцария) в щелочной среде (конечная концентрация 2 г Au/л). В качестве стабилизатора также использовали ПВП. Для отделения частиц дисперсной фазы от дисперсионной среды часть полученной суспензии фильтровали через центрифужный ультрафильтр Amicon (Millipore, США)





с порогом исключения по молекулярной массе 5 кДа посредством центрифугирования (7500 g, 15 минут). Концентрат частиц редиспергировали в водном растворе ПВП 20 мг/мл. Для получения более грубодисперсного золя к 1 мл суспензии ФКЗ добавляли 50 мкл 0,25 М лимонной кислоты и прогревали при 107 °С в течение 30 минут в герметично завинчивающейся пробирке Эппендорф.

Характеристику полученных нанопрепаратов осуществляли методами трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ), абсорбционной спектроскопии и динамического рассеяния света.

#### Дизайн токсикологического эксперимента

Эксперименты проводили в культивационных 96-луночных планшетах с плоским дном (Biofilm, Китай). Первоначально в лунки вносили токсиканты, разведенные средой Ven-Amotz, в объеме 100 мкл в триплицированных концентрационных рядах. Тесты осуществляли при 7 концентрациях  $\text{HAuCl}_4$ , цитратного КЗ-15 и ФКЗ (10; 20; 30; 40; 60; 80; 100 мг Au/л). Также оценивали цитотоксичность отмытых фосфиновых золотых наночастиц, их дисперсионной среды и нанопрепаратов, полученных при нагреве суспензии ФКЗ в присутствии лимонной кислоты.

В каждую из лунок вносили по 100 мкл суспензии микроводорослей таким образом, чтобы при инокуляции концентрация клеток была порядка  $10^6$  кл  $\times$  мл<sup>-1</sup>. Далее планшеты инкубировали при постоянном освещении люминесцентными лампами дневного света, создающими поток 80–100 мкмоль фотонов  $\times$  м<sup>-2</sup>  $\times$  с<sup>-1</sup> и температуре  $23 \pm 2$  °С. Стандартное время экспозиции составляло 48 часов. В качестве тест-функции регистрировали содержание хлорофилла, которое оценивали фотометрическим измерением поглощения суспензий культур *D. salina*. Адекватность фотометрической оценки *in vivo* проверяли фотометрическим измерением поглощения хлорофилла в спиртовых экстрактах тех же культур. На основании измерений высоты пика поглощения хлорофилла в красной области рассчитывали полуэффективную концентрацию токсиканта ( $\text{EC}_{50_{48}}$ ) как 50%-ное содержание хлорофилла от контроля, выращенного в тех же условиях без поллютанта. Каждый токсикологический тест был воспроизведен три раза.

#### Экстракция хлорофилла

Экстракцию проводили на спин-колонках, изготовленных из 0,7 мл ПЦР пробирок (SSI, США). Суспензии клеток (200 мкл) количественно переносили на колонки и осаждали центрифугированием 50 г в течение 5 минут. Остаток среды «выжимали» кратковременным центрифугированием 10000 г в течение 30 с. Фильтраты удаляли и в каждую сепарационную пробирку добавляли по

100 мкл 80%-ного этанола. Операцию повторяли 3 раза при тех же режимах центрифугирования. Экстракты переносили обратно в лунки и хранили в темноте до измерения.

#### Фотометрические измерения и обработка данных

Все измерения проводили на планшетном спектрофотометре Spark 10 M (Tecan, Швейцария) в режиме регистрации спектров экстинкции 400–800 нм с шагом 1 нм в цикле 3 измерений с интервалом 3 минуты после 7-минутной темновой адаптационной паузы. Для вычисления поглощения хлорофилла *in vivo* в суспензиях культур *D. salina* использовали высоту пика 680 нм, скорректированную на величину неселективного ослабления по значениям ближайших локальных минимумов 640 и 740 нм. Значения данных контрольных точек усредняли по пяти соседним длинам волн и трем временам измерений. Расчет величины поглощения осуществляли по формуле:  $A_{680} = (E_{680} - E_{740}) - (E_{640} - E_{740}) \times 0,6$ . Высоту пика поглощения хлорофилла в экстрактах культур микроводорослей рассчитывали по формуле:  $A_{665} = E_{665} - E_{725}$ . В каждой экспериментальной пробе рассчитывали величину эффективности действия токсиканта по формуле:  $\text{Eff} = (1 - (A_{680}C / A_{680}C_0)) \times 100$ , где  $A_{680}(C)$  – значение поглощения хлорофилла в экспериментальной пробе,  $A_{680}(C_0)$  – значение поглощения хлорофилла в контрольной пробе. На основании данных значений методом линейной интерполяции в окрестностях  $\text{Eff} = 50$  рассчитывали  $\text{EC}_{50_{48}}$ .

Статистический анализ полученных данных проведен с использованием пакета прикладных компьютерных программ Microsoft excel 2007. Полученные данные представлены в виде средней арифметической и её стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ). О достоверности межгрупповых различий судили по параметрическому критерию Стьюдента (*t*-тест) для количественных показателей с нормальным распределением. Проверка статистических гипотез осуществлялась при критическом уровне значимости  $p < 0,05$ .

#### Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлена диаграмма, отражающая фотометрическую оценку эффективности действия препаратов ионного и коллоидного золота на культуры *D. salina* при 48-часовой экспозиции.

Эффективность действия токсиканта фактически представляет собой изменение содержания хлорофилла в экспериментальной пробе по сравнению с контрольной. Положительное значение данной величины отражает снижение содержания

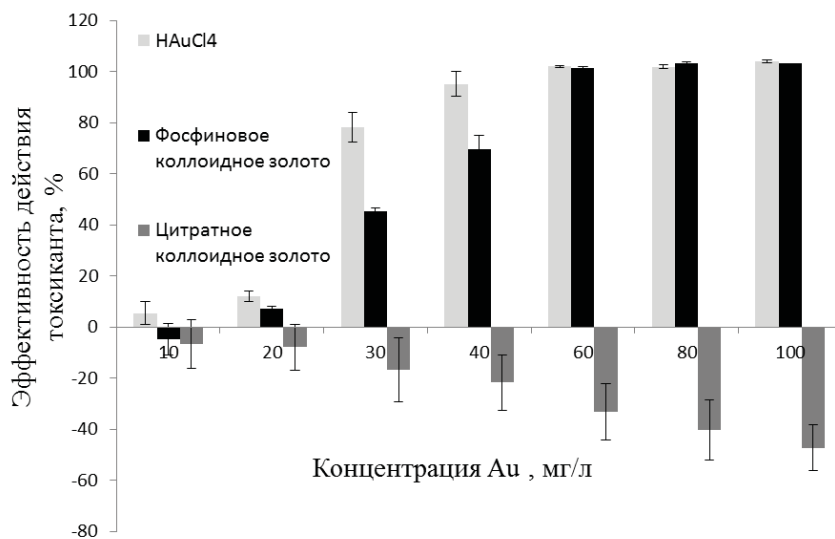


Рис. 1. Фотометрическая оценка эффективности действия препаратов ионного и коллоидного золота на культуры *D. salina* при 48-часовой экспозиции

хлорофилла в экспериментальных пробах, а отрицательное – увеличение. Препараты  $\text{HAuCl}_4$  и ФКЗ проявляли сходную цитотоксичность по отношению к культурам *D. salina*. Ионное золото оказывало несколько более выраженный токсический эффект по сравнению с ФКЗ при концентрациях 30 и 40 мг Au/л. Рассчитанные значения  $\text{EC}_{50}$  составляют  $25,8 \pm 0,3$  мг Au/л для золотохлористоводородной кислоты и  $32,2 \pm 1,1$  мг Au/л для фосфиновых золотых частиц. Препараты КЗ-15 не обладали токсичностью вплоть до концентраций 100 мг Au/л. Полученные результаты в принципе соответствуют отмеченной в ряде работ тенденции, заключающейся в том, что для фито- и зоопланктона ионы металлов значительно более токсичны, чем металлические наночастицы размерного диапазона 10–100 нм [2, 19]. К настоящему моменту отсутствуют работы, посвященные оценке биосовместимости ультрамалых золотых наночастиц с микроводорослями. В исследовании Рап с соавторами [10] на примере четырех линий животных клеток показано, что по данным МТТ-теста значение ингибирующей концентрации  $\text{IC}_{50}$  для 1,4 нм фосфиновых золотых частиц составило 30–56  $\mu\text{M}$  для различных типов клеток. При этом 15 нм коллоидное золото не оказывало цитотоксического эффекта даже при концентрациях, превышающих указанные в 100 раз.

Цитратные золотые наночастицы при всех концентрациях оказывали стимулирующее воздействие на культуры микроводорослей, проявляя эффект гормезиса. Аналогичное наблюдение для стабилизированных ПВП золотых наночастиц по отношению к микроводоросли

*Raphidocelis subcapitata* отмечается в работе [6]. Измерения *in vivo* примерно на 10–20 % превышают степень выраженности гормонального эффекта в пробах с концентрациями КЗ-15 выше 40 мг Au/л по сравнению с оценкой содержания хлорофилла в экстрактах тех же культур. Это, по всей видимости, связано с оптической интерференцией в спектральной области 678–682 нм, обусловленной агрегацией золотых наночастиц. Значения поглощения хлорофилла в суспензиях и экстрактах культур, экспонированных с ФКЗ, достоверно не отличаются.

На рис. 2 представлена сравнительная характеристика токсических эффектов фосфиновых нанокластеров и их дисперсионной среды. Фракции частиц и супернатанта, полученные после ультрафильтрации, разбавляли одинаковым образом и экспонировали с культурами *D. salina* в течение 48 часов. При всех разведениях, исключая самое малое, отмытые частицы и их дисперсионная среда проявляли схожую токсичность для микроводорослей. Потенциальными источниками цитотоксичности в дисперсионной среде могут являться ионы золота, а также некоторые интермедиаты (формальдегид, метанол), образующиеся при синтезе частиц [18]. Стоит отметить, что эффективность действия дисперсионной среды на микроводоросли зависит от того, когда был синтезирован используемый в эксперименте препарат ФКЗ. На рис. 2 представлены результаты эксперимента с препаратом, срок хранения которого составлял 2–3 дня. С увеличением продолжительности хранения золь цитотоксичность дисперсионной среды снижалась.

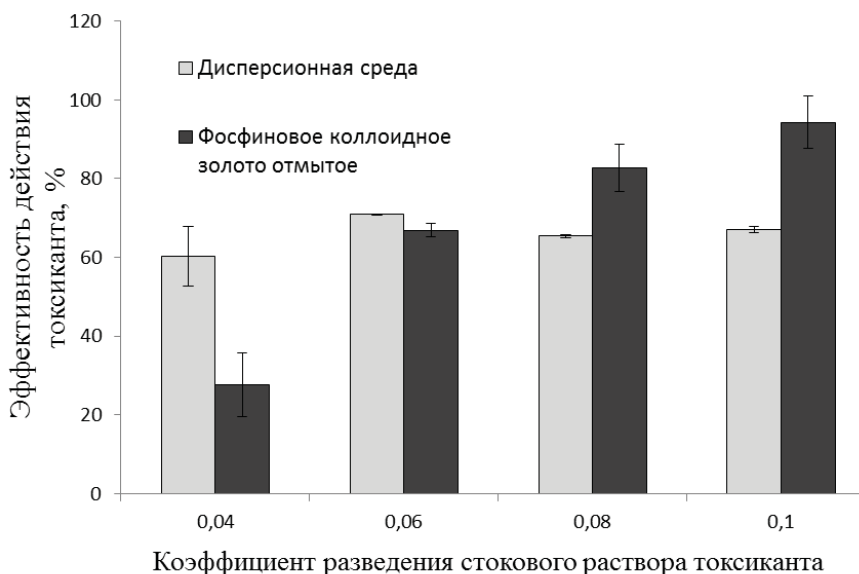
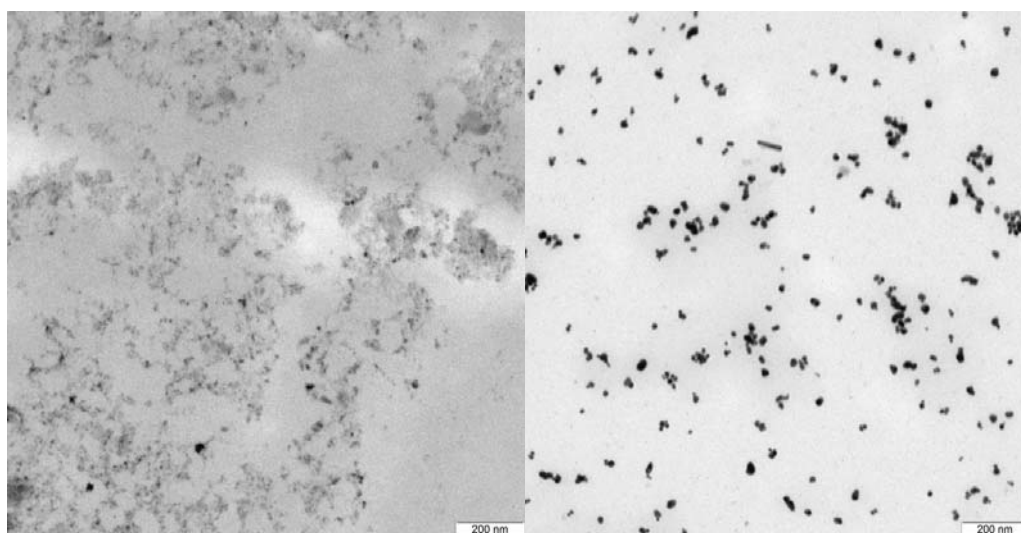


Рис. 2. Оценка эффективности действия препарата отмывтых фосфиновых золотых наночастиц и их дисперсионной среды на культуры *D. salina* при 48-часовой экспозиции

Для дальнейшего исследования влияния размера частиц на проявляемую ими токсичность препарат отмывтого от дисперсионной среды ФКЗ прогревали в течение 30 минут при 107 °С в присутствии лимонной кислоты. По данным ТЭМ, средний диаметр частиц при такой манипуляции увеличивался до 17–22 нм (рис. 3). Как показано на рис. 4, подобное увеличение размера частиц практически полно-

стью нивелировало их токсический эффект. С целью дифференциации размерного эффекта от возможной антидотной активности лимонной кислоты оценивали цитотоксичность препарата ФКЗ, выдержанного в присутствии того же количества лимонной кислоты без нагрева. Эффективность действия данного препарата существенно не отличалась от исходного ФКЗ при всех концентрациях.



*a*

*б*

Рис. 3. ТЭМ-изображения препаратов фосфинового коллоидного золота: *a* – препарат частиц отмывтых от дисперсионной среды; *б* – препарат, полученный в результате нагрева суспензии частиц при 107 °С в присутствии лимонной кислоты

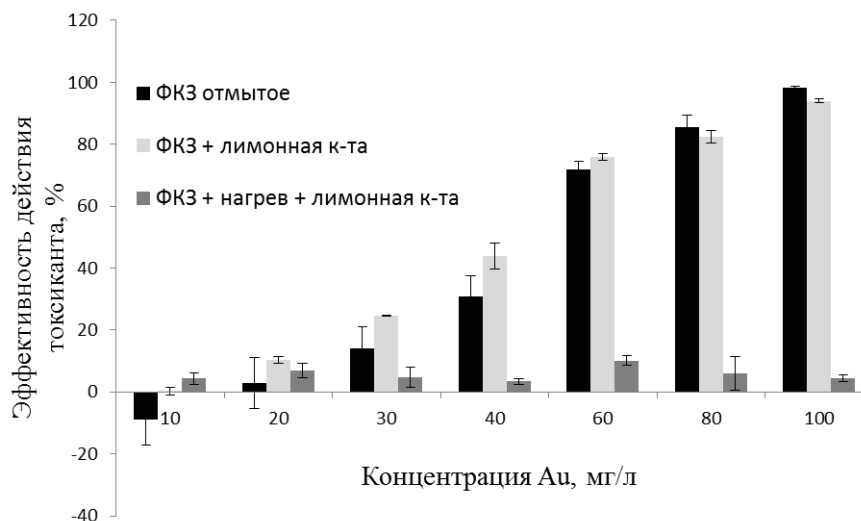


Рис. 4. Оценка эффективности действия различных препаратов фосфинового коллоидного золота на культуры *D. salina* при 48-часовой экспозиции

Таким образом, в нашей работе продемонстрировано, что токсические эффекты золотохлористоводородной кислоты и фосфинового коллоидного золота для микроводоросли *D. salina* существенно не отличаются и значительно превосходят таковые цитратных золотых наночастиц. Показано также, что дисперсионная среда и отмытый от нее препарат ФКЗ обладают сходной токсичностью при одинаковых разведениях. Установлено, что размер частиц является важным параметром, определяющим цитотоксичность коллоидного золота.

Выражаем благодарность научному сотруднику лаборатории иммунохимии ИБФРМ РАН канд. хим. наук А. М. Бурову за помощь в выполнении электронно-микроскопических исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-04-00520).

#### Список литературы

1. Dykman L., Khlebtsov N. Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives // Chem. Soc. Rev. 2012. Vol. 41, № 6. P. 2256–2282.
2. Moreno-Garrido I., Perez S., Blasco J. Toxicity of silver and gold nanoparticles on marine microalgae // Mar. Environ. Res. 2015. Vol. 111. P. 60–73.
3. Baker T. J., Tyler C. R., Galloway T. S. Impacts of metal and metal oxide nanoparticles on marine organisms // Environ. Pollut. 2014. Vol. 156. P. 257–271.
4. Renault S., Baudrimont M., Mesmer-Dudons N., Gonzalez P., Mornet S., Brisson A. Impacts of gold nanoparticle exposure on two freshwater species: a phytoplanktonic alga (*Scenedesmus subspicatus*) and a benthic bivalve (*Corbicula fluminea*) // Gold Bulletin. 2008. Vol. 41, № 2. P. 116–126.
5. Hoecke K. van, De Schamphelaere K. A., Ali Z., Zhang F., Elsaesser A., Rivera-Gil P., Parak W. J., Smagghe G., Howard C. V., Janssen C. R. Ecotoxicity and uptake of polymer coated gold nanoparticles // Nanotoxicology. 2013. Vol. 7, № 1. P. 37–47.
6. Dedkova K., Bures Z., Palarcik J., Vlcek M., Kukutschova J. Acute toxicity of gold nanoparticles to freshwater green algae // Proc. of NanoCon. 2014. URL: <http://nanocon2014.tanger.cz/files/proceedings/20/reports/3286.pdf> (дата обращения: 18.04.2017).
7. Perreault F., Bogdan N., Morin M., Claverie J., Popovic R. Interaction of gold nanoglycodendrimers with algal cells (*Chlamydomonas reinhardtii*) and their effect on physiological processes // Nanotoxicology. 2012. Vol. 6, № 2. P. 109–120.
8. Larginho M., Correia D., Diniz M. S., Baptista P. V. Evidence of one-way flow bioaccumulation of gold nanoparticles across two trophic levels // J. Nanopart. Res. 2014. Vol. 16. P. 2549–2560.
9. Franklin N. M., Stauber J. L., Apte S. C., Lim R. P. Effect of initial cell density on the bioavailability and toxicity of copper in microalgal bioassays // Environ. Toxicol. Chem. 2002. Vol. 21, № 4. P. 742–751.
10. Pan Y., Neuss S., Leifert A., Fischler M., Wen F., Simon U., Schmid G., Brandau W., Jahnke-Dechent W. Size dependent cytotoxicity of gold nanoparticles // Small. 2007. Vol. 3, № 11. P. 1941–1949.
11. Khlebtsov N., Dykman L. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of in vitro and in vivo studies // Chem. Soc. Rev. 2011. Vol. 40, № 3. P. 1647–1671.
12. Oren A. The ecology of *Dunaliella* in high-salt environments // J. Biol. Res. 2014. Vol. 21, № 1. P. 23–31.
13. Масюк Н. П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliellateod.* и перспективы его практического использования. Киев: Наук. думка, 1973. 245 с.
14. Богатырев В. А., Голубев А. А., Селиванов Н. Ю., При-



- лепский А. Ю., Букина О. Г., Пылаев Т. Е., Bibikova O. A., Дыкман Л. А., Хлебцов Н. Г. Лабораторная тест-система оценки токсичности наноматериалов для микроводоросли *Dunaliella salina* // Рос. нанотехнологии. 2015. Т. 10, № 1–2. С. 92–99.
15. Golubev A. A., Prilepskii A. Y., Dykman L. A., Khlebtsov N. G., Bogatyrev V. A. Colorimetric evaluation of the viability of the microalga *Dunaliella salina* as a test tool for nanomaterial toxicity // *Toxicol. Sci.* 2016. Vol. 151, № 1. P. 115–125.
16. Shaish A., Mavron A., Ben-Amotz A. Effect of inhibitors on the formation of stereoisomers in the biosynthesis of  $\beta$ -carotene in *Dunaliella bardawil* // *Plant Cell Physiol.* 1990. Vol. 31, № 5. P. 689–696.
17. Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions // *Nature Phys. Sci.* 1973. Vol. 241. P. 20–22.
18. Duff D. G., Baiker A., Edwards P. P. A new hydrosol of gold clusters. 1. Formation and particle size variation // *Langmuir.* 1993. Vol. 9. P. 2301–2309.
19. Botha T. L., James T. E., Wepener V. Comparative aquatic toxicity of gold nanoparticles and ionic gold using a species sensitivity distribution approach // *J. of Nanomaterials.* 2015. Vol. 2015. P. 16–32.

#### Cytotoxicity Evaluation of Ionic and Colloidal Gold on the Microalga *Dunaliella Salina* in Microplate Test System

D. S. Chumakov, A. A. Golubev, S. A. Konnova,  
L. A. Dykman, V. A. Bogatyrev

Daniil S. Chumakov, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, laik2012@yandex.ru

Alexandr A. Golubev, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, zet111b@gmail.com

Svetlana A. Konnova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, Konnovasa@yandex.ru

Lev A. Dykman, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, dykman\_l@ibppm.ru

Vladimir A. Bogatyrev, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, bogatyrev\_v@ibppm.ru

Gold nanoparticles are intensively studied in biomedicine. Evaluation of their biocompatibility is highly important. In aquatic systems, microalgae, being the primary producers, are the base of the trophic webs. They are the first target for most of the pollutants present in the medium. To study the toxicity of ionic and colloidal gold on the saltwater microalga *Dunaliella salina*. To describe several physicochemical characteristics of nanomaterials that affect their toxicological efficiency. Cytotoxicity of  $\text{HAuCl}_4$ , 15 nm citrate gold nanoparticles and 1–2 nm phosphine-stabilized gold nanoclusters was assessed. Chlorophyll content as a test-function was used. Spectrophotometric method for chlorophyll determination *in vivo* in suspensions of *D. salina* cultures was applied. Calculated EC50 48h value of ionic gold was  $25,8 \pm 0,3$  mg Au/L. EC50 value of phosphine-stabilized gold nanoclusters was  $32,2 \pm 1,1$  mg Au/L. It was not possible to calculate EC50 for citrate gold nanoparticles, as they were non-toxic at all concentrations used. Toxic effect of phosphine-stabilized gold nanoclusters disappeared after heating the suspension ( $107^\circ\text{C}$ ; 30 min) in the presence of citric acid. It was shown that gold nanoparticles size is an important parameter underlying their cytotoxicity.

**Key words:** toxicology testing, *Dunaliella salina*, gold nanoparticles.

**Acknowledgements:** This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project no. 16-04-00520).

#### Образец для цитирования:

Чумаков Д. С., Голубев А. А., Коннова С. А., Дыкман Л. А., Богатырев В. А. Оценка цитотоксичности ионного и коллоидного золота для микроводоросли *Dunaliella Salina* в микропланшетной тест-системе // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 305–311. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-305-311.

#### Cite this article as:

Chumakov D. S., Golubev A. A., Konnova S. A., Dykman L. A., Bogatyrev V. A. Cytotoxicity Evaluation of Ionic and Colloidal Gold on the Microalga *Dunaliella salina* in Microplate Test System. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 305–311 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-305-311.



УДК 581.8

## АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ СЕМЯН ВИДОВ РОДА ИРИС (*IRIS* L.) ФЛОРЫ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

М. Ш. Минжал, В. А. Болдырев, М. Ю. Касаткин



Минжал Мезхер Шебль, аспирант кафедры ботаники и экологии биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: msh2014bio@gmail.com

Болдырев Владимир Александрович, заведующий кафедрой ботаники и экологии биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, профессор, доктор биологических наук. E-mail: boldyrevva@info.sgu.ru

Касаткин Михаил Юрьевич, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: kasatkinmy@info.sgu.ru

В Саратовской области все встречающиеся виды ирисов внесены в областную Красную книгу, в связи с чем для сохранения этих растений необходимо их всестороннее исследование, охрана и введение в культуру. Особый интерес представляет изучение семян, имеющих непосредственную связь с потенциальной возможностью генеративного размножения ирисов. В статье представлены результаты анатомического исследования семян семи видов рода *Iris* L. флоры Саратовской области. В работе применен парафиновый метод с использованием в качестве красителей сафранина и прочного зеленого с модификацией метода, заключающейся в изменении концентрации растворов и времени окрашивания. Целью работы было выявление анатомических признаков семян *Iris aphylla* L., *I. halophila* Pall., *I. pineticola* Klokov, *I. pseudacorus* L. *I. pumila* L., *I. sibirica* L., *I. tenuifolia* Pall. Приводятся фотографии продольного и поперечного срезов семян, на которых анализируются форма срезов, строение микропилярной и халазальной частей, семенной кожуры, эндосперма, зародыша, формы клеток всех элементов семени. Семенная кожура, как правило, состоит из трехслойной тесты (наружный эпидермис (экзотеста), мезотеста, эндотеста (внутренняя эпидерма)) и двухслойного тегмена (наружный и внутренний слои). Комплекс анатомических признаков семян каждого из исследованных видов ирисов является видоспецифичным и может быть использован при решении таксономических проблем этого рода растений.

**Ключевые слова:** анатомия семян ирисов, продольный и поперечные срезы, микропилярная и халазальная части семени, семенная кожура (тесты, тегмен), эндосперм, зародыш, эмбрионета, *Iris aphylla* L., *I. halophila* Pall., *I. pineticola* Klokov, *I. pseudacorus* L. *I. pumila* L., *I. sibirica* L., *I. tenuifolia* Pall., парафиновый метод, Саратовская область.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-312-321

Во флоре России род *Iris* L. включает 38 видов и 1 подвид [1, 2]. Согласно Красным книгам Российской Федерации и ее регионов, 25 видов ири-

сов флоры России имеют статус объектов охраны. В Саратовской области все семь встречающихся видов ирисов: и. безлистный – *Iris aphylla* L., и. боровой – *I. pineticola* Klokov, и. карликовый – *I. pumila* L., и. сибирский – *I. sibirica* L., и. солелюбивый – *I. halophila* Pall., и. тонколистный – *I. tenuifolia* Pall., аировидный – *Iris pseudacorus* L. – внесены в Красную книгу Саратовской области [3] и рекомендованы для включения в очередное ее издание [4]. Все они спорадически распространены по территории области при малой численности популяций [5]. Особый интерес представляет собой изучение семян ирисов, имеющих непосредственную связь с потенциальной возможностью их генеративного размножения. Кроме того, представляется возможным использование морфологических и анатомических признаков семян для решения таксономических проблем. Морфометрические характеристики семян ирисов флоры Саратовской области опубликованы ранее [6, 7]. Данных по анатомическому строению семян у представителей этих видов недостаточно, а для особей, обитающих в Саратовской области, нет вообще. Целью настоящей работы было выявление анатомических признаков семян ирисов флоры Саратовской области.

### Материалы и методы

В качестве материала были использованы зрелые семена ирисов, преобладающая часть которых была предоставлена из коллекции Ботанического сада Саратовского университета: *Iris aphylla* L., *I. halophila* Pall., *I. pseudacorus* L. *I. pumila* L., *I. sibirica* L. Приобрести семена *I. tenuifolia* и *I. pineticola* Klokov местного происхождения не представилось возможным по причине крайней редкости этих растений на территории Саратовской области, в связи с чем они получены из других регионов (Монголии и Алтая соответственно).

Сухие семена фиксировались 70%-ным этиловым спиртом в течение 15 суток. Постоянные препараты изготавливались по общепринятой методике [8, 9]. Продольные и поперечные срезы толщиной 25–35 мкм выполнялись на микротоме Thermo scientific – Microm HM 450. В качестве красителей использовались сафранин и прочный зеленый, концентрация которых и время окрашивания подбирались опытным путем. Микросъемка осу-



ществлялась насадкой для микроскопа TOUPTEC PHOTONICS FMA050 в программе TourView 3.7.

В тексте статьи на рисунках представлены фотографии наиболее типичных анатомических срезов семян каждого вида ирисов.

### Результаты и их обсуждение

Анатомическое строение семян ириса карликового отражено на рис. 1.

Как следует из рис. 1, форма продольного разреза его семени обратнойцевидная, поперечного –

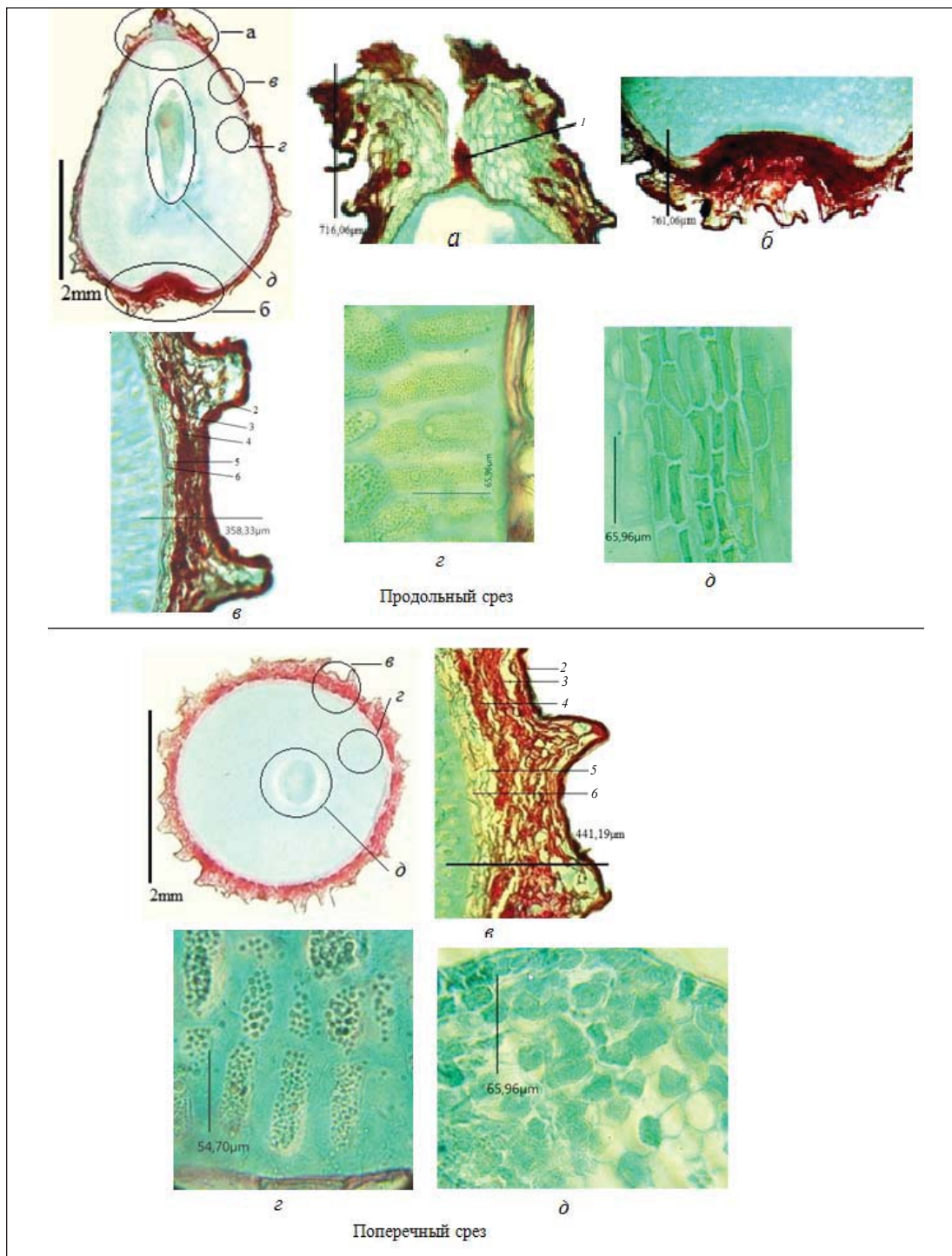


Рис. 1. Анатомическое строение семян ириса карликового: а – микропиллярная часть (1 – эмбриотега); б – халазальная часть; в – семенная кожура: теста (2 – наружный эпидермис (экзотеста), 3 – мезотеста, 4 – эндотеста (внутренняя эпидерма)); тегмен (5 – наружный слой, 6 – внутренний слой); г – клетки эндосперма; д – клетки зародыша



округлая с центральным расположением зародыша. В микропилярной части семени теста включает тонкую экзотесту и утолщенную мезотесту. Тегмен тонкий и однослойный, эмбриотега, как правило, удлиненно яйцевидной формы. Эндосперм тонкий. В халазальной части толщина кутикулы наиболее значительная, утончающаяся к микропилярной части. Тегмен тонкий. Семенная кожура состоит из двух основных частей: тесты (экзо-, мезо-, эндотеста) и тегмена (наружный двух- или трехслойный и внутренний – однослойный, состоящий из сильно вытянутых клеток). Эндосперм состоит из про-

долговатых клеток, наиболее крупные из которых расположены у семенной кожуры. Оценивая форму клеток на продольном и поперечном разрезах, есть основание заключить, что они имеют форму уплощенного параллелепипеда с закругленными краями. По направлению к зародышу размеры клеток уменьшаются. Зародыш обратнотанцетовидный, клетки его от треугольных до округлых и прямоугольных, узкие, вытянутые с хорошо выраженными ядрами в центральной их части.

На рис. 2 представлено анатомическое строение семян ириса безлистного.

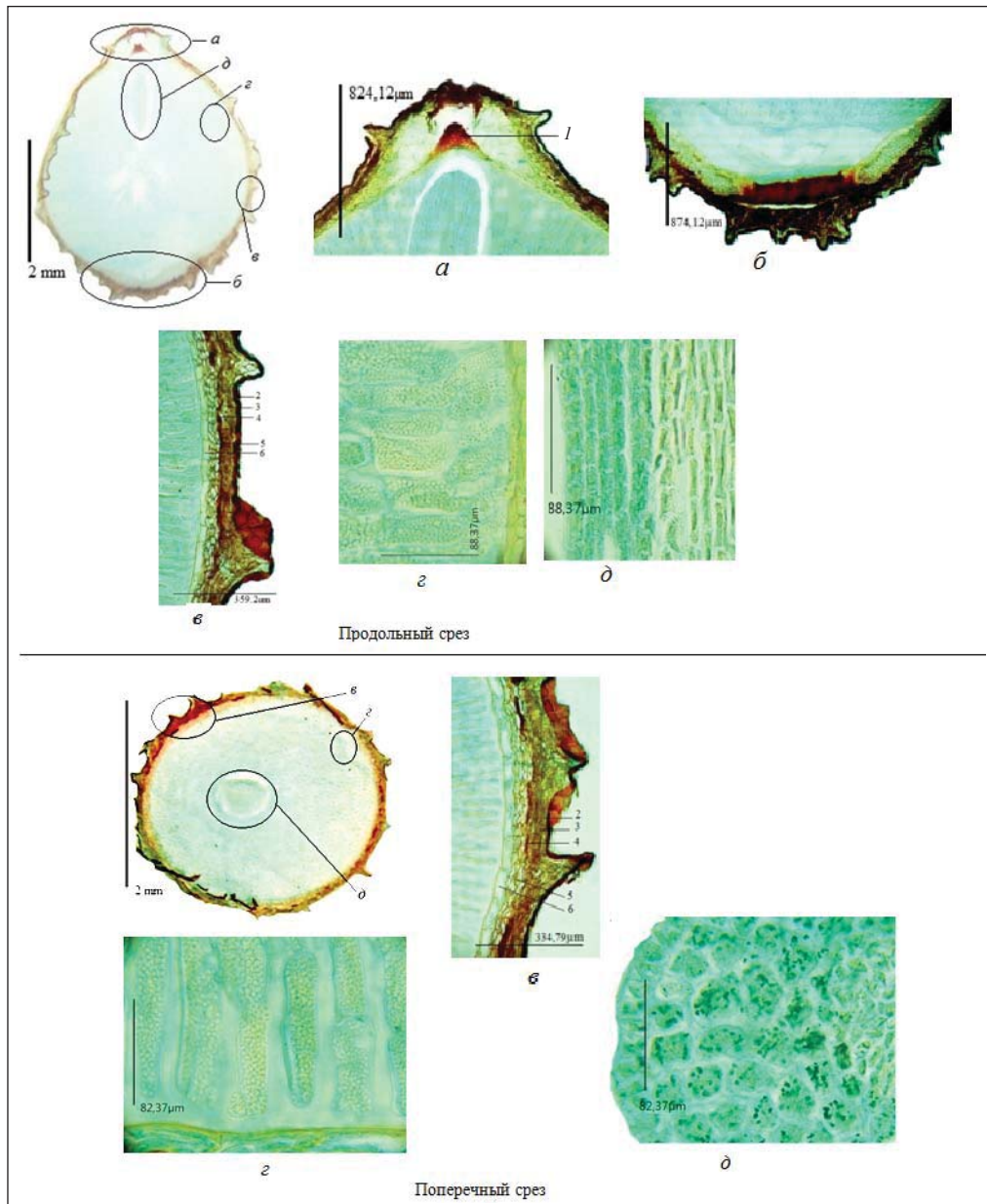


Рис. 2. Анатомическое строение семян ириса безлистного: а – микропилярная часть (1 – эмбриотега); б – халазальная часть; в – семенная кожура: теста (2 – экзотеста, 3 – мезотеста, 4 – эндотеста); тегмен (5 – наружный слой, 6 – внутренний слой); г – клетки эндосперма; д – клетки зародыша





Как видно из рис. 2, форма продольного разреза его семени обратнойцевидная или эллипсоидная, поперечного – округлая с центральным расположением зародыша. В микропилярной части теста включает экзо- и утолщенную мезотесту. Тегмен тонкий и однослойный, эмбриотега, как правило, пирамидальной формы. Эндосперм тонкий. В халазальной части толщина кутикулы наиболее значительная, утончающаяся к микропилярной части. Тегмен, примыкающий к халазальной части, относительно толстый. Семенная кожура состоит из двух основных частей: тесты (экзо-, мезо-, эндотеста) и тегмена (наружный двух- или трехслойный и внутренний – однослой-

ный, состоящий из сильно вытянутых клеток). Наружный эпидермис семян только этого вида в некоторых частях имеет утолщения за счет крупных многоугольных клеток. Форма и соотношение размера клеток эндосперма в разных частях семени сходны с предыдущим видом. Зародыш имеет форму вытянутого эллипса, клетки его узкие и вытянутые с хорошо выраженными ядрами в центральной части. В эндосперме клетки чаще всего продолговатые. Форма клеток зародыша варьирует от треугольных до округлых и прямоугольных.

На рис. 3 отражено анатомическое строение семян ириса солелюбивого.

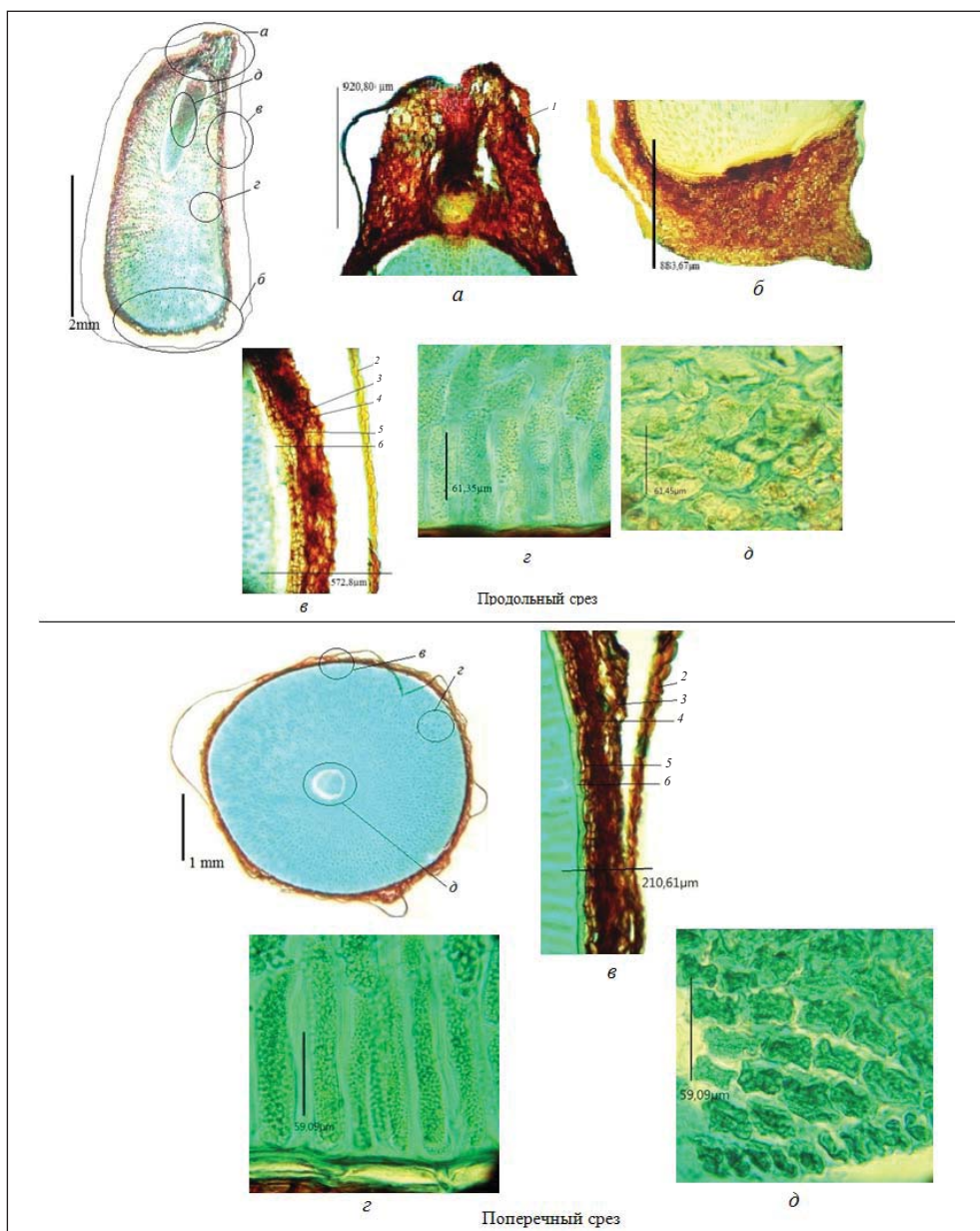


Рис. 3. Анатомическое строение семян ириса солелюбивого: а – микропилярная часть (1 – эмбриотега); б – халазальная часть; в – семенная кожура: теста (2 – экзотеста, 3 – мезотеста, 4 – эндотеста); тегмен (5 – наружный слой, б – внутренний слой); г – клетки эндосперма; д – клетки зародыша



Как следует из рис. 3, в микропилярной части семени теста включает изолированную экзотесту и утолщенную мезотесту. Тегмен тонкий и однослойный, эмбриотега, как правило, прямоугольной формы. Эндосперм тонкий. В халазальной части толщина кутикулы наиболее значительная, утончающаяся к микропилярной части. Тегмен, примыкающий к халазальной и средней частям семени, примерно одинаковой толщины. Семенная кожура состоит из двух основных частей: тесты (экзотесты, отделенной от семени и состоящей из двух слоев эллиптических

или вытянутых прямоугольных клеток, мезотесты – из мертвых клеток, тонкой эндотесты) и тегмена (наружный трех- или четырехслойный и внутренний – однослойный, состоящий из сильно вытянутых прямоугольных клеток). Форма и соотношение размера клеток эндосперма в разных частях семени сходна с предыдущими видами. Зародыш имеет форму вытянутого эллипса, клетки его, как правило, имеют форму неправильного прямоугольника.

На рис. 4 представлено анатомическое строение семян ириса сибирского.

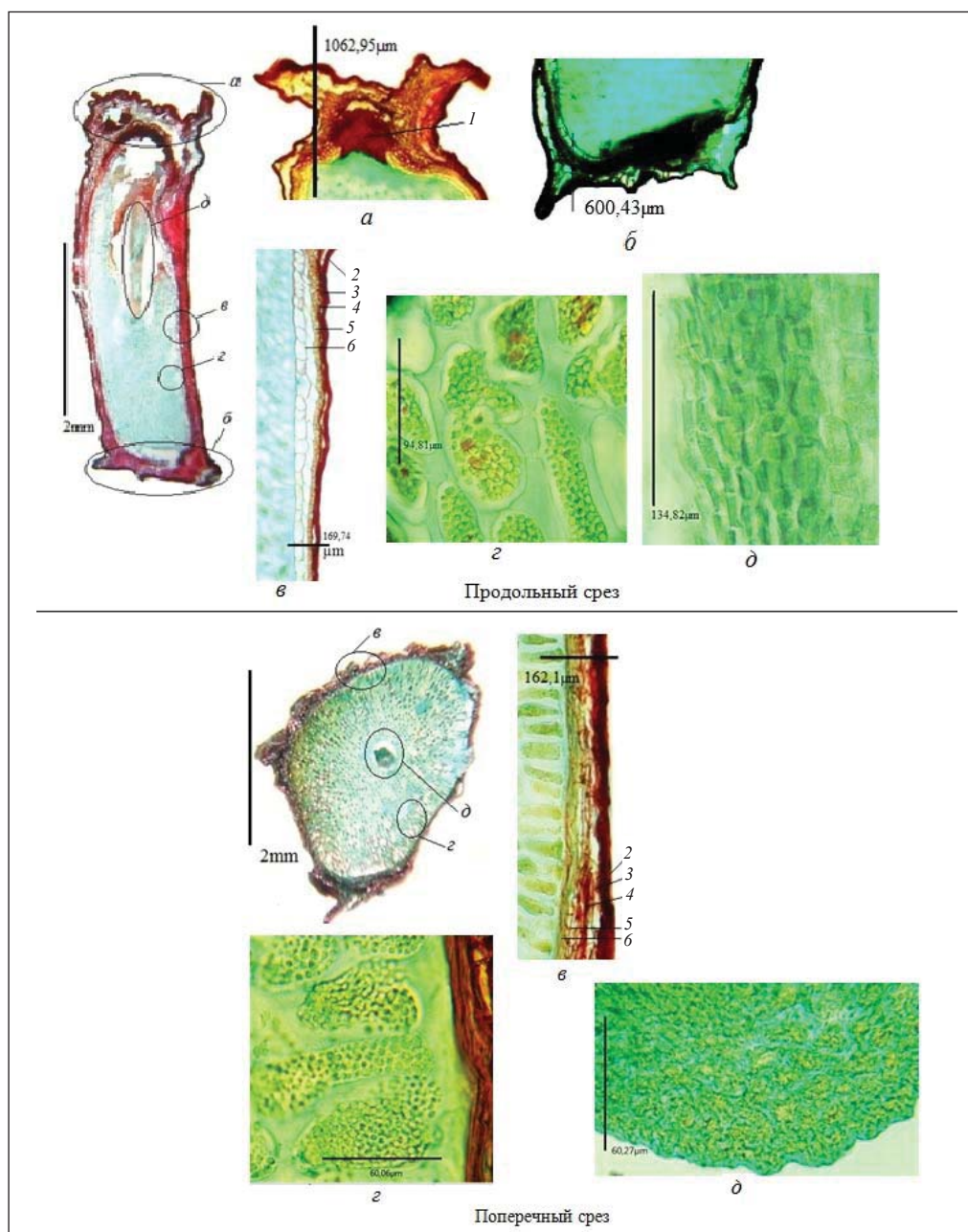


Рис. 4. Анатомическое строение семян ириса сибирского: а – микропилярная часть (l – эмбриотега); б – халазальная часть; в – семенная кожура: теста (2 – экзотеста, 3 – мезотеста, 4 – эндотеста); тегмен (5 – наружный слой, 6 – внутренний слой); г – клетки эндосперма; д – клетки зародыша



Как следует из рис. 4, форма продольного разреза семени – вытянутый прямоугольник с утолщениями по углам, поперечного – треугольник с центральным расположением зародыша. В микропилярной части семени теста включает экзо- и утолщенную мезотесту. Тегмен тонкий и двуслойный, эмбриотега, как правило, грибовидной формы. Эндосперм тонкий. В халазальной части толщина кутикулы наиболее значительная, утончающаяся к микропилярной части. Тегмен, примыкающий к халазальной и средней частям семени, примерно одинаковой толщины. Семенная кожура состоит из двух основных частей: тесты (экзо-, мезо- и эндоте-

ста, образующих сплошной слой, не отделяясь друг от друга) и тегмена (наружный трех- или четырех-слойный, состоящий из вытянутых неправильной формы клеток и внутренний – двуслойный, образованный, как правило, из ромбовидных клеток). Форма и соотношение размера клеток эндосперма в разных частях семени сходна с предыдущими видами. На продольном срезе зародыш имеет форму вытянутого эллипса, клетки его, как правило, прямоугольные и вытянутые, на поперечном – округлые, клетки его трех- или четырехугольные.

На рис. 5 отражено анатомическое строение семян ириса борового.

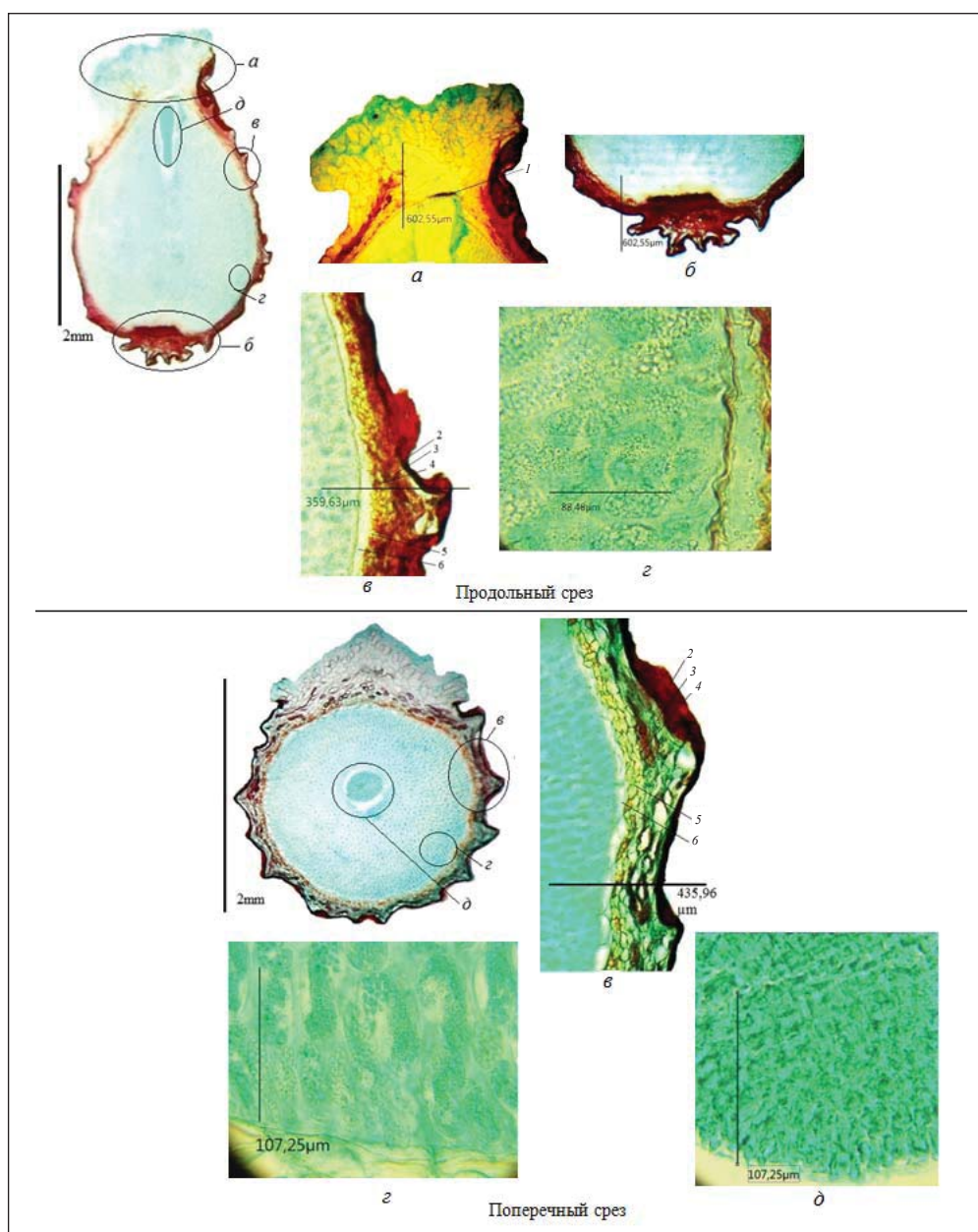


Рис. 5. Анатомическое строение семян ириса борового: *a* – микропилярная часть (*1* – эмбриотега); *б* – халазальная часть; *в* – семенная кожура: теста (*2* – экзотеста, *3* – мезотеста, *4* – эндотеста); тегмен (*5* – наружный слой, *6* – внутренний слой); *з* – клетки эндосперма; *д* – клетки зародыша



Как видно из рис. 5, форма продольного разреза семени варьирует от яйцевидной до эллипсовидной с ариллоидом, поперечного – округлая с треугольным ариллоидом и центральным расположением зародыша. В микропилярной части семени теста включает более толстую экзотесту, по сравнению с мезотестой, и однослойную эндотесту. Тегмен двуслойное, эмбриотега плохо выражена. Эндосперм тонкий. В халазальной части толщина кутикулы наиболее значительная, утончающаяся к микропилярной части. Тегмен, примыкающий к халазальной и средней частям семени, примерно одинаковой толщины. Семенная кожура состоит из двух основных частей: тесты

(экзо-, мезо-, эндотеста образуют сплошной слой, не отделяясь друг от друга) и тегмена (наружный двух- или трехслойный, состоящий из вытянутых неправильной формы клеток и внутренний – однослойный, состоящий из клеток аналогичной формы). Форма и соотношение размера клеток эндосперма в разных частях семени сходны с предыдущими видами. На продольном срезе зародыш имеет форму вытянутого эллипса, на поперечном – округлую, клетки его имеют форму от вытянутых четырехугольников до неправильных многоугольников.

На рис. 6 представлено анатомическое строение семян ириса айровидного.

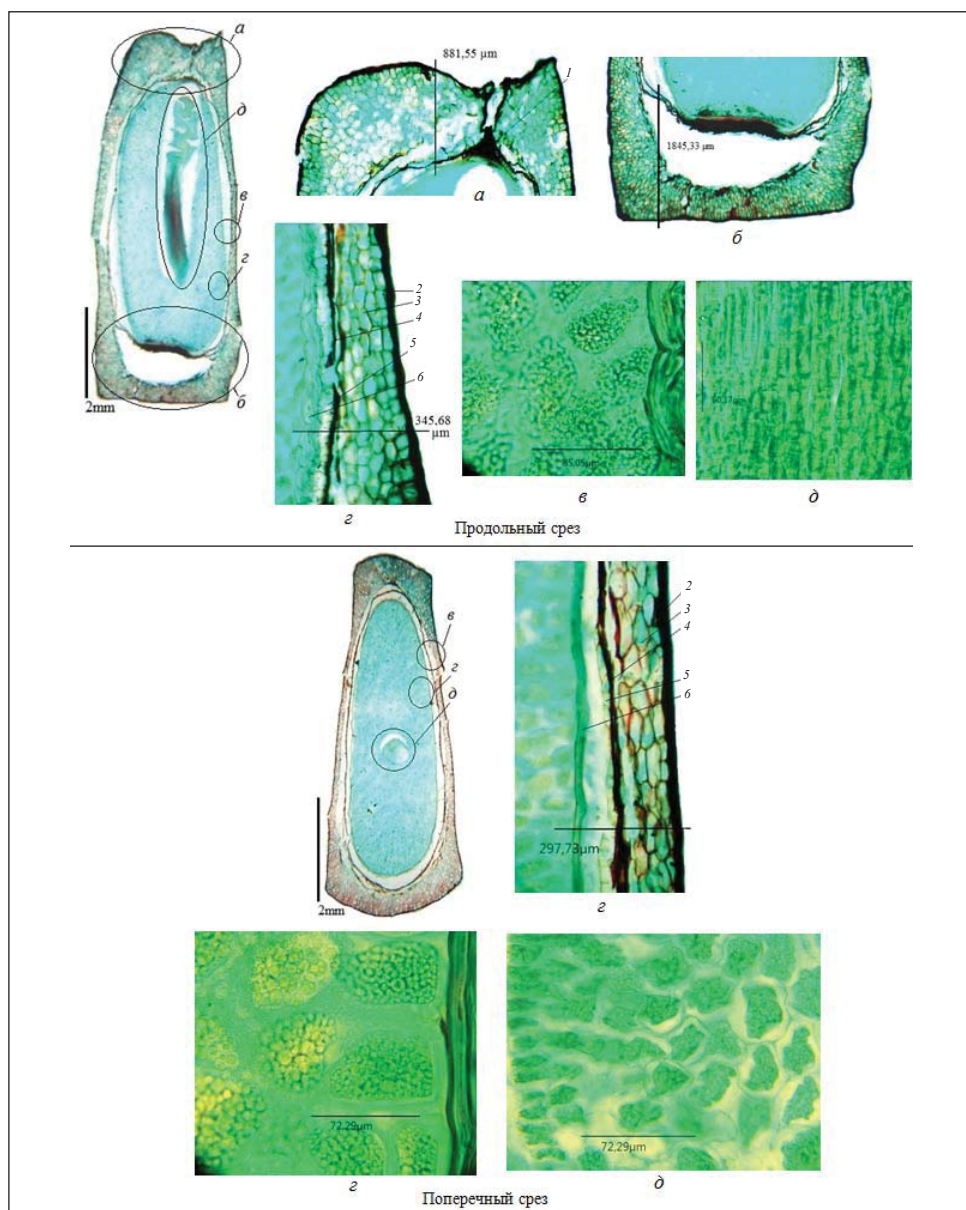


Рис. 6. Анатомическое строение семян ириса айровидного: а – микропилярная часть (1 – эмбриотега); б – халазальная часть; в – семенная кожура: теста (2 – экзотеста, 3 – мезотеста, 4 – эндотеста); тегмен (5 – наружный слой, 6 – внутренний слой); з – клетки эндосперма; д – клетки зародыша



Как следует из рис. 6, форма продольного разреза семени – вытянутый прямоугольник, поперечного – широкий ланцет с центральным расположением зародыша. В микропилярной части семени теста включает довольно тонкую экзотесту, толстую (10–12 слоев чаще всего округлых клеток) мезотесту и тонкую однослойную эндотесту. Тегмен двухслойное, эмбриотега имеет форму треугольника. Эндосперм тонкий. В халазальной части толщина кутикулы наиболее значительная, утончающаяся к микропилярной части. Двухслойное тегмен, примыкающее к халазальной и средней частям семени, примерно одинаковой толщины. В халазальной части в семенной кожуре

имеются воздушные пустоты. Семенная кожура состоит из двух основных частей: теста (однослойной экзотесты, четырех-шестислойной мезотесты, однослойной эндотесты) и тегмена (как наружный, так и внутренний слои состоят из одного ряда вытянутых неправильной формы клеток). Форма и соотношение размера клеток эндосперма в разных частях семени сходны с предыдущими видами. На продольном срезе зародыш имеет форму вытянутого эллипса, на поперечном – округлую, клетки его имеют форму от вытянутых округлых четырехугольников до многоугольников.

На рис. 7 отражено анатомическое строение семян ириса тонколистного.

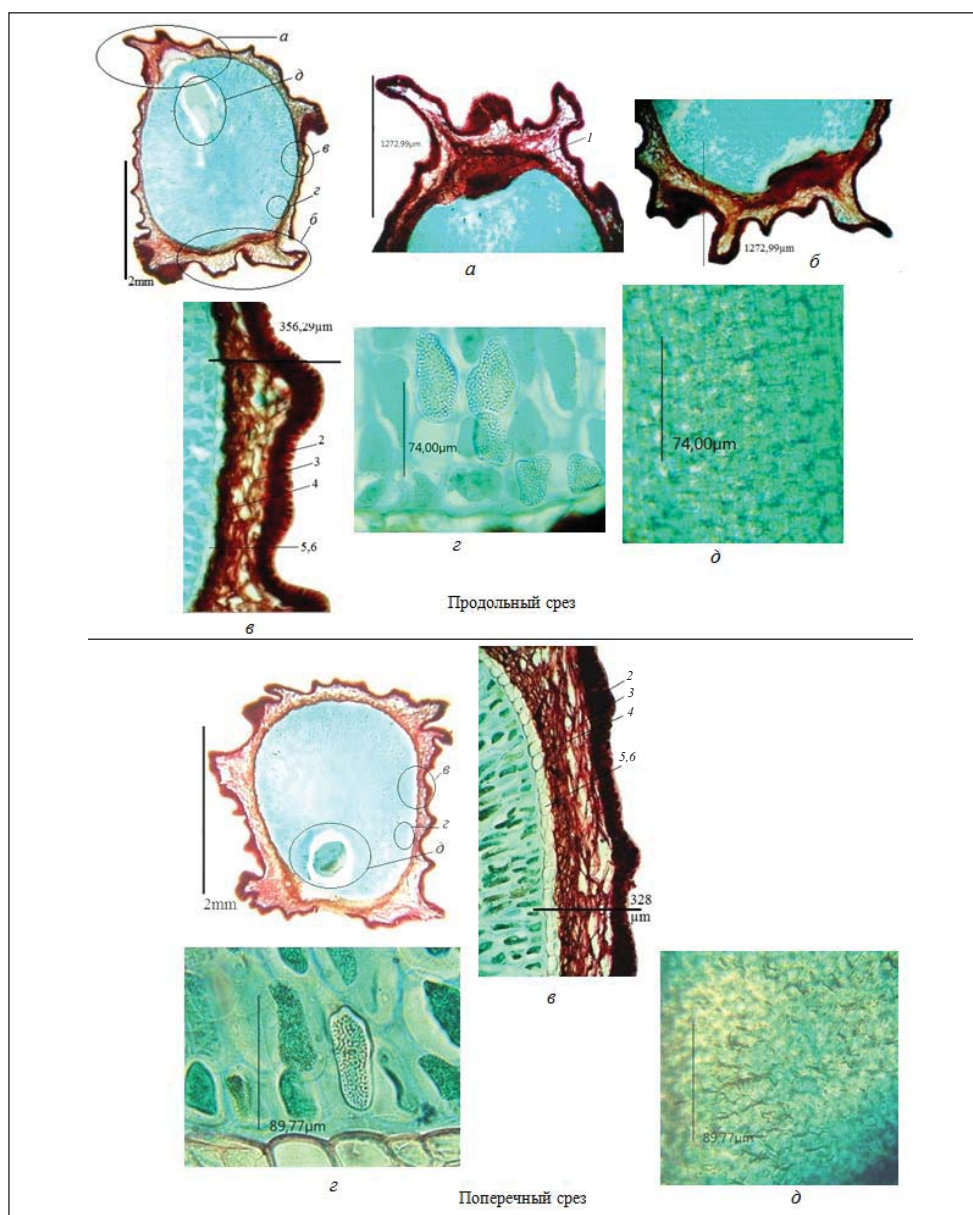


Рис. 7. Анатомическое строение семян ириса тонколистного: а – микропилярная часть (1 – эмбриотега); б – халазальная часть; в – семенная кожура: теста (2 – экзотеста, 3 – мезотеста, 4 – эндотеста); тегмен (5 – наружный слой, 6 – внутренний слой); г – клетки эндосперма; д – клетки зародыша



Как видно из рис. 7, форма продольного и поперечного разреза семени округлая или слегка вытянутая с крылоподобными придатками. На поперечном разрезе зародыш примыкает к семенной кожуре. В микропилярной части семени теста включает довольно толстую экзотесту, трех- или четырехслойную мезотесту и тонкую однослойную эндотесту. Тегмен однослойный, эмбриотега, имеет форму сплюсненного яйца. Эндосперм тонкий. В халазальной части толщина кутикулы наиболее значительная, утончающаяся к микропилярной части. Однослойный тегмен, примыкающий к халазальной и средней частям семени, примерно одинаковой толщины. Семенная кожура состоит из двух основных частей: тесты (однослойной экзотесты, мезотесты из трех- или четырех слоев трапециевидных клеток, однослойной эндотесты) и тегмена, не подразделяющегося на слои. Форма и соотношение размера клеток эндосперма в разных частях семени сходны с предыдущими видами. На продольном срезе зародыш имеет форму вытянутого овала с клетками аналогичной формы, на поперечном – форма зародыша и клеток сходные (вытянутые и округлые).

Результаты исследования показали, что комплекс анатомических признаков семян каждого вида ирисов флоры Саратовской области является уникальным и видоспецифичным, что может быть использовано при решении таксономических проблем этого рода.

Авторы искренне признательны кандидату биологических наук старшему научному сотруднику куратору коллекции касатиковых Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН Н. Б. Алексеевой и заведующей отделом флоры и растительности УНЦ «Ботанический сад» Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского Н. А. Петровой за предоставленные семена ирисов, а также кандидату биологических наук доценту О. В. Седовой за ценные советы при подготовке рукописи.

#### Список литературы

1. Алексеева Н. Б. Охрана видов рода *Iris* (Iridaceae) на территории России // Бот. журн. 2003. Т. 88, №1. С. 109–118.
2. Алексеева Н. Б. Новая секция рода *Iris* (IRIDACEAE) и номенклатурные комбинации в ранге секции // Бот. журн. 2006. Т. 91, № 7. С. 1095–1096.
3. Красная книга Саратовской области : Грибы. Растения. Лишайники. Животные / Комитет охраны окружающей среды и природопользования Саратов. обл. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. 528 с.
4. Архипова Е. А., Болдырев В. А., Буланая М. В., Буланый Ю. И., Гребенюк С. И., Давиденко О. Н., Давиденко Т. Н., Костецкий О. В., Лаврентьев М. В., Маевский В. В., Невский С. А., Панин А. В., Решетникова Т. Б., Седова О. В., Степанов М. В., Стуков В. И., Худякова Л. П., Шевченко Е. Н., Шилова И. В. Виды цветковых растений, рекомендуемые для внесения в третье издание Красной книги Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, № 3. С. 303–309.
5. Болдырев В. А., Невский С. А., Давиденко О. Н., Седова О. В., Гребенюк С. И., Давиденко Т. Н., Пискунов В. В., Архипова Е. А., Степанов М. В., Торгашикова О. Н., Горин В. И., Бекренева Е. С., Закурдаева М. В. Биоразнообразии и охрана природы в Саратовской области : в 4 кн. Кн. 3. Растительность / под общ. ред. проф. В. А. Болдырева, проф. Г. В. Шляхтина. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2011. 240 с.
6. Минжал М. Ш., Болдырев В. А. Морфометрические признаки семян некоторых видов рода *Iris* L. в Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 4. С. 404–410. DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-4-404-410.
7. Минжал М. Ш., Болдырев В. А. Форма и размеры семян некоторых охраняемых видов рода ирис (*Iris* L.) в Саратовской области // Биоразнообразии и антропогенная трансформация природных экосистем : материалы Всерос. науч.-практ. конф., посвящ. памяти А. И. Золотухина / под ред. А. Н. Володченко. Балашов, 2016. С. 208–210.
8. Sass J. E. Botanical microtechnique. USA, Press Building, Ames, Iowa, 2nd ed. 1951. 228 p.
9. Прозина М. Н. Ботаническая микротехника. М. : Высш. шк., 1960. 207 с.

#### Anatomical Structure of Seed which Belong to *Iris* L. Species of Saratov Flora

M. Sh. Minjal, B. A. Boldyrev, M. Yu. Kasatkin

Mezher S. Minjal, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, msh2014bio@gmail.com

Vladimir A. Boldyrev, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, boldyrevva@info.sgu.ru

Michail Yu. Kasatkin, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, kasatkinmy@info.sgu.ru

In the Saratov region all species of *Iris* are listed in the regional Red Book, with this connection, to preserve these plants, it is necessary to introduce them in an extensive researches, protection and establishing them in the literature. special interest is the study of seeds due to the direct relation with the potential possibility of generative propagation of *Iris* species, the article presents the results of an anatomical study of the seeds of seven species which belong to *Iris* L. in Saratov region flora. Using paraffin method with modification of time and concentration of solutions, sections were stained by safranin – fast green dyes. The main



objective of the study is to determine the precise anatomical structure of seed of the species: *Iris aphylla* L., *I. halophila* Pall., *I. pineticola* Klokov, *I. pseudacorus* L. *I. pumila* L., *I. sibirica* L., *I. tenuifolia* Pall. Photos of longitudinal and cross sections were provided. shape of sections were described, the structure of the micropylar and chalazal parts, seed coat, endosperm, embryo and the cell forms of all elements of the seed. Seed coat, as a rule, consists of tests of three-layer (external epidermis (exotesta), mesotesta, endotesta (internal epidermis)) and two-layer of

tegmen (outer and inner layers). The complex of anatomical features of the seeds of each of the studied species of *Iris* is species-specific and can be used to solve taxonomic problems of these plants.

**Key words:** seed anatomy of *Iris*, longitudinal and cross sections, micropylar and chalazal parts of the seed, seed coat (testa, tegmen), endosperm, embryo, embryotegium, *Iris aphylla* L., *I. halophila* Pall., *I. pineticola* Klokov, *I. pseudacorus* L. *I. pumila* L., *I. sibirica* L., *I. tenuifolia* Pall., paraffin method, Saratov region.

---

**Образец для цитирования:**

Минжал М. Ш., Болдырев В. А., Касаткин М. Ю. Анатомическое строение семян видов рода Ирис (*Iris* L.) флоры Саратовской области // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 312–321. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-312-321.

**Cite this article as:**

Minjal M. Sh., Boldyrev V. A., Kasatkin M. Y. Anatomical Structure of Seed which Belong to *Iris* L. Species of Saratov Flora. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 312–321 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-312-321.

---



УДК 579.262

## АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ПРОТЕАЗ НА СТРУКТУРУ БИОПЛЕНОК ШТАММА *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* Sp245 И ЕГО ДЕФЕКТНЫХ ПО ЖГУТИКОВАНИЮ *mmsB1* И *fabG1* МУТАНТОВ



Е. М. Телешева, Д. Н. Синякин, А. В. Шелудько, Ю. А. Филиппичева,  
Е. Г. Пономарева, Л. П. Петрова, Е. И. Кацы

Телешева Елизавета Михайловна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории генетики микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов). E-mail: sentebrinka@mail.ru

Синякин Дмитрий Николаевич, магистрант кафедры генетики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: diman.sinyakin@yandex.ru

Шелудько Андрей Вячеславович, ведущий научный сотрудник лаборатории генетики микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), доктор биологических наук. E-mail: shel71@yandex.ru

Филиппичева Юлия Анатольевна, научный сотрудник лаборатории генетики микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: ljuche@yandex.ru

Пonomарева Елена Геннадьевна, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: ponomareva\_e@ibppm.ru

Петрова Лилия Петровна, старший научный сотрудник лаборатории генетики микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: petrova\_lp@mail.ru

Кацы Елена Ильинична, заведующий лабораторией генетики микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), профессор, доктор биологических наук. E-mail: ei\_katsy@mail.ru

Имеется мало данных о роли разнообразных структур клеточной поверхности в образовании и стабилизации биопленок азоспирилл. Известно, что по сравнению со штаммом *A. brasilense* Sp245 его дефектные по сборке жгутиков *mmsB1* и *fabG1* мутанты хуже формируют биопленки на гидрофобной поверхности (полистирол), а на гидрофильной (стекло) – только *mmsB* мутант. В данной работе показано, что отличные от жгутиков белковые компоненты поверхности азоспирилл, чувствительные к действию проназы и трипсина, необходимы для прочного соединения бактерий в биопленках на стекле и полистироле и вносят вклад в прикрепление биопленок к полистиролу под богатой жидкой средой. Возможно, такими белковыми компонентами являются гемагглютинины азоспирилл.

**Ключевые слова:** *Azospirillum brasilense*, биопленки, белки матрикса.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-322-327

Бактерии рода *Azospirillum* распространены в разнообразных местообитаниях и вступают в ассоциативное взаимодействие с широким кругом растений [1], при котором не происходит образования каких-либо специализированных структур, наподобие клубеньков, характерных для бобово-ризобиального симбиоза [2]. Положительное влияние азоспирилл на рост и развитие растений обусловлено их способностью к фиксации атмосферного азота, продукции фитогормонов, контролю фитопатогенов и др. Определенное значение в успешном функционировании растительно-микробной ассоциации может иметь формирование биопленок азоспирилл на поверхности корней растений [3–5].

Бактериальные биопленки – это пространственно и метаболически структурированные сообщества заключенных в матрикс микроорганизмов [5, 6]. Внеклеточный матрикс биопленок содержит биополимеры разной химической природы (полисахариды, белки, нуклеиновые кислоты, липиды и пр.), обеспечивающие адгезию к поверхности, структурную и функциональную целостность биопленок [7]. Поверхностные структуры бактериальных клеток, также интегрированные в матрикс, поддерживают и стабилизируют его архитектуру [6, 7]. Так, дефекты в синтезе липо-полисахаридов (ЛПС) и экстраклеточных полисахаридов, связывающих краситель калькофлуор, оказывают заметное влияние на эффективность формирования биопленок у соответствующих мутантов азоспирилл [8].

Получены немногочисленные данные о роли разнообразных компонентов клеточной поверхности белковой природы в формировании и стабилизации биопленок азоспирилл. Так, например, инактивация у бактерии *A. brasilense* Sp245 плазмидных генов, кодирующих гипотетические TAD пили, приводит к подавлению образования биопленок [9]. Сохранение полярного жгутика (Fla) на клетках *A. brasilense* Sp245, интегрированных в зрелую биопленку, способствует поддержанию ее целостности и повышает ее устойчивость в условиях гидродинамического сдвига [10]. Биопленки Fla<sup>-</sup> мутантов содержат меньшее





количество биомассы и менее стабильны по сравнению с биопленками родительского штамма Sp245 [10, 11]. Однако биопленки мутантов, лишенных жгутиков, являются удобной моделью для изучения роли других структур белковой природы, участвующих в организации матрикса биопленок. В данном аспекте интересны мутанты Sp245 по предполагаемым генам 3-гидроксиизобутиратдегидрогеназы (*mmsB1*) и 3-оксоацил[ацил-переносающий белок]-редуктазы (*fabG1*). Эти мутанты имеют дефекты в образовании латеральных жгутиков (*Laf*) и/или *Fla* и соответственно в роении и активном плавании [12]. Инактивация предполагаемых генов липидного обмена *fabG1* или *mmsB1* также повлияла на некоторые характеристики клеточной поверхности азоспирилл, включающие изменения в относительном содержании ряда жирных кислот в препаратах ЛПС, относительной гидрофобности и динамике агрегации планктонных клеток [11].

Целью данной работы явилось исследование роли в стабилизации биомассы биопленок азоспирилл отличных от жгутиков белковых структур, чувствительных к протеиназной обработке.

#### Материалы и методы исследований

**Бактериальные штаммы.** В работе использовали штамм *A. brasilense* Sp245, выделенный из корней пшеницы [13], и его инсерционные Km<sup>R</sup> Fla<sup>-</sup> Laf<sup>-</sup> Sp245.1610 (*fabG1::Omegon-Km*) и Fla<sup>-</sup> SK039 (*mmsB1::Omegon-Km*) мутанты [12].

**Среды для культивирования бактерий.** Культивирование бактерий проводили на минимальной малатно-солевой среде (MSM) [14] или богатой среде LB [15] при 28°C. Канамицин (Km) до 50 мкг/мл вносили в среды при необходимости.

**Оценка биомассы биопленок.** Жидкие 18-часовые бактериальные культуры разводили средой LB или MSM до оптической плотности суспензий при длине волны 590 нм ( $A_{590}$ ), равной 0.05–0.10, и вносили в стеклянные пробирки (по 2 мл), ячейки полистирольных планшетов (по 200 мкл) с 96 плоскородными лунками или в чашки Петри из полистирола, на дне которых находились стерильные покровные стекла размером 24 × 24 мм, и инкубировали при 28°C в стационарных условиях. Перед окрашиванием биопленок отбирали планктонные бактерии. Биопленки окрашивали 1%-ным водным раствором красителя кристаллического фиолетового при комнатной температуре 10 мин и осторожно промывали водой. Связавшийся с биомассой биопленок краситель растворяли в этаноле и измеряли  $A_{590}$  [10]. Пленки, сформированные на покровных стеклах, использовали для микроскопии.

**Обработка биопленок протеазами.** Проназу или трипсин растворяли в 100 мМ Tris-HCl буфере (pH 7.5) до концентрации 1000 мкг/мл. Проназу инкубировали 2 ч при 37°C. Ферменты разводили в 50 мМ фосфатном буфере (ФБ; pH 7.0) в соотношении 1:9, добавляли к биопленкам, предварительно удалив планктонную культуру (по 2 мл в стеклянные пробирки и по 200 мкл в лунки полистирольных планшетов) и инкубировали 2 ч при 37°C. В контрольных вариантах использовали ФБ (pH 7.0) без ферментов.

После инкубации биопленки однократно отмывали дистиллированной водой и окрашивали 1%-ным раствором кристаллического фиолетового при комнатной температуре, затем дважды промывали дистиллированной водой. Краситель, связавшийся с биомассой биопленок, растворяли в этаноле и измеряли оптическую плотность раствора ( $A_{590}$ ). Результаты выражали в процентах относительно соответствующих контрольных проб.

**Определение гемагглютинирующей активности суспензий из биопленок, смытых с поверхности стекла.** Из пробирок после 6 суток культивирования удаляли планктонные бактерии и промывали биопленки 50 мМ фосфатно-солевым буфером (ФСБ; pH 7.0), затем их смывали аспирацией и суспендировали в 50 мМ ФСБ (pH 7.0). Суспензии клеток ( $A_{590} = 0.5$ ) вносили по 50 мкл в ячейки иммунохимических планшетов с 96 лунками по 50 мкл. Готовили серию двукратных разведений в ФСБ. К полученным разведениям добавляли по 50 мкл 2%-ной суспензии в ФСБ трипсинизированных или нативных кроличьих эритроцитов; через 18 ч инкубации при 4°C определяли титр гемагглютинации.

**Световая микроскопия биопленок.** Фазово-контрастную микроскопию покровных стекол, перевернутых биопленкой вниз и помещенных на предметное стекло с лункой, проводили в Центре коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» при ИБФРМ РАН (Саратов) на аппарате Leica LMD 7000 (Leica, Германия).

**Статистическая обработка результатов.** Оценку биомассы биопленок выполняли 30–50 раз в каждом варианте опыта. В остальных случаях проводили не менее трех независимых экспериментов с количественными измерениями, как минимум, в трех повторностях. Результаты статистически обрабатывали с использованием пакета Microsoft Office Excel 2007. Доверительные интервалы определяли для 95% уровня значимости.



## Результаты и их обсуждение

### Исследование динамики формирования биопленок

Как нами показано ранее, процесс формирования биопленок мутантов *A. brasilense* Sp245.1610 и SK039 на поверхности раздела жидкой и твердой фаз включает последовательно адсорбцию и адгезию клеток (2–3 суток), за которыми следует прирост и стабилизация биомассы пленки (с 5–6 суток), как и в случае родительского штамма Sp245 [10]. Прикрепление бактерий к поверхности протекает независимо от их способности синтезировать флагеллы. Лишь в случае мутанта SK039 увеличивается продолжительность их адгезии на стекле до 4 суток. Количество биомассы в биопленках мутантов начинает отличаться от показателей штамма Sp245 к 6-м суткам культивирования (зрелые биопленки) (рис. 1 *а, б*). На стекле под LB биомасса биопленок Sp245.1610 не отличается от показателей Sp245 (см. рис. 1, *а*). Однако на гидрофобной поверхности клетки этого штамма, как и клетки штамма SK039, образуют более тонкие пленки (рис. 1*б*). Под MSM мутанты Sp245.1610 и SK039 также формируют менее выраженные биопленки, чем Sp245 (см. рис. 1, *а, б*). Результаты определения относительного количества биомассы в биопленках азоспирилл с помощью окрашивания и результаты прямых микроскопических измерений толщины биопленок согласуются между собой [10].

Толщина/биомасса пленок азоспирилл изменяется в ответ на изменение физико-химических параметров среды, окружающей биопленку. Так, через 2 часа после замены культуральной жидкости с планктонной культурой, окружающей 6-суточные биопленки, на 50 мМ ФБ (рН 7.0) часть клеток, образующих пленку, переходит в буфер. Это либо свободные особи, либо бактерии в составе агрегатов. Биомасса биопленок всех штаммов в основном снижается на 40–50% (см. рис. 1, *в, г*). Диссоциация биопленок, сформированных под MSM на полистироле, превышает 50%. На стекле аналогичное снижение биомассы происходит у биопленок мутанта Sp245.1610, сформированных под LB (рис. 1, *в, г*). Стоит отметить, что после 6 суток культивирования рН сред LB или MSM, окружающих биопленку, возрастает до величины  $(8.3 \pm 0.1)$  или  $(9.3 \pm 0.1)$  соответственно. При использовании вместо ФБ (рН 7.0) культуральной жидкости после удаления 6-суточных планктонных клеток не происходит диссоциации биопленок. Так, после такой инкубации с LB (рН 8.3) спустя 2.5 ч в биопленках штаммов Sp245, Sp245.1610, и SK039 сохраня-

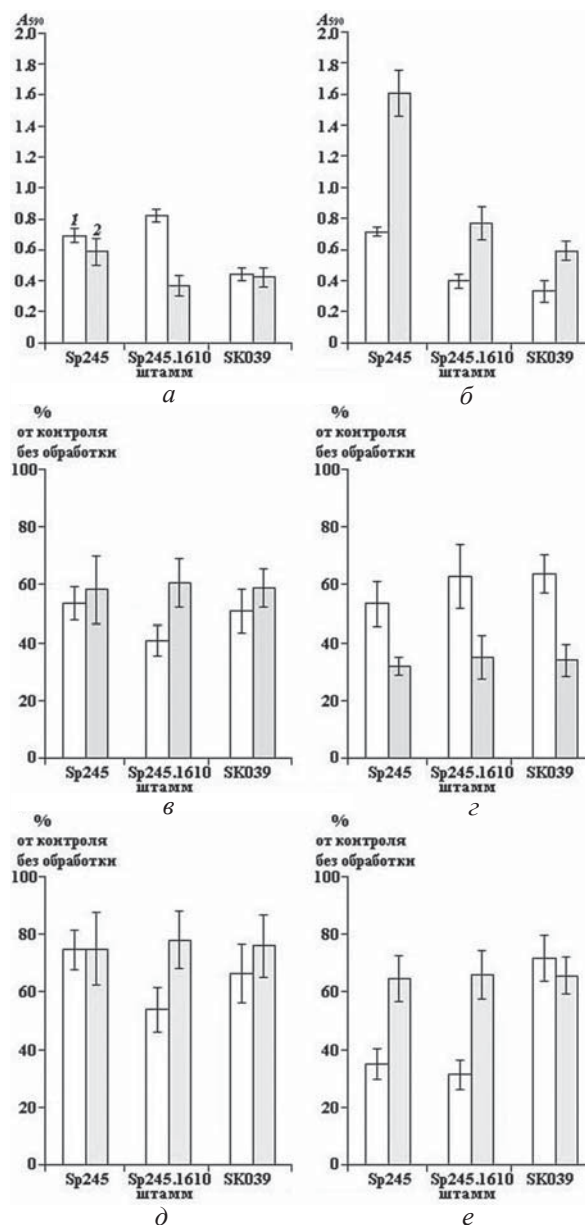


Рис. 1. Влияние фосфатного буфера (ФБ; рН 7.0) (*в, г*) и проназы (*д, е*) на биомассу 6-суточных биопленок (*а, б*) *A. brasilense*, сформированных на стекле (*а, в, д*) и полистироле (*б, г, е*) под жидкой питательной средой LB (1) или MSM (2).  $A_{590}$  – оптическая плотность кристаллического фиолетового, десорбированного после окрашивания биопленок (*а, б*); % – процентное отношение оптической плотности красителя, десорбированного с окрашенных пленок после их инкубации в ФБ (рН 7.0) (*в, г*) или растворе проназы (100 мкг/мл) (*д, е*) к аналогичному показателю без обработки

ется соответственно  $(93.3 \pm 6.6)$ ,  $(95.8 \pm 14.8)$  и  $(88.0 \pm 12.2)$ % биомассы.

Вполне вероятно, что прикрепление некоторого количества бактерий (клетка/клетка/поверхность) в биопленках обуславливают взаи-



модействия, чувствительные к изменению таких условий, как pH и/или, вероятно, ионная сила (состав сред LB/MSM [14, 15] свидетельствует об отличии данного показателя от такового у 50 мМ ФБ (pH 7.0)). Завершающей стадией формирования и развития биопленок является их диссоциация [5–7]. Распад биопленок возможен и в ответ на изменения окружающей среды [5–7]. Таким образом, наличие определенной доли особей, непрочно зафиксированных в биопленках, позволяет азоспириллам быстро покидать пленку в момент ее диссоциации. Необходимо отметить, что способность к диссоциации в одинаковой степени выражена как у подвижных клеток родительского штамма, так и у неподвижных мутантов (см. рис. 1 в, з).

*Исследование значения для стабилизации биомассы биопленок структур, чувствительных к протеиназной обработке*

После инкубации с проназой биомасса биопленок Sp245 или SK039, сформированных под LB на стекле, убывала на 20–30% и на 46% в случае штамма Sp245.1610 (см. рис. 1, д). В случае биопленок Sp245, Sp245.1610 и SK039 на полистироле уменьшение составило 65, 69 и 28%, соответственно штамму (см. рис. 1, е).

Устойчивость образованных под MSM биопленок всех исследованных штаммов к действию протеазы одинакова как на стекле, так и на полистироле (см. рис. 1, д, е). После обработки проназой (100 мкг/мл) биомасса биопленок снижалась на стекле примерно на 21–31%, а на

полистироле – на 25–35%. Исключение из MSM источника связанного азота не влияет на чувствительность биопленок на стекле к действию проназы; однако на полистироле биомасса биопленок Sp245 и Sp245.1610 снижалась в большей степени – до показателей  $(27.4 \pm 5.5)\%$  и  $(45.3 \pm 8.8)\%$  от контрольных значений.

После инкубации с протеазой нарушается единство клеток, образующих биопленку как на стекле (рис. 2, а1, в1), так и на полистироле. Часть бактерий из биопленок становятся либо свободными, либо находятся в составе агрегатов. Формированию контактов между клетками наряду с другими структурами способствуют продуцируемые азоспириллами гемагглютинины [16, 17]. Суспензии клеток Sp245, Sp245.1610 и SK039 из биопленок под LB/MSM, смытых с поверхности стекла, вызывают агглютинацию трипсинизированных эритроцитов с титром реакции (1:16)/(1:16), (1:4)/(1:4) и (1:1)/(1:4) соответственно. Различия в титре гемагглютинации могут быть обусловлены разной степенью связывания гемагглютининов с поверхностью бактериальной клетки и особенностями комплексов, образуемых гемагглютинами с другими молекулами, напрямую не участвующими в реакции, но влияющими на активность агглютининов. У штамма Sp245 выделенный с бактериальной поверхности агглютинин обладает сродством к О-полисахариду ЛПС этого штамма [17]. Биопленки мутантов Sp245.1610 и SK039 отличаются более высоким содержанием

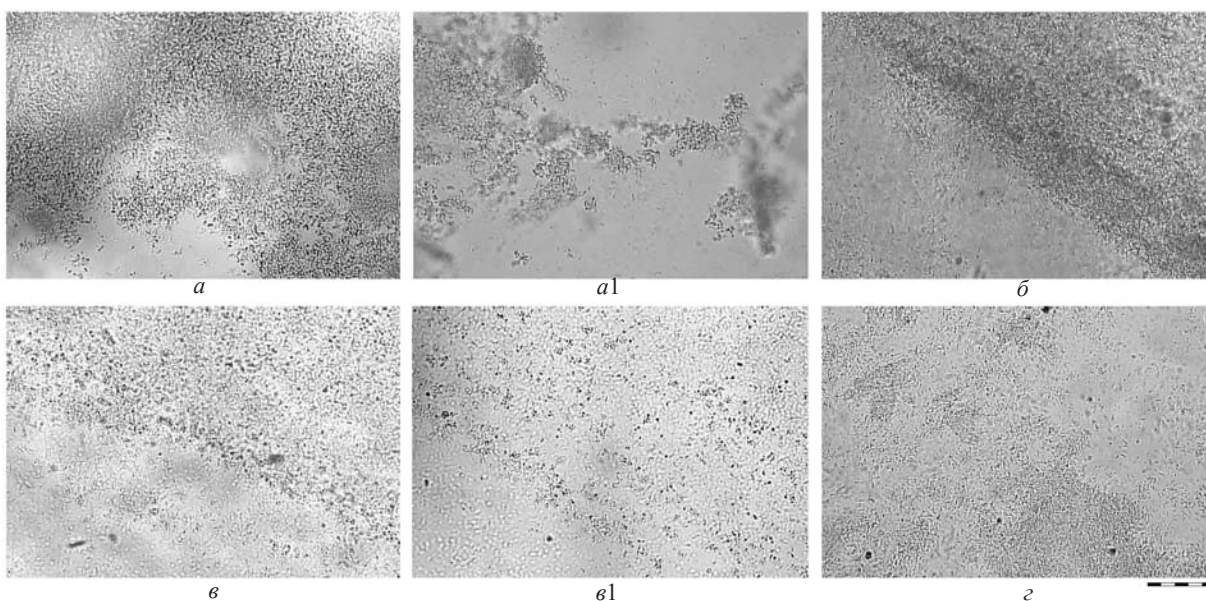


Рис. 2. Световая микроскопия 6-суточных биопленок *A. brasilense* Sp245 (а, б), Sp245.1610 (в) и SK039 (з), выращенных на стекле под жидкой MSM (а, в) или LB (б, д), до (а–д) и после (а1, в1) инкубации с проназой (100 мкг/мл). Масштабная линейка соответствует 50 мкм



ЛПС [11], что, вероятно, сказывается на титре гемагглютинирующей активности их клеток. Обработанные трипсином клетки штамма Sp245 утрачивают способность агглютинировать трипсинизированные эритроциты [17]. Биопленки Sp245, Sp245.1610 и SK039, сформированные на стекле под LB, после обработки трипсином в концентрации 100 мкг/мл, как и в случае проназы, сохраняли лишь  $(78.6 \pm 7.4)\%$ ,  $(71.0 \pm 13.3)\%$  и  $(76.0 \pm 8.3)\%$  биомассы. По-видимому, снижение биомассы пленок является следствием разрушения протеазами, среди прочих, и поверхностных биополимеров, обуславливающих гемагглютинацию и участвующих в образовании межклеточных контактов.

Таким образом, использование в работе мутантов *A. brasilense*, лишенных жгутиков, позволило оценить роль биополимеров белковой природы, соединяющих и удерживающих бактерии в биопленке и обеспечивающих ее стабильность и прикрепление к поверхности. К таким биополимерам могут относиться структуры, обуславливающие гемагглютинирующую активность клеток, которая у мутантов в отличие от родительского штамма Sp245 выражена в меньшей степени. В биопленках прикрепление азоспирилл (клетка/клетка/поверхность) независимо от их подвижности и способности синтезировать жгутики также обуславливают взаимодействия, чувствительные к изменению физико-химических параметров среды, окружающей пленки. Это наиболее заметно в случае биопленок, сформированных на гидрофобной поверхности под минимальной малатно-солевой средой.

Необходимо отметить, что иммунофлуоресцентная микроскопия с антителами на белковые антигены клеточной поверхности показывает наличие экспонированных белковых детерминант «планктонных клеток» у азоспирилл, сформировавших биопленки на корнях проростков пшеницы [4]. Сходные антигены присутствуют в биопленках этих бактерий, сформированных на модельной поверхности полистирола [8]. Иммуноферментный анализ и параллельный подсчет колониеобразующих единиц позволили выявить возрастание относительного содержания белковых антигенов при адаптации азоспирилл к существованию на корнях растений [4]. Таким образом, белковые структуры, стабилизирующие биопленки на абиотических поверхностях, могут выполнять сходную функцию и в случае биопленок азоспирилл, сформированных ими в корневой системе растения.

## Список литературы

1. *Fibach-Paldi S., Burdman S., Okon Y.* Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promoting abilities of *Azospirillum brasilense* // FEMS Microbiol. Lett. 2012. Vol. 326, № 2. P. 99–108.
2. *Pedrosa F. O.* Physiology, biochemistry and genetics of *Azospirillum* and other root-associated nitrogen-fixing bacteria // Crit. Rev. Plant Sci. 1988. Vol. 6, № 4. P. 345–384.
3. *Петрова Л. П., Шелудько А. В., Кацы Е. И.* Плазмидные перестройки и изменения в формировании биопленок *Azospirillum brasilense* // Микробиология. 2010. Т. 79, № 1. С. 129–132.
4. *Шелудько А. В., Широков А. А., Соколова М. К., Соколов О. И., Петрова Л. П., Матора Л. Ю., Кацы Е. И.* Колонизация корней пшеницы бактериями *Azospirillum brasilense* с различной подвижностью // Микробиология. 2010. Т. 79, № 5. С. 696–704.
5. *Ramey B. E., Koutsoudis M., Bodman S. B. von, Fuqua C.* Biofilm formation in plant–microbe associations // Curr. Opin. Microbiol. 2004. Vol. 7, № 6. P. 602–609.
6. *López D., Vlamakis H., Kolter R.* Biofilms // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. Vol. 2, № 7. P. a000398.
7. *Flemming H.-C., Wingender J.* The biofilm matrix // Nature Rev. Microbiology. Vol. 8. P. 623–633.
8. *Шелудько А. В., Кулибякина О. В., Широков А. А., Петрова Л. П., Матора Л. Ю., Кацы Е. И.* Влияние мутаций в синтезе липополисахаридов и полисахаридов, связывающих калькофлуор, на формирование биопленок *Azospirillum brasilense* // Микробиология. 2008. Т. 77, № 3. С. 358–363.
9. *Wisniewski-Dyé F., Borziak K., Khalsa-Moyers G., Alexandre G., Sukharnikov L. O., Wuichet K., Hurst G. B., McDonald W. H., Robertson J. S., Barbe V., Calteau A., Rouy Z., Mangenot S., Prigent-Combaret C., Normand P., Boyer M., Siguier P., Dessaux Y., Elmerich C., Condemine G., Krishnen G., Kennedy I., Paterson A. H., Gonzalez V., Mavingui P., Zhulin I. B.* *Azospirillum* genomes reveal transition of bacteria from aquatic to terrestrial environments // PLoS Genetics. 2011. Vol. 7, № 12. P. e1002430.
10. *Шелудько А. В., Филипьева Ю. А., Шумилова Е. М., Хлебцов Б. Н., Буров А. М., Л. П. Петрова Л. П., Кацы Е. И.* Изменения в формировании биопленок у *flhB1* мутанта бактерии *Azospirillum brasilense* Sp245, лишенного жгутиков // Микробиология. 2015. Т. 84, № 2. С. 175–183.
11. *Шумилова Е. М., Шелудько А. В., Филипьева Ю. А., Евстигнеева С. С., Пономарева Е. Г., Петрова Л. П., Кацы Е. И.* Изменение свойств клеточной поверхности и эффективности формирования биопленок у мутантов бактерии *Azospirillum brasilense* Sp245 по предполагаемым генам липидного метаболизма *mmsB1* и *fabG1* // Микробиология. 2016. Т. 85, № 2. С. 162–170.
12. *Ковтунов Е. А., Шелудько А. В., Чернышова М. П., Петрова Л. П., Кацы Е. И.* Мутанты бактерии *Azospirillum brasilense* Sp245 со вставкой омегона в генах липидного метаболизма *mmsB* или *fabG* дефектны по подвижности и жгутикованию // Генетика. 2013. Т. 49, № 11. С. 1270–1275.



13. Baldani V. L. D., Baldani J. I., Döbereiner J. Effects of *Azospirillum* inoculation on root infection and nitrogen incorporation in wheat // Can. J. Microbiol. 1983. Vol. 29, № 8. P. 924–929.
14. Döbereiner J., Day J. M. Associative symbiosis in tropical grass: Characterization of microorganisms and dinitrogen fixing sites // Symposium on Nitrogen Fixation / eds. W. E. Newton, C. J. Nijmans. Pullman : Washington State University Press, 1976. P. 518–538.
15. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. Molecular Cloning : a Laboratory Manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
16. Никитина В. Е., Пономарева Е. Г., Аленькина С. А., Коннова С. А. Участие бактериальных лектинов клеточной поверхности в агрегации азоспирилл // Микробиология. 2001. Т. 70, № 4. С. 471–476.
17. Шелудько А. В., Пономарева Е. Г., Варшаломидзе О. Э., Ветчинкина Е. П., Кацы Е. И., Никитина В. Е. Гемагглютинирующая активность и подвижность бактерий *Azospirillum brasilense* в присутствии разных источников азота // Микробиология. 2009. Т. 78, № 6. С. 749–756.

**Analysis of Protease Effect on Biofilm Structure of *Azospirillum Brasilense* Strain Sp245 and Its Flagellation-Defective *mmsB1* and *fabG1* Mutants**

**E. M. Telesheva, D. N. Sinyakin, A. V. Shelud'ko, Yu. A. Filip'echeva, E. G. Ponomareva, L. P. Petrova, E. I. Katsy**

Elizaveta M. Telesheva, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, sentebrinka@mail.ru

Dmitry N. Sinyakin, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, diman.sinyakin@yandex.ru

Andrey V. Shelud'ko, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, shel71@yandex.ru

Yuliya A. Filip'echeva, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, ljuche@yandex.ru

Elena G. Ponomareva, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, ponomareva\_e@ibppm.ru

Liliya P. Petrova, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, petrova\_lp@mail.ru

Elena I. Katsy, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, ei\_katsy@mail.ru

*Azospirillum* bacteria are engaged in associative interactions with a wide range of plants. In this type of interaction, there formed no specialized structures like nodules, which are characteristic of the legume-*Rhizobium* symbiosis. The formation of biofilms by *Azospirillum* on the plant root surface can be important for the successful functioning of plant-microbe associations. Scarce data exist on the role of cell surface protein structures in the formation and stabilization of *Azospirillum* biofilms. It is known that as compared to *A. brasilense* Sp245, its flagellation-defective *mmsB1* and *fabG1* mutants form biofilms on a hydrophobic surface (polystyrene) worse and only mutant *mmsB* forms thinner biofilms on a hydrophilic surface (glass). The aim of this work was to examine the role of protease-sensitive nonflagellar protein structures in the stabilization of biomass of *Azospirillum* biofilms. The presence of contacts between cells and the thickness/biomass of biofilms before and after protease treatment were determined by direct microscopic examination and by crystal violet staining of biofilms. The quantitative measure of biofilm biomass thickness was the  $A_{590}$  of a solution of desorbed dye. The hemagglutinating activity of suspension of biofilms washed off the glass surface was determined by using trypsinized rabbit erythrocytes. In this study, it was shown that the protein components of the *Azospirillum* cell surface which are different from flagella and are sensitive to pronase and trypsin are necessary for strong connection of bacteria in biofilms on glass and polystyrene. These proteins contribute to the attachment of biofilms to polystyrene under a rich liquid medium and probably are hemagglutinins of *Azospirillum*. Our previous data show that the protein structures that stabilize biofilms on abiotic surfaces can function similarly with biofilms formed by azospirilla on the roots of plants.

**Key words:** *Azospirillum brasilense*, biofilms, matrix proteins.

**Образец для цитирования:**

Телешева Е. М., Синякин Д. Н., Шелудько А. В., Филиппьева Ю. А., Пономарева Е. Г., Петрова Л. П., Кацы Е. И. Анализ влияния протеаз на структуру биопленок штамма *Azospirillum brasilense* Sp245 и его дефектных по жгутикованию *mmsB1* и *fabG1* мутантов // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 322–327. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-322-327.

**Cite this article as:**

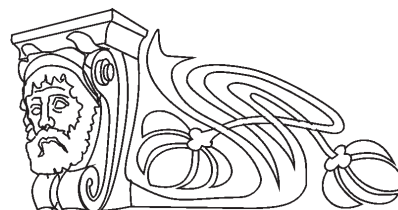
Telesheva E. M., Sinyakin D. N., Shelud'ko A. V., Filip'echeva Yu. A., Ponomareva E. G., Petrova L. P., Katsy E. I. Analysis of Protease Effect on Biofilm Structure of *Azospirillum Brasilense* Strain Sp245 and Its Flagellation-Defective *mmsB1* and *fabG1* Mutants. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 322–327 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-322-327.



УДК 579.262

## БИОДЕГРАДАЦИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ БАКТЕРИЯМИ РОДА *AZOSPIRILLUM*

С. А. Воробьева, М. А. Купряшина, Е. Г. Пономарёва,  
А. М. Петерсон, В. Е. Никитина



Воробьева Светлана Александровна, студентка кафедры микробиологии и физиологии растений, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: Vorobeva-Svetlana2018@yandex.ru

Купряшина Мария Александровна, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: kupryashina\_m@mail.ru

Пономарева Елена Геннадьевна, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: ponomareva\_e@ibppm.ru

Петерсон Александра Михайловна, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: peterson@yandex.ru

Никитина Валентина Евгеньевна, заведующий лабораторией микробиологии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), профессор, доктор биологических наук. E-mail: nikitina\_v@ibppm.ru

Синтетические красители являются крупнейшим классом химических веществ, нашедших свое коммерческое применение в различных отраслях промышленности. Наиболее широко используются азокрасители и красители антрахинонового ряда. Однако большинство из них являются не только токсичными, канцерогенными и мутагенными, но и устойчивыми к биологическому разрушению. Целью работы являлось проведение скрининга штаммов азоспирилл по способности к биодеградации азокрасителей и красителей антрахинонового ряда.

**Ключевые слова:** *Azospirillum*, деградация, метиловый оранжевый, ремазол ярко-голубой (реактивный 19), азокрасители, красители антрахинонового ряда.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-328-329

Объектами исследования были выбраны штаммы *A. brasilense* Sp245, Sp107, Sp7, SR 80, *A. lipoferum* Sp59b и *A. tiophilum* Bv-S из коллекции микроорганизмов ИБФРМ РАН, для которых характерен высокий уровень продукции лакказ, лигнин и Mn-пероксидаз. В качестве модельного азокрасителя был выбран метило-

вый оранжевый, антрахинонового красителя – ремазол ярко-голубой (реактивный 19).

Установлено, что все взятые в эксперимент штаммы бактерий способны к деградации азокрасителей и красителей антрахинонового ряда на примере модельных соединений в концентрации от 0,01 до 0,1 мМ. Наименьшую способность к обесцвечиванию красителей показали *A. tiophilum* Bv-S и *A. lipoferum* Sp59b. Внесение ремазола в среду культивирования в конечной концентрации 1 мМ оказывало ингибирующее действие на рост всех исследуемых штаммов, при этом степень деградации составляла 0%. Для метилового оранжевого также отмечалось снижение эффективности обесцвечивания красителя в данной концентрации, что, вероятнее всего, обусловлено токсическим действием на азоспирилл. Выявлена положительная корреляция между временем культивирования бактерий и степенью деградации метилового оранжевого и ремазола. *A. brasilense* Sp107 и SR 80 обесцвечивали среду с метиловым оранжевым более чем на 45% уже на 2-е сутки выращивания, однако *A. tiophilum* Bv-S и *A. lipoferum* Sp59b даже с увеличением времени культивирования до 8 дней не могли преодолеть порога деградации красителя в 22%. Аналогичная картина отмечалась нами для ремазола и штаммов *A. brasilense* Sp7 и SR 80, уже через 48 часов эффективность декolorизации превышала 65%. Максимальное разрушение красителей отмечается при культивировании азоспирилл при 35–40°C, с увеличением температуры этот показатель уменьшался.

Таким образом, в ходе проведенного исследования нами обнаружена способность азоспирилл к обесцвечиванию метилового оранжевого и ремазола, установлена степень деградации красителей, а также исследовано влияние концентрации вносимого вещества, времени и температуры культивирования на эффективность разрушения. Высокий процент разрушения данных красителей был выявлен у *A. brasilense* Sp7, SR80 и Sp107.



**Biodegradation of Synthetic Dyes Bacteria of the Genus *Azospirillum***

**S. A. Vorobeva, M. A. Kupryashina, E. G. Ponomareva, A. M. Peterson, V. E. Nikitina**

Svetlana A. Vorobeva, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, Vorobeva-Svetlana2018@yandex.ru

Mariya A. Kupryashina, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, kupryashina\_m@mail.ru

Elena G. Ponomareva, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, ponomareva\_e@ibppm.ru

Aleksandra M. Peterson, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, peterson@yandex.ru

Valentina E. Nikitina, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, nikitina\_v@ibppm.ru

Synthetic dyes are the largest class of chemicals that have found their commercial use in various industries. The most used are azo and anthraquinone dyes. However, most of them are not only toxic, carcinogenic, and mutagenic, but also resistant to biological destruction. The aim of the work was the screening of *azospirillum* strains according to their ability to biodegrade azo dyes and anthraquinone dyes.

**Key words:** *Azospirillum*, degradation, methyl orange, Remazol Brilliant Blue (reactive 19), azo dyes, anthraquinone dyes.

**Образец для цитирования:**

Воробьева С. А., Купряшина М. А., Пономарёва Е. Г., Петерсон А. М., Никитина В. Е. Биодegradация синтетических красителей бактериями рода *Azospirillum* // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 328–329. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-328-329.

**Cite this article as:**

Vorobeva S. A., Kupryashina M. A., Ponomareva E. G., Peterson A. M., Nikitina V. E. Biodegradation of Synthetic Dyes Bacteria of the Genus *Azospirillum*. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 328–329 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-328-329.



УДК 633.14: 581.4

## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЛАВНОЙ ПОЧКИ ЗАРОДЫША ЗЕРНОВКИ ОЗИМОЙ РЖИ

А. М. Каргатова, С. А. Степанов

Каргатова Алиса Михайловна, аспирант кафедры микробиологии и физиологии растений, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: hanin-hariton@yandex.ru

Степанов Сергей Александрович, заведующий кафедрой микробиологии и физиологии растений, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, профессор, доктор биологических наук. E-mail: hanin-hariton@yandex.ru

В работе представлены результаты исследования морфологии конуса нарастания и примордиев листьев главной почки зародыша зерновки озимой ржи некоторых сортов из разных селекционных центров России. Длина конуса нарастания достигает у исследуемых сортов ржи от 51 до 89 мкм. У некоторых сортов ржи в конусе нарастания эмбрионального побега зародыша зерновок отмечалось заложение 4-го фитомера в виде зачатка листа. В зависимости от сорта конус нарастания эмбрионального побега находился в разных фазах пластохрона: ранней, средней или поздней. Длина примордия 1-го листа эмбрионального побега зародыша зерновки у разных сортов ржи составляет от 1066 (Памяти Бамбышева) до 1327 (Кировская 89) мкм. Наибольшая длина примордия 1-го листа эмбрионального побега зародыша зерновки свойственна инорайонным сортам озимой ржи. По сравнению с яровой мягкой пшеницей, в зерновках ржи длина примордия 1-го листа эмбрионального побега зародыша существенно больше. Длина примордия 2-го листа эмбрионального побега зародыша зерновки у разных сортов ржи варьирует от 230 (Памяти Бамбышева) до 334 (Памяти Кунакбаева) мкм. Наибольшая длина примордия 2-го листа эмбрионального побега зародыша зерновки свойственна сорту Волжанка (саратовской селекции) и 4 из 7 исследуемых инорайонных сортов озимой ржи. Длина примордия 3-го листа эмбрионального побега зародыша зерновки у разных сортов ржи составляет от 104 (Солнышко) до 166 (Таловская 41) мкм. Наибольшая длина примордия 3-го листа эмбрионального побега зародыша зерновки отмечена у ряда сортов озимой ржи: Саратовская 7 (саратовской селекции) и Таловская 41, Кировская 89 (инорайонной селекции). По сравнению с яровой мягкой пшеницей в зерновках ржи длина примордиев 2-го и 3-го листьев эмбрионального побега зародыша может быть несколько меньше. Общая длина примордиев 1-го, 2-го и 3-го листьев эмбрионального побега зародыша зерновки у разных сортов ржи достигает от 1430 (Памяти Бамбышева) до 1818 (Кировская 89) мкм. Наибольшая длина примордиев 1-го – 3-го листьев эмбрионального побега зародыша зерновки свойственна большинству инорайонных сортов. Относительная длина примордиев листьев эмбрионального побега зародыша зерновок у озимой ржи составляет: 1-го – 73–76%; 2-го – 17%; 3-го – 7–10%.

**Ключевые слова:** рожь, зерновка, зародыш, листовой примордий.

### Образец для цитирования:

Каргатова А. М., Степанов С. А. Морфологическая характеристика главной почки зародыша зерновки озимой ржи // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 330. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-330.

### Cite this article as:

Cargatova A. M., Stepanov S. A. Morphological Characteristics of the Main Bud of the Embryo the Grains of Winter Rye. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, p. 330 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-330.



## Morphological Characteristics of the Main Bud of the Embryo the Grains of Winter Rye

A. M. Cargatova, S. A. Stepanov

Alisa M. Cargatova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, hanin-hariton@yandex.ru

Sergey A. Stepanov, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, hanin-hariton@yandex.ru

The paper presents the results of a study of the morphology of the cone of growth and primordium of leaves of the main bud of the embryo grain of winter rye of some varieties from different breeding centers in Russia. The length of the cone of growth reached in the investigated varieties of rye from 51 to 89  $\mu\text{m}$ . Some varieties of rye in the cone of growth of the embryonic shoot of the embryo grains indicated the embedding of the 4th phytomere in the form of a leaf rudiment. Depending on the variety, the cone of growth of embryonic shoot was in different phases of plastochron: early, middle, or late. The length of 1st leaf primordium of embryonic shoot of embryo seed in different rye varieties ranges from 1066 (Memory of Bambyshv) to 1327 (Kirovskaya 89)  $\mu\text{m}$ . The greatest length of 1st leaf primordium of the embryonic shoot of the embryo grain is characteristic of regional varieties of winter rye. Compared with spring soft wheat, in the grain of rye the length of primordium of the 1st leaf of the embryonic shoot of the embryo is much larger. The length of the primordium of the 2nd leaf of the embryonic shoot of embryo grain in different varieties of rye varies from 230 (Memory of Bambyshv) to 334 (Memory of Kunakbaev)  $\mu\text{m}$ . The greatest length of primordium of 2nd leaf of the embryonic shoot of embryo grain is characteristic of the Volzhanka variety (Saratov selection) and 4th of the 7th investigated regional varieties of winter rye. The length of the primordium of the 3rd leaf of the embryonic shoot of the embryo grain in different varieties of rye ranges from 104 (Solnyshko) to 166 (Talovskaya 41)  $\mu\text{m}$ . The greatest length of 3rd leaf primordium of embryonic shoot of the seed embryo of grain was noted in a number of varieties of winter rye: Saratovskaya 7 (Saratov breeding) and Talovskaya 41, Kirovskaya 89 (regional selection). Compared with spring soft wheat in rye grains, the length of the 2nd and 3rd primordium of leaves of embryonic shoot of the embryo may be somewhat smaller. The total length 1st, 2nd, and 3rd primordium of leaves the embryonic shoot of the seedling grain in different rye varieties ranges from 1430 (Memory of Bambyshv) to 1818 (Kirovskaya 89)  $\mu\text{m}$ . The largest length of primordium of the 1st – 3rd leaves of the embryo shoot of the embryo grain is characteristic of most regional varieties. The relative length of the primordium of leaves of the embryonic shoot of seed embryo in winter rye is: 1st – 73–76%; 2nd – 17%; 3rd – 7–10%.

**Key words:** rye, grain, embryo, leaf primordium.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-330

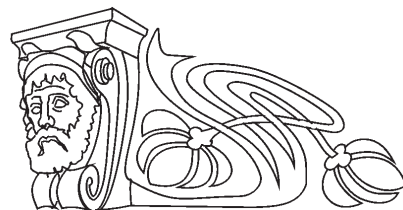




УДК 579.222.2

## УЧАСТИЕ ЛАККАЗЫ ГРИБА *STROPHARIA RUGOSOANNULATA* DSM 11372 В ДЕГРАДАЦИИ ПАУ

С. А. Баландина, Н. Н. Позднякова, О. В. Турковская



Баландина Светлана Андреевна, магистрант кафедры биохимии и биофизики биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского; лаборант лаборатории экологической биотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов). E-mail: sveta.balandin@mail.ru

Позднякова Наталия Николаевна, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической биотехнологии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), доктор биологических наук. E-mail: pozdnyakova\_n@ibppm.ru

Турковская Ольга Викторовна, заведующая лабораторией экологической биотехнологии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), профессор, доктор биологических наук. E-mail: turkovskaya\_o@ibppm.ru

Почвообитающие лигнинолитические базидиомицеты, такие как *Stropharia rugosoannulata*, играют важную роль в трансформации и деградации органического вещества почвы, в том числе поллютантов. Информации о механизмах деградации ксенобиотиков подобными грибами и роли их лигнинолитической ферментной системы все еще недостаточно. Нами выявлена способность *S. rugosoannulata* деградировать четырехкольцевые полициклические ароматические углеводороды (пирен, флуорантен). Флуорен и 2-карбоксібензальдегид идентифицированы как продукты деградации этих веществ. Очищена и охарактеризована лакказа *S. rugosoannulata*. По основным каталитическим свойствам этот фермент подобен большинству известных грибных лакказ. Лакказа *S. rugosoannulata* окисляла 2,7-диаминофлуорен, как модель ПАУ, что позволяет предположить ее участие в начальной атаке молекул ПАУ.  
**Ключевые слова:** лигнинолитические грибы, деградация, лакказа, полициклические ароматические углеводороды.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-331-332

### Введение

Грибы, разрушающие в природе лигниновый компонент древесины, способны метаболизировать и минерализовать широкий спектр устойчивых ароматических соединений, включая полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). Это уникальное свойство связано с продукцией грибами внеклеточной, неспецифической, окислительной ферментной системы, включающей лакказу и Mn-пероксидазу. Почвообитающие базидиомицеты, такие как *Stropharia rugosoannulata*, играют важную роль в трансформации органического вещества почвы, в том числе в разрушении поллютантов. Сведений о механизмах деградации этими грибами ксенобиотиков и участии их лиг-

нинолитических ферментов все еще недостаточно.

**Целью** представленной работы было изучение каталитических свойств и участия лакказы в деградации ПАУ грибом *Stropharia rugosoannulata* DSM 11372. Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**: изучение деградативной активности гриба по отношению к ПАУ; подбор условий его культивирования для получения максимальной продукции лакказы; разработка схемы очистки и получение лакказы; характеристика лакказы и выявление ее активности по отношению к ПАУ.

### Материалы и методы

Изучение деградативной активности гриба проводили в условиях погруженного культивирования по описанной нами ранее методике (Позднякова и др., 2016). Оценку убыли ПАУ и выявление метаболитов при их деградации проводили методом ГЖХ в Центре коллективного пользования «Симбиоз» ИБФРМ РАН. Для получения лакказы гриб культивировали на среде Bioclean с 2 мМ феруловой кислотой и 50 мМ CuSO<sub>4</sub> в качестве индукторов. Схема очистки фермента включала фракционирование сульфатом аммония, гель-фильтрацию на Sephacryl S200, ионообменную хроматографию на DEAE-Toyopearl. Чистоту фермента контролировали электрофорезом в денатурирующих условиях. Активность ферментов и каталитические свойства лакказы определяли спектрофотометрическими методами (Leonowicz and Crzywnowicz, 1981; Niku-Paavola et al., 1988; Martinez et al., 1996; Criquet et al., 2000).

### Результаты и их обсуждение

Убыль пирена и флуорантена из среды культивирования гриба *S. rugosoannulata* составила 86 и 87% соответственно. В качестве мажорного метаболита был выявлен 2-карбоксібензальдегид, что указывает на расщепление ароматических колец в молекулах ПАУ. Также был выявлен метаболит деградации флуорантена, сохраняющий трехкольцевую структуру флуорена. Деградация обоих исследованных ПАУ сопровождалась продукцией лакказы и Mn-пероксидазы, которая начиналась почти одновременно, достигая 16 и 2,4 Ед./мл на 10–12-е сутки.



Известно, что лигнинолитические ферменты могут катализировать ключевые этапы деградации ароматических веществ. Активность Мп-пероксидазы была невысокой, поэтому нами выделена и частично охарактеризована по основным молекулярным и каталитическим свойствам только внеклеточная лакказа гриба *S. rugosoannulata*. Для получения грубого ферментного препарата гриб культивировали до достижения максимума продукции лакказы. Разработанная нами схема позволила получить лакказу высокой степени очистки, которую далее использовали в экспериментах. Это мономерный белок с молекулярной массой 72 кДа. Лакказа была термостабильной и сохраняла до 24% при 60°C в течение суток. Это может быть результатом гликозилирования белка. Определены оптимумы pH и каталитические константы окисления основных субстратов. Наибольшим сродством фермент обладал к синингалдазину, который считают тестовым для подобных ферментов. Максимальная скорость реакции лакказы была обнаружена с АБТС, для этого же субстрата показано наибольшее число оборотов. Исследована активность лакказы по отношению к модельному соединению ПАУ – 2,7-диаминофлуорену. Показано высокое сродство фермента к этому субстрату, о чем свидетельствует низкая величина  $K_M$ , находящаяся в одном ряду с таковой тестового субстрата лакказы.

### Заключение

Таким образом, исследована деградативная активность почвообитающего базидиомицета *S. rugosoannulata* по отношению к четырехциклическим ПАУ. Впервые выявлены, как продукты деградации флуорантена и пирена, 2-карбоксібензальдегид и метаболит с трехкольцевой структурой флуорена. Выделенная и охарактеризованная нами лакказа *S. rugosoannulata* по основным каталитическим свойствам подобна известным грибным лакказам (Shraddha *et al.*, 2011). На примере 2,7-диаминофлуорена показана принципиальная возможность лакказы окислять ПАУ.

### Образец для цитирования:

Баландина С. А., Позднякова Н. Н., Турковская О. В. Участие лакказы гриба *Stropharia rugosoannulata* DSM 11372 в деградации ПАУ // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 331–332. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-331-332.

### Cite this article as:

Balandina S. A., Pozdnyakova N. N., Turkovskaya O. V. The Involvement of Laccase of the Fungus *Stropharia Rugosoannulata* DSM 11372 in PAH Degradation. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser: Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 331–332 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-331-332.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-04-00351).*

*Авторы благодарят д-ра Д. Шлоссера (Центр исследований окружающей среды, Лейпциг, Германия) за предоставление штамма, а также кандидата биологических наук М. П. Чернышова за проведение газожидкостной хроматографии.*

### The Involvement of Laccase of the Fungus *Stropharia Rugosoannulata* DSM 11372 in PAH Degradation

S. A. Balandina, N. N. Pozdnyakova, O. V. Turkovskaya

Svetlana A. Balandina, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, sveta.balandin@mail.ru

Nataliya N. Pozdnyakova, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, pozdnyakova\_n@ibppm.ru

Olga V. Turkovskaya, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, turkovskaya\_o@ibppm.ru

Soil-inhabiting ligninolytic basidiomycetes, such as *Stropharia rugosoannulata*, play an important role in the transformation of soil organic matter, including the degradation of pollutants. Information on the mechanisms of degradation of xenobiotics by these fungi and their ligninolytic enzymes is still limited. The degradative activity of the soil-inhabiting basidiomycete *S. rugosoannulata* towards four-rings PAHs was revealed. Fluorene and 2-carboxybenzaldehyde have been identified as products of degradation of fluoranthene and pyrene. The laccase of *S. rugosoannulata* was isolated and characterized; its main catalytic properties are similar to that of well-known fungal laccases. The laccase catalyzed oxidation of 2,7-diaminofluorene as model of PAHs that propose the participation of this enzyme in the initial attack of molecules of PAHs.

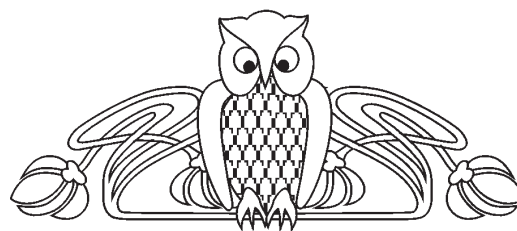
**Key words:** ligninolytic fungi, degradation, laccase, polycyclic aromatic hydrocarbons.

*Acknowledgements: This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project no. 16-04-00351).*



УДК 595.461

## ИЗУЧЕНИЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *MESOBUTHUS* (ARACHNIDA: SCORPIONES) НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО АНАЛИЗА ДНК



Н. М. Поверенный, В. В. Аникин

Поверенный Никита Максимович, студент кафедры морфологии и экологии животных, учебная лаборатория молекулярной биологии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: Nikitapov64@yandex.ru

Аникин Василий Викторович, профессор кафедры морфологии и экологии животных биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, доктор биологических наук. E-mail: anikinvasiliiv@mail.ru

Для определения филогенетических связей представителей скорпионов рода *Mesobuthus*, обитающих в Нижнем Поволжье, и их сравнение с другими таксонами (подвидами и видами этого рода) были собраны скорпионы на территории Нижнего Поволжья. Расшифрованы нуклеотидные последовательности собранных экземпляров и проведено сравнение их с последовательностями видов рода *Mesobuthus* из других регионов Палеарктики. Определены филогенетические связи исследуемых объектов. Сбор материала проводился общепринятыми методами в арахнологии. В тёмное время суток использовалась лампа ДРЛ и экран для насекомых для привлечения и сбора скорпионов.

**Ключевые слова:** территории, анализ, подвид, метод, сбор, секвенирование, ДНК, скорпионы.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-333-336

Для молекулярно-генетического анализа был выбран ген цитохром С оксидазы субъединица I. Выделялась ДНК из метасомы скорпиона с помощью набора «Diatom Prep 100» производства ООО «Лаборатория Изоген» (г. Москва, РФ) по соответствующим протоколам. ДНК без посторонних примесей и размер фрагментов в среднем составляет 7000–10000 пар нуклеотидов. Электрофорез проводился с помощью электрофоретической ванны методом гель-электрофореза. ПЦР реакция была поставлена с помощью прибора для ПЦР в реальном времени «АНК-32». В методе ферментативной очистки использовалась щелочная фосфатаза креветки, термостабильная, экзонуклеаза I, а также набор SAP-Exo Kit фирмы Jena Bioscience GmbH. Секвенирование ПЦР-продуктов осуществлялось с помощью генетического анализатора «НАНО-ФОР-05». Множественный анализ проводился с помощью программы MEGA 6. Филогенетическое древо было построено методом статистического конструктора UPGMA, филогенетический тест проводился методом Bootstrap. Множественный

анализ показал, что представители из популяций скорпионов, обитающих на территории г. Богдо (и его окрестностей), являются самостоятельным таксоном и претендуют на статус самостоятельного вида.

В ходе работы необходимо было определить филогенетические связи представителей скорпионов из рода *Mesobuthus*, обитающих в Богдинско-Баскунчакском заповеднике (Астраханская обл., Ахтубинский р-н), а также на территории памятника природы «Нижне-Банновский» (Саратовская обл., Красноармейский р-н), на территории природного парка «Щербаковский» Волгоградской области в сравнении с другими таксонами (подвидами и видами этого рода) скорпионов с других территорий Палеарктики. Исходя из поставленной цели решались следующие задачи.

1. Провести сборы скорпионов на территории Богдинско-Баскунчакского заповедника, на территории памятника природы «Нижне-Банновский», на территории природного парка «Щербаковский».

2. Выделить ДНК собранных экземпляров, амплифицировать фрагменты ДНК, секвенировать ПЦР-продукты.

3. Произвести множественный анализ нуклеотидных последовательностей относительно других подвидов вида *M. eupeus* относительно других видов рода *Mesobuthus*.

4. Определить филогенетические связи исследуемых объектов.

### Материалы и методы

Сборы материала проводились в 2014–2015 гг. в апреле-мае, сентябре-октябре на территории «Богдинско-Баскунчакского» заповедника в окрестностях горы Богдо (Астраханская область). Были обследованы два участка на территории заповедника: побережье озера Баскунчак, район Белой балки, окрестности Горькой речки в районе дамбы. Кроме того, были проведены сборы в Правобережье Саратовской области, где также обитают скорпионы на территории памятника природы «Нижне-Банновский» и в Волгоградской области (южнее от предыдущей точки на 20 км) на территории природного парка «Щербаковский». Всего было собрано и зафиксировано в этиловом спирте (96%-ном) 18 экземпляров.



Материал собирался с помощью пинцета в пластиковые контейнеры. Скорпион помещался в контейнер с песком, где находилась смоченная водой вата и два мраморных таракана (в качестве корма). В тёмное время суток использовалась лампа ДРЛ и экран для насекомых для привлечения и сбора скорпионов. В лабораторных условиях часть скорпионов была зафиксирована в пробирках с этиловым спиртом и заэтикетирована.

Помимо нуклеотидных последовательностей исследуемых образцов (4) в анализ были введены известные нуклеотидные последовательности, взятые из GEN BANK: 5 у подвида *M. e. philippovitschi* (3), 3 у номинативного подвида *M. e. eurus* (2), 13 образцов подвида *M. e. thersites* (1,5), 6 у вида *M. e. phillipsi* (7), 1 у вида *M. caucasicus* (6).

### Результаты и их обсуждение

Результаты сравнительного анализа показали наличие двух больших кластеров. Первый кластер состоит из трех субкластеров, где первый представлен сборной группой хоросано-туркменскими популяциями *M. e. thersites* (1), второй – из отдельной клады изолированной кавказской популяции *M. e. eurus* (2) и клады южно-каспийской популяции подвида *M. e. philippovitschi* (3). Третий субкластер сформирован двумя кладами, где первая представлена казахско-волжскими популяциями (собственные сиквенсы собранных скорпионов изученной территории Нижнего Поволжья) (4), а вторая – северо-казахскими популяциями *M. e. thersites* (5). Второй большой кластер сформирован иранско-турецкими популяциями *M. caucasicus* (6) и *M. e. phillipsi* (7). В целом, как видно на древе, казахско-волжские изученные популяции скорпи-

онов не имеют близких связей с кавказскими, т.е. распространение казахско-волжского таксона шло, несомненно, с востока, а не с юго-запада.

Таким образом, нами установлено, что скорпион, обитающий на территории г. Богдо (и ее окрестностей вокруг озера Баскунчак), представляет собой самостоятельный таксон и, исходя из географического положения и особенностей морфологии и молекулярно-генетических данных по нему, претендует на статус самостоятельного вида.

### Study of Phylogenetic Connections of Representatives of the Genus *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) on the Basis of Molecular DNA Analysis

N. M. Poverenniy, V. V. Anikin

Nikita M. Poverenniy, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, Nikitapov64@yandex.ru

Vasilii V. Anikin, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, anikinvasiliiv@mail.ru

The aim of the research is to determine the phylogenetic connections of scorpion representatives of the genus *Mesobuthus* living in the Lower Volga region and their comparison with other taxa (subspecies and species of this genus). For this, scorpions were collected on the territory of the Lower Volga region. The nucleotide sequences of the collected specimens were deciphered and compared with the sequences of species of the genus *Mesobuthus* from other regions of the Palearctic. The phylogenetic connections of the investigated objects are determined. The collection of material was carried out by conventional methods in arachnology. During the dark hours, a DRL lamp and a screen for insects were used to attract and collect scorpions.

**Key words:** territory, analysis, subspecies, method, collection, sequencing, DNA, scorpions.

### Образец для цитирования:

Поверенный Н. М., Аникин В. В. Изучение филогенетических связей представителей рода *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) на основе молекулярного анализа ДНК // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 333–334. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-333-334.

### Cite this article as:

Poverenniy N. M., Anikin V. V. Study of Phylogenetic Connections of Representatives of the Genus *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) on the Basis of Molecular DNA Analysis. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 333–334 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-333-334.



УДК 579.835: 577.111

## ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ *AZOSPIRILLUM ZEAЕ* И *AZOSPIRILLUM FORMOSENSE*

О. А. Потапова, Е. Н. Сигида, С. А. Коннова



Потапова Оксана Александровна, студентка кафедры биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: oxpro@mail.ru

Сигида Елена Николаевна, научный сотрудник лаборатории биохимии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: si\_elena@mail.ru

Коннова Светлана Анатольевна, заведующий кафедрой биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского; ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), профессор, доктор биологических наук. E-mail: konnova@yandex.ru

Выделены и охарактеризованы липополисахариды (ЛПС) клеток *Azospirillum zeae* и *A. formosense*. Показано преобладание в составе ЛПС S-форм молекул и наличие O-связанных 3-гидрокситетрадекановой, гекса- и октадеценновой ЖК и N – связанной 3-гидроксигексадекановой ЖК в составе их липидов A. Проведена оценка гетерогенности ЛПС в ДСН-ПААГ ЭФ.

**Ключевые слова:** *Azospirillum*, липополисахарид.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-335-336

Азоспириллы являются ризосферными свободноживущими diaзобактериями (PGPR – plant growth-promoting rhizobacteria), вступающими в ассоциативный симбиоз с различными растениями [1]. Липополисахариды, гликополимеры внешней мембраны клеточной стенки бактерий непосредственно вовлечены в образование растительно-микробных ассоциаций [2]. На данный момент классифицировано 18 видов азоспирилл, среди них мало исследованы *A. zeae* и *A. formosense* как нет сведений и о структуре ЛПС этих бактерий, чему и посвящено настоящее исследование.

### Материалы и методы

Бактерии *A. zeae* (IBPPM 550) и *A. formosense* (IBPPM 579) были предоставлены коллекцией ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН. Условия культивирования микроорганизмов и освобождения от капсулы представлены ранее [2]. ЛПС выделяли из сухих бактериальных клеток экстракцией горячим

45%-ным раствором фенола. Примеси белков осаждали 40%-ным ТХУ при pH 2,7.

Содержание углеводов, 2-кето-3-дезоксиктоновой кислоты (КДО), фосфора, определяли колориметрическими методами, описанными в работе [2].

Электрофорез (ЭФ) проводили в 15%-ном ДСН-ПААГ, окрашивали нитратом серебра.

Состав и соотношение жирных кислот (ЖК) липида А анализировали методом ГЖХ метиловых эфиров ЖК.

O-дезацелирование ЛПС проводили в 12%-ном растворе  $\text{NH}_4\text{OH}$  при 37°C в течение 16 ч. Модифицированную форму ЛПС выделяли хроматографией на колонке с гелем TSK HW-40 («Merck», Германия) в 1%-ной  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .

### Результаты и их обсуждение

Анализ биополимерного состава ЛПС показал высокое содержание углеводов (в ЛПС *A. zeae* 75,6±5,9%, а в ЛПС *A. formosense* 64,9±2,5%), что согласуется с данными ЭФ, а также показано наличие КДО и фосфора. Содержание КДО в ЛПС было менее 2% (ЛПС *A. zeae* 1,5±0,1%, ЛПС *A. formosense* 1,7±0,1%). Фосфор был обнаружен в ЛПС *A. zeae* (4,9±0,9%), а в ЛПС *A. formosense* его содержание было менее 1%. Наличие КДО доказывает принадлежность выделенных гликополимеров к ЛПС. ЭФ показал преобладание S-форм молекул ЛПС.

В липидах А идентифицированы ЖК (в % соответственно для *A. zeae* и *A. formosense*): 3-гидрокситетрадекановая (63 и 51), 3-гидроксигексадекановая (28 и 23), октадеценновая (4 и 23), гексадеценновая (3 и 1) и гексадекановая (2 у обоих штаммов), характерные для рода *Azospirillum*.

При O-дезацелировании ЛПС *A. zeae* по результатам ГЖХ содержание 3-гидрокситетрадекановой, гекса- и октадеценновой кислот стало значительно ниже, следовательно, они являются O-связанными. Содержание 3-гидроксигексадекановой кислоты повысилось, из чего следует, что она является N-связанной. Охарактеризована гетерогенность препаратов ЛПС методом ЭФ.



## Список литературы

1. Pérez-Montaño F., Alías-Villegas C., Bellogín R. A., Cerro P. del, Espuny M. R., Jiménez-Guerrero I., López-Baena F. J., Ollero F. J., Cubo T. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production // Microbiol. Res. 2014. Vol. 169. P. 325–336.
2. Konnova S. A., Makarov O. E., Skvortsov I. M., Ignatov V. V. Isolation, fractionation and some properties of polysaccharides produced in a bound form by *Azospirillum brasilense* and their possible involvement in *Azospirillum*-wheat root interactions // FEMS Microbiol. Lett. 1994. Vol. 118. P. 93–100.

### Peculiarities of the Structure of *Azospirillum zae* and *Azospirillum formosense* Lipopolysaccharides

O. A. Potapova, E. N. Sigida, S. A. Konnova

Oksana A. Potapova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, oxpo@mail.ru

Elena N. Sigida, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, si\_elena@mail.ru

Svetlana A. Konnova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia; Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13, Prospekt Entuziastov, Saratov, 410049, Russia, Konnovasa@yandex.ru

Lipopolysaccharides (LPS) of plant-growth-promoting bacteria of the genus *Azospirillum* are involved in the initial steps of formation of the association with host plant. This work aimed compositional analysis of the LPS from *Azospirillum zae* and *Azospirillum formosense*. The LPS were extracted from the cells by hot phenol-water solution. Biopolymer composition of the LPS was studied by colorimetric methods. Determination of the fatty acid composition of the lipid A was performed by GLC. O-deacylation of the LPS *A. zae* revealed that 3-hydroxyhexadecanoic acid is N-linked, whereas 3-hydroxytetradecanoic hexa- and octadecenoic acids are O-linked. Electrophoretic mobility of the LPS in SDS-PAGE was examined and predominance of the S-form LPS was revealed.

**Key words:** *Azospirillum*, lipopolysaccharide.

### Образец для цитирования:

Потапова О. А., Сигида Е. Н., Коннова С. А. Особенности структуры липополисахаридов *Azospirillum zae* и *Azospirillum formosense* // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 335–336. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-335-336.

### Cite this article as:

Potapova O. A., Sigida E. N., Konnova S. A. Peculiarities of the Structure of *Azospirillum Zae* and *Azospirillum Formosense* Lipopolysaccharides. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 335–336 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-335-336.



УДК 612.171.1

## К ВОПРОСУ О ВЗАИМНОМ СООТВЕТСТВИИ ПЕРЕХОДНОЙ ЗОНЫ В ГРУДНЫХ ОТВЕДЕНИЯХ ЭКГ, СЕРДЕЧНОГО РИТМА И ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ



Г. А. Севрюкова, И. Б. Исупов, Л. А. Товмасын

Севрюкова Галина Александровна, профессор кафедры промышленной экологии и безопасности жизнедеятельности, Волгоградский государственный технический университет; профессор кафедры биологии, Волгоградский государственный университет, доктор биологических наук. E-mail: sevryukova2012@yandex.ru

Исупов Игорь Борисович, профессор кафедры биологии, Волгоградский государственный университет, доктор медицинских наук. E-mail: igor.isupov.66@outlook.com

Товмасын Лаура Андреевна, лаборант-исследователь кафедры биологии, Волгоградский государственный университет. E-mail: laura7709@yandex.ru

Настоящая работа посвящена комплексным исследованиям особенностей вегетативного обеспечения деятельности молодых лиц, их церебральной гемодинамики в зависимости от локализации переходной зоны в грудных отведениях ЭКГ в процессе выполнения активной ортостатической пробы. Регистрация ЭКГ, параметров кардиоритмографии, реоэнцефалографии осуществлялась с помощью диагностического комплекса АПК «Валента». Установлено влияние на характер вегетативной регуляции деятельности сердца – преобладание ваготонии или симпатикотонии – локальной электрофизиологической позиции сердца, обуславливающей сложные процессы распространения и угасания возбуждения по миокарду предсердий и желудочков. Выявлены негативные изменения суммарного пульсового кровенаполнения головного мозга в ортостазе у людей с горизонтальным расположением сердца и с «неопределенной» локализацией переходной зоны в грудных отведениях ЭКГ, что можно интерпретировать как донозологические проявления нарушений эффективности механизмов регуляции мозгового кровотока.

**Ключевые слова:** ЭКГ, кардиоритмография, реоэнцефалография, церебральная гемодинамика, переходная зона в грудных отведениях, физиология человека.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-337-344

### Введение

Физиологическая адаптация живого организма – устойчивый уровень активности и взаимосвязи функциональных систем, органов и тканей, а также механизмов их регуляции и управления [1]. Процесс адаптации является комплексным – мультипараметрическим и динамически пластичным, изменяющимся сообразно условиям жизнедеятельности.

Внешние факторы, воздействуя чаще всего опосредованно – рефлекторно на соответствующие рецепторы организма или через его жидкие

среды (гормоны гипоталамо-аденогипофизарно-надпочечниковой системы), определяют уровень функционирования служебных систем: кровообращения и дыхания. Изменения деятельности кардиореспираторной системы являются первичным ответом организма на раздражитель любого происхождения [1].

Функционирование кардиореспираторной системы детерминировано деятельностью сердца. При этом наряду с определением амплитудно-частотных характеристик деполяризации и реполяризации различных отделов сердца, хронологии процессов проведения возбуждения, стандартно интерпретируемыми при контурном анализе электрокардиограмм, весьма информативным маркером функционального состояния миокарда человека является положение (иначе: *позиция*) результирующего вектора электрической оси сердца во фронтальной, горизонтальной и, отчасти, сагиттальной плоскостях. Внедрение в практику функциональных исследований сердца методики регистрации грудных отведений ЭКГ (Wilson F., 1946), обусловило разработку методических приемов определения переходной зоны возбуждения отделов миокарда в горизонтальной плоскости.

Обратимый сдвиг («*транзиторная миграция*») переходной зоны при нагрузке взаимосвязан с особенностями индивидуальных изменений суммарной деполяризации различных отделов миокарда в ответ на тестовое возмущающее воздействие [2]. В исследованиях, ранее выполненных Г. А. Севрюковой, показано, что в 27,3% случаев у лиц молодого возраста наблюдаются признаки перенапряжения отделов сердца. Вероятно, смещение переходной зоны в сторону  $V_{4-5}$  происходит из-за повышения внутригрудного давления и затруднения кровообращения в легких во время длительного нахождения тела в статическом положении, а сдвиг переходной зоны по направлению к  $V_{1-2}$  может указывать на горизонтальное положение сердца, поворот вокруг продольной оси левым желудочком вперед или «увеличение» камер сердца. Смещение переходной зоны вправо также может свидетельствовать о признаках нарушения проводимости по межжелудочковой перегородке и ножкам пучка Гиса [3].



По нашему мнению, актуальность исследований локализации переходной зоны в грудных отведениях и ее обратимых сдвигов в динамике выполнения функциональных проб определена оценкой адаптационного потенциала сердечно-сосудистой системы человека. Это обусловлено следующим:

– *во-первых*, требует своего решения проблема взаимного соответствия статической и динамической локализации переходной зоны в грудных отведениях ЭКГ и особенностей вегетативных регуляций ритма сердца. В связи с этим необходим анализ взаимосвязей эффектов регуляций хронотропной функции сердца, реализуемых преимущественно симпатическим или парасимпатическим контурами вегетативного гомеостаза – вегетативного реагирования и топографии переходной зоны;

– *во-вторых*, комплексных, системных исследований требует проблема взаимного соответствия особенностей кровоснабжения важнейших сосудистых регионов, в частности головного мозга и топографических характеристик вектора электрической оси сердца в горизонтальной плоскости в условиях физиологического покоя;

– *в-третьих*, существенный практический интерес имеет динамический мониторинг изменений мозгового кровотока, церебрального сосудистого тонуса и регионарного венозного возврата лиц с различной позицией переходной зоны в процессе выполнения ими дозированных нагрузочных проб. Одним из наиболее широко распространенных, просто реализуемых, безопасных функциональных воздействий является активный ортостаз – функциональная проба, позволяющая исследовать разнообразные гемодинамические эффекты, обусловленные гравитационным перераспределением крови в организме.

*Целью работы* явилось комплексное исследование особенностей вегетативного обеспечения (вегетативного гомеостаза) деятельности сердца и церебрального кровообращения лиц молодого возраста в зависимости от локализации переходной зоны в грудных отведениях ЭКГ в условиях покоя и активной ортостатической пробы.

### Материалы и методы

Работа выполнена на базе исследовательской лаборатории кафедры биологии института естественных наук Волгоградского государственного университета. В исследовании приняли участие студенты (86 человек) на добровольной основе, средний возраст которых составил  $19,7 \pm 1,4$  лет. Перед началом каждой серии исследований обследуемые информировались об условиях их

проведения и используемых методиках, сообщалось о гарантиях неразглашения полученной информации об участниках исследования, что отвечает принципам информированного согласия.

Регистрация электрокардиограмм, расчет параметров вегетативной регуляции, исследования церебральной гемодинамики осуществлялись с помощью модулей «Электрокардиография», «Кардиоритмография», «Реоэнцефалография» аппаратно-программного комплекса «ВАЛЕНТА» (РУ № ФСР 2007/00259 от 26.03.2009, Санкт-Петербург).

На первом этапе исследований – в состоянии оперативного покоя – проводилась запись ЭКГ (12 отведений) и накопление массива комплексов QRS для изучения variability сердечного ритма; определялись амплитудно-частотные параметры ЭКГ и локализация переходной зоны в грудных отведениях. Обследуемые были распределены в группы сравнения: I – смещение переходной зоны в  $V_{1-2}$ ; II – переходная зона в  $V_3$ ; III – смещение переходной зоны в  $V_{4-5}$  и IV – локализация переходной зоны неопределенна (рис. 1).

На втором этапе анализировались первичные результаты электрокардиографии, особенности вегетативной регуляции ритма сердца и мозгового кровотока в зависимости от локализации переходной зоны в грудных отведениях.

На третьем этапе выполнен сравнительный анализ изменений суммарного пульсового кровенаполнения головного мозга, тонуса церебральных артерий и венозного оттока из церебрального бассейна после выполнения обследуемыми всех групп активной ортостатической пробы.

Статистический анализ первичных данных проведен с помощью программного пакета «Excel-2010».

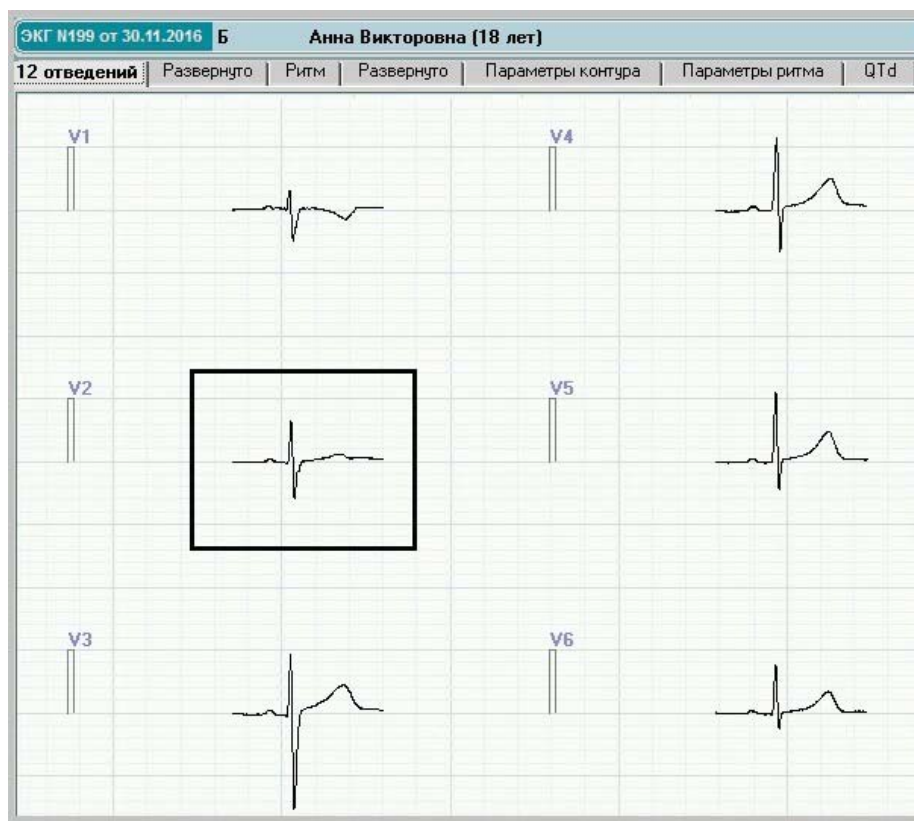
### Результаты и их обсуждение

Согласно результатам настоящих исследований обнаружено следующее процентное соотношение студентов с различной локализацией переходной зоны в грудных отведениях:  $V_{1-2}$  – 14,2;  $V_3$  – 37,5;  $V_{4-5}$  – 26,7 и 21,6% – переходная зона неопределенна.

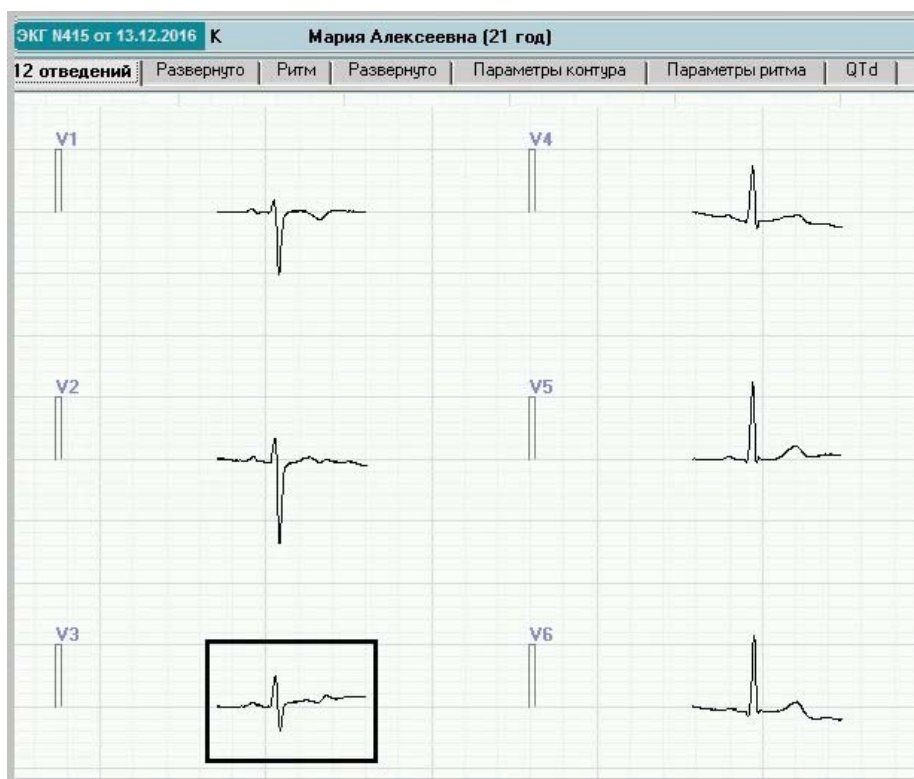
Количественные характеристики важнейших параметров – элементов ЭКГ в зависимости от локализации переходной зоны в грудных отведениях представлены в табл. 1.

В целом параметры ЭКГ в группах сравнения не отличаются от нормальных значений, однако, тенденция к увеличению высоты зубца R в группах  $V_{1-2}$  и  $V_{4-5}$  по сравнению с таковым параметром в группе  $V_3$  может свидетельствовать



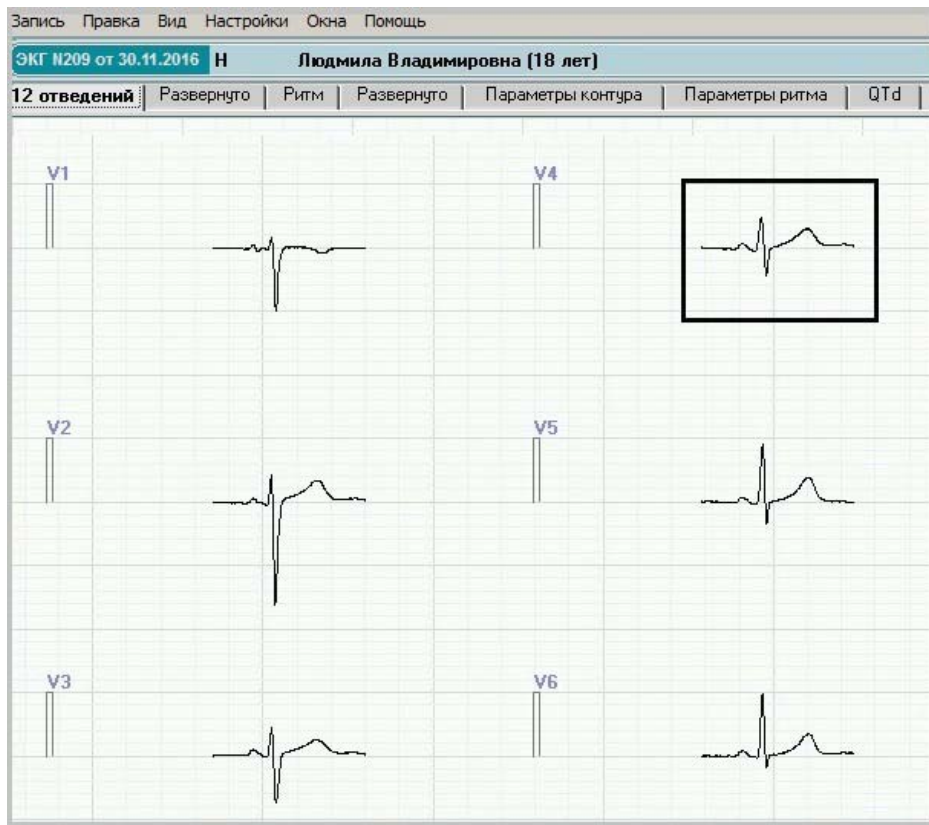


а

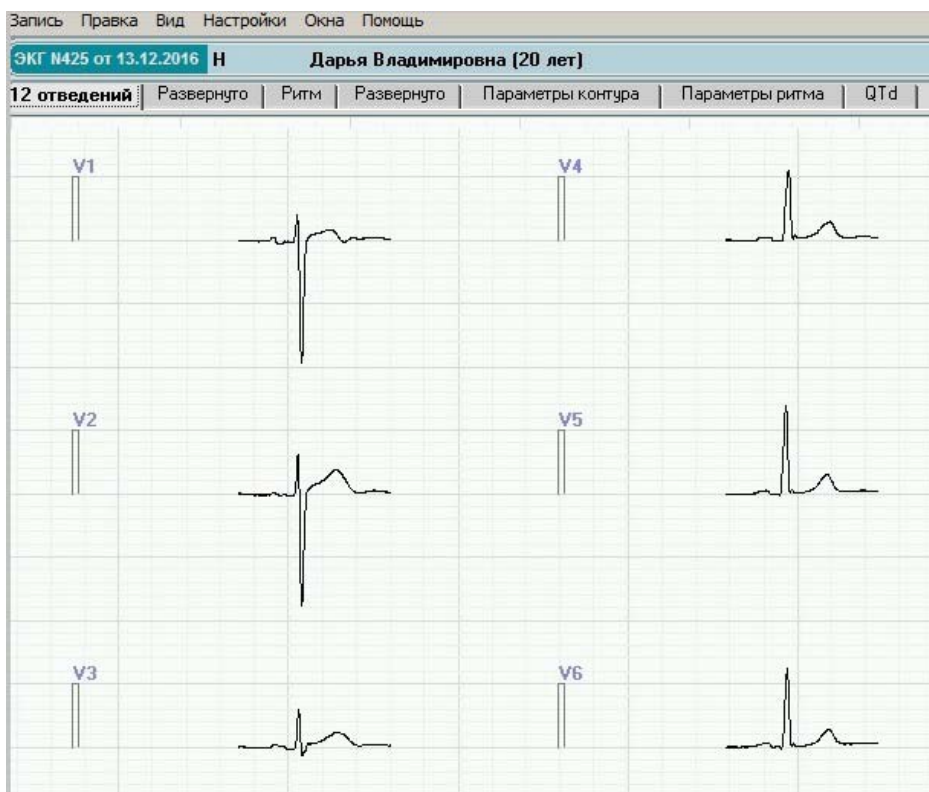


б

Рис. 1. Локализация переходной зоны в грудных отведениях: а – локализация переходной зоны в  $V_{1-2}$ ; б – локализация переходной зоны в  $V_3$



6



2

Рис. 1 (окончание). Локализация переходной зоны в грудных отведениях: 6 – локализация переходной зоны в  $V_{4,5}$ ; 2 – локализация переходной зоны неопределенна



Таблица 1

## Амплитудно-частотные характеристики элементов ЭКГ (M ± m)

Параметры – элементы ЭКГ		I группа – V <sub>1-2</sub>	II группа – V <sub>3</sub>	III группа – V <sub>4-5</sub>	IV группа – неопределенна
Зубец P	h, мВ	0,11±0,013	0,084±0,014	0,10±0,023	0,09±0,007
	t, с	0,072±0,0025	0,082±0,003	0,075±0,005	0,082±0,0018
Интервал PQ	t, с	0,16±0,011	0,14±0,005	0,14±0,008	0,15±0,004
Зубец Q	h, мВ	0,1±0,05	0,09±0,016	0,09±0,01	0,1±0,035
	t, с	0,015±0,005	0,02±0,001	0,01±0,001	0,016±0,003
Зубец R	h, мВ	1,08±0,091	1,3±0,14	0,87±0,18*	1,2±0,13
	t, с	0,043±0,0046	0,05±0,006	0,04±0,002	0,05±0,006
Зубец S	h, мВ	0,28±0,05*	0,15±0,04	0,18±0,06	0,17±0,06
	t, с	0,028±0,006	0,023±0,008	0,02±0,006	0,02±0,005
Комплекс QRS	t, с	0,071±0,0063	0,0714±0,007	0,065±0,002	0,071±0,007
Зубец T	h, мВ	0,31±0,028	0,34±0,053	0,29±0,017	0,24±0,04*
	t, с	0,17±0,008	0,16±0,01	0,16±0,008	0,13±0,014
Интервал RR	t, с	0,866±0,04	0,867±0,063	0,905±0,055	0,852±0,046

Примечание. \* – достоверное различие параметров – элементов ЭКГ по сравнению со II группой.

о предрасположенности к увеличению правых камер сердца или более горизонтальном положении сердца в грудной клетке.

В группах выявлены достоверные различия амплитудных характеристик комплекса QRS: снижение зубца R в III группе и увеличение зубца S в I группе по сравнению с таковыми во II группе могут быть следствием изменений величин проекций вектора электрической оси сердца на оси «правых» и «левых» отведений сердца ввиду изменения позиции верхушки и желудочков сердца в горизонтальной и, возможно, сагиттальной плоскости.

Параметры кардиоритмографии, отражающие особенности вегетативной регуляции в

зависимости от локализации переходной зоны в грудных отведениях, представлены в табл. 2.

Определенные в состоянии оперативного покоя показатели артериального давления (САД – систолическое, ДАД – диастолическое и ПД – пульсовое) во всех группах сравнения находились в пределах нормы. Однако при межгрупповом сравнении замечено, что среднее значение систолического артериального давления в III группе (129,5±3,22 мм рт. ст.) выше, чем у обследуемых I (p ≤ 0,05) и II групп, что свидетельствует о работе миокарда в напряженном режиме. Частота сердечных сокращений (ЧСС) в среднем составила 69,9±3,48 уд/мин и достоверно не различалась в сравниваемых группах.

Таблица 2

## Параметры кардиоритмографии и некоторые показатели системной гемодинамики в группах сравнения (M±m)

Параметры	I группа – V <sub>1-2</sub>	II группа – V <sub>3</sub>	III группа – V <sub>4-5</sub>	IV группа – неопределенна
Размах RR	0,260±0,032	0,367±0,04*	0,347±0,041	0,324±0,052
Mo	0,920±0,038	0,920±0,047	0,922±0,06	0,912±0,057
AMo	42,0±3,98	34,14±2,7	24,75±2,28*,**	36,2±4,5***
ИВР	202,77±52,29	108,9±21,17	77,65±19,07*	162,57±55,49
ИН	116,5±33,06	67,71±10,11	41,25±8,55*	95,7±34,94
ПАПР	47,0±5,89	38,02±4,1	26,95±2,22	41,07±6,17
ВПР	5,03±0,9	3,35±0,43	3,29±0,39	4,55±1,2
САД	119,0±4,09	120,71±4,43	129,5±3,22*	123,0±4,33
ДАД	69,75±2,94	72,8±3,74	79,75±4,32	74,7±2,47
ПД	49,75±2,67	47,8±3,31	49,75±5,8	48,2±4,3
ЧСС	71,12±3,64	67,28±3,9	70,25±4,49	71,1±3,77

Примечание. \* – достоверное различие показателей по сравнению с I группой; \*\* – со II группой; \*\*\* – с III группой; расшифровка параметров в тексте.



К группе производных показателей ритма сердца относят индекс вегетативного равновесия (ИВР), вегетативный показатель ритма (ВПР), показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР), индекс напряжения по Р. М. Баевскому (ИН) [4].

Величины ИН всех обследуемых находились в пределах адаптивных изменений – границ нормы. Однако обнаружены достоверные различия ИН между I и III группами в среднем на

75,25 у.е.; между I и II группой – на 48,29 у.е. Следует отметить, что для I группы характерно повышение степени разброса индивидуальных значений (наличие внутригрупповой неоднородности), о чем свидетельствует высокая дисперсия этого параметра ( $116,5 \pm 33,06$  у.е.). В связи с этим выполнен анализ встречаемости типов вегетативного реагирования в группах с различной локализацией переходной зоны в грудных отведениях (рис. 2).

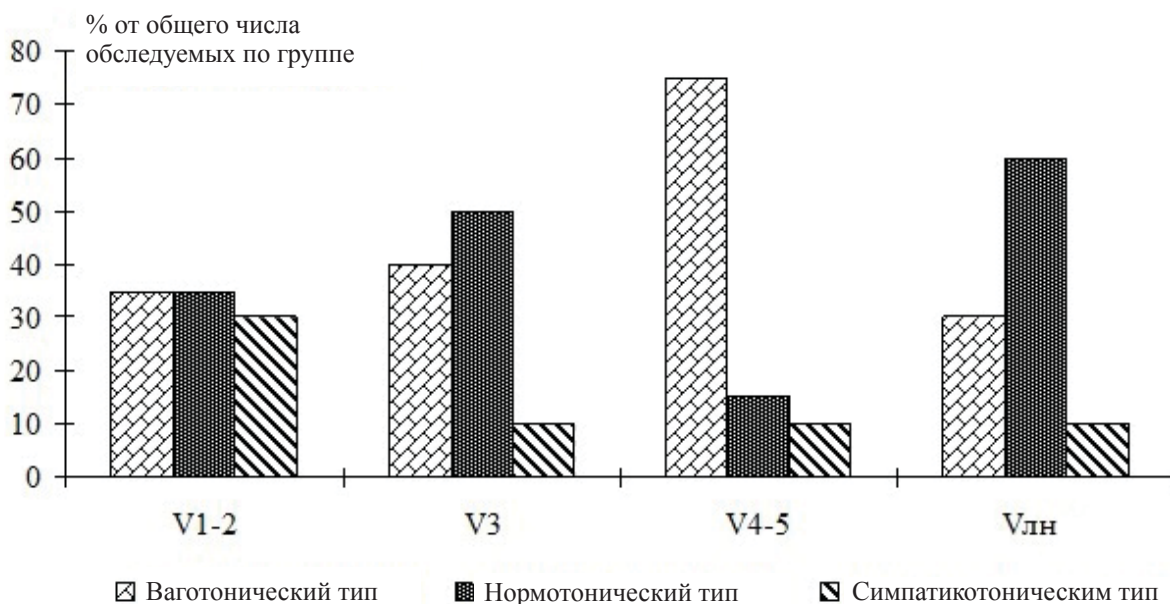


Рис. 2. Представленность типов вегетативного реагирования в группах в зависимости от локализации переходной зоны в грудных отведениях V<sub>1-2</sub>, V<sub>3</sub>, V<sub>4-5</sub> и V<sub>nn</sub> – неопределенна

В I группе встречаемость респондентов с симпатикотоническим типом вегетативного реагирования выше, чем в остальных сравниваемых группах. В III группе количественно доминирует ваготонический тип вегетативного реагирования.

Индекс вегетативного равновесия (ИВР) в группах сравнения не превышал нормальных значений 100 – 300 у.е. Следует также отметить, что среднее значение ИВР в I группе было выше по сравнению со II группой (на 93,87 у.е.) и достоверно отличалось по сравнению с III группой (на 125,12 у.е. ( $p \leq 0,05$ )), что свидетельствует о напряжении механизмов регуляции деятельности сердца, повышении влияния на хронотропную функцию сердца симпатического отдела вегетативной нервной системы.

Показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР) отражает соответствие между активностью симпатического отдела вегетативной нервной системы и ведущим уровнем функционирования синоатриального узла [4]. В группах

сравнения ПАПР находился в пределах нормы, однако повышение этого параметра в I группе по сравнению со II и III группами свидетельствует об избыточной централизации управления сердечным ритмом.

*Параметры церебральной гемодинамики имели существенные различия в группах сравнения.*

В состоянии оперативного покоя наибольшие величины суммарного пульсового кровенаполнения головного мозга, оцениваемые по реографическому индексу (РИ), во фронтально- и окципито-мастоидальном отведениях левого полушария регистрировались в группе I (V<sub>1-2</sub>) ( $2,38 \pm 0,54$  у.е.;  $1,16 \pm 0,10$  у.е. соотв.). Обследуемые группы III (V<sub>4-5</sub>) имели наименьшие величины РИ в ФМл и ОМл ( $1,63 \pm 0,15$  у.е.;  $0,86 \pm 0,26$  у.е. соотв.). Группа V<sub>4-5</sub> также характеризовалась незначительным повышением уровня венозного оттока (ВО) в бассейне передней мозговой артерии слева ( $38,5 \pm 2,95$  у.е.) по сравнению с группой I (V<sub>1-2</sub>) ( $28,5 \pm 3,39$  у.е.).



В отведении ОМл РИ обследуемых группы IV ( $V_{\text{лн}}$ ) имел наименьшие величины ( $0,71 \pm 0,08$  у.е.). В данном отведении показатель ВО имел максимальные значения в группе III ( $V_{4-5}$ ;  $133,5 \pm 25,6$  у.е.), а минимальные величины в группе II ( $V_3$ ;  $39,16 \pm 8,07$  у.е.).

В бассейне правого полушария головного мозга, в отведении ФМп, РИ не имел существенных групповых различий. В отведении ОМп РИ имел наибольшие значения в группе I ( $V_{1-2}$ ;  $1,35 \pm 0,15$  у.е.) и наименьшие – в группе II ( $V_3$ ;  $0,66 \pm 0,11$  у.е.). В последней группе ( $V_3$ ) суммарное пульсовое кровенаполнение почти в два раза ниже, чем в I, III и IV группах ( $26,18 \pm 5,49$  у.е.;  $54,71 \pm 6,2$  у.е.;  $54,08 \pm 11,9$  у.е.;  $44,14 \pm 10,8$  у.е. соотв.), что свидетельствует об оптимальных условиях венозного оттока крови из данной сосудистой области головного мозга.

Сравнительный анализ данных РЭГ позволил установить, что на функциональное соотношение «церебральный приток-отток крови» оказывали влияние оба рассматриваемых фактора: принадлежность к той или иной группе сравнения и межполушарная асимметрия тонуса крупных церебральных артерий.

В состоянии оперативного покоя тонус мелких, резистивных артерий головного мозга, оцениваемый по индексу периферического сопротивления (ИПС), в отведениях ФМл и ОМл наиболее высок в группе II ( $V_3$ ;  $1,86 \pm 0,13$  у.е.;  $1,54 \pm 0,07$  у.е. соотв.). При этом у обследуемых группы III ( $V_{4-5}$ ) выявлено снижение тонуса артерий сопротивления в областях, снабжаемых кровью из бассейнов передней, средней, задней мозговыми артериями. Тонус артерий сопротивления правого полушария в отведении ФМ также наиболее высок в группе II ( $V_3$ ;  $1,95 \pm 0,23$  у.е.) и минимален в группе I ( $V_{1-2}$ ;  $1,6 \pm 0,9$  у.е.). В отведении ОМп тонус резистивных сосудов существенно повышен в группах II ( $V_3$ ) и III ( $V_{4-5}$ ). Однако в группе III ( $V_{4-5}$ ) показатель ИПС имел большой разброс индивидуальных значений.

Можно предположить, что в состоянии оперативного покоя уровень тонуса артерий сопротивления в большей степени взаимосвязан с групповой принадлежностью обследуемого, чем показатели суммарного пульсового кровенаполнения церебрального региона и венозного оттока крови из него. Функционально-топографические различия тонуса мелких артерий головного мозга выражены в группах незначительно.

В активной ортостатической пробе изменения важнейших параметров церебрального кровообращения существенно различались в группах сравнения. В группах I ( $V_{1-2}$ ) и IV ( $V_{\text{лн}}$ ) РИ не-

сколько снижался во всех отведениях РЭГ. Причем в группе I ( $V_{1-2}$ ) наиболее существенное снижение РИ отмечалось в отведениях ФМл (на  $0,62$  у.е.) и ОМп (на  $0,48$  у.е.). В группе II ( $V_3$ ) суммарное пульсовое кровенаполнение левого полушария оставалось на исходном уровне, однако, в обоих отведениях правого полушария РИ возрастал. В группе III ( $V_{4-5}$ ) РИ в отведениях ФМл, ФМп изменялся незначительно; в отведениях ОМл, ОМп РИ имел выраженную тенденцию к уменьшению (до  $0,65 \pm 0,3$  у.е.;  $0,85 \pm 0,1$  у.е. соотв.). Показатель ВО уменьшался в ортостазе во всех группах сравнения, за исключением отведения ОМл обследуемых группы II ( $V_3$ ). Очевидно, данная динамика ВО была обусловлена почти исключительно гравитационным перераспределением масс крови при выполнении ортостатической пробы.

В группе I ( $V_{1-2}$ ), на фоне ортостатической пробы, тонус резистивных артерий (показатель – индекс периферического сопротивления (ИПС)) увеличивался на  $0,48$  у.е.). В группе II ( $V_3$ ) тонус мелких артерий снижался. В группе III ( $V_{4-5}$ ) выявлен мозаичный, вариабельный характер изменений тонуса мелких артерий: наблюдалось умеренное повышение ИПС в ОМ отведении слева (на  $0,87$  у.е.), тенденция к повышению ИПС в ФМл и ФМп (на  $0,07$ ;  $0,12$  у.е. соотв.) и снижение в отведении ОМп. В группе IV ( $V_{\text{лн}}$ ) ИПС снижался лишь в отведении ОМл (на  $0,92$  у.е.), имея слабую тенденцию к повышению в остальных отведениях.

Можно предположить, что в группах I и IV снижение притока крови в церебральный бассейн при переходе в вертикальное положение тела обусловлено уменьшением выброса крови левым желудочком сердца [5]. В условиях ортостаза снижение перфузии ткани головного мозга кровью в группах I и IV, по-видимому, компенсируется миогенными механизмами ауторегуляции тонуса резистивных артерий головного мозга: развивается генерализованная констрикция мелких регионарных сосудов, трансапиллярное давление повышается, обеспечивая достаточность гистогематического обмена веществ в изменившихся условиях жизнедеятельности [6, 7]. На наш взгляд, это «избыточная» форма реагирования сосудистой системы обусловлена относительным дефицитом регионарного кровотока.

Рассмотренный способ компенсации транзиторных ортостатических изменений церебральной гемодинамики в группах II и III не востребован, поскольку пульсовой приток крови в церебральный бассейн в ортостатической пробе стабилен. В данных условиях тенденция к дилатации резистивных артерий является следствием оптимального способа регуляции мозгового кровотока.



Проведенное исследование позволило установить различия вегетативного обеспечения деятельности, зависящие от локализации переходной зоны в грудных отведениях ЭКГ. Выявленные различия можно рассматривать как совокупность влияния на характер вегетативной регуляции локальной электрофизиологической позиции сердца, обуславливающей сложные процессы распространения и угасания возбуждения по миокарду предсердий и желудочков.

Обращает на себя внимание достаточно высокий процент респондентов, у которых переходная зона в грудных отведениях ЭКГ не определялась, что, в свою очередь, предопределяет поиск подходов к уточнению локализации переходной зоны у данной группы обследуемых.

В состоянии оперативного покоя пульсовое кровенаполнение головного мозга, тонус регионарных артерий сопротивления, венозный отток лиц всех групп сравнения существенно различны. У людей с горизонтальным расположением сердца и с «неопределенной» локализацией переходной зоны в грудных отведениях ЭКГ (группы I и IV) регуляция мозгового кровотока наименее адаптирована к активно реализуемым направленным гравитационным воздействиям. Указанное обстоятельство необходимо учитывать при проведении врачебного контроля, в практике диспансерных обследований студенческой молодежи, в физиологии физической культуры и спорта.

#### Список литературы

1. Агаджанян Н. А., Быков А. Т., Коновалова Г. М. Адаптация, экология и восстановление здоровья. М.; Краснодар, 2003. 260 с.
2. Тихонов В. Ф., Агафонкина Т. В., Орешников Е. В. Влияние соревновательной физической нагрузки на ЭКГ-параметры у спортсменов-гиревиков // Вестн. спортивной науки. 2010. № 1. С. 25–26.
3. Севрюкова Г. А. Характеристика функционального состояния и регуляторно-адаптивных возможностей организма студентов в процессе обучения в медицинском вузе : дис. ... д-ра биол. наук. Майкоп, 2012. 480 с.
4. Кузнецов А. А. Исследование характера взаимосвязей параметров ритма сердца // Измерительная техника. 2016. № 3. С. 59–63.

5. Заболотских Н. В. Реакции центральной и церебральной гемодинамики во время активного ортостаза у здоровых лиц // Физиология человека. 2008. № 5. С. 71–77.
6. Кузнецова Д. В. Цереброваскулярная и кардиоваскулярная реактивность при артериальной гипертензии в юношеском возрасте : дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2014. 118 с.
7. Исупов И. Б., Мандриков В. Б., Горбанева Е. П. Мозговое кровообращение здоровых людей с различными типами тонуса церебральных артерий в клино- и ортостазе // Вестн. Волгоград. гос. мед. ун-та. 2016. № 2 (58). С. 107–110.

#### To the Question about the Reciprocal Conformity of the Transition Zone in the Chest Leads ECG, Heart Rate and Cerebral Hemodynamics

G. A. Sevriukova, I. B. Isupov, L. A. Tovmasyan

Galina A. Sevriukova, Volgograd State Technical University, 28, Lenin Av.; Volgograd State University, 100, Prospekt Universitetsky, Volgograd, 400062, Russia, sevrykova2012@yandex.ru

Igor B. Isupov, Volgograd State University, 100, Prospekt Universitetsky, Volgograd, 400062, Russia, igor.isupov.66@outlook.com

Laura A. Tovmasyan, Volgograd State University, 100, Prospekt Universitetsky, Volgograd, 400062, Russia, laura7709@yandex.ru

This work is devoted to research of features of the vegetative support of activity of young persons, their cerebral hemodynamics depending on the localization of the transition zone in the chest leads ECG in the process of performing active orthostatic test. Registration of ECG, parameters of cardiorythmography, reoencefalografii was carried out using the diagnostic complex «Valenta». The effect on the character of vegetative regulation of heart activity – the predominance of vagotonia or sympathicotonia – local electrophysiological position of the heart due to complex processes of distribution and extinction of excitation through the myocardium of atria and ventricles. The negative change of the total pulse blood brain orthostasis in humans with a horizontal heart and with undetermined localization of the transition zone in the chest leads ECG that can be interpreted as preclinical symptoms of deviations of effectiveness of the mechanisms of regulation of cerebral blood flow.

**Key words:** ECG, cardiorythmography, reoencefalography, cerebral hemodynamics, a transition zone in the chest leads, human physiology.

#### Образец для цитирования:

Севрюкова Г. А., Исупов И. Б., Товмасын Л. А. К вопросу о взаимном соответствии переходной зоны в грудных отведениях экг, сердечного ритма и церебральной гемодинамики // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 337–344. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-337-344.

#### Cite this article as:

Sevriukova G. A., Isupov I. B., Tovmasyan L. A. To the Question about the Reciprocal Conformity of the Transition Zone in the Chest Leads ECG, Heart Rate and Cerebral Hemodynamics. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 337–344 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-337-344.



# ЭКОЛОГИЯ

УДК 574(470.44-751.2)

## ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ В ГОД ЭКОЛОГИИ И ГОД ОСОБО ОХРАНЯЕМЫХ ПРИРОДНЫХ ТЕРРИТОРИЙ

А. Н. Чумаченко, Г. В. Шляхтин

Чумаченко Алексей Николаевич, ректор Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, доктор географических наук. E-mail: rector@sgu.ru

Шляхтин Геннадий Викторович, декан биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, доктор биологических наук. E-mail: biofac@sgu.ru

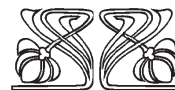
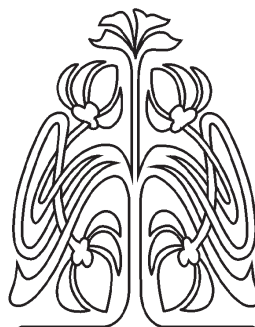
Обсуждаются экологические проблемы Саратовской области в Год экологии и ООПТ: деградация и разрушение естественных природных комплексов, сокращение биологического разнообразия видов и его причины, необходимость расширения сети региональных ООПТ, уменьшения загрязнения атмосферы, гидросферы и литосферы (ограничение выбросов вредных веществ и реагентов, переход производства на безотходные технологии, внедрение альтернативной энергетики, современных технологий переработки отходов и очистки сточных вод), состояния плодородия почв, рост новых техногенных загрязнителей (электромагнитного, шумового) окружающей среды.

**Ключевые слова:** год экологии, ООПТ, Саратовская область, экология, биоразнообразие.

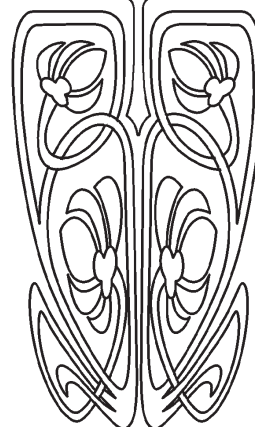
DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-345-357

### Введение

Наиболее важной экологической проблемой современности, в том числе и для Саратовской области, является трансформация природной среды в результате деятельности человека, которая ведет к нарушению структуры и функционирования природных комплексов. Степень воздействия человека на окружающую среду зависит от уровня развития производственно-технического потенциала конкретного региона, общественного сознания населения и его потребительского отношения к природным комплексам как к объектам получения определенных благ для своего существования. На протяжении тысячелетий человек постоянно увеличивал свой производственно-технический потенциал и усиливал воздействие на природные экосистемы. Значительное увеличение численности населения планеты, интенсивная индустриализация и урбанизация привели к тому, что нарушился естественный круговорот веществ (в том числе и биологический) и способность экосистем к самоочищению и регенерации, которые являются основой существования жизни на Земле. Забота государства и населения об экологическом благополучии нашей страны определила необходимость актуализировать назревшие экологические проблемы. Указом Президента РФ В. В. Путиным 2017 год был объявлен Годом экологии (Указ Президента РФ от 05.01.2016 г. № 7). Главной целью проведения данного мероприятия является привлечение внимания общества к проблемам экологического благополучия и развития нашей страны,



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





сохранения биологического разнообразия, обеспечения экологической безопасности. Несмотря на определенные позитивные сдвиги в решении многих экологических проблем на федеральном, региональном и муниципальном уровнях, экологическая обстановка в России остается по-прежнему напряженной. По-прежнему загрязняется воздух и территориальные воды, почва, уменьшаются площади естественных лесов и зеленых насаждений, увеличиваются выбросы токсических веществ в окружающую среду, происходят техногенные катастрофы и т.д.

Еще ранее 2017 год был объявлен Годом особо охраняемых природных территорий (Указ Президента РФ от 1 августа 2015 г. № 392). Он приурочен к 100-летию создания в нашей стране первого государственного природного заповедника – «Баргузинский» (Республика Бурятия), который был организован для охраны баргузинского соболя (*Martes zibellina* Linneus, 1758) – млекопитающего семейства куньих (Mustelidae), численность которого в начале XX в. катастрофически сократилась. Особо охраняемые природные территории (ООПТ) во всем мире являются одним из самых эффективных способов сохранения первозданной природы, позволяющих полностью или частично изъять из хозяйственного использования земли и сохранить на них естественное биологическое и ландшафтное разнообразие. Год ООПТ направлен на привлечение российского общества к вопросам сохранения природного наследия нашей страны.

Для исполнения указов президента, улучшения экологической обстановки и активизации природоохранных мероприятий в Саратовской области в Год экологии и ООПТ при правительстве Саратовской области была создана межведомственная рабочая группа для разработки «Плана основных мероприятий по проведению на территории Саратовской области Года экологии и Года особо охраняемых природных территорий в 2017 году», который был утвержден распоряжением правительства Саратовской области 22 декабря 2016 г. (№ 353-Пр.). Комиссию возглавил заместитель председателя правительства области А. А. Соловьев. В состав комиссии вошли представители 16 министерств и ведомств правительства области, общественных организаций, ведущие ученые в области охраны окружающей среды и природопользования. Разработанный план состоит из двух основных направлений: активизация фундаментальных и прикладных работ по улучшению экологического состояния региона (строительство очистных сооружений сточных вод промышленных и сельскохозяйственных предприятий, заводов по переработке твердых

бытовых отходов (ТБО), утилизации или захоронению особенно токсичных веществ, сохранение биоразнообразия и т.д.) и агитационно-массовых мероприятий с целью привлечения всех слоев населения к решению проблем охраны окружающей среды региона (конкурсы, акции, конференции школьников и студентов вузов, социально-образовательные проекты, различные экологические фестивали и т.п.).

#### **Материал и методы исследования**

В основу работы положены экспедиционные исследования авторов и сотрудников биологического (кафедра морфологии и экологии животных, кафедра ботаники и экологии) и географического (кафедра геоморфологии и геоэкологии, кафедра физической географии и ландшафтной экологии) факультетов университета за последние десять лет (2005–2016 гг.). Широко привлекались архивные материалы зоологического музея и гербария СГУ, лаборатории урбоэкологии и геоинформатики, лаборатории ландшафтоведения, материалы «Доклада о состоянии и об охране окружающей среды в Саратовской области» [1] и научные публикации [2–6].

#### **Результаты и их обсуждение**

На сегодняшний день положение с охраной природы в нашей области не вызывает удовлетворения. В Нижнем Поволжье нет такой территории, в которой так резко проявляются различия в характере рельефа, климата, распределения растительного и животного мира, разнообразия естественных и искусственных экосистем. Однако за последние десятилетия наблюдается все ускоряющееся обеднение видового состава растений и животных природных комплексов (исчезают и резко сокращается численность многих видов растений, насекомых, амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих). Большие опасения уже сегодня вызывает экологическая обстановка в городах и сельских населенных пунктах области: продолжает уменьшаться количество зеленых насаждений, недостаточно закладывается новых парков и скверов, недостаточно увеличивается число искусственных насаждений в сельских населенных пунктах, возрастает количество синантропных видов в городах и населенных пунктах, растут площади «антропогенных пустошей», прогрессируют процессы опустынивания земель, особенно в юго-восточных и южных районах Заволжья, ухудшается плодородие земель за счет неправильного ведения агротехнических приемов обработки почв, химизации, захламления и загрязнения нефтепродуктами и тяжелыми металлами и т.д.





Экологические проблемы Саратовской области, имея свою специфику, те же, что и международные. Различными международными и федеральными экологическими организациями декларированы основные экологические проблемы, приводящие к разрушению природных комплексов Земли: изменение климата, разрушение озонового экрана, деградация и разрушение естественных природных комплексов, сокращение биологического разнообразия видов, расширение сети ООПТ, загрязнение атмосферного воздуха и водных экосистем, деградация земель и ухудшение состояния их плодородия, появление новых техногенных загрязнителей (электромагнитного, шумового и др.).

Первая проблема – глобальное изменение (потепление) климата, часто рассматриваемое в одной плоскости – как результат хозяйственной деятельности человека (выброс в атмосферу углекислого и других газов), создающей парниковый эффект. Однако более значительной причиной потепления климата является его многовековая изменчивость. Прохладно-влажная эпоха охватывала период с XIV в. до начала XIX в., с середины которого развивается очередная многовековая тепло-сухая эпоха [7]. Необходимо отметить, что если два воздействия, как следует из физических законов, развиваются в одном направлении, то их эффект возрастает многократно. Поэтому на большей части Земного шара начались крупномасштабные изменения климата и экологических условий. Очень велико значение озонового экрана, который поглощает 13% солнечной радиации и почти полностью поглощает ультрафиолетовые лучи, губительно действующие на все живые организмы [8, 9]. Эти лучи на границе с атмосферой составляют около 7% от всего потока солнечной радиации. Но, благодаря озоновому слою, до поверхности Земли доходят лишь сотые доли процента ультрафиолетовых лучей. Озоновый экран защищает жизнь на Земле, но в современных условиях он прогрессивно разрушается [10].

На первые две проблемы трудно оказать существенное влияние в пределах только одной области, хотя мы должны ввести более жесткие меры на выбросы в атмосферу углекислого газа, хлора и его водородных соединений и других газов (влияют на потепление климата) и фреонов (разрушают озоновый экран) [10]. Озон будет меньше разрушаться, если воздух станет чище, уменьшится содержание пыли, сажи, токсических выхлопов транспорта и др. Необходимо прекратить или хотя бы уменьшить на территории области сжигание различного вида отходов и осуществлять повсеместную их экологически безвредную утилизацию.

Решение других экологических проблем регионального характера полностью зависит от отношения к ним жителей и административно-управленческих структур области. По оценкам специалистов, к началу XX в. экосистемы суши были разрушены на 20%, а к началу XXI – на 63%. Если в начале минувшего века человек потреблял около 1% первичной продукции биосферы, то сейчас эта величина составляет около 10%. Человек, неразумно вмешиваясь в закономерности функционирования экосистем, нарушает и перераспределяет потоки вещества и энергии, следствием чего является увеличение количества домашних паразитов (крыс, мышей, тараканов, комаров, голубей, врановых птиц и т.п.) и сорных (рудеральных) растений. В этой связи важно отметить, что степень воздействия на окружающую среду зависит от уровня развития производственно-технического потенциала конкретного региона и общественного сознания населения. Например, распад колхозов и совхозов, сокращение пахотных земель и снижение применения удобрений и пестицидов оказали благоприятное воздействие на природные экосистемы: в закрытых водоемах появились раки, дрофы стали гнездиться на заброшенных территориях [11, 12]. Там, где прекращается нерегламентированная хозяйственная активная деятельность человека, природные экосистемы восстанавливаются относительно быстро.

Экспедиционные исследования по территории области показали, что в некоторых районах, особенно в Заволжье, осталось не более 8–10% нетронутых человеком естественных земель [13]. Они сохранились лишь по оврагам и балкам, поймам рек и неудобным для сельского хозяйства территориям. Удручающее впечатление производят брошенные поля, заросшие сорной растительностью, повсюду видны следы деградации земли, вызванной неэффективной мелиорацией, последствиями чрезмерного внесения удобрений и применения гербицидов и пестицидов, неочищенными сточными водами производств, чрезмерным выпасом скота, оставленной где попало непригодной сельскохозяйственной техникой, пролитыми горюче-смазочными материалами и т.д. Это и многое другое привело к нарушению биогеохимического круговорота веществ – основы жизни на Земле. Биогенные циклы оказались нарушенными, антропогенное воздействие мешает им «замыкаться» с необходимой естественной точностью. Человек, перегружая естественные экосистемы, разрушает механизм регулирования потоков вещества и энергии, происходящих в окружающей среде. Основными причинами неблагоприятной обстановки на планете является



игнорирование человеком законов существования биоты – живого вещества планеты, которое формировалось с момента зарождения жизни на Земле – более 4 млрд лет. За этот огромный период природа филигранно «отрегулировала» функционирование биологических систем, создавая оптимальные условия для жизнедеятельности живых организмов и обеспечивая их динамическую устойчивость с окружающей средой. С момента своего появления (около 3 млн лет) человек стал использовать энергию в виде ископаемого топлива (торф, сланцы, нефть и т.п.) и новых разнообразных технологических процессов. Это в конечном итоге привело к тому, что научно-технический прогресс начал постепенно разрушать биологическую компоненту планеты: если раньше биота естественным путем постоянно выводила энергию из окружающей среды, то теперь она аккумулируется в пределах атмосферы, литосферы и гидросферы в виде новых энергетических соединений, не свойственных биосфере. Следствием этого является угрожающее разрушение генома человека и живых организмов, появление новых болезней, рост числа локальных и глобальных стихийных бедствий естественного и антропогенного происхождения (наводнений, извержений вулканов, изменений погодно-климатических условий, террористических актов и катастроф, пандемий и т.д.). Ранее возобновляющиеся ресурсы (воздух, вода, почва, животные и растения) теперь восстанавливаются с большим трудом, так как в результате хозяйственной деятельности человека в окружающую среду выбрасываются не только большие количества различных, известных биосфере веществ (углекислого газа, соединений азота и фосфора, солей металлов и др.), но и сотни тысяч новых, ранее неизвестных биосфере соединений (особенно в виде полимерных пленок), которые живые компоненты не в состоянии разрушить или утилизировать.

Освоение естественных экосистем в ходе хозяйственной деятельности человека разрушает механизм биотической их регуляции [14, 15] в локальных масштабах и непрерывно ослабляет его глобальную мощность. Нарушенные экосистемы и искусственные биосистемы (поля, пастбища, эксплуатируемые леса) не способны к поддержанию устойчивой окружающей среды. В современную эпоху поддержание благоприятной окружающей среды для жизни живых организмов и человека возможно только при сохранении естественных ненарушенных природных сообществ и восстановлении трансформированных экосистем на достаточно больших территориях. В процессе антропогенного освоения естественных экосистем

человек, преследуя лишь хозяйственные цели, меняет видовой состав сообществ, естественное распределение потоков энергии в экологических сообществах и генетические программы видов в ходе искусственного отбора. Очевидно поэтому нарушенные экосистемы не способны регулировать жизнеспособность природных экосистем ни в локальном, ни в глобальном масштабах.

К настоящему времени концентрация многих вредных веществ в окружающей среде достигла критического уровня, что неизбежно отражается на ее биоразнообразии. Во всех устойчивых экосистемах должен быть определенный «запас» биоразнообразия, без чего любая экологическая система лишается способности адаптироваться к новым условиям и ставит ее на грань полного разрушения или гибели (в случае достаточно глубоких изменений внешних условий). Под воздействием природных факторов и хозяйственной деятельности человека в современных условиях происходят существенные изменения структуры аборигенных экосистем, в результате которых меняются качественные и количественные параметры различных трофических уровней. Например, локальные и масштабные флуктуации кормовой базы животных неизбежно обуславливают появление инвазивных видов и сокращение или увеличение аборигенной флоры и фауны. Определяющим результатом этих процессов является угнетение или исчезновение наиболее специализированных видов и видов с узким адаптационным потенциалом. Активная деятельность человека истощила биологические ресурсы многих экосистем, пошатнула их природное равновесие, а утеря видов и генетического разнообразия является одной из важнейших угроз для нормального функционирования природных экосистем.

В эпоху жесткой антропогенной трансформации биологических систем особо важное значение приобретает изучение животного и растительного мира Саратовской области с целью его сохранения, устойчивого воспроизводства и рационального использования в народном хозяйстве. За последние годы в экосистемах области появились новые виды, не свойственные нашим биоценозам, и особенно те, которые являются злостными вредителями лесного и сельского хозяйств (колорадский жук, непарный шелкопряд и др.). В области порою нерационально проводятся акклиматизация и реакклиматизация охотничьих и промысловых рыб и млекопитающих, сбор лекарственных и других ресурсных растений, строительство промышленных предприятий и баз отдыха в уникальных ландшафтах, не всегда научно дозируется применение ядохимикатов и



минеральных удобрений и т.д. В результате отмеченных и ряда других «мероприятий» многие виды растений и животных нашей области оказались на грани исчезновения.

Негативные тенденции в потере биологического разнообразия общеизвестны [16–18]. Для экосистем Саратовской области эти последствия отражены во многих публикациях [5, 13, 19]. Установлено, что на территории севера Нижнего Поволжья, включая Саратовскую область, в XX столетии потеряно около двух десятков видов растений. Сколько потеряно видов насекомых, установить сложно, поскольку очень мало сведений о динамике их видового состава в прошедшем столетии, но достоверно установлено, что исчезли толстун многобугорчатый (*Bradyporus multituberculatus*), бражник «мертвая голова» (*Acherontia atropos*), ктырь гигантский (*Satanas gigas*). Из позвоночных животных за последние 25–50 лет было утрачено 5 видов рыб (севрюга, каспийская кумжа, каспийская шема, кутум, каспийский усач), 1 вид рептилий (каспийский полоз) и 13 видов птиц.

В современных условиях на сокращение биоразнообразия региональной флоры и фауны начинают существенно влиять так называемые инвазивные виды. Они повсеместно наносят вред популяциям аборигенных видов: активно осваивают новые территории, внедряются в экологические ниши их экосистем и вытесняют коренных обитателей. Инвазивные виды в настоящее время рассматриваются в качестве одной из причин антропогенных изменений среды обитания [20] и сокращения биоразнообразия [21–24]. Такие виды также могут оказывать существенное воздействие не только на таксономически близкие аборигенные, но и на их добычу: новые виды создают жесткую конкуренцию для аборигенных, что нередко вызывают угрозу их исчезновения [25–27].

Биологические инвазии представляют угрозу естественным процессам развития региональных биоценозов и их стабильному развитию, так как в этих экосистемах они начинают доминировать над аборигенными видами. Вторжение таких видов в новый ареал обитания может привести к непредсказуемым последствиям. В результате этого процесса близкие таксономически виды могут исчезнуть или находиться в угнетенном состоянии. За счет вновь зарегистрированных инвазивных видов список растений и животных, встречающихся на территории севера Нижнего Поволжья, постоянно пополняется. Так, например, если в первой половине XX столетия отмечено появление в регионе 5 новых видов позвоночных животных, то во второй его половине – несколько десятков.

Темпы биологических инвазий и вторжения новых видов нарастают, несмотря на прекращение работ по акклиматизации хозяйственно важных видов животных. В последние десятилетия участились случаи появления в гидросистемах новых видов рыб (амуры белый и черный, толстолобик белый и пестрый, головешка-ротан, буффало), залета птиц (индийская камышовка, баклан, кольчатая горлица и др.) и проникновения млекопитающих (шакал, сайгак, европейская рысь, степной кот и др.), а также расселение ранее акклиматизированных охотничье-промысловых животных (ондатра, бобр, благородный олень, енотовидная собака и др.).

Важным аспектом биологических инвазий является освоение новыми видами не только традиционных и привычных для них биотопов, но и нетипичных, прежде всего рудеральных и урбанизированных. В результате этого происходит перераспределение их численности в разных биотопах, а по мере нарастания численности и конкурентной способности с экологически близкими аборигенными видами происходит их выход из первоначально освоенного биотопа-плацдарма в другие. Иногда отмечается также гибридизация инвазивных видов с близкородственными местными или заносными. В результате эти виды на освоенных территориях получают новые комбинации генов и свойств, что позволяет им успешно конкурировать с местными, способствует завоеванию новых территорий, местообитаний и экологических ниш. Кроме того, в новых, зачастую изолированных, популяциях инвазивных видов проявляется дрейф генов, что влияет на их ускоренную эволюцию.

На территории севера Нижнего Поволжья детально было изучено проникновение и адаптационный потенциал некоторых инвазивных видов – американской норки, сибирской косули и других [28–30]. Например, американская норка (*Neovison vison* Schreber, 1777) входит в число 10 наиболее опасных инвазивных видов млекопитающих в Европе. Её акклиматизация началась на территории бывшего СССР в 1933 г. После локального высвобождения из отдельных зверопитомников и звероферм она начала усиленно осваивать аборигенные экосистемы России и стала серьезным конкурентом для местных видов (хищников), в частности норки среднерусской европейской (*Mustella lutreola novikovi*) и черного хоря (*Mustela putorius*) [31–33]. Обладая высоким уровнем экологической пластичности, эвритрофности и физическими преимуществами по отношению к другим околородным хищникам, американская норка существенно изменила эволюционно сло-



жившийся стереотип взаимоотношений и структуру гильдии кунных в околородных экосистемах Саратовской области. Другим примером могут служить взаимоотношения аборигенной косули европейской (*Capreolus capreolus*) и косули сибирской (*C. pygargus*), которая в середине прошлого века была завезена в несколько охотничьих хозяйств, успешно акклиматизировалась и начала размножаться. На территории области сложились условия для жесткой конкуренции этих двух видов косуль, поскольку оба вида используют одни и те же места обитания и у них сходные экологические требования. Однако сибирская косуля, как более сильная, крупная и экологически пластичная, быстро вытесняет европейскую из привычных ей биотопов. Начиная с 1970-х гг. ареал европейской косули сокращается, она внесена в региональную Красную книгу [3].

В настоящее время инвазивными растениями и животными в экосистемах Саратовской области являются: растения – клён американский (*Acer negundo*), лох узколистый (*Elaeagnus angustifolia*), аморфа кустарниковая (*Amorpha fruticosa*), колючеплодник лопастный (*Echinocystis lobata*), циклахена дурнишниковлистная (*Cyclachaena xanthiifolia*), амброзия трёхраздельная (*Ambrosia trifida*); животные – колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata*), дрейссена бугская (*Dreissena bugensis*), гидроидная медуза (*Craspedacusta sowerbii*), ротан-головешка (*Perccotus glenii*), американская норка (*Neovison vison*), косуля сибирская (*Capreolus pygargus*) и другие. [28, 34–36].

Позитивным явлением для сохранения биологического разнообразия Земли и отдельных ее регионов следует считать публикации Красных книг. Необходимость их издания вызвана глобальными и региональными последствиями деятельности человека на окружающую природную среду. Главная цель их издания – привлечение внимания широкого круга различных слоев населения планеты к этой актуальной проблеме. Региональные Красные книги в нашей стране – единственный действующий на региональном уровне способ сохранения биологического разнообразия, включая редкие и исчезающие виды грибов, растений и животных. Кроме того, Красная книга становится отражением уровня развития ботанических и зоологических исследований региона. Публикации Красных книг объективно показывают степень изученности биологического разнообразия экосистем региона, уровень квалификации специалистов, особенно в трудных таксономических группах, глубины понимания биологии и экологии растений и животных, све-

дения о динамике численности популяций и ее флуктуациях, причинах сокращения ареала.

Достижение стабильного развития и безопасности территорий невозможно без устойчивого эволюционно сложившегося функционирования природных экосистем, основой которого является биогенный круговорот веществ, базирующийся на определенном составе (биоразнообразии) живых организмов. Но в современных условиях происходит прогрессирующее возрастание числа редких и исчезающих видов растений и животных. Например, в 1-е издание Красной книги Саратовской области [2] было включено 404 вида, во 2-е [3] – 541, а в настоящее время, по мнению специалистов, в критическом состоянии уже находится 571 вид, из которых 277 видов цветковых растений, 1 – водорослей, 15 – мохообразных, 13 – папоротникообразных, 1 – голосеменных, 19 – грибов и лишайников; 130 беспозвоночных, 1 – амфибий, 2 – миног, 15 – костных рыб, 6 – пресмыкающихся, 65 – птиц, 26 – млекопитающих [19, 37–43]. В то же время необходимо отметить, что около 30 видов восстановили численность и пределы своего распространения. Это определяет возможность исключения их из перечня краснокнижных видов области, а для некоторых изменить природоохранный статус [37–43].

Важной проблемой сохранения биоразнообразия и восстановления редких и исчезающих видов грибов, растений и животных, обитающих в природных сообществах, является отсутствие их правовой и юридической защиты. Складывается впечатление, что сохранение биологического разнообразия наиболее уязвимых видов не входит в концепцию устойчивого развития и не относится к числу наиболее значимых задач нашего государства и различных ведомств региональных административных органов. Юридическая основа охраны редких и исчезающих видов растений и животных определяется Постановлением Правительства региона. В нем обычно представляются таксы для исчисления размера взыскания ущерба за незаконное добывание или уничтожение редких и исчезающих видов растений и животных и за разрушение или повреждение мест их обитания, причиненный физическими и юридическими лицами. Но в Постановлении Правительства Саратовской области от 27 сентября 2006 г. № 298-П нет дифференциации в административных санкциях (штрафов) в зависимости от статуса охраны того или иного вида, поскольку они с разной категорией редкости (1,2,3 и т.д.) «охраняются» в равной степени, так как отсутствуют «привилегии» для видов с более высоким статусом или занесенные в Красную книгу



РФ. Очевидно, необходимо список редких видов расположить не в алфавитном порядке, как это принято во всех региональных и республиканской Красной книге, а по категориям статуса их охраны с дифференцированными санкциями в зависимости от категории охраны.

Для сохранения биологического разнообразия региона в современных условиях особенно важным является организация, функционирование и расширение ООПТ как резерватов естественных природных комплексов с их уникальным растительным и животным миром [4, 5]. Анализ распространения редких и исчезающих видов Саратовской области показал, что в настоящее время более 80% их сохраняется в основном на ООПТ [13]. ООПТ являются обязательным условием безопасного устойчивого развития современной цивилизации и устойчивого существования природных экосистем. Во всем мире они становятся механизмом, регулирующим глобальный и территориальный экологический каркас, обеспечивающий высокое качество окружающей среды и естественный уровень биологического разнообразия региональных экосистем и Земли в целом. Развитие и укрепление сети ООПТ всех уровней признано приоритетным направлением экологической политики нашего государства. Они позволяют включать в природно-заповедный фонд не только эталонные (максимально сохранившиеся) участки ландшафта, но и хозяйственно преобразованные, обеспечивая тем самым его целостность и другие необходимые признаки. ООПТ являются одним из важнейших способов природопользования, направленных на сохранение и восстановление (реабилитацию) ландшафтов и их биоразнообразия с целью поддержания экологического равновесия на локальном, региональном и микрорегиональном уровнях. Поэтому в современных условиях эффективное сохранение биологического разнообразия природных комплексов региона невозможно без достаточно развитой сети ООПТ

В настоящее время в России существует 12 тыс. ООПТ федерального, регионального и муниципального уровней и различных категорий: заповедники, национальные и природные парки (в том числе Хвалынский национальный парк в Саратовской области), заказники, памятники природы и т.д. Федеральная система ООПТ включает 103 государственных природных заповедника, 47 национальных парков, 67 федеральных заказников. Общая площадь всех федеральных заказников составляет около 3% территории России, а ООПТ различных категорий достигает 11%, что характерно для среднемировых показателей. В ближайшие 8 лет планируется создать еще

11 заповедников, 17 национальных парков и один федеральный заказник, а также увеличить территории 12 существующих федеральных ООПТ. Планируется увеличить площадь федеральных ООПТ на 18% [44].

Развитие сети ООПТ особенно актуально для Саратовской области [4, 45]. Комитетом охраны окружающей среды и природопользования области совместно с СГУ в 2006–2007 гг. была проведена инвентаризация всех объектов региональной сети ООПТ. В процессе этой работы было выявлено состояние охраняемых территорий, создана картографическая основа кадастрового учета ООПТ, обнаружены новые перспективные объекты ООПТ, создана специализированная информационная система «ООПТ Саратовской области» [4]. Региональная сеть ООПТ Саратовской области по состоянию на 01.01.2016 г. включает 90 ООПТ: из них 2 федерального, 84 регионального и 4 местного значения [46]. Сеть состоит из национального парка «Хвалынский» и его охранной зоны, федерального зоологического заказника «Саратовский», природного парка «Кумысная поляна», 81 памятника природы, 2 особо охраняемых водных объектов, 1 особо охраняемого природного урочища, 1 особо охраняемого природного ландшафта, 1 дендрария, 1 ботанического сада. В правобережной части области расположено 60, в левобережной 30 ООПТ. Общая площадь ООПТ области составляет 143,3 тыс. га. (около 2.5% от площади региона).

Существующие ООПТ Саратовской области могут обеспечить постоянную или временную (сезонную) охрану видов. Они выполняют роль резерватов, источников последующего восстановления численности редких видов региона. На ООПТ редкому и исчезающему виду «предоставляется» достаточно большая площадь с эволюционно сложившимися для него экологическими условиями, обеспечивается более или менее надежная охрана от проявления действия различных антропогенных факторов.

Многие памятники природы и природные микрозаповедники Саратовской области выделены для охраны и восстановления численности исчезающих видов растений и животных в компактных местах их произрастания, обитания и размножения. Некоторые памятники природы образованы для сохранения определенных видов и популяций растений и животных. Например, Финайкинская тюльпанная степь создана в Александрово-Гайском районе на участке целинной степи с высокой плотностью редких и исчезающих видов растений. Многие ООПТ расположены в пойменных, овражно-балочных и нагорных лесах, а



также различного типа степях, сохранившихся по «неудобьям», и составляющих суммарно 12–13% площади от территории области. Именно на этих ООПТ встречаются многие редкие, охраняемые и уязвимые виды растений и животных; например, 82% видов млекопитающих, занесенных в региональную Красную книгу [3, 5, 6].

По инициативе экологической общественности и администрации муниципальных образований начали появляться ООПТ местного значения. В настоящее время они образованы в Ивантеевском районе: озеро Калач, Старичные озера реки Большой Иргиз, Овраг Дубовенький, Урочище Ореховое. В современных условиях необходимы работы по совершенствованию и развитию сети ООПТ, создание крупных охраняемых территорий с высоким природоохранным статусом (заповедников федерального значения, природных парков), а также охраняемых территорий местного значения.

Для сохранения популяций птиц области важное значение имеют Ключевые орнитологические территории (КОТР). Они базируются на сохранении птиц в фауно-генетических в зональных комплексах на территориях их массового размножения, основных миграционных путях и местах размножения. В Саратовской области в конце 1990-х гг. была выделена 21 КОТР международного значения [5]. К сожалению, после этого времени, несмотря на предложения орнитологов, новых КОТР не образовано.

Для Саратовской области особенно актуальной является проблема снижения загрязнения атмосферного воздуха и поверхностных вод (источники хозяйственно-питьевого водоснабже-

ния). Доминирующими источниками загрязнения Саратовской области являются выбросы от автотранспорта, промышленных предприятий и добывающей промышленности, трубопроводного транспорта нефти и газа, подземных хранилищ газа и др. Они являются источниками поступления вредных химических, биологических и биохимических реагентов в природную среду [47]. Значительный вклад в уровень загрязнения атмосферы города вносят формальдегид, аммиак, диоксид азота, гидрофторид и оксид углерода [46]. Например, выбросы вредных веществ атмосферу в 2015 г. составили 382,5 тыс. т, в том числе от стационарных источников – 118,2, от автотранспорта 264,3 тыс. т. От стационарных источников в атмосферный воздух поступило: диоксида серы – 6,3, оксида углерода – 21,0, диоксид азота – 10,1, углеводородов – 59,8, ЛОС – 12,6, твердых веществ – 7,1 тыс. т. По сравнению с 2014 г. увеличилось на 4,1 тыс. т выбросы от автотранспорта, а от стационарных источников уменьшились на 1,7 тыс. т. Произошло сокращение выбросов загрязняющих веществ в атмосферу в городах Саратов, Балаково, Энгельс, Вольск, а также снизилось во многих сферах экономической деятельности. Это было связано с проведением мероприятий по сокращению выбросов в атмосферу загрязняющих веществ за счет финансирования на эти мероприятия 29,1 млн руб. В целом природоохранные мероприятия обеспечили снижение выбросов в атмосферу области на 45 т [46].

Особую озабоченность вызывает загрязнение атмосферного воздуха в промышленных городах Саратовской области (табл. 1).

Таблица 1

**Динамика валовых выбросов загрязняющих веществ в атмосферу на территории Саратовской области в 2011–2015 гг. [46]**

Населенный пункт	Количество выбросов, тыс. т				
	2011	2012.	2013	2014	2015
Саратовская область	357,3	360,4	347,8	380,1	382,5
в том числе:					
г. Саратов	87,8	80,3	89,0	84,5	83,9
г. Энгельс	21,8	19,3	20,8	26,0	26,1
г. Балаково	18,9	15,8	16,0	18,4	17,6
г. Вольск	13,3	11,7	12,3	10,9	10,4
г. Балашов	7,6	6,9	7,1	7,9	8,6
другие города и районы	207,9	226,4	202,6	232,4	235,4

Необходимо отметить, что в формировании уровня загрязнения атмосферного воздуха и поверхностных вод большое значение имеют метеорологические условия (температура воз-

духа, скорость ветра, осадки и др.), так как при сильном ветре концентрации примесей значительно уменьшаются, поскольку идет рассеивание, а при штилевых условиях с туманами они воз-



растают. Неблагоприятные метеорологические условия увеличивают накопление загрязняющих веществ в приземном слое атмосферы, поэтому концентрация примесей может резко возрастать. Ликвидация и нивелирование подобных ситуаций возможны, если заблаговременно прогнозировать их и своевременно сокращать выбросы в атмосферу загрязняющих веществ в зависимости от метеорологических условий.

Нельзя не обозначить проблему утилизации ТБО, без которых жизнедеятельность человека невозможна. В настоящее время мировой объем ежегодного образования ТБО колеблется около 400 млн т в год. В Саратовской области промышленные и бытовые отходы составили: в 2011 г. – 4700.0; 2012 – 4652.2; 2013 – 5029.3; 2014 – 5215.4, 2015 – 4770.5 тыс. т [1]. Для экологического благополучия окружающей среды нашей области особенно актуальным является утилизация ТБО. Проблема утилизации мусора и его захоронения очень остра, так как его сжигание дает вредные выбросы в атмосферу, а переработанный компост, как правило, содержит много вредных веществ, не пригодных для использования в сельском хозяйстве. Продолжается накопление бытового мусора, промышленных отходов, особенно неразложимых и стойких полиэтиленовых изделий, и т.п. на поверхности Саратовской области. В связи с этим в области необходимо создание современной, экологически безопасной системы их переработки и утилизации. В разработанном документе «План основных мероприятий по проведению на территории Саратовской области Года экологии и Года особо охраняемых природных территорий в 2017 году» планируется создание до 2020 г. коммунальной инфраструктуры – системы переработки отходов в Правобережье, проведение конкурсного отбора регионального оператора по обращению с твердыми коммунальными отходами, а также снижение отрицательного воздействия ртутьсодержащих отходов (ламп и других приборов с ртутным наполнением), которые могут причинить вред окружающей среде и здоровью человека. Планируется 100% эксплуатация мощностей мусороперерабатывающих комплексов в Энгельсе и Балаково, а также 18 мусороперегрузочных станций в районах области. Это позволит предотвратить накопление в окружающей среде более 350 тыс. т твердых коммунальных и бытовых отходов. В 2018 г. также будет введен запрет на хранение мусора без его сортировки.

Особую озабоченность вызывает также загрязнение водоемов области [48]. Ее водный фонд составляет около 3.5 тыс. поверхностных водоемов (водохранилищ, рек, озер, прудов и др.). В

2015 г. общий объем сброшенных сточных вод составил 209.0 млн м<sup>3</sup>, из которых 12.9 млн м<sup>3</sup> были загрязненными, но это на 22% ниже по сравнению с предыдущим годом [46]. Основной причиной загрязнения гидросистем области (водоемов) является сброс загрязненных сточных вод промышленными и сельскохозяйственными предприятиями в результате ограниченного строительства очистных, особенно канализационных сооружений, неудовлетворительное состояние действующих очистных сооружений, которые требуют коренной реконструкции и внедрения современных технологий очистки сточных вод.

Негативной экологической проблемой области является деградация земель и ухудшение состояния плодородия почв. В нашем регионе существует 8 типов почв: лесные, черноземные, лугово-черноземные, каштановые, лугово-каштановые, солонцы, солончаки и аллювиальные речных долин. На долю черноземов приходится 50.4%, каштановых – 30.0%, солонцового комплекса – 11.5%, прочих – 1.8%. Отличительной особенностью территории области является высокий уровень распаханности земель, который составляет более 64% площади от всех сельскохозяйственных угодий. Особенно обостренной проблемой является загрязнение почв вокруг промышленных городов области.

За последние годы значительно ухудшилось плодородие почв вследствие загрязнения земель выбросами химических соединений от транспорта и промышленных предприятий, а также несанкционированных свалок промышленных и бытовых отходов, размещенных с нарушениями требований санитарных правил и норм, местами нерационального применения минеральных удобрений, незаконным захоронением промышленных отходов и в результате водной и ветровой эрозий; остается острой проблема загрязнения почв стойкими хлорорганическими пестицидами (ДДТ, ГХЦГ, далапоном, прометрином, трефланом, тханом и др.) и тяжелыми металлами. Истощать биологический потенциал почв может, как это не парадоксально, чрезмерное применение минеральных удобрений, поскольку они вносят в них тяжелые металлы. В последние годы также наблюдается усиление процессов аридизации и опустынивания в центральных и юго-восточных районах Левобережья и на сильно смытых почвах Правобережья [6].

Важной проблемой для области является постепенное снижение плодородия. В настоящее время наблюдается падение в почвах области содержания гумуса и элементов питания растений вследствие низкого уровня использова-



ния органических и минеральных удобрений. Содержание гумуса в почвах с очень низким и низким содержанием составляют 46% от общей площади пашни, со средним – 39% и только 9% с повышенным и 6% с высоким содержанием [46]. Снижение количества гумуса в почвах приводит к ухудшению физико-химических свойств и биологической их активности, влияет на их агрофизические свойства, ухудшает водно-воздушный, пищевой и тепловой режимы, способствует закислению и засолению почв [46]. С целью сохранения почвенного покрова и предотвращения деградации почв региона необходимо увеличить площади рекультивации земель, ужесточить правила хранения и транспортировки агрохимикатов, пестицидов и т.п.

Экологические проблемы в нашей области не только остры, но и многогранны. Среди современных антропогенных факторов воздействия на окружающую среду важное место стали занимать электромагнитные излучения (ЭМИ), так называемые электромагнитные поля (ЭМП) и шумовое загрязнение. Саратовская область, особенно ее крупные города, имеют очень насыщенную энергетическую инфраструктуру. В области функционируют мощные Балаковские ГЭС и АЭС, несколько тепловых электростанций, существует мощно развитая электро- и радиотехника, электроника промышленного и бытового назначения, различные передающие радиотехнические объекты связи, радионавигации, радио-телевещания, а также беспроводные средства доступа в Интернет и цифровое телевидение, катастрофически увеличиваются электронные средства коммуникации, особенно сотовая связь. В жилых районах г. Саратова проходит свыше 20 высоковольтных линий электропередач ВЛ 110 [49]. В последние 30–50 лет наблюдается тенденция приближения новостроек, дачных массивов к высоковольтным линиям электропередач в охранных зонах ЛЭП. В буферную зону попадает значительное количество домов многоэтажной застройки.

В связи с хозяйственной деятельностью человека уровень ЭМИ антропогенного происхождения превысил в десятки тысяч раз естественный электромагнитный фон, который воздействует на все живые организмы, включая население области. В результате этих воздействий и их прогрессирующего увеличения этот фактор стал экологически значимым. В настоящее время убедительно доказано, что ЭМИ обладают выраженным биологическим действием [50, 51]. Особенно чувствительными к такому действию оказываются нервная, сердечно-сосудистая, эндокринная, иммунная, репродуктивная системы и развивающийся

организм на ранних эмбриональных стадиях. Совместные исследования биологов, географов и физиков университета по изучению влияния ЭМП и ЭМИ на биологические системы [47, 49, 52, 53] показали, что они могут влиять непосредственно на организм животного или растения, а также на структуру и функционирование их популяций. Так, были обнаружены различия в численности аммонифицирующих бактерий в ризосфере растений ржи, развивающихся непосредственно под ЛЭП и удаленных от нее; численность бактерий оказалась значительно выше у растений, растущих под ЛЭП [52]. Сильные ЭМП вблизи ЛЭП-500 могут существенно влиять на численность отдельных видов насекомых и их поведенческие реакции. На территориях с развитой электромагнитной инфраструктурой, работающей в течение длительного времени (десятилетий), установлено влияние на морфологические особенности животных, в частности на фоллидоз рептилий [54, 55], видовой состав и численность бентосных организмов. Особую озабоченность в этой связи вызывает г. Саратов, который имеет весьма насыщенную энергетическую инфраструктуру, которая располагается вблизи от жилой и дачной застройки.

В результате проведенных исследований стало очевидным, что устойчивое состояние популяций в зоне влияния ЭМИ возможно при наличии адаптивных механизмов как к средним его значениям, так и колебаниям вокруг них. Последующие исследования, вероятно, позволят выявить адаптационные стратегии различных видов и их популяции к устойчивому существованию в ЭМП различной интенсивности. В настоящее время в целом электромагнитный фон соответствует санитарно-эпидемиологическим требованиям, но все же необходимо акцентировать внимание на снижении уровня различных ЭМП и ЭМИ.

Одним из вредных загрязнителей окружающей среды также является шум. Он не повреждает окружающую среду, но сильно воздействует на живые организмы и человека. Ухо человека способно воспринимать звуки в диапазоне от 15 до 20000 колебаний в секунду. Естественный природный шум не превышает 35 дБ, но в городской среде человек сталкивается с постоянными звуками от 80–100 дБ. Шум более 120–130 дБ приводит к определенным расстройствам психики человека и отражается на состоянии его здоровья.

Источниками шума в населенных пунктах, особенно в крупных городах, являются различные транспортные средства, звуки строительных работ, климатические установки, радиореклама, бытовые приборы, телевизоры, радио и др. Часть улиц в г. Саратове не имеет сквозного проезда,





который значительно снижает шумовое загрязнение. Постоянный шум приводит к повышенной утомляемости человека и животных, снижает производительность труда, увеличивает риск развития многих заболеваний (повышает артериальное давление, вызывает расстройство деятельности сердечно-сосудистой системы, провоцирует агрессивность, раздражительность, нарушение сна, угнетение центральной нервной системы и т.д.). Известны многочисленные случаи, когда из-за шумового загрязнения дельфины и киты выбрасывались на берег, теряя ориентацию под воздействием громких звуков военных гидролокаторов (сонаров).

В настоящее время в Саратовской области под надзором Управления Роспотребнадзора находится 35 тыс. объектов – источников шумового загрязнения [46]. По уровню шума в области не соответствует нормам 21.7% промышленных объектов, а по уровню вибрации – 12.4%. Важно отметить, что в Саратовской области принят закон о тишине, регламентирующий время, в которое нельзя производить громкие звуки: в будние дни – с 21.00 до 9.00 (Постановление Саратовской областной думы от 29.01.2014 г.).

### Заключение

В современных условиях для человечества жизненно необходимым является изменение отношения к окружающей среде как к объекту потребительского отношения для получения определенных благ. Президент РФ В. В. Путин на 70-й сессии Генеральной Ассамблеи ООН (28.09.2015) говорил о том, что необходимо внедрять новые природоподобные технологии, которые не наносят урон окружающему миру, а существуют с ним в гармонии и позволят восстановить нарушенный человеком баланс между биосферой и техносферой. Исходя из понимания того факта, что Человек является таким же живым существом, как и другие виды, важно осознать зависимость благополучия человеческого общества от поддержания биологического разнообразия в природной среде. В современных условиях необходимо рационально расходовать природные ресурсы, особенно энергетические (нефть, уголь, газ), расширять применение атомной энергии, поиск и внедрение новых безвредных для природы источников энергии (солнечных батарей, ветряных источников энергии и др.), необходима постоянная забота со стороны человека о поддержании устойчивого динамического равновесия между окружающей средой и современным обществом, обязательная экологическая экспертиза существующих и новых проектов, необходимо увеличить посадки зеленых насаждений и лесов, усилить финансовое и

социальное внимание к существующим ООПТ и организации новых заповедников, национальных парков и других категорий ООПТ. В современных условиях безальтернативно необходимо перейти от чисто потребительского подхода к природе к поиску путей гармоничного взаимодействия общества и окружающей среды, особенно важны целенаправленные пути для разработки экологически чистых природосберегающих и природоподобных технологий, создание безотходных технологических процессов замкнутого цикла.

### Список литературы

1. Доклад о состоянии и об охране окружающей среды Саратовской области. Саратов, 2005. 302 с.; 2006. 347 с.; 2007. 363 с.; 2008. 358 с.; 2009. 277 с.; 2010. 268 с.; 2011. 243 с.; 2012. 221 с.; 2013. 234 с.; 2014. 234 с.; 2015. 237 с.
2. Красная книга Саратовской области : Растения, грибы, лишайники. Животные. Саратов : Детская книга, 1996. 264 с.
3. Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Изд-во Торг-пром. палаты Саратов. обл., 2006. 528 с.
4. Особо охраняемые природные территории Саратовской области. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2008. 300 с.
5. Шляхтин Г. В., Захаров В. М., Аникин В. В., Беляченко А. В., Березуцкий М. А., Волков Ю. В., Дмитриев С. В., Завьялов Е. В., Кириллова И. М., Костецкий О. В., Кузнецов В. А., Макаров В. З., Мосолова Е. Ю., Табачишин В. Г., Чумаченко А. Н., Филиппов А. О., Хучраев С. О., Якушев Н. Н. Биоразнообразие и охрана природы в Саратовской области: эколого-просветительская серия для населения : в 4 кн. Кн. 2. Особо охраняемые природные территории как рефугиумы для сохранения биологического разнообразия. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2010. 156 с.
6. Учебно-краеведческий атлас Саратовской области / гл. ред. А. Н. Чумаченко, отв. ред. В. З. Макаров. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2013. 144 с.
7. Будыко М. И. Климат в прошлом и будущем. Л. : Гидрометеиздат, 1980. 350 с.
8. Ларин И. К. Химия озонового слоя и жизнь на Земле // Химия и жизнь – XXI век. 2000. № 7. С. 10–15.
9. Александров Э. П., Израэль Ю. А., Кароль И. Л., Хргиан А. Х. Озоновый щит Земли и его изменения. СПб. : Гидрометеиздат, 1992. 211 с.
10. Кислов А. В., Евстигнеев В. М., Малхазова С. М., Соколикхина Н. Н., Суркова Г. В., Торпов П. А., Чернышев А. В., Чумаченко А. Н. Прогноз климатической ресурсообеспеченности Восточно-европейской равнины в условиях потепления XXI века. М. : МАКС Пресс, 2008. 292 с.
11. Хрустов А. В., Шляхтин Г. В., Табачишин В. Г., Завьялов Е. В. Распространение и современное состояние популяции дрофы (*Otis tarda*) европейской части России // Дрофиные птицы России и сопредельных стран : сб. науч. тр. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2003. Вып 2. С. 98–108.



12. Хрустов И. А. Пространственно-временная динамика и особенности нижневолжской популяции дрофы (*Otis tarda* L.) : дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2005. 152 с.
13. Шляхтин Г. В. Введение // Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. С. 5–10.
14. Горшков В. Г. Физические и биологические основы устойчивости жизни. М. : ВИНТИ, 1995. 470 с.
15. Горшков В. В., Горшков В. Г., Данилов-Данильян В. И., Лосев К. С., Макарьева А. М. Биотическая регуляция окружающей среды // Экология. 1999. № 2. С. 105–113.
16. Рейвен П. Почему это так важно... // Наша планета. 1991. № 11. С. 76–83.
17. Соколов В. Е., Шатуновский М. И. Можно ли сохранить биоразнообразие? // Вестн. РАН. 1996. № 1. С. 422–424.
18. Розенберг Г. С., Рянский Ф. Н. Теоретическая и прикладная экология : учеб. пособие. Нижневартовск : Изд-во Нижневарт. пед. ин-та, 2005. 292 с.
19. Соколов В. Е., Шляхтин Г. В. Значение Красной книги Саратовской области для сохранения ее биоразнообразия // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 3. С. 285–288.
20. Clout M. N., Williams P. A. Invasive species management. A handbook of principles and techniques. Oxford : Oxford University Press, 2009. 308 p.
21. Дгебуадзе Ю. Ю. Проблемы инвазий чужеродных организмов // Экологическая безопасность и инвазии чужеродных организмов : сб. материалов круглого стола Всерос. конф. по экологической безопасности России. М. : ИПЭЭ им. А. Н. Северцева, 2002. С. 11–14.
22. Туманов И. Л. Биологические особенности хищных млекопитающих. СПб. : Наука, 2003. 448 с.
23. Данилов П. И. Новые виды млекопитающих на Европейском Севере России. Петрозаводск : КАРнц РАН, 2009. 308 с.
24. Macdonald D. W., Sidorovich V. E., Pikulik M. M., Harrington L. A. The American mink : the triumph and tragedy of adaptation out of context // New Zealand J. of Zool. 2003. Vol. 30, № 4. P. 421–441.
25. Sidorovich V. E. Study on the decline in the European mink (*Mustela lutreola*) population in connection with the American mink expansion in Belarus: story of the study, review of the results and research priorities // Säugetierkundliche Informationen. 2001. Vol. 5, № 25. P. 133–154.
26. Courchamp F., Chapuis L., Pascal M. Mammal invaders on islands: impact, control and control impact // Biol. Rev. 2003. Vol. 78, № 3. P. 347–383.
27. Delibes M., Clavero M., Prenda J. Potential impact of an exotic mammal on rocky intertidal communities of northwestern Spain // Biol. Invasions. 2004. Vol. 6, № 2. P. 213–219.
28. Филинова Е. И., Малинина Ю. В., Шляхтин Г. В. Биоинвазии в макрозообентосе Волгоградского водохранилища // Экология. 2008. № 3. С. 206–210.
29. Беляченко А. В., Савонин А. А., Филипьев А. О. Американская норка (*Neovison vison* Schreber, 1777) в пойменных и прибрежных экосистемах Волгоградского водохранилища : сезонные изменения пространственной структуры, питания и временной активности // Поволж. экол. журн. 2015. № 3. С. 338–351.
30. Савонин А. А., Шляхтин Г. В., Филипьев А. О. Сезонная динамика питания американской норки (*Neovison vison* Schreber, 1777) в прибрежной зоне р. Большой Иргиз // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2015. Т. 15, вып. 3. С. 95–102.
31. Туманов И. Л., Зверев Е. Л. Современное распространение и численность европейской норки (*Mustela lutreola*) в СССР // Зоол. журн. 1986. Т. 65, № 3. С. 426–435.
32. Сидорович В. Е. Куньи в Беларуси. Минск : Золотой улей, 1997. 279 с.
33. Valenzuela E. J., Rey A. R., Fasola L. Trophic ecology of a top predator colonizing the southern extreme of South America : Feeding habits of invasive American mink (*Neovison vison*) in Tierra del Fuego // Mammalian Biology. 2013. Vol. 78, № 2. P. 104–110.
34. Сони́на Е. Э., Малинина Ю. А. Новые для водоемов Саратовской области представители Cnidaria // Биология внутренних вод. № 2. М. : Наука, 2009. С. 7–9.
35. Архипова Е. А., Березуцкий М. А., Бочкова А. Ю., Костецкий О. В., Седова О. В., Серова Л. А., Скворцова И. В. Новые и редкие виды флоры Саратовской области // Бот. журн. 2007. Т. 92, № 8. С. 1235–1240.
36. Савонин А. А., Шляхтин Г. В. Типология местообитаний американской норки (*Neovison vison* Schreber, 1777) на примере севера Нижнего Поволжья // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 1. С. 93–97.
37. Шляхтин Г. В., Табачишин В. Г., Ермохин М. В. Методические принципы процедуры занесения и выведения биологических видов в третье издание Красной книги Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 3. С. 295–299.
38. Шацуловский В. А., Шляхтин Г. В., Ермолин В. П., Малинина Ю. А. Редкие и исчезающие виды миног и рыб, рекомендуемые для внесения в третье издание Красной книги Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 3. С. 318–320.
39. Шляхтин Г. В., Табачишин В. Г. Редкие и исчезающие виды амфибий и рептилий, рекомендуемые для внесения в третье издание Красной книги Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 3. С. 321–323.
40. Мосолова Е. Ю., Шляхтин Г. В., Пискунов В. В., Табачишин В. Г., Завьялов Е. В., Беляченко А. В., Мельников Е. Ю., Подольский А. Л., Беляченко А. А. Редкие и исчезающие виды птиц, рекомендуемые к внесению в третье издание Красной книги Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 3. С. 323–328.
41. Беляченко А. В., Шляхтин Г. В., Опарин М. Л., Смирнов Д. Г., Мосолова Е. Ю., Филипьев А. О. Редкие и исчезающие виды млекопитающих, рекомендуемые к внесению в третье издание Красной книги Саратовской



- области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 3. С. 329–333.
42. Болдырев В. А., Козырева Е. А., Костецкий О. В. Редкие и исчезающие виды грибов и лишайников, рекомендуемые к внесению в третье издание Красной книги Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 3. С. 329–333.
  43. Архипова Е. А., Болдырев В. А., Буланая М. В., Буланый Ю. И., Гребенюк С. И., Давиденко О. Н., Давиденко Т. Н., Костецкий О. В., Лаврентьев М. В., Маевский В. В., Невский С. А., Панин А. В., Решетников Т. Б., Седова О. В., Степанов М. В., Стуков В. И., Худякова Л. П., Шевченко Е. Н., Шилова И. В. Виды цветковых растений, рекомендуемые для внесения в третье издание Красной книги Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 3. С. 303–309.
  44. Особо охраняемые природные территории России // Википедия [Электронный ресурс]. М., 2016. URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki> (дата обращения: 08.04.2017).
  45. Волков Ю. В. Сеть особо охраняемых природных территорий Саратовской области в ландшафтной структуре региона // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Науки о Земле. 2004. Т. 4, вып. 1–2. С. 167–174.
  46. Доклад о состоянии и об охране окружающей среды Саратовской области в 2015 г. Саратов, 2016. 237 с.
  47. Макаров В. З., Решетников М. В., Суворцева О. В., Чумаченко А. Н. Динамика техногенных снегогеохимических аномалий на территории г. Саратова за 1992–2010 годы // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Науки о Земле. 2012. Т. 12, вып. 1. С. 33–39.
  48. Чумаченко А. Н., Гусев В. А., Данилов В. А., Макаров В. З., Затонский В. А., Пичугина Н. В., Федоров А. В., Шлапак П. А. Геоэкологическая оценка качества поверхностных вод бассейна реки Чардым Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Науки о Земле. 2016. Т. 16, вып. 2. С. 93–97.
  49. Сомов А. Ю., Макаров В. З., Пролеткин И. В., Чумаченко А. Н. Применение геоинформационных технологий для анализа и регулирования электромагнитного загрязнения окружающей среды // Санитарный врач. 2010. № 6. С. 42–46.
  50. Сподобаев Ю. М., Кубанов В. П. Основы электромагнитной экологии. М. : Радио и связь, 2000. 240 с.
  51. Почечуева О. С. Электромагнитные излучения, намеренно направленные на вас. М. : ЛУМ, 2015. 30 с.
  52. Шляхтин Г. В., Чумаков М. И., Завьялов Е. В. Влияние электромагнитного излучения на рост и развитие растений и ассоциированных с ними почвенных микроорганизмов // Научные технологии. 2003. Т. 4, № 1. С. 72–78.
  53. Шляхтин Г. В., Аникин В. В., Завьялов Е. В., Костецкий О. В., Малинина Ю. В., Родвикова В. О., Сомов А. Ю., Якушев Н. Н. Влияния электромагнитных полей на структуру и динамику биологических систем надорганизменного уровня // Электромагнитная безопасность. Проблемы и пути решения : материалы науч.-практ. конф. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2000. С. 34–35.
  54. Морозенко Н. В., Завьялов Е. В., Шляхтин Г. В., Елисеев Д. В., Табачишина И. Е. Степень межпопуляционных различий обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) в Нижнем Поволжье на основе многомерного анализа признаков фоллидоза // Поволж. экол. журн. 2002. № 3. С. 288–292.
  55. Морозенко Н. В., Шляхтин Г. В., Завьялов Е. В. Анализ популяционной изменчивости окраски покровов обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) в Нижнем Поволжье // Вестн. Саратов. госагроун-та им. Н. И. Вавилова. 2003. № 4. С. 75–78.

#### Ecological Problems of the Saratov Region in Year Environment and the Year of Specially Protected of Natural Territories

A. N. Chumachenko, G. V. Shlyakhtin

Aleksey N. Chumachenko, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, rector@sgu.ru

Gennady V. Shlyakhtin, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, biofac@sgu.ru

The ecological problems of the Saratov region in the Year of Ecology and Protected Areas are discussed: the degradation and destruction of natural complexes, the reduction of species biological diversity and its causes, the need to expand the network of regional SPNA, reduce atmospheric pollution, hydrosphere and lithosphere (limiting emissions of harmful substances and reagents, non-waste technologies, introduction of alternative energy, modern technologies for waste processing and wastewater treatment), soil fertility conditions, growth new technogenic pollutants (electromagnetic, noise) environment.

**Key words:** Year of ecology, Specially Protected Natural Areas (SPNA), Saratov region, ecology, biodiversity.

#### Образец для цитирования:

Чумаченко А. Н., Шляхтин Г. В. Экологические проблемы Саратовской области в Год экологии и Год особо охраняемых природных территорий // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 345–357. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-345-357.

#### Cite this article as:

Chumachenko A. N., Shlyakhtin G. V. Ecological Problems of the Saratov Region in Year Environment and the Year of Specially Protected of Natural Territories. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 345–357 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-345-357.



УДК 574.472:595.782

## КРАЕВОЙ ЭФФЕКТ ВИДОВОГО СОСТАВА МОЛЕЙ-ЧЕХЛОНОСОК (LEPIDOPTERA, COLEOPHORIDAE) В ЛЕСОСТЕПНЫХ ЭКОТОНАХ ПОВОЛЖЬЯ

В. В. Аникин, О. В. Синичкина



Аникин Василий Викторович, профессор кафедры морфологии и экологии животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, доктор биологических наук. E-mail: anikinvasiliiv@mail.ru

Синичкина Ольга Владимировна, доцент кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, кандидат биологических наук. E-mail: Olga\_Sinichkina@mail.ru

В ходе исследований фауны чехлоносок юго-восточной части Европейской России в её лесостепной и степной ландшафтных зонах на территории Поволжья в 1990–2016 гг. было отмечено высокое видовое богатство и неоднородность таксономической структуры молей-чехлоносок в пограничных лесных и степных ценозах на границе с лесостепью. Было установлено обитание 172 видов молей-чехлоносок из 49 родов и их биотопическая приуроченность в исследованных ландшафтах. Анализ этих сведений и данных сравнения (методом построения дендрограмм сходства) на основе попарного расчета коэффициентов Жаккара позволяет сделать вывод о присутствии краевого эффекта у этой группы бабочек в экотонах «лес–лесостепь» и «степь–лесостепь» в виде высокого видового разнообразия (46% всего видового состава региона) и разноплановости таксономической структуры представителей данного семейства (62 % всех родов фауны региона).

**Ключевые слова:** краевой эффект, экотоны, моли-чехлоноски, Coleophoridae, Поволжье, Россия.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-358-362

### Введение

Исследования различных наземных биотопов европейской части России за последние десятилетия показали, что на ее территории расположены уникальные группировки беспозвоночных [1–4]. Это целый спектр видов элементов фауны членистоногих, которые обитают в различных ландшафтных экотонах региона. Экотон представляет собой уникальный комплекс со структурой видов, отличающейся от структуры окружающих его экосистем [5]. В конце 90-х гг. прошлого столетия авторам уже удалось установить специфичные ландшафтные экотоны региона «вода–суша» на границе береговой линии соленых озер Нижнего Поволжья. На этих участках складывается определенный таксономический состав представителей гелехиоидного

семейства чешуекрылых – молей-чехлоносок Coleophoridae, обладающих высокой плотностью популяций, чьи гусеницы образуют комплекс узких олигофагов, предпочитающих галофильные растения [6]. Целью данной работы являлось изучение состава и структуры видовых комплексов молей-чехлоносок наземных экотонных биотопов степной и лесостепной ландшафтных зон Поволжья. Для этого был исследован состав комплексов чешуекрылых экотонных биотопов и проведен их сравнительный анализ.

### Материалы и методы

Полевые сборы молей-чехлоносок проводились авторами с 1990 г. по 2016 г. в период с мая по октябрь, были обследованы степные, лесостепные и лесные ландшафты Нижнего и Среднего Поволжья в Астраханской, Волгоградской, Самарской и Ульяновской областях, включая Республику Калмыкию.

Сборы чешуекрылых осуществлялись как в дневное, так и в ночное время с привлечением на свет и использованием энтомологических светоловушек. Источниками света служили лампы ДРЛ-400 и ДРЛ-300 и переносной бензиновый генератор PPG-800. Методики хранения и обработки материала универсальны; препараты гениталий изготавливались способом выдерживания в растворе щелочи; морфологические исследования проводились с использованием бинокля МБС-9. Определение чехлоносок велось по отечественной и зарубежной литературе [7–11]. Всего было собрано и обработано около 10000 экземпляров молей-чехлоносок, относящихся к 172 видам из 49 родов [12–14], изготовлено более 1200 препаратов гениталий. Поименованные коллекционные экземпляры хранятся в коллекционных фондах Зоологического института РАН (ЗИН) в Санкт-Петербурге, Саратовского государственного национального исследовательского университета и Самарского государственного университета. Определение кормовых растений гусениц молей-чехлоносок проводилось сотрудниками кафедры ботаники и экологии Саратовского национального исследовательского государственного университета.



При проведении работы фиксировалась приуроченность каждого вида к определенному биотопу. Исходя из данных по видовому составу различных биотопов было произведено сравнение их фаунистических комплексов. Сравнение проводилось методом построения дендрограмм сходства на основе попарного расчета коэффициентов Жаккара (качественное сравнение видовых комплексов). Матрица распространения обрабатывалась с помощью оригинальной компьютерной программы, составленной И. С. Плотниковым [15], группирующей сходные фауны по среднему, ближнему или дальнему соседству по относительному видовому обилию или качественному признаку (наличие или отсутствие регистрации каждого вида в каждом биотопе) и строящей дендрограмму. Полный список экземпляров, используемый для составления матрицы, не приводится.

### Результаты и их обсуждение

Анализ полученных данных показал, что наибольшая плотность популяций видов и высокий показатель таксономической структуры приходится на относительно узкую экотонную полосу вдоль границы лесных и степных ценозов с лесостепью. Ранее авторами отмечался данный эффект для аридных ландшафтов Нижнего Поволжья у обитателей соляных озер [6], в очагах вспышки массовых вредителей чешуекрылых субаридных экотонов Южного Урала [16, 17], прибрежных экотонах юго-востока среднерусской лесостепи [18].

Наглядно такое распределение видов на экотонных участках степной и лесостепной природных зон было продемонстрировано с помощью применения метода сравнительного анализа с использованием расчета коэффициента Жаккара. Для этого была использована программа И. С. Плотникова (ЗИН РАН). Построенная кладограмма сходства видовых комплексов молей-чехлоносок по встречаемости в биотопах (степь, лесостепь, лес) показала наличие хорошо очерченных 6 видовых групп, которые были сгруппированы в кластеры с I по VI (рис. 1).

**Кластер I.** Самая малочисленная группа из 8 видов (4.6% от общего числа фауны) из 7 родов (14% от таксономического состава) включала в себя обитателей типичных лесных биотопов (*Agapalsa idaeella*, *Dumitrescumia hydrolapathella*, *Haploptilia katunella*, *Perygra caespititiella*, *Perygra adjunctella*, *Phylloschema glitzella*, *Protocryptis sibiricella*, *Rhamnina ahenella*), обнаруженных в фитоценозах с присутствием кормовых растений гусениц (узких олигофагов) *Juncus*, *Larix*, *Lonicera*, *Rhamnus*, *Rumex*, *Viburnum*, *Vaccinium*.

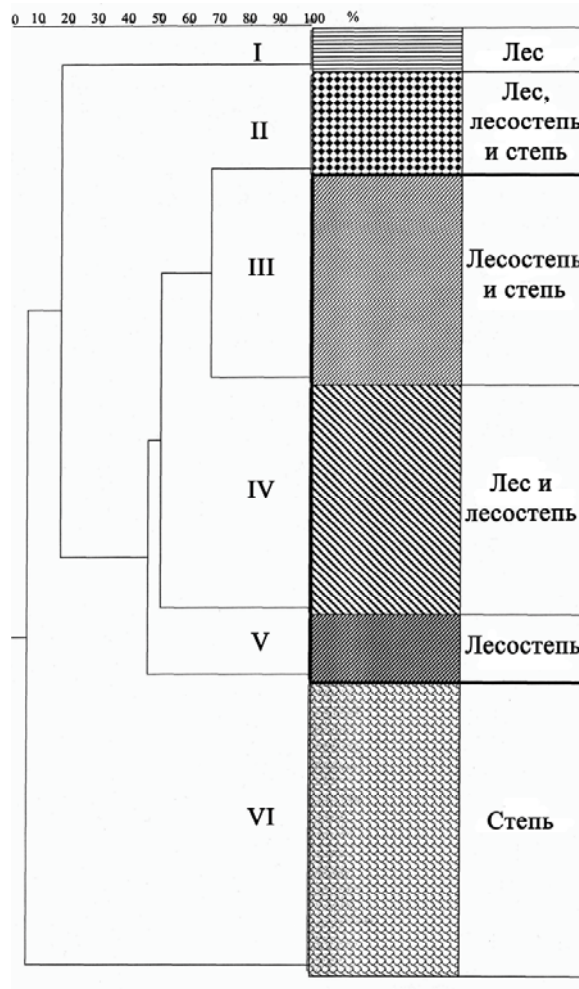


Рис. 1. Дендрограмма сходства видового состава по биотопам фаун (коэффициент Жаккара, присоединение по ближнему соседу)

**Кластер V.** В группу видов, встреченных только в лесостепных биотопах, вошло 12 молей-чехлоносок (7%) из 8 родов (16%): *Argeractinia ochrea*, *Augasma ujanovski*, *Casignetella albilineella*, *C. inulae*, *C. peribenanderi*, *C. ramosella*, *C. riffelensis*, *Ecebalia virgaureae*, *Klimeschja oriolella*, *Multicoloria vibicella*, *Perygra numeniella*, *Scleriductia ochripennella*. Гусеницы молей этих видов (узкие олигофаги) развиваются на *Arctium*, *Aster*, *Ballota*, *Carduus*, *Cirsium*, *Dianthus*, *Eupatorium*, *Helianthemum*, *Inula*, *Genista*, *Lamium*, *Stachys*.

**Кластер VI.** Чехлоноски, обитающие в степных биотопах, составили группу из 53 видов (31 %) из 15 родов (10 %): *Amselghia argyrella*, *Apista rebeli*, *A. kasyi* и *A. impalella*, *Aporiptura nigradorsella*, *Chnoocera botaurella*, *Eupista lixella* и *E. samarensis*, *Goniodoma limoniella* и *G. aurogutella*, *Ionescumia clypeiferella* и *I. dilabens*, *Klinzigedia phlomidella* и *K. phlomidis*, *Oedicaula serinipennella*, *Orthographis uralensis*, *Valvulonia*



*falcigerella*, 4 представителя из рода *Multicoloria*, 6 – из рода *Carpochena*, 11 – из рода *Ecebalia* и 15 – из рода *Casignetella*.

В качестве кормовых растений для гусениц данной группы чехлоносок (узкие и широкие олигофаги) используются виды, произрастающие в степных биотопах и принадлежащие следующим родам: *Alhagi*, *Arthropytum*, *Artemisia*, *Astragalus*, *Atriplex*, *Bassia*, *Briza*, *Chenopodium*, *Corispermum*, *Fallopia*, *Glycyrrhiza*, *Herniaria*, *Kochia*, *Limonium*, *Phlomis*, *Suaeda* и *Thymus*. Большое количество степных видов легко объясняется географическим положением района исследований и преобладанием на нем субаридных и аридных территорий.

Два близких кластера ( $Kf = 0.47$ ) со статусом переходных (здесь виды могут встречаться в разных биотопах одновременно) объединяют 80 видов (46% всего видового состава региона) из 31 рода (62% всех родов).

**Кластер III.** В лесостепных и степных биотопах обнаружено 38 видов из 11 родов: *Amselghia fringillella*, *Aporiptura eurasiatica*, *A. klimeschiella*, *Ardania trifariella*, *A. saturatella*, *Calcomarginia ballotella*, *Carpochena unipunctella*, *Casignetella artemisicolella*, *C. artemisiella*, *C. ciconiella*, *C. directella*, *C. galatellae*, *C. galbulipennella*, *C. gardesanella*, *C. gnaphalii*, *C. granulata*, *C. niveistrigella*, *C. paripennella*, *C. pseudociconiella*, *C. succursella*, *C. trochilella*, *Ecebalia attalicella*, *E. bagorella*, *E. charadriella*, *E. pseudolinosyris*, *Eupista ornatipennella*, *Klimeschja vulnerariae*, *Multicoloria astragalella*, *M. caelebipennella*, *M. cartilaginella*, *M. conspicuella*, *M. ditella*, *M. paritella*, *M. pseudoditella*, *M. tshiligella*, *M. vicinella*, *M. vibicigerella*, *Symphypoda parthenica*.

Гусеницы – в большинстве своем широкие олигофаги – питаются на *Achillea*, *Anthyllis*, *Arctium*, *Artemisia*, *Astragalus*, *Atriplex*, *Ballota*, *Caragana*, *Carduus*, *Carlina*, *Centaurea*, *Chenopodium*, *Crinitaria*, *Dactylis*, *Eupatorium*, *Galatella*, *Genista*, *Gypsophila*, *Helichrysum*, *Inula*, *Kochia*, *Lamium*, *Marrubium*, *Medicago*, *Oberna*, *Pyrethrum*, *Salsola*, *Salvia*, *Serratula*, *Silene*, *Solidago*, *Stachys*, *Tanacetum*, *Viscaria*.

**Кластер IV.** В лесных и лесостепных биотопах были отмечены 42 вида (24.4%) из 23 родов (46%): *Agapalsa lusciniapennella*, *Apista gallipennella*, *Augasma aeratella*, *Bourgogneja pennella*, *Cepurga hemerobiella*, *Casignetella dianthi*, *C. graminicolella*, *C. kyffhusana*, *C. silenella*, *C. solitariella*, *C. striatipennella*, *Coleophora albidella*, *C. anatipennella*, *C. bernoulliella*, *C. currucipennella*, *C. ibipennella*, *C. kuehnella*, *C. zelleriella*, *Damophila alcyonipennella*, *D. frischella*, *Frederickoenigia flavipennella*, *Haploptilia prunifolia*, *H. serratella*,

*H. spinella*, *Kasyfia binderella*, *K. orbitella*, *Klinzigedia wockeella*, *Metriotes lutarea*, *Multicoloria craccella*, *Orghidania gryphipennella*, *Paravalvulia spiraeella*, *Postvinculia lutipennella*, *Perygra alticolella*, *P. glaucicolella*, *P. taeniipennella*, *Quadratia fuscocuprella*, *Razowskia coronillae*, *Suireia badiipennella*, *S. limosipennella*, *S. milvipennis*, *Systrophoeca siccifolia*, *Tollisia violacea*.

Гусеницы этих видов (узкие олигофаги – 16%, широкие олигофаги – 56%, древесные полифаги – 28%) кормятся на *Alnus*, *Amelanchier*, *Arenaria*, *Astragalus*, *Ballota*, *Betonica*, *Betula*, *Centaurea*, *Cerastium*, *Cerasus*, *Coronilla*, *Corylus*, *Crataegus*, *Dianthus*, *Echium*, *Filipendula*, *Fraxinus*, *Gypsophila*, *Juncus*, *Lappula*, *Malus*, *Myosotis*, *Onosma*, *Polygonum*, *Populus*, *Potentilla*, *Prunus*, *Pulmonaria*, *Pyrus*, *Quercus*, *Rosa*, *Salicornia*, *Salix*, *Scabiosa*, *Silene*, *Spiraea*, *Sorbus*, *Stachys*, *Stellaria*, *Tilia*, *Trifolium*, *Ulmus*, *Vicia*, *Viscaria*.

**Кластер II.** Отдельный кластер из 19 видов (11%) из 12 родов (24%) составил особую группу молей-чехлоносок, обитающих во всех трех типах биотопов – лесных, лесостепных и степных. Это представители видов: *Atractula glycyrrhizae*, *Ascleriducta lithargyrinella*, *Casas albella*, *Casignetella argentula*, *C. tanacetii*, *C. absinthii*, *Coleophora betulella*, *Damophila deauratella*, *D. mayrella*, *D. trifolii*, *Dumitrescumia cecidophorella*, *Ecebalia adpersella*, *E. pratella*, *Halvalbia lineolea*, *Multicoloria fuscociliella*, *Orthographis ptarmicia*, *O. serratulella*, *Phagolamia auricella*, *Ph. virgatella*.

Гусеницы этих видов (широкие олигофаги) развиваются на травянистых растениях и деревьях которые, как правило, встречаются во всех биотопах. Кормовыми растениями для них являются: *Artemisia absinthium*, *Achillea millefolium*, *Melilotus officinalis*, *Tanacetum vulgare*, *Serratula tinctoria*, *Trifolium arvense*, *T. pratense*, а также различные виды *Atriplex*, *Ballota*, *Betonica*, *Betula*, *Cerastium*, *Chenopodium*, *Coronilla*, *Fallopia*, *Lamium*, *Medicago*, *Polygonum*, *Salix*, *Salvia*, *Silene*, *Stachys*, *Stellaria*, *Viscaria*.

Распределение видов по биотопам хорошо очерчивает большую группу видов, занимающих «краевые полосы» у переходных биотопов, т.е. наблюдается проявление краевого эффекта у этой группы бабочек в экотонах «лес–лесостепь» и «степь–лесостепь» в виде видового разнообразия и разноплановости таксономической структуры представителей данного семейства (рис. 2).

### Заключение

Таким образом, анализ полученных результатов по распределению и составу видовых групп

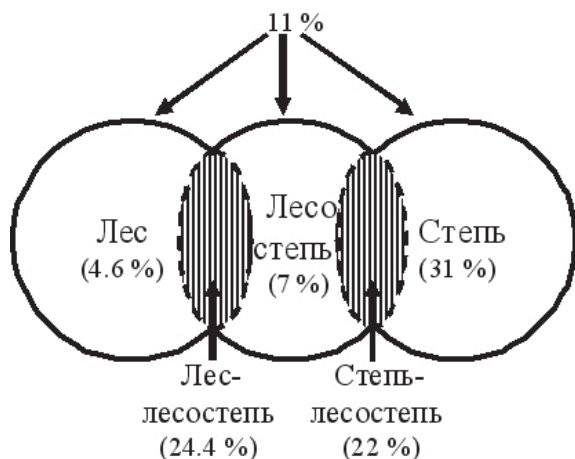


Рис. 2. Соотношение видового состава молей-чехлоносок по биотопам (заштрихованные участки – краевые зоны экотонных)

молей-чехлоносок позволяет авторам говорить о наличии экотонных участков в степной и лесостепной природных ландшафтных зонах Поволжья на стыке биотопов «степь–лесостепь» и «лес–лесостепь». Два близких биотопа со статусом переходных (здесь виды могут встречаться в разных биотопах одновременно) объединяют 80 видов (46% всего видового состава региона) из 31 рода (62 % всех родов).

Основной состав комплексов молей-чехлоносок в экотонных биотопах формируется за счет трех главных экологических группировок с пищевой специализацией – узких и широких олигофагов на травянистой и древесных растениях, эврибионтов полифагов древесной растительности.

### Благодарности

Авторы приносят глубокую признательность коллегам за помощь в предоставлении материала С. Ю. Синеву (Зоологический институт РАН, г. С.-Петербург), В. В. Золотухину (Ульяновский государственный педагогический университет), С. А. Сачкову (Самарский государственный университет), за помощь в определении растений М. А. Березуцкому (Саратовский государственный медицинский университет) и М. В. Лаврентьеву (Саратовский национальный исследовательский государственный университет), за возможность использовать программное обеспечение – И. С. Плотникову (Зоологический институт РАН, г. С.-Петербург).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-04-01045).

### Список литературы

1. Присный А. В. Экстраразональные группировки в фауне наземных насекомых юга Среднерусской возвышенности. Белгород : Изд-во Белгор. ун-та, 2003. 296 с.
2. Полтавский А. Н., Страдомский Б. В., Щуров В. И. Реликтовые элементы в фауне чешуекрылых (Lepidoptera) степной зоны юга России. Сообщение I // Вестн. ЮНЦ РАН. 2007. Т. 3, № 1. С. 54–60.
3. Полтавский А. Н., Страдомский Б. В., Щуров В. И. Реликтовые элементы в фауне чешуекрылых (Lepidoptera) степной зоны юга России. Сообщение I // Кавказ. энтомол. бюл. 2007. Т. 3, № 2. С. 223–234.
4. Аникин В. В. Ландшафтные экотоны Нижнего Поволжья как рефугиумы реликтовых элементов фауны наземных членистоногих // Проблемы изучения краевых структур биоценозов : тез. докл. Всерос. семинара. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2008. С. 124–128.
5. Одум Ю. Экология : в 2 т. М. : Мир, 1986. Т. 2. С. 151.
6. Аникин В. В., Синичкина О. В. Краевой эффект в таксоценозах чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) прибрежных ландшафтов соляных озер Нижнего Поволжья // Вопросы биоценологии : сб. науч. тр. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 1998. С. 65–71.
7. Toll S. Rodzina Eupistidae polski // Documenta Physiographica Poloniae. 1953. Vol. 32. 293 p.
8. Toll S. Materialien zur Kenntnis der palaarktischen Arten der Familie Coleophoridae (Lepidoptera) // Acta Zool. Krakov, 1962. Vol. 7, № 16. P. 577–720.
9. Razowski J. Motyle (Lepidoptera) Polski, Część XVI – Coleophoridae. Monografie Fauny Polski 18 / Polska Akademia Nauk. Warszawa ; Kraków, 1990. 270 p. + 1 pl.
10. Baldizzone G., Wolf H. W. van der. Corrections of and additions to the Checklist of European Coleophoridae (Lepidoptera : Coleophoridae) // SHILAP Revista de Lepidopterologia. 2000. Vol. 28 (112). P. 395–428.
11. Фалькович М. И. Новые таксоны чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) пустынной зоны Палеарктики // Энтомологическое обозрение. 2005. Т. 84, вып. 1. С. 167–176.
12. Anikin V. V., Sachkov S. A., Zolotuhin V. V. «Fauna Lepidopterologica Volgo-Uralensis» 150 years later: changes and additions. Part 4. Coleophoridae, Gelechiidae, Symmocidae and Holcopogonidae (Insecta, Lepidoptera) // Atalanta. 1999. Vol. 29, № 1/4. P. 295–336.
13. Аникин В. В. Новые и малоизвестные виды чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) из России, живущих на маревых (Chenopodiaceae) // Энтомологическое обозрение. 2005. Т. 84, вып. 2. С. 387–406.
14. Аникин В. В. Coleophoridae. – Каталог чешуекрылых (Lepidoptera) России / под ред. С. Ю. Синёва. СПб. ; М. : Т-во науч. изд. КМК, 2008. С. 77–90.
15. Плотников И. С., Сидоренко В. С., Кривохатский В. А. Зоогеографический анализ дрозофилид (Diptera, Drosophilidae) Палеарктики с описанием программы



кластеризации провинциальных фаун // Энтомологическое обозрение. 2013. Т. 92, вып. 1. С. 102–119.

16. Симоненкова В. А., Колтунов Е. В. Особенности динамики очагов массового размножения листогрызущих насекомых-вредителей в лесах Южного Предуралья // Изв. Оренб. гос. аграр. ун-та. 2013. № 2. С. 246–250.
17. Симоненкова В. А., Кулагин А. Ю. Экологические особенности основных филофагов лиственных и хвойных лесообразователей Южного Предуралья // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2014. Т. 16, № 1. С. 127–133.
18. Кондратьева А. М., Голуб В. Б., Аксёненко Е. В. Полужесткокрылые семейства Rhopalidae (Heteroptera) прибрежных экотонів юго-востока среднерусской лесостепи // Фундаментальные исследования. 2013. № 10, ч. 14. С. 3098–3101.

**The Edge Effect of Casebearer Species (Lepidoptera, Coleophoridae) in the Forest-steppe Ecotones of Lower Volga Region**

**V. V. Anikin, O. V. Sinichkina**

Vasilii V. Anikin, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, anikinvasiliiv@mail.ru

Olga V. Sinichkina, Saratov State Medical University named after V. V. Razumovsky, 112, B. Kazach'ya Str., Saratov, 410012, Russia, Olga\_Sinichkina@mail.ru

The casebearer's fauna of the South-East of European Russia in its forest-steppe and steppe landscape zones on the territory of the Volga region in 1990–2016 was studied. The high species richness and the heterogeneity of the taxonomic structure of the casebearer moths on the border of forest and steppe cenoses on the border with the steppe were observed. It was established dwelling 172 species of casebearers of the 49 genera and their biotopical distribution in the studied landscapes. Analyzing these data and the comparison data (using method for constructing dendrograms) based on Jaccard similarity coefficient calculation, the conclusion about the presence of the edge effect in this group of butterflies in ecotones „forest–steppe“ and „steppe–forest-steppe“ in the form of high species diversity (46% of the total species composition of the region) and diversity of the taxonomic structure of the family members (62% of all genera of the fauna of the region) was established.

**Key words:** edge effect, ecotones, casebearers, Coleophoridae, Volga Region, Russia.

*Acknowledgements:* This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project no. 15-04-01045).

**Образец для цитирования:**

Аникин В. В., Синичкина О. В. Краевой эффект видового состава молей-чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) в лесостепных экотонах Поволжья // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 358–362. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-358-362.

**Cite this article as:**

Anikin V. V., Sinichkina O. V. The Edge Effect of Casebearer Species (Lepidoptera, Coleophoridae) in the Forest-steppe Ecotones of Lower Volga Region. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 358–362 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-358-362.

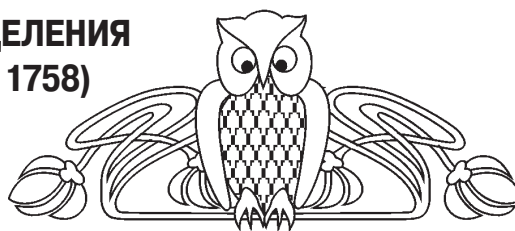




УДК 574.9:004.94:599.744

## ГЕОИНФОРМАЦИОННАЯ МОДЕЛЬ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЕВРОПЕЙСКОГО БАРСУКА (*MELES MELES* L., 1758) В САРАТОВСКОМ ПРАВОБЕРЕЖЬЕ

О. Д. Бохина, В. А. Болдырев



Бохина Оксана Дмитриевна, инженер, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: lpx64ksu@yandex.ru

Болдырев Владимир Александрович, заведующий кафедрой ботаники и экологии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, профессор, доктор биологических наук. E-mail: boldyrevva@info.sgu.ru

Геоинформационные модели распределения видов находят все большее применение в популяционной экологии. В статье описано создание геоинформационной модели пространственного распределения барсука в пределах саратовского Правобережья. В задачи исследования входил отбор параметров согласно критериям пригодности местообитаний европейского барсука. Для построения модели использована программа ArcGis. Данный метод позволил выявить 211 потенциально подходящих местообитаний барсука. Результатом исследования является карта возможных местообитаний европейского барсука.

**Ключевые слова:** геоинформационные модели, саратовское Правобережье, европейский барсук.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-363-364

Геоинформационные модели распределения видов находят все большее применение в популяционной экологии. Данный метод обеспечивает понимание взаимосвязи между свойствами местообитания и распределением вида на территории.

Современные методики оценки численности европейского барсука (*Meles meles* L.) предполагают экстраполяцию вычисленной средней плотности на уголья, пригодные для обитания этого вида. При поиске этого вида чаще всего используется опросный метод и обследуются лишь известные стационарные поселения. Ряд авторов считает, что существующие методы учета позволяют определить лишь относительную численность барсука [1, 2].

### Цели и задачи

Целью данной работы являлось создание геоинформационной модели пространственного распределения барсука в пределах саратовского Правобережья. В задачи исследования входило: отбор параметров согласно критериям пригодности местообитаний европейского барсука на десяти стационарных поселениях, разработка

технологической схемы определения мест обитания, создание модели пригодных местообитаний, анализ построения модели.

### Материалы и методы

Подобный метод поиска местообитаний животных с помощью геоинформационных моделей программы ArcGis успешно использован для выявления параметров экосистем, используемых разными видами животных [3]. Принцип метода заключается в том, что слои карты, представляющие различные критерии (расположенность в пределах 5 км от водоема, наличие сильно изрезанного рельефа оврагами и балками со склонами 10–60 градусов, отсутствие населенных пунктов и дорог с интенсивным движением транспорта в радиусе 1 км), накладываются друг на друга для создания нового слоя, содержащего области, соответствующие этим критериям [4, 5].

### Результаты и их обсуждение

Использованный метод позволил выявить 211 потенциально подходящих местообитаний барсука в саратовском Правобережье. Наиболее крупные участки (15–378 км<sup>2</sup>), приходятся на Хвалынский, Вольский, Воскресенский, Новобураский, Красноармейский районы. Преобладающая часть подходящих территорий располагается на Приволжской возвышенности, которая характеризуется сложным рельефом. В остальных районах Правобережья, расположенных на Окско-Донской низменности, подходящие участки имеют меньший размер (0.13–14.9 км<sup>2</sup>), более удалены друг от друга и чаще приурочены к долинам рек. Общая площадь территории, пригодная для обитания барсука, составляет 1587 км<sup>2</sup> (3.45% от всей изученной территории).

Для проверки построения карты местообитаний были проверены исследования численности и плотности популяций барсука. Области с наибольшей плотностью его поселений соответствуют территориям, на которых, согласно модели, находится наибольшее количество участков, подходящих для этого вида. Из 54 известных поселений 45 (83.33%) приходятся на прогнозируемые местообитания, остальные 9 поселений



(16.47%) не учитывались, по причине близкого расположения к дорогам и населенным пунктам.

Результатом исследования является карта возможных местообитаний европейского барсука. Геоинформационная модель может применяться как дополнительный метод поиска местообитаний европейского барсука, так и как карта подходящих территорий для расселения этого вида.

#### Список литературы

1. Бондарев А. Я., Дежкин А. В., Павлов П. М. О методах учета численности барсуков // Состояние среды обитания и фауна охотничьих животных России и сопредельных территорий : материалы II Междунар., VII Всерос. науч.-практ. конф. Балашиха, 2016. С. 42–47.
2. Горшков П. К. К методике количественного учета барсука, енотовидной собаки и картирования их нор // Естественная производительность и продуктивность охотничьих угодий СССР : материалы Всесоюз. науч.-произв. конф. : в 2 ч. Ч. II. Киров, 1969. С. 234–236.
3. Кокорина И. П. Применение геоинформационных методов в зоогеографическом картографировании // ИНТЕРЭКСПО ГЕО-СИБИРЬ : материалы конф. № 2. Новосибирск, 2010. С. 151–154.
4. Минаков И. А. Барсук (*Meles anakuta* Temminck, 1844)

в лесостепях восточной части Минусинской котловины : ареал, морфология, экология, ресурсы : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск : КГУ, 2004. 155 с.

5. Esri CIS. URL: [http://esri-cis.ru/upload/docs/arcgis/ArcGIS%209.3.1/3DAnalyst\\_Tutorial.pdf](http://esri-cis.ru/upload/docs/arcgis/ArcGIS%209.3.1/3DAnalyst_Tutorial.pdf) (дата обращения: 19.09.2016).

#### Geoinformation Models of the Spatial Distribution of the *Meles meles* L., 1758 within Saratov Right Bank

O. D. Bokhina, V. A. Boldyrev

Oksana D. Bokhina, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, lynx64ksu@yandex.ru

Vladimir A. Boldyrev, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, boldyrevva@info.sgu.ru

Geoinformation models of species distribution are increasingly used in population ecology. The article describes the creation of a geoinformation model of the spatial distribution of the badger within the Saratov right bank. The research tasks included the selection of parameters according to the criteria for the suitability of European badger habitats. ArcGis is used to build the model. This method allowed to identify 211 potentially suitable habitats of the badger. The result of the study is a map of possible habitats of the European badger.

**Key words:** geoinformation models, Saratov right bank, European badger.

#### Образец для цитирования:

Бохина О. Д., Болдырев В. А. Геоинформационная модель распределения европейского барсука (*Meles meles* L., 1758) в саратовском Правобережье // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 363–364. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-363-364.

#### Cite this article as:

Bokhina O. D., Boldyrev V. A. Geoinformation Models of the Spatial Distribution of the *Meles meles* L., 1758 within Saratov Right Bank. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 363–364 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-363-364.



УДК [599.723.2/733.1:591,53](470.61)

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПИТАНИЯ ЛОШАДИ ПРЖЕВАЛЬСКОГО (*EQUUS FERUS PRZEWALSKII*, POLIAKOV, 1881) И ВЕРБЛЮДА ДВУГОРБОГО (*CAMELUS BACTRIANUS* L., 1758) ПРИ ПОЛУВОЛЬНОМ СОДЕРЖАНИИ В УСЛОВИЯХ ДЕРНОВИННОЗЛАКОВЫХ СТЕПЕЙ КУМО-МАНЫЧСКОЙ ВПАДИНЫ



К. С. Марцоха, А. Г. Башинская, А. В. Беляченко

Марцоха Кирилл Сергеевич, бакалавр, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: box4nevervinter@gmail.com

Башинская Анастасия Глебовна, бакалавр, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: box4nevervinter@gmail.com

Беляченко Александр Владимирович, доцент кафедры морфологии и экологии животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: box4nevervinter@gmail.com

Обеспеченность пищей – один из важнейших факторов динамики популяций животных, который зависит от состояния кормовых ресурсов в окружающей среде и варьирует при их изменении. Изучалось питание лошади Пржевальского (*Equus ferus przewalskii*, Poliakov, 1881) и двугорбого верблюда (*Camelus bactrianus* L., 1758) полувольного содержания. Оба животных малочисленны, занесены в Красный лист видов, находящихся под угрозой исчезновения МСОП (The IUCN Red List of Threatened Species). Лошадь Пржевальского имеет охранный статус EN (вид, находящийся под угрозой исчезновения) [1], занесена в Красные книги Международного союза охраны природы и Российской Федерации. Двугорбый верблюд имеет охранный статус CR (виды на грани исчезновения) [1]. Анализ питания этих видов и оценка кормовой эффективности предполагаемых пастбищ поможет сделать их разведение более продуктивным для дальнейшего сохранения биоразнообразия.

**Ключевые слова:** верблюд двугорбый, лошадь Пржевальского, состав рациона, переваримость корма, злаки, разнотравье, деградация пастбищных экосистем.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-365-366

Целью работы является проведение сравнительного анализа рационов лошади Пржевальского и двугорбого верблюда в условиях полувольного содержания на территории национального заповедника «Ростовский» в Кумо-Маньчской впадине. В ходе исследования были поставлены следующие задачи: выявление конкретных видов растений, которыми питались лошади и верблюды, определение коэффициента переваримости потребляемых растений, оценка качества кормовой растительности и анализ пригодности пастбищ для содержания и разведения лошадей и верблюдов.

### Материалы и методы

Полевые материалы были собраны на степном пастбище вольерного комплекса, расположенного на территории национального заповедника «Ростовский». Мы наблюдали стадо лошадей из 9, а осенью – 10 особей вольерного содержания и верблюдов в составе 25 особей на неогороженных участках. Проводились ежедневные учеты количества дефекаций, собирались образцы экскрементов, которые взвешивались, высушивались в сухожаровом шкафу до полной потери влаги и обрабатывались слабым раствором соляной кислоты [2]. При камеральной обработке мы использовали метод микрогистологического капрологического анализа для определения соотношения видов растений в рационе животных [3].

Коэффициент переваривания сухого вещества корма ( $D$ , %) рассчитывался по формуле

$$D = \frac{f - v}{v} \times 100,$$

где  $v$  и  $f$  – концентрация органогенного кремния соответственно в корме и фекалиях [2, 4].

Концентрация кремния определялась методом Класона, в который были внесены определенные модификации. Количественный анализ содержания кремния был выполнен на основе кислотного гидролиза образцов растений и экскрементов с использованием колориметрического метода кремнемолибденовой сини [5].

### Результаты и их обсуждение

В ходе исследования, проводившегося с марта по ноябрь 2016 г., было установлено, что в рационе верблюдов доминирует разнотравье, а в рационе лошадей – злаки. Кормовые растения верблюдов, такие как лебеда (*Atriplex sp.*), липучка (*Lapulla sp.*), сведа (*Suaeda sp.*), яснотка (*Lamium sp.*) и др., либо совсем отсутствуют в рационе лошадей, либо присутствуют, но в минимальных количествах. В то же время растения, доминирующие в питании лошадей, такие как пырей ползучий (*Elytrigia repens* (L.) Nevski), мятлик луковичный (*Poa bulbosa* L.), житняк (*Agropyron sp.*), костер



безостый (*Bromus inermis* (Leyss.) Holub) и др., практически не встречаются в рационе верблюдов или их доля очень мала.

Установлено, что переваримость кормов в период исследования находилась на сравнительно высоком уровне, сходном с показателями переваримости зерновых кормов и кормовой свеклы у сельскохозяйственных животных: в пределах 60% у верблюдов и 56% у лошадей. Выявлено, что исследуемые животные приспособлены к проживанию в южных степях России. При совместном выпасе этих животных, чьи трофические ниши незначительно пересекаются, экосистема пастбища не будет деградировать.

#### Список литературы

1. The IUCN Red List of Threatened Species. URL: <http://www.iucnredlist.org/details/7961/0> ver 3.1 (дата обращения: 14.02.2017).
2. Абатуров Б. Д., Колесников М. П., Никонова О. А., Позднякова М. К. Опыт количественной оценки питания свободнопасущихся млекопитающих в естественной среде обитания // Зоол. журн. 2003. Т. 82, № 1. С. 104–114.
3. Инструкция для зональных агрохимических лабораторий по анализу кормов и растений. М.: Колос, 1968. 56 с.
4. Ely R. E., Kane E. A., Jacobson W. C., Moore L. A. Studies on the composition of lignin isolated from orchard grass hay cut at stages of maturity and from corresponding feces // J. Dairy Science. 1953. Vol. 36. P. 346–355.
5. Абатуров Б. Д., Казьмин В. Д., Колесников М. П. Питание бизонов (*Bison bison*), верблюдов (*Camelus bactrianus*) и лошадей (*Equus caballus*) при совместной пастьбе на изолированном степном пастбище // Зоол. журн. 2015. Т. 94, № 12. С. 1470–1478.

#### Comparative Analysis of Rations of Przewalski's Horse (*Equus Ferus Przewalskii*, Poliakov, 1881) and Bactrian Camel (*Camelus Bactrianus* L., 1758) Bred in Environment of Kuma-Manuch Depression's Steppe

K. S. Marchocha, A. G. Bashinsky, A. V. Belyachenko

Kirill S. Marchocha, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, box4nevervinter@gmail.com

Anastasiya G. Bashinsky, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya str., Saratov, 410012, Russia, box4nevervinter@gmail.com

Aleksandr V. Belyachenko, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, box4nevervinter@gmail.com

As known, food supplies is one of the most important factors of populations dynamics, which depends itself on a condition of nutrition and might change within. Objective of research is comparison analysis of rations of *E. przewalskii* and *C. bactrianus*, which was semi-corral bred on a land of a "Rostovsky" nature reserve. To achieve the goal of research following tasks was set: identification of exact plants species in rations of animals, determination of digestibility coefficient of that plants, estimation nutrition quality and analysis validity of containing such animals on a similar pastures.

**Key words:** Asian wild horse, Przewalski's horse, bactrian camel, ration content, digestibility, gramineae, forbs.

#### Образец для цитирования:

Марцоха К. С., Башинская А. Г., Беляченко А. В. Сравнительный анализ питания лошади Пржевальского (*Equus ferus przewalskii*, Poliakov, 1881) и верблюда двугорбого (*Camelus bactrianus* L., 1758) при полувольном содержании в условиях дерновиннозлаковых степей Кумо-Манычской впадины // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 365–366. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-365-366.

#### Cite this article as:

Marchocha K. S., Bashinsky A. G., Belyachenko A. V. Comparative Analysis of Rations of Przewalski's Horse (*Equus Ferus Przewalskii*, Poliakov, 1881) and Bactrian Camel (*Camelus Bactrianus* L., 1758) Bred in Environment of Kuma-Manuch Depression's Steppe. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 365–366 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-365-366.