Орбиталь

№ 1 (2), 2018

theorbital.ru

Электронный научный журнал

Орбиталь

№ 1 (2), 2018 г.

Все статьи, публикуемые в журнале, рецензируются членами редакционного совета, а также привлеченными редакцией экспертами.

Журнал ориентирован на широкий круг ученых, специалистов-практиков, студентов, магистрантов и преподавателей, участвующих в научно-исследовательской работе.

Мнение авторов может не совпадать с мнением редакции.

Издатель: ООО «Межрегиональный институт развития территорий», Ялта, Республика Крым. Главный редактор журнала — Макаричева Анна Алексеевна — кандидат биологических наук, доцент кафедры валеологии и безопасности жизнедеятельности Таврической академии Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского.

Учредители: ООО «Межрегиональный институт развития территорий», О. В. Старцева.

Журнал издается с сентября 2017 года.

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор). Свидетельство о регистрации: ЭЛ № ФС 77-70590 от 03.08.2017 (СМИ — «сетевое издание»).

Периодичность: 4 раза в год.

Выпуски журнала размещаются на сайте www.theorbital.ru

E-mail редакции: red@theorbital.ru

Редакционный совет

Макаричева Анна Алексеевна — главный редактор, канд. биол. наук, доцент кафедры валеологии и безопасности жизнедеятельности Таврической академии Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского

Старцева Ольга Валентиновна — директор журнала, ответственный секретарь

Члены редакционного совета:

Евстафьева Елена Владимировна — д-р мед. наук, д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии и отделом экологических рисков Медицинской академии им. С. И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского, заслуженный деятель науки и техники Республики Крым

Микулец Юрий Иванович — д-р биол. наук, проректор по научной работе в Автономной некоммерческой организации высшего образования «Московский гуманитарно-экономический университет»

Нехорошев Сергей Викторович — д-р техн. наук, ведущий научный сотрудник проблемной научно-исследовательской лаборатории Ханты-Мансийской государственной медицинской академии

Родин Игорь Александрович — д-р хим. наук, заместитель декана химического факультета по инновационной деятельности, старший научный сотрудник Аналитического центра химического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова

Федотова Юлия Олеговна — д-р биол. наук, профессор кафедры химии и молекулярной биологии Университета информационных технологий, механики и оптики, ведущий научный сотрудник лаборатории нейроэндокринологии Института физиологии имени И. П. Павлова Российской академии наук

Аблялимов Осман Куртсеитович — PhD in chemistry, ведущий научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинской академии им. С. И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского

Айрапетов Марат Игоревич — канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины»

Белов Денис Владимирович — канд. хим. наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Нижегородской государственной медицинской академии

Василевич Наталья Ивановна — канд. хим. наук, руководитель направления медицинской химии компании АСИНЭКС

Веремеева Полина Николаевна — канд. хим. наук, младший научный сотрудник кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова

Власова Юлия Александровна — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории СЗГМУ имени И. И. Мечникова

Груздев Матвей Сергеевич — канд. хим. наук, старший научный сотрудник лаборатории «Структура и динамика молекулярных и ион-молекулярных растворов» Института химии растворов имени Г. А. Крестова Российской академии наук

Дремук Ирина Александровна — канд. биол. наук, научный сотрудник ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»

Еремеев Артём Валерьевич — канд. биол. наук, заместитель генерального директора по производству, Общество с ограниченной ответственностью «Селлтера Фарм», Владимирская область

Корнилов Кирилл Николаевич — канд. хим. наук, заместитель директора по научно-методической работе в частной школе «Данко»

Назаров Павел Александрович — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела биоэнергетики Научно-исследовательского института физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского, МГУ имени М. В. Ломоносова

Никенина Екатерина Валерьевна — канд. биол. наук, младший научный сотрудник ФГБУ НИИ нормальной физиологии имени П. К. Анохина, ассистент кафедры нормальной физиологии Первого МГМУ имени И. М. Сеченова

Рогожкина Елена Алексеевна — канд. хим. наук, начальник аналитического отдела Центра Разработки и Регистрации Лекарственных средств ООО «ИРВИН 2»

Свистунова Наталья Юрьевна — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела агробиологии и селекции ФГБНУ Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР)

Серегин Михаил Васильевич — канд. с.-х. наук, доцент кафедры растениеводства Пермской государственной сельскохозяйственной академии имени Д. Н. Прянишникова

Симагина Наталья Олеговна — канд. биол. наук, доцент, начальник учебно-методического управления Департамента образовательной деятельности Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского

Смирнова Ксения Валерьевна — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза РОНЦ имени Н. Н. Блохина Минздрава РФ

Фонин Александр Владимирович — канд. биол. наук, старший научный сотрудник Института цитологии Российской академии наук

Члены редакционного совета, эксперты академического английского:

Anthony Nwohiri, PhD in Computer Science and Information Technology, Senior lecturer, Department of Information Management Technology, Federal University of Technology, Owerri, Nigeria (Native speaker)

Gulnara Musuralieva, PhD in Biology, Lecturer, Department of Physics, Mathematics, Informatics and Computer Technologies, Kyrgyz State Medical Academy named after I.K. Akhunbaev; Translator, GMC Translation Agency, Bishkek, the Kyrgyz Republic; Translator, TLS Translation Agency, Moscow, the Russian Federation.

Matvey Gruzdev, PhD in Chemistry, Principal scientist, Laboratory «Structure and dynamics of molecular and ion-molecular solutions», G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry, RAS

Natalya I. Vasilevich, PhD in Chemistry, Head of Medicinal Chemistry, ASINEX Ltd.

Osman Ablialimov, PhD in Chemistry, Principal Scientist, Central Research Laboratory Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky

Valentina Marija Romantchikova, Academic English Translator (Native speaker)

Содержание

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Белов Д. В., Успенская Г. И.
Влияние фотонного облучения на физико-химические процессы и бактерицидные свойства реальной поверхности кремния **6**

Цикалова В. Н., Сарнит Е. А., Мельник С. А.
Получение и прогнозирование биологической активности ряда алифатических и ароматических производных β-аминокарбонильных соединений **19**

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Свистунова Н. Ю., Никифорова О. И., Сетин В. Н.
Морфологические особенности и посевные качества плодов расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) **25**

Бирюкова Е. А., Миронюк И. С., Черетаев И. В., Чайка А. В., Непритимова Е. А.
Роль тренингов с биоуправлением в изменении психофизиологических характеристик волонтеров **31**

Никенина Е. В., Абрамова А. Ю.
Влияние острой болевой стрессорной нагрузки на лимфоцитарный индекс периферической крови после активации иммунных реакций БСА и полным адьювантом Фрейнда у крыс **37**

Content

CHEMISTRY

Belov D.V., Uspenskaya G.I.
Influence of photon irradiation on physico-chemical processes and bactericidal properties of real surface of silicon **6**

Tsykalova V.N., Sarnit E.A., Melnik S.A.
Synthesis and prediction of biological activity of family of alifatic and aromatic derivatives of *β*-aminocarbonyl compounds **19**

BIOLOGY

Svistunova N.Yu., Nikiforova O.I., Setin V.N.
Morphological features and sowing qualities of variety seeds of *Silybum marianum* (l.) Gaertn. **25**

Birukova E.A., Mironyuk I.S., Cheretaev I.V., Chaika A.V., Napritimova E.A.
Role of biofeedback trainings in change of volunteers' psychophysiological characteristics **31**

Nikenina E.V., Abramova A.Yu.
Impact of exposed pain stress load on lymphocytic index of peripheral blood after activation of immune reactions by BSA and Freund's complete adjuvant in rats **37**

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ / CHEMISTRY

УДК: 577.344; 544.723.54; 537.525.5

ВЛИЯНИЕ ФОТОННОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ И БАКТЕРИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА РЕАЛЬНОЙ ПОВЕРХНОСТИ КРЕМНИЯ

Д. В. Белов[1], Г. И. Успенская[2]

1 — ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1, e-mail: belov.denbel2013@yandex.ru
2 — ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный технический университет им. Р. Е. Алексеева», 603950, г. Нижний Новгород, ул. Минина, 24

Изучен процесс фотокатализа на поверхности кремния с поверхностным слоем оксида. Установлено, что при облучении поверхности кремния она приобретает бактерицидные свойства, что доказано снижением числа колониеобразующих единиц бактерий. Также, бактерицидные свойства приобретает сторона образцов, противоположная облучаемой поверхности. Предполагается, что при облучении кремния происходит фотоиндуцированная адсорбция на его поверхности молекул кислорода и воды. В подобных условиях на поверхности кремния за счет каскада реакций с участием кислорода и воды должны образовываться активные формы кислорода (АФК), специфически связанные (хемосорбированные) с поверхностью, определяющие бактерицидный эффект (гибель бактериальных клеток) как лицевой, так и противоположной стороны облучаемого образца.

Ключевые слова: кремний, Si/SiO_2, реальная поверхность, бактерицидность, бактериальные пленки, фотонное облучение, супероксидный анион-радикал $O_2^{-\cdot}$, фотокатализ, НСТ, нитросиний тетразолий.

Введение

Явление фотокатализа на поверхности полупроводниковых материалов, таких как кремний, изучено достаточно широко [3, 4, 11, 19]. В качестве фотокаталитических систем широко применяются такие материалы, как оксиды металлов, например, ZnO, CdO, Fe_2O_3, In_2O_3, TiO_2, SnO_2, WO_3, ZrO_2, CeO_2 и др. [1, 2, 13, 14, 17, 21, 23, 28]. Эти материалы используются во многих процессах, сопряженных с фотокатализом, в том числе для очистки воды и воздуха, для уничтожения патогенной микрофлоры. Так, диоксид титана используется в качестве материала для фотокаталитической стерилизации в медицине [31]. Сочетание обработки TiO_2 с ультрафиолетовым облучением является одной из лучших на настоящее время дезинфекционных технологий, поскольку, в данном случае не образуется канцерогенных или мутагенных соединений. Широкое применение этого материала в медицинской дезинфекции обусловлено его высокой фоточувствительностью, приемлемой шириной запрещенной зоны (для TiO_2 со структурой анатаза E_g = 3,2 эВ [32]), химической и биологической инертностью. Известно, что процесс фотокаталитического окисления на поверхности TiO_2 происходит при облучении светом с энергией выше ширины запрещенной

зоны [32–34]. При наличии на поверхности диоксида титана клеток живых микроорганизмов частицы активных форм кислорода ($O_2^{-\cdot}$, $HO^{\cdot}$, HO_2^{-}, H_2O_2 и др.) могут вступать во взаимодействия с клеточными мембранами, подавлять активность ферментов, разрушать супрамолекулы биополимеров, вызывая, в конечном итоге, гибель микроорганизмов. Таким образом, проявляется бактерицидный эффект материала. Подобные технологии широко внедрены на практике. Так, добавление TiO_2 в структуру ткани с последующим ультрафиолетовым облучением материала, придает ей антибактериальные свойства [28, 31]. Существуют попытки использования TiO_2 в фотодинамической терапии в борьбе со злокачественными образованиями. Наночастицы TiO_2 вводились непосредственно в клетке опухоли, а УФ-облучение проводили локально с применением оптоволоконного кабеля. Ведущая роль в данной терапии принадлежала также АФК, образующимся в клетках злокачественного новообразования [31, 35].

Оксиды металлов для фотокаталитических преобразований, применяются в виде порошков, пленок, а наибольший интерес представляют наноструктуры фотокатализаторов.

Экспериментальная часть

Микробиологические эксперименты. В качестве тест-организмов использовали музейный штамм бактерии Escherichia coli 321-5 Всероссийской коллекции микроорганизмов, г. Пущино Московской области. Для культивирования микроорганизмов использовали сухой питательный ГМФ-агар. Состав питательной среды: гидролизат мяса ферментативный — 15,0 г/л; NaCl — 9,0 г/л; агар — 12,0 г/л.

Суточную культуру бактерий, выращенную в пробирках на скошенном агаре, смывали физиологическим раствором (0,9 %-ный раствор NaCl). Для получения оптимального разведения суспензию стандартизировали по стандарту мутности 10 МЕ, а затем измеряли ее оптическую плотность на спектрофотометре «Shimadzu» модели UV-1800 (Япония). Измерения проводили при λ=670 нм. Коэффициент светопропускания водной суспензии штамма бактерии *E.coli* 321-5 составил 0,3. Электронные спектры были зарегистрированы в области 190–350 нм в кварцевых кюветах на UV-Vis спектрофотометре «Specord s 100» фирмы Analityk Jena (Германия). В качестве эталона сравнения выступала деионизованная вода. Толщина слоя l=10 мм.

Полученную суспензию разводили до получения изолированных колоний в количестве 200–300 колониеобразующих единиц (КОЕ) на чашку Петри. С помощью дозатора отбирали 0,05 мл раствора, содержащего культуру микроорганизмов, и переносили её на чашку Петри с плотной питательной средой. С помощью шпателя растирали суспензию по поверхности агара. Культивировали микроорганизмы в термостате в течение 24 ч при 37°С.

Физико-химические эксперименты. Объектом исследований был выбран кремний марки КДБ-20 (111) (ООО «УКМ Синтез», Россия). Толщина образцов составляла 200, 300, 400 и 600 мкм. Образцы кремния предварительно проходили химико-механическую полировку, затем дополнительно подвергались химико-динамической полировке для удаления остаточного нарушенного слоя. Перед экспериментом образцы обезжиривали, промывали в дистиллированной воде и обрабатывали спиртом.

Нами изучалось изменение поверхностной твердости образцов кремния под влиянием облучения светом. Измерения поверхностной твердости производились на микротвердомере ПТМ-3 с алмазной пирамидкой. Чтобы получить твердость в тонком поверхностном слое,

нагрузка выбиралась минимальной, при которой еще можно было измерить диагональ отпечатка, что осуществляли отдельно на иммерсионном микроскопе.

Для облучения образцов монохроматичным светом использовали инжекционный полупроводниковый лазер (с регулируемым фокусом) с длиной волны 650 нм и выходной оптической мощностью 0,2 Вт. При максимальной освещенности источник света находился примерно в 10 см от поверхности образца. Для уменьшения нагрева образца в процессе измерений использовали вентилятор.

Опыты проводились в условиях нормального комнатного освещения и при комнатной температуре.

Для изучения морфологии поверхностей образцов кремния после экспозиции с культурой бактерий применялся сканирующий просвечивающий электронный микроскоп СПЭМ модели Tescam Vega II (Чехия).

ИК-спектры регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре FTS 7000.

Результаты и их обсуждение

Для установления бактерицидного эффекта проводили три серии экспериментов; на необлученной (контроль), облученной и травленой поверхностях образцов кремния. Количественная оценка бактерицидного эффекта характеризовалась отношением числа погибших микроорганизмов к их начальному числу и оценивалась в процентах. В случае необлученных образцов кремния бактерицидный эффект в среднем составляет 23%. В свою очередь, облучение полупроводниковым лазером усиливает бактерицидный эффект поверхности в среднем до 25%. Однако при облучении лазером образцов кремния толщиной 300 мкм, бактерицидный эффект составляет 70%, который оценивали по снижению колониеобразующих единиц (КОЕ) бактерий. Сравнение производили с величиной КОЕ бактерий, снятых с поверхности образцов, не подвергавшихся облучению.

Для подтверждения гипотезы об определяющем влиянии АФК в гибели бактерий на изучаемых поверхностях, была определена бактерицидность поверхности кремния толщиной 400 мкм без слоя естественного оксида. Данный эксперимент проводили в динамике в течение 300 минут. В ходе данного эксперимента выяснилось, что процесс формирования естественного оксидного слоя протекает в несколько этапов. Каждому временному отрезку соответствует своя структура поверхностных адсорбционных образований. Было установлено (рис. 1), что на 100 и 160 минутах формирования естественного оксидного слоя наблюдается резкий рост жизнедеятельности бактерий *E.coli*.

Наше предположение о влиянии АФК было объяснено взаимодействием со специфическим реагентом на АФК, в частности, на супероксидный анион-радикал — нитросиним тетразолием хлоридом ($НСТ^{2+}$) — 2,2’-ди-(4-нитрофенил)-5,5’-дифенил-3,3’-(3,3’-диметокси-4,4’-дифенилен)-дитетразонита хлористого. Это соединение широко применяется для этих целей в разнообразных химических и биохимических исследованиях, образуя при этом окрашенные в синий или фиолетовый цвет моно- и диформазаны, характеризующиеся максимумами поглощения при 530 и 560 нм соответственно.

Реагент в виде водного 0,01 М раствора наносили на изучаемые поверхности и во всех случаях снижения значения КОЕ наблюдали изменение окраски реагента на поверхности образцов. Вероятно, на поверхности формируются активные кислородные комплексы и становится возможной реакция восстановления НСТ до окрашенного

формазана, протекающая с участием воды и кислорода на каталитически активных поверхностях.

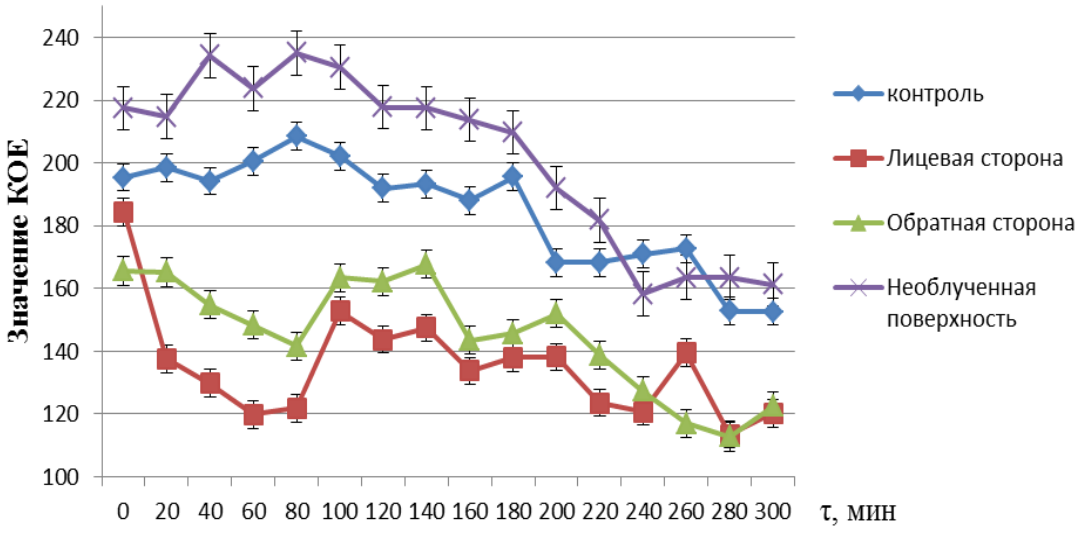


Рис. 1. — Влияние формирования поверхностного оксидного слоя на бактерицидные свойства кремния

Хорошо известно, что поверхность кремния — типичного полупроводника, может находиться в различных структурных состояниях в зависимости от внешних условий. Однако в целом строение реальной поверхности кремния отвечает интерфейсу Si — SiO_x — SiO_2. Существует несколько точек зрения на строение реальной поверхности кремния. Согласно первой [11, 12, 27] — поверхность SiO_2 покрыта гидроксильными группами, связанными с поверхностными атомами кремния. Эти группы являются центрами адсорбции. Согласно второй [21, 26], первичными центрами адсорбции на поверхности SiO_2 являются координационно-ненасыщенные поверхностные атомы кремния, и силанольные группы, являющиеся вторичными центрами адсорбции (рис. 2). В этой связи, адсорбция воды на гидроксилированной поверхности происходит по механизму водородной связи [18]:

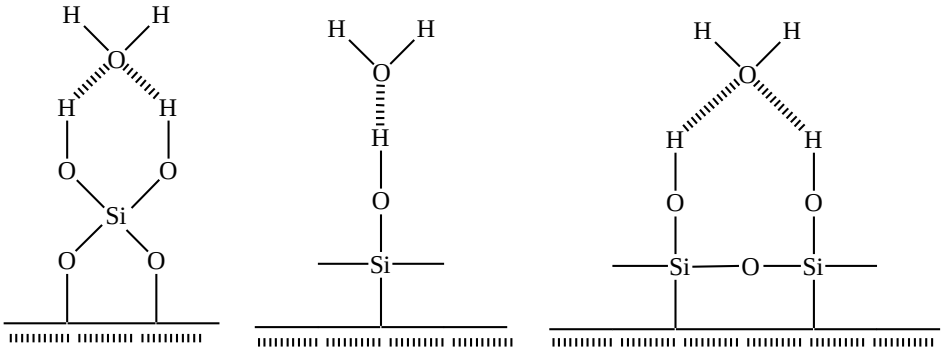


Рис. 2. — Схематическое строение активных центров реальной поверхности кремния

Концентрация координационно-связанной воды на поверхности SiO_2 невелика. По данным ЯМР [26] она составляет в среднем $(1–2)\cdot10^{13}$ мол/см^2. Таким образом, число первичных центров адсорбции воды составляет около 10^{-2} от числа атомов кремния на поверхности. Атомы кремния наиболее деформированных и гидратированных поверхностных тетраэдров [SiO_4] и являются первичными центрами адсорбции воды.

Анализ ИК-спектров также позволяет сделать определенные выводы о строении поверхности кремния. Окисленному и гидратированному состоянию кремния отвечают характерные полосы поглощения в областях 400-500 $см^{-1}$ и 1000-1200 $см^{-1}$ — деформационные и валентные колебания мостиков Si–SiO соответственно. Кроме того, в спектрах присутствует слабая полоса поглощения в диапазоне 3000-3800 $см^{-1}$, отвечающая гидроксильным группам на поверхности кремния и адсорбированной воде. Полоса поглощения в диапазоне 800-900 $см^{-1}$ связана с деформационными колебаниями взаимодействующих между собой ОН-групп [18–26].

Известно, что изменение состояния гидратного покрова и частичное дегидроксилирование поверхности приводят к изменению энергетического состояния всего остова системы [26]. Поэтому нами для исследований были выбраны образцы кремния с реальной поверхностью.

Предполагаемый механизм.

Процесс, в целом, лимитирован выходом электронов и дырок на поверхность фотокатализатора. Возможность протекания реакции и состав продуктов взаимодействий определяется положением зоны проводимости и валентной зоны. Возможные продукты реакций на поверхности SiO_2, можно прогнозировать, рассмотрев положение валентной зоны и зоны проводимости. Вероятными являются процессы, окислительно-восстановительный потенциал которых находится в диапазоне запрещенной зоны SiO_2. Следует отметить, что образец кремния прозрачен для длинноволновой части спектра (для фотонов с энергией $h\nu < E_g$, где E_g — ширина запрещенной зоны) [31–34].

Под действием световой энергии на образец кремния в приповерхностном слое SiO_2 образуются электрон-дырочные пары — дырки валентной зоны ($h^+_{ВЗ}$) и электроны зоны проводимости ($e^-_{ЗП}$). Возможно, дырки валентной зоны ($h^+_{ВЗ}$) при выходе на поверхность, вступают во взаимодействие с адсорбированным (хемосорбированным) слоем воды. В данном случае, вода будет выступать донором электронов:

$$SiO_2 + h\nu \rightarrow SiO_2\ (e^-_{ЗП} + h^+_{ВЗ});$$

$$SiO_2\ (h^+_{ВЗ}) + H_2O_{ads} \rightarrow SiO_2 + H^+ + HO^{\cdot}_{ads}.$$

В ходе данных взаимодействий должны генерироваться адсорбированные (хемосорбированные) частицы, в частности радикалы $HO^{\cdot}_{ads}$. Возможна их поверхностная быстрая рекомбинация с образованием кислорода и воды:

$$4\ HO^{\cdot}_{ads} \rightarrow O_2 + 2\ H_2O.$$

В свою очередь, электроны проводимости SiO_2 или Si, выходя на поверхность могут взаимодействовать с молекулами кислорода, обязательно присутствующими в хемосорбированном приповерхностном слое воды. Причем возможен частичный или полный перенос заряда к молекуле O_2 с образованием супероксид анион-радикала $O_2^{-\cdot}$:

$$SiO_2\ (e^-_{ЗП}) + O_2 \rightarrow SiO_2 + O_2^{-\cdot}.$$

Из литературных данных известно, что константа скорости реакции восстановления O_2 до $O_2^{-\cdot}$ составляет $k = 2{,}0\cdot10^{10}$ $л\cdot моль^{-1}\cdot сек^{-1}$ [5, 6, 24, 25]. Таким образом, в приповерхностном слое кремния быстро генерируется первый набор активных форм кислорода.

Супероксид анион-радикал взаимодействует с образовавшимися протонами водорода. Он является основанием Бренстеда. В водном растворе $O_2^{-\cdot}$ существует в виде равновесной смеси со своей сопряженной кислотой — гидропероксидным радикалом $HO_2^{\cdot}$, и константа равновесия данного взаимодействия составит $K_a = 1{,}6\cdot10^{-5}$ при pH~7 [5, 24, 29, 30]:

$$HO_2^{\cdot} \rightleftharpoons O_2^{-\cdot} + H^+.$$

Равновесная смесь $O_2^{-\cdot}$/ $HO_2^{\cdot}$ быстро превращается в устойчивые продукты в результате протекания двух параллельных реакций:

$$HO_2^{\cdot} + HO_2^{\cdot} \rightleftharpoons O_2 + H_2O_2,$$

$$HO_2^{\cdot} + O_2^{-\cdot} + H_2O \rightleftharpoons O_2 + H_2O_2 + OH^-.$$

Из литературных данных известно, что скорости этих двух реакций соизмеримы и составляют соответственно $8{,}3\cdot10^5$ и $9{,}7\cdot10^5$ $M^{-1}\cdot c^{-1}$[24, 25, 29]. В свою очередь, скорость реакции рекомбинации супероксидных анион-радикалов по сравнению со скоростями этих реакций пренебрежимо мала.

$$2\ O_2^{-\cdot} + 2\ H_2O \rightleftharpoons O_2 + H_2O_2 + 2\ OH^-.$$

Поэтому, данным взаимодействием как одним из потоков превращений $O_2^{-\cdot}$ можно пренебречь.

Таким образом, бактерицидный эффект поверхности Si — SiO_2 можно объяснить в том числе дополнительным действием на клетки бактерий пероксида водорода и продуктов его взаимодействий с другими активными формами кислорода [10, 22, 27].

При облучении наблюдается изменение плотности поверхностных состояний на границе раздела «оксид — полупроводник» и накопление отрицательного заряда в пленке диоксида кремния — как предполагается, за счет надбарьерной инжекции электронов из Si — SiO_2 [11, 19, 26, 34]. В этом случае образование заряженных атомарных или молекулярных частиц кислорода в пленке оксида идет за счет перехода электронов из зоны проводимости (ЗП) кремния в ЗП SiO_2 и последующей реакции с молекулярным кислородом. При этом электронам необходимо преодолеть барьер высотой порядка 3,15 эВ [32]. Но наиболее вероятной является эмиссия электронов в переходный слой SiO_x, находящейся между Si и SiO_2 и связанный с перестройкой кристаллической структуры кремния в структуру SiO_2. Толщина SiO_x лежит в пределах от нескольких ангстрем до 3 нм в зависимости от предыстории и толщины оксида [26]. Величина барьера между ЗП Si и ЗП SiO_x менее 1 эВ, поэтому фотоэмиссия электронов из кремния в область переходного слоя будет эффективной.

Полупроводниковые материалы поглощают свет, энергия квантов которого превышает ширину запрещенной зоны: $h\nu \geq E_g$ [3, 19].

Проведенные расчеты показали, что энергия квантов для инжекционного полупроводникового лазера с длиной волны излучения λ=650 нм, составляет 1,91 эВ. Ширина запрещенной зоны для кремния принимает значение 1,12 эВ. По всей видимости, совокупности процессов, происходящих на твердых поверхностях кремния при облучении с участием кислорода и воды, приводят к генерации поверхностных активных форм кислорода.

В случае исследуемых образцов освещение меняет установившееся в темноте распределение между различными механизмами адсорбции.

В этих условиях слой SiO_x будет насыщен свободными носителями зарядов, которые могут быть захвачены положительно заряженными ловушками и могут вступить в реакцию с молекулярным кислородом, также с образованием супероксид анион-радикала.

Следствием обрыва цепей при протекании свободно-радикальных процессов с участием активных форм кислорода будет появление в среде пероксида водорода, который, в свою очередь, также является дополнительным бактерицидным агентом и новым родоначальником свободно-радикальных процессов [10].

В конечном итоге в приповерхностном слое устанавливается стационарная концентрация H_2O_2, которая определяется интенсивностью светового потока.

В литературе отмечается, что особым значением для электронных свойств полупроводника оксидного типа является наличие в его кристаллической решетке субвалентных ионов [34]. Так для TiO_2 характерным является наличие в его структуре ионов Ti^{3+}, энергетический уровень которых расположен на 0,2–0,8 эВ ниже зоны проводимости TiO_2. Именно наличие ионов Ti^{3+} определяет во многом проводимость TiO_2. Данное явление замечено для многих полупроводниковых материалов, например, SnO_2, CeO_2, ZrO_2 и других [31–35].

Рассматривая SiO_2 как широкозонный проводник, следует отметить, что изменения в катионной и анионной подрешетке кристалла может также приводить к формированию дополнительных уровней в запрещенной зоне, что, в свою очередь, может приводить к усилению фотокаталитических свойств материала.

Нами было установлено, что облучение светом влияет не только на бактерицидность облучаемой стороны пластины кремния, но также и на бактерицидность противоположной стороны образцов. Было высказано предположение о дальнодействующем влиянии относительно слабых потоков света на свойства полупроводников. Данное влияние не ограничивается электронными процессами, а вызывает и структурные изменения. Кроме того, в литературе описан эффект фотопамяти металлов, суть которого заключается в следующем. При облучении одной стороны металлической фольги светом при определенных условиях на обратной стороне наблюдалось изменение микротвердости, которое сохранялось в течение некоторого времени [12, 27]. Мы предполагаем, что бактерицидность образцов кремния на стороне, противолежащей облучаемой лазером, можно объяснить частичным поглощением квантов света толщей образцов. Подобное энергетическое поглощение должно вызывать энергетическую перестройку всей системы. В частности, должно происходить возбуждение электронно-дырочных пар и всей системы дефектов. Процессы, происходящие на тыльной стороне пластины, вероятно, связаны с таким механизмом передачи энергии. При том, что бактерицидность противоположной поверхности также должна быть обусловлена влиянием АФК на клетки бактерий.

Используя метод сканирующей электронной микроскопии, мы проследили, как под действием бактерий изменяется состояние реальной поверхности кремния [8].

На рис. 3 показано изменение состояния поверхности кремния, под слоем водной суспензии, содержащей бактерии (время экспозиции 1 сутки). Взаимодействие в системе бактерия — Si/SiO_2 [22, 27], начинается с адгезии микроорганизмов к поверхности твердого субстрата с последующим образованием микробиологической ассоциации — бактериальной пленки [5, 7–9, 20]. Из рис. 3 видно, что границы между субъединицами и являются зоной первоначального микробного заселения и образования сообщества микроорганизмов.

На изображениях видно, что микроорганизмы адсорбируются конгломерациями по периметру капли суспензии (рис. 3).

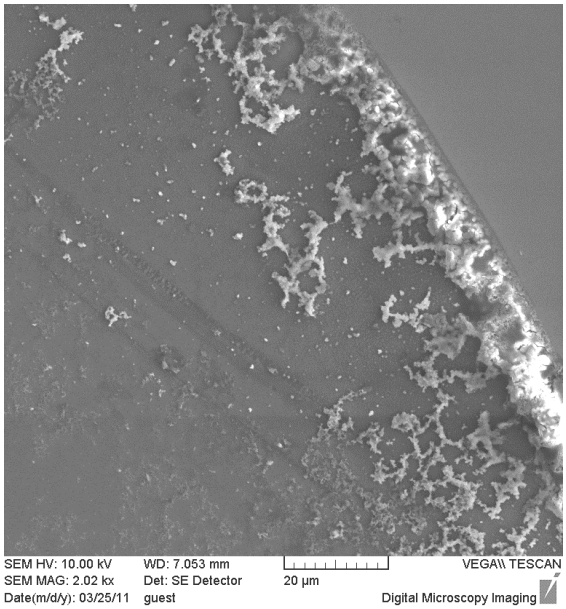
Заключение

Фотонное облучение, не оказывая существенного влияния на сам окисный слой, тем не менее способствует приобретению поверхностью бактерицидных свойств. Наблюдалось снижение на 30 % КОЕ бактерий после воздействия с облученной поверхностью по сравнению с культурами бактерий, выращенными на поверхности без облучения. Это свидетельствует о наличии специфического зарядового состояния поверхности, к которому оказались чувствительны культуры бактерий.

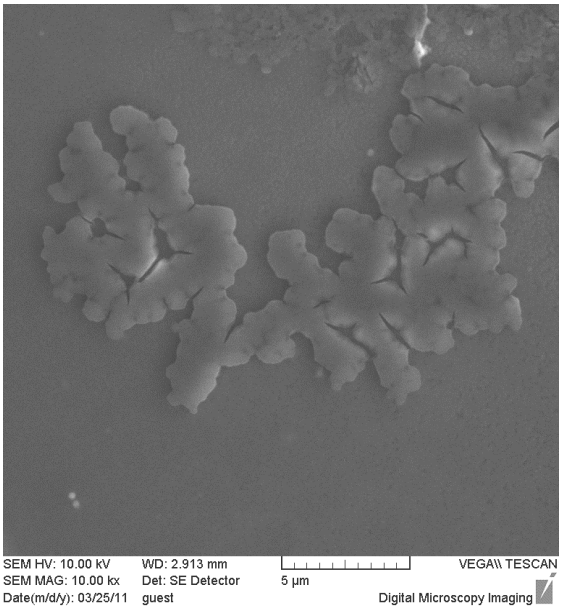
При удалении слоя оксида с поверхности реакция бактерий на предварительную засветку резко меняется, причем с обеих сторон пластины. На общем фоне возникают

всплески бактерицидности, что возможно, связано с хемосорбцией молекул воды и молекулярного кислорода на поверхностных структурах кремния, приводящих к постадийному изменению структурного и зарядового состояния оксидного слоя.

Адсорбционные процессы, происходящие на поверхностных оголенных слоях кремния, приводят к зарядке поверхности и созданию поверхностно-активных центров, что влияет на перераспределение электронной плотности как поверхностных, так и объемных слоев вещества.



а) × 2000



б) ×10000

Рис. 3. — Микрофотографии поверхности образцов кремния (экспозиция бактерий *E.coli 321-5* 1 сутки)

Выводы

Вероятно, высокая кислородная нестехиометрия SiO_2 обусловливает активность оксида кремния в биохимических окислительно-восстановительных процессах. Реакции на поверхности кремния при ее облучении фотонами проходят с участием активных форм кислорода и других свободных радикалов, что нашло свое подтверждение в поверхностном взаимодействии с нитросиним тетразолием.

Литература

1. Анисимов О.В., Максимова Н.К., Севастьянов Е. Ю., Черников Е.В. Исследование отклика тонкопленочного сенсора на основе оксида олова в импульсном режиме для различных газов // Известия Вузов. Физика. — 2006. № 3, С. 186–187.

2. В.Ф. Ануфриенко, Н.Г. Максимов, П.В. Счастнев, Т.А. Гундризер, Д.В. Тарасова Спектры ЭПР ион-радикалов O_2^- на SnO_2. Новая форма адсорбированного кислорода // Доклады академии наук. 1973. Т. 209. № 2. С. 372–375.

3. Артемьев Ю.М., Рябчук В.К. Введение в гетерогенный фотокатализ. СПб.: Изд-во СПбГУ, 1999. 303 с.

4. Бару В.Г., Волькенштейн Ф.Ф. Влияние облучения на поверхностные свойства полупроводников. — М.: «Наука», 1973.

5. Belov D.V.; Kalinina A. A.; Sokolova T. N.; Smirnov V. F.; Chelnokova M. V.; Kartashov V. R. Role of superoxide anion radicals in the bacterial corrosion of metals // APPLIED BIOCHEMISTRY AND MICROBIOLOGY. 2013. V. 48. Issue 3. P. 270–274. doi: 10.1134/S00036838120300273.

6. Белов Д.В., Калинина А.А., Карташов В.Р., Смирнов В.Ф., Соколова Т.Н., Челнокова М.В. Роль супероксидного анион-радикала в бактериальной коррозии металлов. // Прикладная биохимия и микробиология. 2012. Т. 48. № 3. С. 270–274.

7. Белов Д.В., Калинина А.А., Успенская Г.И., Шмелева В.А. Роль оксидного слоя в процессах, протекающих на поверхностях Zn, Al, Si. Сборник научных трудов Sworld по материалам международной научно-практической конференции. 2011. Т. 28. № 1. С. 61–62.

8. Белов Д.В., Калинина А.А., Успенская Г.И., Шмелева В.А. Метод сканирующей электронной микроскопии в изучении взаимодействия бактерий с поверхностями твердых тел. Сборник научных трудов Sworld по материалам международной научно-практической конференции. 2011. Т. 8. № 2. С. 87–89.

9. Белов Д.В., Калинина А.А., Кузина О.В., Карташов В.Р., Соколова Т.Н. Коррозия оцинкованной стали под воздействием бактерий // Коррозия: материалы, защита. 2011. № 7. С. 42–47.

10. Брудастов Ю. А., Бачурская Н.С., Петрова Е.В., Брудастов А.Н. Бактерицидные эффекты активных метаболитов кислорода // Вестник ОГУ. № 12/декабрь 2006. С. 27–31.

11. Вашпанов Ю.А., Смынтына В.А. Адсорбционная чувствительность полупроводников. — Одесса: «Астропринт», 2005.

12. Головин Ю. И., Дмитриевский А. А., Пушнин И. А., Сучкова Н. Ю. Обратимое изменение микротвердости кристаллов Si, вызванное малыми дозами облучения электронами // Физика твердого тела. 2004. Т. 46, Вып. 10, С. 1790–1792.

13. Иванов В. К., Щербаков А. Б., Усатенко А. В. Структурно-чувствительные свойства и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия. // Успехи химии. 2009. Т. 78. № 9. С. 924–941.

14. З. Р. Исмагилов, Л. Т. Цикоза, Н. В. Шикина Синтез и стабилизация наноразмерного диоксида титана / З. Р. Исмагилов, Л. Т. Цикоза, Н. В. Шикина [и др.] // Успехи химии. 2009. Т. 78. № 9. С. 873–885.

15. Калинина А.А., Белов Д.В., Челнокова М.В., Соколова Т.Н., Москвичев А.Н., Разов Е.Н., Карташов В.Р. Соединения — акцепторы электронов в исследовании биокоррозионных явлений // Коррозия: материалы, защита. 2011. № 12. С. 29–32.

16. А. И. Клосс. Электрон-радикальная диссоциация и механизм активации воды // Доклады академии наук. 1988, Т. 303, № 6. С. 1403–1407.

17. А.Ю. Логинов, К.В. Топчиева, С. В. Костиков, Н. Шейк Круш Особенности образования анион-радикалов O_2^- на поверхности окислов редких земель // Доклады академии наук. 1977. Т. 232, № 6. С. 1351–1354.

18. С. Н. Новиков, С. П. Тимошенков. Влияние хемосорбции паров воды на свойства основных материалов микроэлектроники // Российские нанотехнологии. 2006. Т. 1. № 1-2. С. 217–222.

19. Ролдугин, В. И. Физикохимия поверхности [Текст] / В. И. Ролдугин. — 2-е изд., испр. — Долгопрудный: Интеллект, 2011. — 565 с.

20. Смирнов В.Ф., Белов Д.В., Соколова Т.Н., Кузина О.В., Карташов В.Р. Микробиологическая коррозия материалов на основе алюминия // Прикладная биохимия и микробиология. 2008. Т. 44. № 2. С. 213–218.

21. Спиридонов К. Н., Крылов О. В. Формы адсорбированного кислорода на поверхности окисных катализаторов // Спиридонов К.Н., Крылов О.В.: Формы адсорбированного кислорода на поверхности окисных катализаторов, В кн.: Проблемы кинетики и катализа. М., Наука, 1975, С. 7–49.

22. Успенская Г.И., Грачев В.А., Белов Д.В. Изучение фотокаталитических свойств двумерной электронной системы SiO_2/Si. Тезисы докладов VI Всероссийской конференции и школы молодых ученых и специалистов «Физические и физико-химические основы ионной имплантации». Н.Новгород, 2016. С. 93–97.

23. Хороших В.М., Белоус В.А. Пленки диоксида титана для фотокатализа и медицины. ФІП ФИП PSE, 2009, т. 7, № 3, С. 223–238.

24. Челнокова М.В., Белов Д.В., Калинина А.А., Соколова Т.Н., Смирнов В.Ф., Карташов В.Р. Активные формы кислорода в коррозии металлов // Коррозия: материалы, защита. 2011. № 3. С. 19-26.

25. Челнокова М.В., Белов Д.В., Соколова Т.Н., Смирнов В.Ф., Калинина А.А., Карташов В.Р. Генерация супероксидного анион-радикала микромицетами и его роль в коррозии металлов // Известия высших учебных заведений. Серия: Химия и химическая технология. 2011. Т. 54. № 10. С. 133–136.

26. Чукин Г.Д. Химия поверхности и строение дисперсного кремнезема. М.: Типография Паладин, ООО «Принта», 2008. — С. 172.

27. Шмелева В.А., Белов Д.В., Калинина А.А., Соколова Т.Н., Грабовский Е.А. Влияние фотонного облучения на бактерицидные свойства поверхностей кремния. Создание биосенсоров на его основе. Сборник научных трудов Sworld по материалам международной научно-практической конференции. 2011. Т. 24. № 2. С. 71–72.

28. Щербаков А. Б., Иванов В. К., Жолобак Н. М. Нанокристаллический диоксид церия — перспективный материал для биомедицинского применения. // Биофизика. 2011. Т. 56. № 6. С. 995–1015.

29. Reactivity of HO_2/O_2^- Radicals in Aqueous Solution / B.H.J. Bielski [etc] // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1985. V. 14. P. 1041–1100.

30. Bielski, B.H.J. Reduction of nitro blue tetrazolium by CO_2 and O_2 radicals / B.H.J. Bielski, G. S. Grace, S. Bajuk // J. Phys. Chem. 1980. V. 84. P. 830–833.

31. Fujishima A., Hashimoto K., Watanabe T. TiO_2 Photocatalysis: Fundamentals and Applications. BKC. Tokyo. 1999. 176 p.

32. Landmann M., Rauls E., Schmidt W. G. The electronic structure and optical response of rutile, anatase and brookite TiO_2 // Journal of Physics: Condensed Matter. 2012. V. 24. № 19. P. 1–6.

33. Mills A., Hunte S. L. An overview of semiconductor photocatalysis // Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. 1997. V. 108. № 1. P. 1-–35.

34. Tachikawa T., Fujitsuka M., Majima T. Mechanistic insight into the TiO_2 photocatalytic reactions: Design of new photocatalysts // Journal of Physical Chemistry C. 2007. V. 111. P. 5259–5275.

35. Xu M.H., Huang N.P. Photoexcited TiO_2 nanoparticles through OH radicals induced malignant cells to necrosis // Supramolecular Science. 1998. V. 5. P. 449–451.

INFLUENCE OF PHOTON IRRADIATION ON PHYSICO-CHEMICAL PROCESSES AND BACTERICIDAL PROPERTIES OF REAL SURFACE OF SILICON

Belov D.V.[1], Uspenskaya G.I.[2]

1 — Nizhny Novgorod State Medical Academy, e-mail: belov.denbel2013@yandex.ru
2 — Nizhny Novgorod State Technical University named after R.E. Alekseev

Abstract. The process of photocatalysis on the silicon surface covered with an oxide layer was studied. The silicon surface was found to acquire bactericidal properties when irradiated, which was proven by a decrease in the colony-forming units of bacteria. The sample side opposite to the irradiated surface acquired bactericidal properties as well. Presumably, upon irradiation the photo-induced adsorption of oxygen and water molecules takes place on the surface of silicon. Under these conditions, reactive oxygen species (ROS) have to form on the silicon surface due to the cascade of reactions involving oxygen and water; ROS remain specifically bound to the surface (chemisorbed), determining the bactericidal effect (death of bacterial cells) on both the face side and the opposite side of the irradiated sample.

Keywords: silicon, Si/SiO2, real surface, bactericidal activity, bacterial films, photon irradiation, superoxide anion-radical O2-, photo catalysis, HCT, nitroblue tetrazolium.

References

1. Anisimov O.V., Maksimova N.K., Sevast'janov E. Ju., Chernikov E.V. Issledovanie otklika tonkoplenochnogo sensora na osnove oksida olova v impul'snom rezhime dlja razlichnyh gazov // Izvestija Vuzov. Fizika. — 2006. № 3, S. 186–187. *(in Russian)*

2. V.F. Anufrienko, N.G. Maksimov, P.V. Schastnev, T.A. Gundrizer, D.V. Tarasova Spektry JePR ion-radikalov O2– na SnO2. Novaja forma adsorbirovannogo kisloroda // Doklady akademii nauk. 1973. T. 209. № 2. S. 372–375. *(in Russian)*

3. Artem'ev Ju.M., Rjabchuk V.K. Vvedenie v geterogennyj fotokataliz. SPb.: Izd-vo SPbGU, 1999. 303 s. *(in Russian)*

4. Baru V.G., Vol'kenshtejn F.F. Vlijanie obluchenija na poverhnostnye svojstva poluprovodnikov. — M.: «Nauka», 1973. *(in Russian)*

5. Belov D.V.; Kalinina A. A.; Sokolova T. N.; Smirnov V. F.; Chelnokova M. V.; Kartashov V. R. Role of superoxide anion radicals in the bacterial corrosion of metals // APPLIED BIOCHEMISTRY AND MICROBIOLOGY. 2013. V. 48. Issue 3. P. 270–274. doi: 10.1134/S00036838120300273.

6. Belov D.V., Kalinina A.A., Kartashov V.R., Smirnov V.F., Sokolova T.N., Chelnokova M.V. Rol' superoksidnogo anion-radikala v bakterial'noj korrozii metallov. // Prikladnaja biohimija i mikrobiologija. 2012. T. 48. № 3. S. 270–274. *(in Russian)*

7. Belov D.V., Kalinina A.A., Uspenskaja G.I., Shmeleva V.A. Rol' oksidnogo sloja v processah, protekajushhih na poverhnostjah Zn, Al, Si. Sbornik nauchnyh trudov Sworld po materialam mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii. 2011. T. 28. № 1. S. 61–62. *(in Russian)*

8. Belov D.V., Kalinina A.A., Uspenskaja G.I., Shmeleva V.A. Metod skanirujushhej jelektronnoj mikroskopii v izuchenii vzaimodejstvija bakterij s poverhnostjami tverdyh tel. Sbornik

nauchnyh trudov Sworld po materialam mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii. 2011. T. 8. № 2. S. 87–89. *(in Russian)*

9. Belov D.V., Kalinina A.A., Kuzina O.V., Kartashov V.R., Sokolova T.N. Korrozija ocinkovannoj stali pod vozdejstviem bakterij // Korrozija: materialy, zashhita. 2011. № 7. S. 42–47. *(in Russian)*

10. Brudastov Ju. A., Bachurskaja N.S., Petrova E.V., Brudastov A.N. Baktericidnye jeffekty aktivnyh metabolitov kisloroda // Vestnik OGU. № 12/dekabr' 2006. S. 27–31. *(in Russian)*

11. Vashpanov Ju.A., Smyntyna V.A. Adsorbcionnaja chuvstvitel'nost' poluprovodnikov. — Odessa: «Astroprint», 2005. *(in Russian)*

12. Golovin Ju. I., Dmitrievskij A. A., Pushnin I. A., Suchkova N. Ju. Obratimoe izmenenie mikrotverdosti kristallov Si, vyzvannoe malymi dozami obluchenija jelektronami // Fizika tverdogo tela. 2004. T. 46, Vyp. 10, S. 1790–1792. *(in Russian)*

13. Ivanov V. K., Shherbakov A. B., Usatenko A. V. Strukturno-chuvstvitel'nye svojstva i biomedicinskie primenenija nanodispersnogo dioksida cerija. // Uspehi himii. 2009. T. 78. № 9. S. 924–941. *(in Russian)*

14. Z. R. Ismagilov, L. T. Cikoza, N. V. Shikina Sintez i stabilizacija nanorazmernogo dioksida titana / Z. R. Ismagilov, L. T. Cikoza, N. V. Shikina [i dr.] // Uspehi himii. 2009. T. 78. № 9. S. 873–885. *(in Russian)*

15. Kalinina A.A., Belov D.V., Chelnokova M.V., Sokolova T.N., Moskvichev A.N., Razov E.N., Kartashov V.R. Soedinenija — akceptory jelektronov v issledovanii biokorrozionnyh javlenij // Korrozija: materialy, zashhita. 2011. № 12. S. 29–32. *(in Russian)*

16. A. I. Kloss. Jelektron-radikal'naja dissociacija i mehanizm aktivacii vody // Doklady akademii nauk. 1988, T. 303, № 6. S. 1403–1407. *(in Russian)*

17. A.Ju. Loginov, K.V. Topchieva, S. V. Kostikov, N. Shejk Krush Osobennosti obrazovanija anion-radikalov O2– na poverhnosti okislov redkih zemel' // Doklady akademii nauk. 1977. T. 232, № 6. S. 1351–1354. *(in Russian)*

18. S. N. Novikov, S. P. Timoshenkov. Vlijanie hemosorbcii parov vody na svojstva osnovnyh materialov mikrojelektroniki // Rossijskie nanotehnologii. 2006. T. 1. № 1-2. S. 217–222. *(in Russian)*

19. Roldugin, V. I. Fizikohimija poverhnosti [Tekst] / V. I. Roldugin. — 2-e izd., ispr. — Dolgoprudnyj: Intellekt, 2011. — 565 s. *(in Russian)*

20. Smirnov V.F., Belov D.V., Sokolova T.N., Kuzina O.V., Kartashov V.R. Mikrobiologicheskaja korrozija materialov na osnove aljuminija // Prikladnaja biohimija i mikrobiologija. 2008. T. 44. № 2. S. 213–218. *(in Russian)*

21. Spiridonov K. N., Krylov O. V. Formy adsorbirovannogo kisloroda na poverhnosti okisnyh katalizatorov // Spiridonov K.N., Krylov O.V.: Formy adsorbirovannogo kisloroda na poverhnosti okisnyh katalizatorov, V kn.: Problemy kinetiki i kataliza. M., Nauka, 1975, S. 7–49. *(in Russian)*

22. Uspenskaja G.I., Grachev V.A., Belov D.V. Izuchenie fotokataliticheskih svojstv dvumernoj jelektronnoj sistemy SiO2/Si. Tezisy dokladov VI Vserossijskoj konferencii i shkoly molodyh uchenyh i specialistov «Fizicheskie i fiziko-himicheskie osnovy ionnoj implantacii». N.Novgorod, 2016. S. 93–97. *(in Russian)*

23. Horoshih V.M., Belous V.A. Plenki dioksida titana dlja fotokataliza i mediciny. FIP FIP PSE, 2009, t. 7, № 3, S. 223–238. *(in Russian)*

24. Chelnokova M.V., Belov D.V., Kalinina A.A., Sokolova T.N., Smirnov V.F., Kartashov V.R. Aktivnye formy kisloroda v korrozii metallov // Korrozija: materialy, zashhita. 2011. № 3. S. 19-26. *(in Russian)*

25. Chelnokova M.V., Belov D.V., Sokolova T.N., Smirnov V.F., Kalinina A.A., Kartashov V.R. Generacija superoksidnogo anion-radikala mikromicetami i ego rol' v korrozii metallov // Izvestija vysshih uchebnyh zavedenij. Serija: Himija i himicheskaja tehnologija. 2011. T. 54. № 10. S. 133–136. *(in Russian)*

26. Chukin G.D. Himija poverhnosti i stroenie dispersnogo kremnezema. M.: Tipografija Paladin, OOO «Printa», 2008. — S. 172. *(in Russian)*

27. Shmeleva V.A., Belov D.V., Kalinina A.A., Sokolova T.N., Grabovskij E.A. Vlijanie fotonnogo oblucheniija na baktericidnye svojstva poverhnostej kremnija. Sozdanie biosensorov na ego osnove. Sbornik nauchnyh trudov Sworld po materialam mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii. 2011. T. 24. № 2. S. 71–72. *(in Russian)*

28. Shherbakov A. B., Ivanov V. K., Zholobak N. M. Nanokristallicheskij dioksid cerija — perspektivnyj material dlja biomedicinskogo primenenija. // Biofizika. 2011. T. 56. № 6. S. 995–1015. *(in Russian)*

29. Reactivity of HO2/O2– Radicals in Aqueous Solution / B.H.J. Bielski [etc] // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1985. V. 14. P. 1041–1100.

30. Bielski, B.H.J. Reduction of nitro blue tetrazolium by CO2 and O2 radicals / B.H.J. Bielski, G. S. Grace, S. Bajuk // J. Phys. Chem. 1980. V. 84. P. 830–833.

31. Fujishima A., Hashimoto K., Watanabe T. TiO2 Photocatalysis: Fundamentals and Applications. BKC. Tokyo. 1999. 176 p.

32. Landmann M., Rauls E., Schmidt W. G. The electronic structure and optical response of rutile, anatase and brookite TiO2 // Journal of Physics: Condensed Matter. 2012. V. 24. № 19. R. 1–6.

33. Mills A., Hunte S. L. An overview of semiconductor photocatalysis // Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. 1997. V. 108. № 1. P. 1–35.

34. Tachikawa T., Fujitsuka M., Majima T. Mechanistic insight into the TiO2 photocatalytic reactions: Design of new photocatalysts // Journal of Physical Chemistry C. 2007. V. 111. P. 5259–5275.

35. Xu M.H., Huang N.P. Photoexcited TiO2 nanoparticles through OH radicals induced malignant cells to necrosis // Supramolecular Science. 1998. V. 5. P. 449–451.

УДК: 546.185 + 547.787.1

ПОЛУЧЕНИЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РЯДА АЛИФАТИЧЕСКИХ И АРОМАТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ В-АМИНОКАРБОНИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

В. Н. Цикалова[1], Е. А. Сарнит [1], С. А. Мельник[2]

1 — Таврическая академия ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»
2 — Муниципальное унитарное предприятие «Ресурсоснабжающая организация «Новофедоровка», г. Саки

Изучены методы получения и выделения эфиров алифатических и ароматических аминопроизводных акриловой кислоты на основе первичных аминов. Для рассмотренных веществ с помощью программы PASS Online проведена оценка прогнозируемой потенциальной биологической активности.

Ключевые слова: метилакрилат, конденсация, прогнозируемая биологическая активность, PASS.

Введение

Известно, что производные акриловой кислоты используются в фармацевтической технологии в качестве основы лекарственных средств. Например, было предложено использовать сополимер на основе метакриловой кислоты для создания прочной оболочки таблеток Ибупрофена, которая также должна скрывать вкус препарата, а неполная калиевая/цезиевая соль полиакриловой кислоты обладает способностью останавливать кровотечение при внешнем применении.

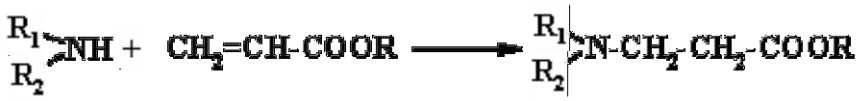
Большой интерес вызывают продукты взаимодействия различных аминов с акриловой, метакриловой, кротоновой кислотами и их производными, поскольку они находят применение в качестве промежуточных соединений в органическом синтезе.

В последнее время все большую популярность в научном мире приобретает компьютерная программа PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) Online для прогнозирования биологической активности химического соединения, по принципу «активность — структура». Необходимо отметить, что PASS не предсказывает биологические активности соединения in situ, а лишь указывает на вероятность наличия у соединения определенной биологической активности от 0 (активность отсутствует) до 1 — вероятность наличия активности 100%. Наличие активности у анализируемого химического соединения обозначается символом Pa, а отсутствие — символом Pi. Чем выше Pa и ниже Pi для данного типа биологической активности анализируемого соединения, тем более вероятно обнаружить такую активность в эксперименте, например на животных [1].

Цель данной работы — рассмотреть методы получения ряда алифатических и ароматических производных β-аминокарбонильных соединений на основе научных трудов, а также для описанных аминопроизводных рассчитать вероятную биологическую активность программой PASS.

1. Синтез и прогнозируемая биологическая активность ряда алифатических аминопроизводных эфиров акриловой и метакриловой кислот

Амины сравнительно легко конденсируются с α, β-ненасыщенными карбонильными соединениями по схеме [2]:



Алифатические амины обладают достаточной основностью, для того, чтобы присоединиться в мягких условиях даже в отсутствии катализатора. В зависимости от стехиометрических соотношений и температуры можно получить продукты как моно- так и бис-присоединения.

К классической методике относится конденсация полуторакратного избытка метилметакрилата и метиламина при комнатной температуре в течение трех суток. После выделения колоночной хроматографией выход монозамещенного амина **2** составил 77%, в то время как выход дизамещенного амина был значительно ниже и составил 9% [3].

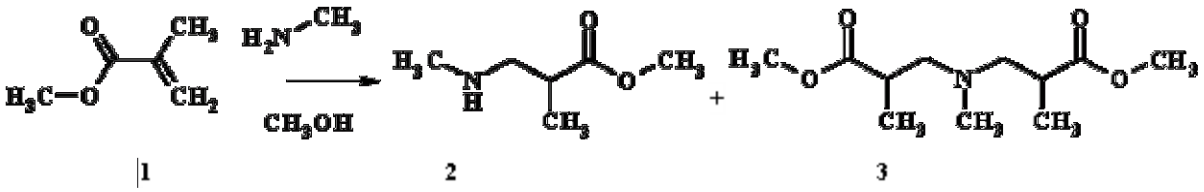


Таблица 1.

Прогнозируемая биологическая активность вещества **2**

Pa	Pi	Биологическая активность
0,938	0,003	Phobic disorders treatment
0,909	0,004	Acrocylindropepsin inhibitor
0,909	0,004	Chymosin inhibitor
0,909	0,004	Saccharopepsin inhibitor
0,865	0,007	Pro-opiomelanocortin converting enzyme inhibitor
0,838	0,014	Polyporopepsin inhibitor
0,821	0,014	Mucomembranous protector

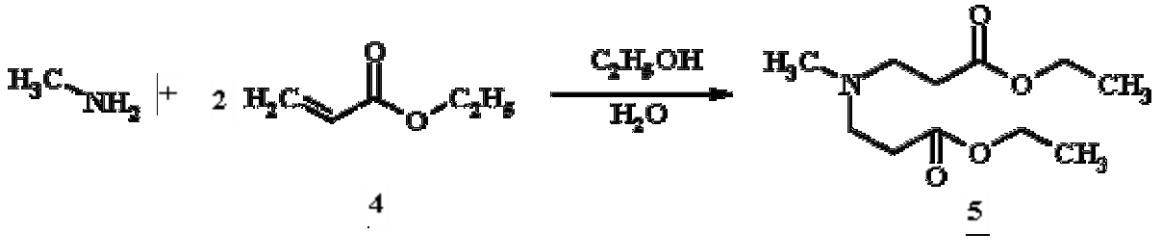
Таблица 2.

Прогнозируемые побочные и токсические эффекты вещества **2**

Pa	Pi	Токсичность/побочные эффекты
0,885	0,004	Urine discoloration

0,888	0,008	Shivering
0,863	0,008	Postural (orthostatic) hypotension
0,837	0,015	Ocular toxicity

Для получения исключительно продукта бис-присоединения использовали двухкратный избыток этилакрилата **4** в реакции с метиламином. После смешивания реагентов, смесь отстаивалась в течение 6 суток. После фракционирования получили дикарбоэтоксиэтилметиламин **5**, выход которого составил 86% [4].



С помощью программы PASS Online был получен спектр возможной прогнозируемой биологической активности и возможных побочных, токсических эффектов для диэфира **5** (табл. 3, 4).

Таблица 3.

Прогнозируемая биологическая активность соединения **5**

Pa	Pi	Биологическаяактивность
0,887	0,008	Phobicdisorderstreatment
0,848	0,003	Antihypoxic

Таблица 4.

Прогнозируемые побочные и токсические эффекты вещества **5**

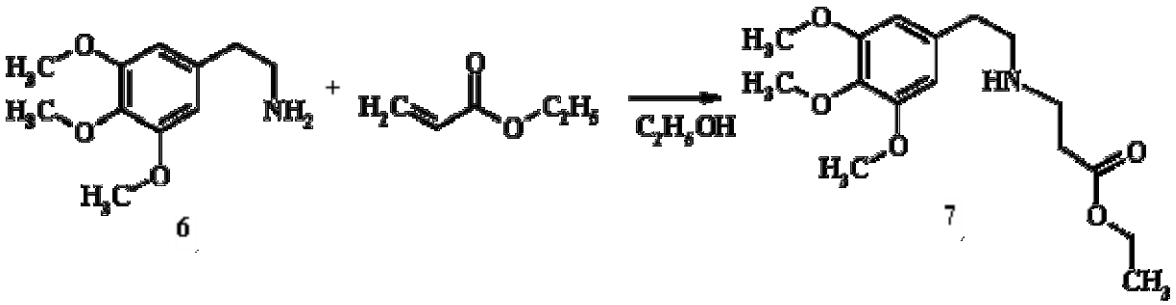
Pa	Pi	Токичность/побочные эффекты
0,970	0,007	Toxic, respiration
0,903	0,005	Twitching
0,900	0,008	Weakness
0,888	0,004	Apnea
0,883	0,011	Euphoria
0,871	0,008	Muscleweakness
0,872	0,010	Respiratoryfailure
0,845	0,021	Shivering
0,833	0,009	Edema
0,831	0,013	Sweating
0,822	0,009	Coma

На основе данных PASS Online показано, что для алифатических аминопроизводных акриловой кислоты **2, 5** характерна высокая вероятность лечения фобических растройств. Моноаминопроизводное **2** рассматривается как ингибитор химозина и ряда пепсинов, а диамин **5** в прогнозе обладает антигипоксивной активностью. Однако предсказанное

токсическое действие диамина в целом сильнее, чем у монопроизводного, в том числе действие на дыхательный центр, судороги, слабость.

2. Синтез и прогнозируемая биологическая активность ряда ароматических аминопроизводных эфиров акриловой кислоты

В случае получения ароматических аминопроизводных на примере мескалина и этилакрилата использовали их эквимолярные количества. Синтез проводили в среде этилового спирта при перешивании при комнатной температуре в течение 16 часов. Выход этил-3-(3,4,5-триметоксифенэтил) аминопропаноата **7** составил 98% [5].



С помощью программы PASS Online был получен спектр возможной прогнозируемой биологической активности и возможных побочных, токсических эффектов для аминоэфира **7** (табл. 5, 6).

Таблица 5.

Прогнозируемая биологическая активность соединения **7**

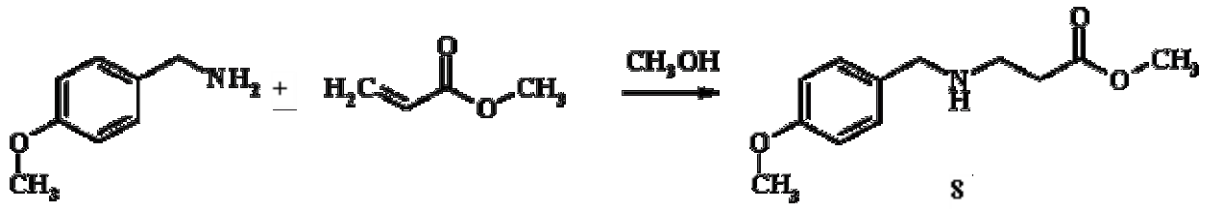
Pa	Pi	Биологическая активность
0,916	0,004	Hydroxytryptamine release stimulant
0,823	0,004	Vasodilator, coronary

Таблица 6.

Прогнозируемые побочные и токсические эффекты вещества **7**

Pa	Pi	Токичность/побочные эффекты
0,762	0,018	Acidosis, metabolic
0,757	0,055	Weakness
0,721	0,030	Shivering

Аналог мескалина, 4-метоксибензиламин, также использовали в равноэквимолярных соотношениях к метиловому эфиру акриловой кислоты. Смесь реагентов оставляли на ночь при комнатной температуре в метаноле. После вакуумной перегонки выход метилового эфира 3-(4-метоксибензил)аминопропионовой кислоты **8** составил 75% [6].



С помощью программы PASS Online был получен спектр возможной прогнозируемой биологической активности и возможных побочных, токсических эффектов для эфира **8** (табл. 7, 8).

Таблица 7.

Прогнозируемая биологическая активность соединения **8**

Pa	Pi	Биологическая активность
0,838	0,013	Acrocylindropepsin inhibitor
0,838	0,013	Chymosin inhibitor
0,838	0,013	Saccharopepsin inhibitor
0,825	0,002	Calcium channel (voltage-sensitive) activator
0,809	0,030	Phobic disorders treatment

Таблица 8.

Прогнозируемые побочные и токсические эффекты вещества **8**

Pa	Pi	Токсичность/побочные эффекты
0,877	0,011	Shivering
0,814	0,008	Galactorrhea

Разница в количестве метоксильных групп ароматического кольца существенно влияет на прогнозируемую активность. В случае производного мескалина прогнозируемая активность заключалась в стимуляции освобождения гидрокситриптамина, а также в сосудорасширяющем коронарном действии. Для 4-метоксибензиламинового производного было характерно действие в качестве ингибитора пищеварительных ферментов и активатора кальциевых каналов. Однако, токсическое действие их согласно программе PASS схоже.

Выводы

1. На примере реакций конденсации этилакрилата, метилакрилата, метилметакрилата с рядом аминов алифатической и ароматической природы было показано, что выход продуктов реакции достаточно высокий в стандартных условиях (без катализатора).

2. Использование равноэквимолярного количества реагентов приводит к образованию моноаддукта, в случае увеличения концентрации ненасыщенного карбоксильного вещества может привести к образованию диэфира.

3. С помощью программы PASS установлено, что прогнозируемая биологическая активность для эфиров аминоалифатических производных акриловой кислоты показывает высокую вероятность их использования для лечения различных фобических расстройств и как ингибиторов различных пищеварительных ферментов.

Литература

1. http://www.pharmaexpert.ru/passonline/
2. Органикум. В 2-х т. Пер. с нем. 4-е изд./ Г. Беккер [и др.]. — том 2. — М.: Мир, 2008. — С. 197.
3. Howton D. 1,3-Dimethylpiperidone-4 / David R. Howton // Journal of organic chemistry. — 1945. — Vol.10. — P. 277-278.
4. Mozingo R. Di-β-Carbethoxyethylmethylamine / R. Mozingo, J. H. McCracken // Organic Syntheses. — 1955 — Vol. 3. — P.258.
5. Bosch, J. Studies on the synthesis of the benzo[a]quinolizidin-2-one ring system. Preparation of a 1,1-dimethyl derivative / J. Bosch [et al.] // J. Org. Chem. — 1983. — Vol. 48. — P. 1075–1080.
6. Синтезы гетероциклических соединений / Под. общ. ред. А. А. Арояна. — Ереван: Изд-во АН Армянской ССР. — 1975. — Вып. 10. — С. 43–45.

SYNTHESIS AND PREDICTION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF FAMILY OF ALIFATIC AND AROMATIC DERIVATIVES OF *β*-AMINOCARBONYL COMPOUNDS

Tsykalova V.N.[1], Sarnit E.A.[1], Melnik S.A.[2]

1 — Taurian Academy of the Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky Republic of Crimea, Simferopol
2 — Municipal Unitary Establishment «RSO Novofedorovka», Republic of Crimea, Saki

Abstract. Methods for the preparation and isolation of esters of aliphatic and aromatic amine derivatives of acrylic acid on the basis of primary amines have been studied. For the examined substances, the estimation of predicted potential biological activity with PASS Online program has been made.

K**eywords:** methyl acrylate, condensation, predicted biological activity, PASS.

References

1. http://www.pharmaexpert.ru/passonline/
2. Organikum. V 2-h t. Per. s nem. 4th ed./ G. Bekker [and others]. — Tom 2. — M.: Mir, 2008. — S. 197.
3. Howton D. 1,3-Dimethylpiperidone-4 / David R. Howton // Journal of organic chemistry. — 1945. — Vol.10. — P. 277-278.
4. Mozingo R. Di-β-Carbethoxyethylmethylamine / R. Mozingo, J. H. McCracken // Organic Syntheses. — 1955 — Vol. 3. — P.258.
5. Bosch, J. Studies on the synthesis of the benzo[a]quinolizidin-2-one ring system. Preparation of a 1,1-dimethyl derivative / J. Bosch [et al.] // J. Org. Chem. — 1983. — Vol. 48. — P. 1075–1080.
6. Sintesy geterotsyklicheskih soedinenii / After ed. of A.A. Aronian. — Yerevan. 1975. Issue 10, pp. 43-45.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ / BIOLOGY

УДК: 631.53.011.2: 581.471

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА ПЛОДОВ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ (*SILYBUM MARIANUM* (L.) GAERTN.)

Н. Ю. Свистунова[1], О. И. Никифорова[1], В. Н. Сетин[2]

1 — ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Москва
2 — ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Средне-Волжский филиал, Самарская обл, Сергиевский р-н, п. Антоновка

В статье представлены характерные различия семян двух сортов расторопши пятнистой Silybum marianum (L.) Gaertn. — Дебют и Старт по морфологии, а также представлены данные по влиянию условий хранения на посевные качества семян. Семена двух сортов различаются между собой по окраске, форме и массе 1000 семян. Характерным признаком сорта Дебют является наличие темных полос на поверхности семян. Результаты двух лет испытаний показали, что в течение 1 года с момента сбора семян энергия прорастания и всхожесть постепенно увеличивается и достигает максимальных значений через 12 месяцев независимо от условий хранения. Всхожесть семян расторопши, хранившейся при комнатной температуре в течение 18 месяцев, снижается на 8,5–12,5%. В результате эксперимента было установлено, что в условиях неотапливаемого помещения успешное хранение семян возможно не дольше одного года, после этого посевные качества семян резко снижаются.
Ключевые слова: Расторопша, *Silybum marianum,* хранение семян, энергия прорастания, всхожесть, морфологические признаки семян.

Введение

Плоды (семена) расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) являются перспективным лекарственным растительным сырьем. Это одно-двулетнее травянистое растение, которое имеет широкий ареал произрастания от Западной Европы до Южной части Австралии.

Мобилизация и сохранение семян лекарственных растений является одним из самых распространенных и эффективных способов сохранения их генетического разнообразия. Сохранение генетических ресурсов лекарственных растений обеспечивает стабильное развитие экологически безопасной сельскохозяйственной отрасли. Плоды расторопши пятнистой служат источником флаволигнанов и жирного масла. Лекарственные препараты на основе масла (натурсил) применяются при лечении язв, ран, пролежней и воспалительных процессов [7]. Плоды расторопши входят в состав ценных гепатопротекторных лекарственных средств («Легалон», «Карсил», «Силимар», «Силибор» и др.). Продукты переработки расторопши пятнистой широко используются при изготовлении лекарственных препаратов, обеспечивающих защиту печени от токсических и аллергических повреждений, и могут применяться в пищевых технологиях в виде экстракта, масла, порошка нативных и обезжиренных семян [7]. В связи с этим изучение сортовых различий семян и влияния режимов хранения семян на их посевные качества является актуальным в настоящее время.

Целью работы было изучение сортовых различий семян расторопши пятнистой по морфологическим признакам, а также посевных качеств семян в зависимости от срока и условий хранения.

В результате многолетней селекционной работы с расторопшей пятнистой в ФГБНУ ВИЛАР были выведены два сорта –Дебют и Старт. Сорт расторопши пятнистой Дебют создан методом многократного отбора из популяции, полученной по обменному фонду. Среднее количество корзинок на растении 3-5 шт., диаметр корзинки 3-6 см. Масса 1000 семян 27-30 г. Урожайность семян варьирует в пределах 12,7-17,1 ц/га. Содержание флаволигнанов в семенах изменяется в диапазоне 3,3-4,2%. Вегетационный период составляет 71-90 дней. Сорт Дебют слабо повреждается вредителями, в частности, зеленой щитоноской и сорняковой блошкой. Новый сорт засухоустойчив и пригоден к механизированной уборке [6].

Сорт Старт выведен методом индивидуально-семейного отбора. Растение прямостоячее, высота растений варьирует от 68 до 99 см. Корзинки округлые, шаровидные, диаметром 3-6 см, количество их на растении составляет 3-6 и более. Семена эллиптические или обратно-яйцевидные, длиной до 7 мм, от светло- до темно-коричневого цвета, с полосами. Масса 1000 семян 27-32 г. Урожайность сырья (плодов) 9,0-14,3 ц/га, содержание флаволигнанов в семенах 3,0%. Сорт характеризуется дружным созреванием семян, вегетационный период: 87-95 дней. Отличается засухоустойчивостью и пригодностью к механизированной уборке. Растения слабо повреждаются щитоноской и сорняковой блошкой [6].

Семена расторопши пятнистой характеризуются неглубоким физиологическим типом эндогенного покоя, для нарушения которого требуется повреждение покровов, короткая холодная стратификация, проращивание на свету, обработка гиббереллином. Такой тип покоя вызывается сочетанием пониженной ростовой активностью зародыша, и недостаточной газопроницаемости тканей, непосредственно его окружающих, в том числе и эндосперма. Неглубокий физиологический покой характерен для свежесобранных семян большого количества видов. Он обычно проявляется в полном отсутствии прорастания или пониженной всхожести семян, а нередко в сужении диапазона температурных или световых условий прорастания. Неглубокий физиологический покой обычно постепенно исчезает в процессе сухого хранения семян, длительность которого варьирует у разных видов от нескольких суток до 5—12 мес. Одним из наиболее эффективных факторов для выведения семян из состояния покоя является температурный. Нарушение неглубокого покоя происходит под влиянием кратковременного охлаждения набухших семян. Аналогичное действие иногда оказывает сильное прогревание сухих или набухших семян в течение нескольких часов, а также проращивание при переменных температурах. У многих видов, в том числе у расторопши, семена, характеризующиеся неглубоким покоем, при определенных температурных условиях становятся светочувствительными [8].

Материалы и методы

Объектами исследования были семена двух сортов расторопши пятнистой Дебют и Старт, выведенные в ВИЛАР и хранящиеся в «Биологической коллекции семян лекарственных и ароматических растений» и в полевой коллекции Средне-Волжского филиала ФГБНУ ВИЛАР. Семена хранились в «крафт-пакетах» при 2-х температурных режимах: +20°С и в неотапливаемом помещении. Температура в неотапливаемом помещении снижалась до — 14°С в декабре и 14 дней в феврале 2017г., и длительное время (в течение 14 дней) держалась на уровне -10-14°С. Опыты по определению посевных качеств семян были проведены совместно со Средне-Волжским филиалом ФГБНУ ВИЛАР.

Морфологические признаки семян изучали под световой бинокулярной лупой МБС-1 при 2-кратном увеличении. Определяли цвет семян, длину и ширину семени, соотношение этих показателей.

Проращивание семян проводили в термостатах, в темноте, на ложе из фильтровальной бумаги в чашках Петри при переменной температуре 20–30ºС в течение 6 сут. (по 50 семян в 4 повторностях). Определение энергии прорастания семян проводили на 4-е сутки, а всхожести — на 6-е сутки [2, 3]. Посевные качества семян расторопши пятнистой оценивали в соответствии с ГОСТ 51096-97 (Табл. 1). Статистическая обработка результатов опыта проводилась по Доспехову [5].

Таблица 1.

Всхожесть семян *Sylibum marianum* (L.) Gaertn. по категориям.

Категория семян	Всхожесть, %	Класс
ОС (оригинальные семена)	85	I
ЭС (элитные семена)	80	II
РС-1-3 (семена 1-3 репродукций)	70	III
РС 4-П (семена 4 и последующих репродукций)	60	IV

Результаты и их обсуждение

В ходе исследований морфологических признаков семян расторопши пятнистой были установлены характерные для каждого сорта особенности. По данным ряда авторов, плоды расторопши представляют собой широкояйцевидную, уплощенную семянку длиной 6–7 мм, шириной 2,5–3,5 мм, толщиной 1,8–2,0 мм, при этом одна сторона более искривлена, чем другая. Рубчик узкий, продольный, выемчатый, слегка наклонен к основанию. Вершина округлая, поперечно усеченная, с резко выделяющимся тупым толстым остатком столбика, вокруг которого желтый островершинный валик. Хохолок легко опадает, густо покрыт гладкими, белыми волосками длиной до 15 мм. Окраска от белой до коричнево-черной со светлыми полосками, поверхность гладкая, блестящая. Масса 1000 семянок 12–18 г [1, 4].

Сравнительный анализ морфологических признаков семян показал, что семена двух сортов значительно различались. Окраска семян сорта Дебют колеблется от светло-коричневой до коричневой с хорошо заметными темными полосками (рис. 1,2).

Рис. 1. — Семянка расторопши пятнистой, сорт Старт. (Seed of Silybum marianum, variety Start).

Рис. 2. — Семянка расторопши пятнистой, сорт Дебют. (Seed of Silybum marianum, variety Debut).

Установлено, что форма в засушливый год удлинённая; в годы с достаточным количеством осадков форма округло-эллиптическая, что характеризуется соотношением длины семени к его ширине. Окраска семян остаётся неизменной независимо от количества осадков. Окраска сорта Старт колеблется от коричневой до почти черной и форма округло-эллиптическая независимо от условий года и количества осадков. Однако необходимо отметить, что в засушливые годы семена сорта Старт значительно мельче, следовательно, и снижается показатель массы 1000 штук семян. По массе 1000 семян сорт Старт значительно превосходит сорт Дебют. Из табл. 2 видно, что семена, собранные в 2013 году, были несколько крупнее по массе 1000 семян.

Таблица 2.

Морфологическая характеристика семян расторопши пятнистой.

Сорт	Год сбора	Длина, мм	Ширина, мм	Индекс семени	Масса 1000 семян, г
Старт	2013	6,98±0,32	3,24±0,17	2,18	28,04±1,754
Дебют		7,24±0,40	3,09±0,12	2,35	25,38±1,523
Старт	2016	7,1±0,56	3,2±0,20	2,21	27,79±1,835
Дебют		8,0±0,72	2,9±0,18	2,68	22,65±1,397

Результаты определения основных посевных качеств семян показали, что лабораторная всхожесть свежесобранных сортовых семян практически в два раза выше по сравнению с репродукционными и составляет 75,0 и 84,5% у сорта Дебют и Старт соответственно (табл.3).

Таблица 3.

Энергия прорастания и всхожесть семян *Silybum marianum* (средние данные за 2015-2016 гг.)

Срок хранения, мес.	Энергия прорастания, %		Лабораторная всхожесть, %	
	+20	н/о**	+20	н/о
Сорт Дебют (ОС)				
0*	75,0±2,35		84,5±3,20	
6	82,0±3,41	63,5±2,31	86,5±4,05	90,5±2,90
12	90,5±4,15	89,5±3,05	91,0±4,31	93,5±4,21
18	62,5±1,98	22,0±2,10	82,0±3,95	50,0±2,10
Сорт Старт (ОС)				
0*	65,0±2,50		75,0±2,78	
6	74,5±2,92	72,0±2,70	82,0±3,72	82,5±3,27
12	91,0±3,54	93,5±4,00	97,5±3,85	94,5±4,25
18	44,0±2,95	36,0±1,56	83,0±3,75	77,0±2,59
Несортовые семена (РС 4)				
0*	44,0±2,35		44,0±3,10	
6	59,0±3,86	70,0±3,07	67,0±2,56	73,0±3,12
12	68,0±2,53	69,0±2,57	78,0±2,79	82,5±4,50
18	28,0±1,20	31,0±1,37	49,0±2,14	61,0±3,01

*- свежесобранные семена

**-неотапливаемое помещение

В течение 1 года с момента сбора семян энергия прорастания и всхожесть постепенно увеличивается и достигает максимальных значений через 12 месяцев независимо от условий хранения. Такое повышение всхожести объясняется наличием неглубокого физиологического покоя, которое характерно для семян расторопши пятнистой. В течение следующих шести месяцев хранения отмечено резкое снижение изучаемых показателей независимо от сорта и условий хранения. Учитывая вышеизложенное, семена расторопши пятнистой необходимо хранить при отрицательных температурах.

Основными факторами, ограничивающими длительность хранения жизнеспособных семян, прежде всего являются температура и влажность. Обычно чем ниже температура и меньше содержание влаги в хранилище, тем дольше семена остаются жизнеспособными. Согласно литературным данным неконтролируемое повышение влажности семян в летний период, а затем воздействие зимних отрицательных температур приводит обычно к потере ими жизнеспособности. После открытого хранения в неконтролируемых условиях качество семян уже через год понижается до категории репродукционных семян. Аналогичные результаты были получены нами при хранении семян расторопши в неотапливаемом помещении в течение 18 месяцев. Таким образом, всхожесть

сортовых семян Дебют и Старт после 18 месяцев хранения в неотапливаемом помещении, снижалась до 50 и 77%, что соответствовало III и II классу семян соответственно. Результаты двух лет испытаний показали, что всхожесть семян расторопши, хранившейся при комнатной температуре в течение 18 месяцев, снижается на 8,5–12,5%.

Заключение

В ходе работы были установлены отличительные морфологические особенности семян, характеризующие сорт. К ним относятся: наличие характерных полос на поверхности и форма семян. Таким образом, цвет семян изученных сортов расторопши пятнистой варьирует от светло-коричневого до темно-коричневого. Характерной особенностью сорта Дебют является наличие характерных полос на поверхности семян. Форма семян и индекс семени также являются характерными сортовыми признаками семян. Семена сорта Старт отличаются большей стабильностью по морфологическим признакам.

Установлено, что энергия прорастания как сортовых, так и репродукционных семян, после 12 месяцев хранения независимо от условий хранения, была довольно высокой и соответствовала требованиям ГОСТ, предъявляемым к оригинальным и элитным семенам. В то же время, после 18 месяцев хранения всхожесть семян резко снижается при хранении в неотапливаемом помещении. В условиях неотапливаемого помещения успешное хранение семян возможно не дольше одного года, после этого посевные качества семян резко снижаются или становятся ниже существующей градации классности.

Литература

1.Броувер В. Справочник по семеноведению сельскохозяйственных, лесных и декоративных культур с ключом для определения важнейших семян / В. Броувер, А. Штелин. — М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. — С. 139-140.

2.ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. — М.: ИПК Издательство стандартов, 2004 — 30 с.

3.ГОСТ Р 51096-97. Семена лекарственных и ароматических культур. Сортовые и посевные качества. Технические условия. — М.: ИПК Издательство стандартов, 1997 — 22 с.

4.Доброхотов В. Н. Семена сорных растений / В. Н. Доброхотов. — М.: Сельхозиздат, 1961. — С. 289;

5.Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.

6.Каталог сортов лекарственных и ароматических растений / Хазиева Ф. М., Грязнов М. Ю., Коротких И. Н. и др. — М.: ВИЛАР, 2017. — С. 17–18.

7.Куркин В. А. Жирнокислотный состав масла плодов расторопши пятнистой, культивируемой в Самарской области / В. А. Куркин, О. В. Сазонова, Д. В. Росихин, Т. К. Рязанова // Химия растительного сырья. — 2017. — №3. — С. 101–105.

8.Николаева М. Г. Справочник по проращиванию покоящихся семян / М. Г. Николаева, М. В. Разумова, В. Н. Гладкова. — Ленинград: «Издательство «НАУКА» Ленинградское отделение, 1985. — С. 15, 164.

MORPHOLOGICAL FEATURES AND SOWING QUALITIES OF VARIETY SEEDS OF *SILYBUM MARIANUM* (L.) GAERTN.

Svistunova N.Yu.[1], Nikiforova O.I.[1], Setin V.N.[2]

1 — All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow
2 — All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Middle Volga Branch, the Samara Region, Sergievsky district, s. Antonovka

Abstract. Distinctive features of seeds of *Silybum marianum,* its two varieties — the 'Start' and the 'Debut' — on morphology are presented in the current article as well as data concerning the influence of storage conditions on sowing qualities of seeds are represented.

Seeds of two studied varieties differ in color, ~~a~~ form and mass in a sample which contained 1000 seeds. Existence of strips on the sides of the seeds from "Debut" variety is a characteristic sign. The results of two years trials have shown that during the first year from the moment of collecting seeds energy of germination and viability have gradually increased and reached the maximum values in twelve months independently of storage conditions. The germination of seeds of the Silybum stored at the room temperature within 18 months decreased by 8,5–12,5%.

As a result of an experiment it has been established that in the case of storage of the studied varieties of seeds, at room temperature, their sowing quality is valid no longer than a year.

Keywords: Silybum marianum, seeds storage, viability, morphology distinctive of seeds.

References

1. Brouver V. Spravochnik po semenovedeniju sel'skohozjajstvennyh, lesnyh i dekorativnyh kul'tur s kljuchom dlja opredelenija vazhnejshih semjan / V. Brouver, A. Shtelin. — M.: Tovarishhestvo nauchnyh izdanij KMK, 2010. — S. 139-140. *(in Russian)*
2. GOST 12038-84. Semena sel'skohozjajstvennyh kul'tur. Metody opredelenija vshozhesti. — M.: IPK Izdatel'stvo standartov, 2004 — 30 s. *(in Russian)*
3. GOST R 51096-97. Semena lekarstvennyh i aromaticheskih kul'tur. Sortovye i posevnye kachestva. Tehnicheskie uslovija. — M.: IPK Izdatel'stvo standartov, 1997 — 22 s. *(in Russian)*
4. Dobrohotov V. N. Semena sornyh rastenij / V. N. Dobrohotov. — M.: Sel'hozizdat, 1961. — S. 289; *(in Russian)*
5. Dospehov B. A. Metodika polevogo opyta / B. A. Dospehov. — M.: Agropromizdat, 1985. — 351 s. *(in Russian)*
6. Katalog sortov lekarstvennyh i aromaticheskih rastenij / Hazieva F. M., Grjaznov M. Ju., Korotkih I. N. i dr. — M.: VILAR, 2017. — S. 17-18. *(in Russian)*
7. Kurkin V. A. Zhirnokislotnyj sostav masla plodov rastoropshi pjatnistoj, kul'tiviruemoj v Samarskoj oblasti / V. A. Kurkin, O. V. Sazonova, D. V. Rosihin, T. K. Rjazanova // Himija rastitel'nogo syr'ja. — 2017. — №3. — S. 101–105. *(in Russian)*
8. Nikolaeva M. G. Spravochnik po prorashhivaniju pokojashhihsja semjan / M. G. Nikolaeva, M. V. Razumova, V. N. Gladkova. — Leningrad: «Izdatel'stvo «NAUKA» Leningradskoe otdelenie, 1985. — S. 15, 164. *(in Russian)*

УДК: 612.763

РОЛЬ ТРЕНИНГОВ С БИОУПРАВЛЕНИЕМ В ИЗМЕНЕНИИ ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ВОЛОНТЕРОВ

Бирюкова Е. А.[1], Миронюк И. С.[1], Черетаев И. В.[1], Чайка А. В.[1], Непритимова Е. А.[1]

1 — Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Таврическая академия, Симферополь, Россия; biotema@rambler.ru

Исследование посвящено изучению влияния тренингов с биологической обратной связью по опорной реакции на изменение показателей психофизиологического тестирования волонтеров. В исследовании с участием 20 здоровых испытуемых показано, что 10-дневный курс биоуправления по опорной реакции, реализованный путем 5-минутной специфической двигательной задачи, когда испытуемому предлагали смещать центр давления на стабилометрическую платформу в соответствии с алгоритмом, заданным на экране монитора, оказывает направленное влияние на когнитивные процессы волонтеров. Показано, что БОС-тренинги приводят к увеличению концентрации и объема внимания испытуемых, повышают скорость сенсомоторной реакции, снижают латентный период приятия решений.

Ключевые слова: тренинги, психофизиологическое тестирование, биоуправление.

Введение

Известно, что вестибулярная регуляция и ориентация в пространстве относится к жизненно важным нейросенсорным функциям, оказывающим значительный вклад в определение качества жизни современного человека. Эффективность системы поддержания заданной позы напрямую обусловлена согласованным взаимодействием комплекса сенсорных систем, в частности, зрительной, вестибулярной, проприоцептивной и др. [1]. Немаловажное значение в поддержании состояния равновесия принадлежит вестибулярным структурам, которые активно информируют центральную нервную систему (ЦНС) об изменениях положения тела относительно гравитационного вектора и плоскости опоры. В настоящее время проблема изучения и коррекции функционального состояния системы поддержания заданной позы приобрела значительную актуальность, поскольку известно, что головокружение и расстройства равновесия могут являться проявлением более десятка различных нарушений функционального состояния, а оценка испытуемых с такими проявлениями является сложной задачей функциональной диагностики [2].

Значительную актуальность среди методов исследования функционального состояния системы подержания равновесия в последние годы приобрел метод компьютерной стабилометрии [2–4]. Стабилометрия применяется, когда надо уточнить диагноз, управлять восстановительным лечением и фиксировать динамику, обследовать клинически сложных пациентов, проводить дополнительные тренинги пациентов по принципам БОС (поиск двигательной стратегии, тренировка двигательного навыка). Стабилометрические исследования позволяют визуализировать, объективно оценить качество контроля заданной позы и, при необходимости, в режиме биологической обратной связи провести коррекцию функции поддержания равновесия у волонтеров [2–6].

Кроме того, вследствие воздействия стресс-факторов, нарушений сосудистого генеза, различных травматических и постоперационных расстройств перспективной сферой является применение различных тренингов в режиме биологической обратной связи (БОС) [7]. БОС-интерфейс представляет для человека своего рода «физиологическое зеркало», в котором отражаются его внутренние процессы. Таким образом в течение курса БОС-сеансов возможно усилить или ослабить

данный физиологический показатель, а значит, уровень тонической активации той регуляторной системы, чью активность данный показатель отражает.

Однако заметим, что как любая модель биоуправления, БОС по опорной реакции требует вовлечения центральных механизмов в регуляции. На наш взгляд успешность проведения данной когнитивно-поведенческой процедуры напрямую зависит от индивидуальных особенностей волонтеров. Так, изучение психофизиологических аспектов адаптивных перестроек функционального состояния мозга волонтеров при управлении виртуальным объектом в системе с биологической обратной связью по опорной реакции имеет огромное практическое значение для повышения эффективности биоуправления, как в норме, так и при различных патологиях.

В то же время, широко распространенные опросные и бланковые тесты, предназначенные для оценки психофизиологических показателей, не всегда позволяют получать надежные результаты, поскольку они рассчитаны в большей степени на сознательную сферу личности, и не позволяют определить истинную картину психофизиологического состояния. В реальных условиях экспериментальной и практической деятельности для оценки психофизиологического состояния актуальным является объективная оценка количественных и качественных характеристик сенсомоторных реакций, полученная с помощью тестов на скорость, устойчивость реакции выбора и определения силы нервных процессов [8].

В связи с этим, целью настоящего исследования явилось изучение влияния тренингов с биологической обратной связью по опорной реакции на скорость сенсомоторной реакции и объем внимания волонтеров.

Методы исследования

Исследование проводилось на базе лаборатории оценки функционального состояния человека Центра коллективного пользования «Экспериментальная физиология и биофизика» Таврической академии ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского». В исследовании приняли участие 20 условно здоровых испытуемых женского пола в возрасте 18–24 лет. Все испытуемые были разделены на 2 группы по 10 человек: контрольную и экспериментальную. Эксперимент проводился на сертифицированном оборудовании, прошедшем метрологическую поверку, в тихом, хорошо проветриваемом помещении с постоянной температурой +20 — +22 С0, в утренние часы, что позволило исключить влияние суточных колебаний биологических ритмов на результаты исследования.

Со всеми испытуемыми в первые сутки исследования проводили психофизиологическое тестирование на компьютерном комплексе НС–Психотест (ООО «Нейрософт» г. Иваново, тесты: «Простая зрительно-моторная реакция», «Оценка внимания», «таблицы Шульте-Платонова», методика Мюнстерберга и «Числовой квадрат» [8]), а также ежедневно, в течение 10-ти суток стабилометрическое исследование в модификации «тест Ромберга» [7] (в течение 30 секунд с открытыми и в течение 30 секунд с закрытыми глазами) с помощью стабилометрической платформы «ST-150» с штатным программным обеспечением STPL (ООО Мера-ТСП, г. Москва). Испытуемые экспериментальной группы ежедневно, после предварительной регистрации стабилометрических характеристик проходили 5-минутные сеансы тренингов с биоуправлением с помощью стабилометрической платформы ST-150. Суть тренингов заключалась в перемещении испытуемым центра давления в различных направлениях, сохраняя равновесие в соответствии с алгоритмом, заданным на экране монитора [7]. После чего у волонтеров обеих групп были повторно зарегистрированы показатели психофизиологического тестирования и стабилометрии.

Обработка и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием пакета программ «Статистика-8.0» и «Microsoft Excell 2010», НС-Психотест [8] и STPL [7].

Результаты исследования

У испытуемых контрольной и экспериментальной групп в первые сутки исследования до начала проведения БОС-тренингов по опорной реакции не было зарегистрировано значимых различий в показателях сенсомоторной реакции ни в одном из проведенных психофизиологических тестов (таблица 1). У испытуемых контрольной группы не было зарегистрировано значимых различий в показателях двигательно-когнитивных тестов в 1-е и 10-е сутки исследования (таблица 1).

При оценке латентного периода сенсомоторной реакции у испытуемых экспериментальной группы на 10-е сутки исследования под влиянием 5-минутных БОС-тренингов было зарегистрировано уменьшение латентного периода сенсомоторной реакции на 1,34% ($p<0,05$) в тесте «Простая зрительно-моторная реакция», и на 2,7% ($p<0,05$) в тесте «Оценка внимания» по сравнению с данными, полученными у волонтеров контрольной группы (таблица). Известно, что величина латентного периода сенсомоторной реакции зависит от абсолютных величин времени реакции, характеризует скорость произвольной реакции и напрямую обуславливается изменением объема внимания волонтеров в ответ на предъявление сигнала на экране монитора [9]. Известно, что снижение латентного периода сенсомоторной реакции в данных сенсомоторных тестах свидетельствует об увеличении скорости реакции в ответ на предъявление стимула и свидетельствует о том, что проведение 5-минутных БОС-тренингов по опорной реакции способствует увеличению концентрация внимания волонтеров и снижению времени, необходимого на принятие решения в ответ на стимул [8–9].

Кроме того, при оценке результатов теста «Красно-черные таблицы Шульте-Платонова» нами зарегистрировано значительное снижение (на 41,51% ($p < 0,05$) относительно значений этого показателя в контрольной группе испытуемых) показателя времени прохождения данного теста у испытуемых экспериментальной группы под влиянием 10-тидневного курса БОС-тренингов (таблица). Из литературных данных [8] известно, что снижение времени прохождения теста «Красно-черные таблицы Шульте-Платонова» напрямую связано с увеличением концентрации внимания испытуемых, что свидетельствует о позитивном влиянии биоуправления по опорной реакции на когнитивные процессы в ЦНС испытуемых.

Таблица 1.

Показатели двигательно-когнитивных тестов у испытуемых выделенных групп под влиянием 10-ти сеансов БОС-тренингов по опорной реакции

Название группы	Тест «Простая зрительно-моторная реакция», латентный период реакции (t, мс)		Тест «Оценка внимания» латентный период реакции (t, мс)		Тест «Таблицы Шульте-Платонова» время прохождения (сек)		«Тест Мюнстерберг» объем внимания (V, усл.ед)		Тест «Числовой квадрат» объем внимания (V, усл.ед.)	
	сутки		**сутки**		**сутки**		**сутки**		**сутки**	
	1	**10**	**1**	**10**	**1**	**10**	**1**	**10**	**1**	**10**
Контрольная группа (n=10)	230,95±1,5	229,8 ±1,2	297,65 ±25	298,05 ±3,3	2,12 ±3,3	2,24 ±3,3	358,95 ±58,3	342,89 ±25,1	34,3 ±2,3	36,7 ±3,4
Эксперимен-тальная группа (n=10)	229,67±1,8	226,78±1,4 **$p_1<0,05$ $p_2<0,05$**	301,77±3,2	289,99 ±4,1 **$p_1<0,05$ $p_2<0,05$**	2,14 ±3,3	1,31 ±3,3 **$p_1<0,05$ $p_2<0,05$**	359,7 ±42,1	421,8 ±37,1 **$p_1<0,05$ $p_2<0,05$**	34,5 ±3,1	42,9 ±2,6 **$p_1<0,05$ $p_2<0,05$**

Примечание: p_1 – достоверность различий по критерию Вилкоксона относительно значений, полученных в контрольной группе испытуемых; .p_2 – относительно значений, полученных в первые сутки исследования.

Результаты прохождения теста Мюнстерберга у волонтеров экспериментальной группы свидетельствуют об увеличении значений показателя объема внимания на 23,01% ($p<0,05$) по сравнению с данными, полученными у волонтеров контрольной группы. Полученные данные подтверждаются анализом результатов методики «Числовой квадрат» у испытуемых. Так, на 10 сутки исследования у волонтеров экспериментальной группы нами зарегистрировано увеличение значений показателя объема внимания на 16,89% ($p < 0,05$) относительно значений этого показателя в 1-е сутки исследования до проведения 5-ти минутных БОС-тренингов по опорной реакции (таблица).

Известно [8], что под объемом внимания понимается то количество объектов, которые могут быть отчетливо восприняты в относительно короткий период времени. Увеличение объема внимания напрямую обуславливает процессы переключения внимания с одного объекта или вида деятельности на другой и свидетельствует о возможности субъекта направлять и сосредотачивать внимание на несколько независимых переменных одномоментно. Согласно современным представлениям когнитивной нейронауки, внимание обеспечивает все познавательные процессы, является необходимым условием любой сознательной деятельности человека. Таким образом, 5-минутные сеансы биоуправления, по нашему мнению, оказывали направленное действие на увеличение объема внимания испытуемых, что может быть одним из механизмов достижения высокой эффективности проприорецепторного контроля заданной позы и успешности выполнения двигательно-когнитивных тестов (таблица). Так, результаты исследования характеристик внимания у волонтеров экспериментальной группы свидетельствуют о положительном влиянии тренингов по опорной реакции на когнитивные процессы волонтеров: объем внимания, скорость сенсомоторной реакции, латентный период приятия решений.

Полученные в настоящем исследовании данные имеют существенное теоретическое значение, поскольку расширяют представления о механизмах регуляции системы поддержания равновесия, а также модуляции данной системы методом биологической обратной связи по опорной реакции. Кроме того, данные, полученные в нашем исследовании, носят также и прикладное значение, поскольку позволяют использовать результаты настоящего исследования для выбора режимов, методик коррекции функционального состояния опорно-двигательного аппарата, а также для создания условий для тренировки профессиональных спортсменов в условиях повышенной нагрузки на вестибуло-вегетативную систему.

Особенную актуальность изучение психофизиологических эффектов управления виртуальным объектом в системе с биологической обратной связью по опорной реакции приобретает для развития санаторно-курортного кластера, а также отрасли медико-санитарного сопровождения, поскольку проведение подобных исследований направлено на внедрение принципиально новых технологий, таких, как компьютерная стабилометрия, в комплекс рекреационных, санаторно-курортных, а также медико-биологических услуг в Республике Крым, а также на всей территории Российской Федерации.

Выводы

1.Тренинги по опорной реакции на стабилометрической платформе оказывают выраженное влияние на психофизиологические процессы волонтеров: увеличивают концентрацию и объем внимания, повышают скорость сенсомоторной реакции, снижают латентный период приятия решений.

2.10-дневные тренинги по опорной реакции приводят к уменьшению латентного периода сенсомоторной реакции на 1,34% ($p < 0,05$) в тесте «Простая зрительно-моторная реакция», и на 2,70% ($p<0,05$), в тесте «Оценка внимания» по сравнению с данными, полученными у волонтеров контрольной группы, что свидетельствует об увеличении концентрации внимания и снижению времени, необходимого на принятие решения в ответ на стимул.

3.Результаты тестов Мюнстерберга и «Числовой квадрат» у волонтеров экспериментальной группы свидетельствуют об увеличении значений показателя объема внимания на 23,01% ($p<0,054$ тест Мюнстерберга) и 16,89% ($p<0,05$; «Числовой квадрат») по сравнению с данными, полученными у волонтеров контрольной группы, что свидетельствует о положительном влиянии тренингов по опорной реакции на когнитивные процессы.

Информация о финансировании

Поддержано Программой развития ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» на 2015–2024 г.

Литература

1. Клиническое обследование пациента с головокружением / В. Т. Пальчун, А. Л. Гусева, Ю. В. Левина, С. Д. Чистов // Метод. пособие… — М., 2015. — 84с.
2. Скворцов Д. В. Стабилометрическое исследование / Д. В. Скворцов. М.: Маска, 2010. — 176 с.
3. Кубряк О. В. Изменение параметров вертикальной позы человека при демонстрации разных изображений / О. В. Кубряк, С. С. Гроховский // Физиология человека. 2015. Т.41. №2. С.60-63.
4. Okyzano, T. Vector statokinesigram. A new method of analysis of human body sway/ T. Okyzano // Pract. Otol. Kyoto. − 1983. − Vol.76. − N-10. − P.2565-2580.
5. Perrin, P. Judo, better than dance, develops sensorimotor adaptabilities involved in balance control / P. Perrin, D. Deviterne, F. Hugel // J. Gait Posture. − 2002. − №. 15. − P. 187-194.
6. Устинова К. И. Восстановление позных нарушений методом биоуправления по стабилограмме в клинике нервных болезней / К. И. Устинова, Л. А. Черникова, М. Е. Иоффе // Альманах клинической медицины. — 2001. — № 4. — С. 179-180.
7. Гроховский С. С. Практическая стабилометрия. Статические двигательно-когнитивные тесты с биологической обратной связью по опорной реакции / О. В. Кубряк, С. С. Гроховский. М.: Маска, 2012. — 88 с.
8. Мантрова И. Н. Методическое руководство по психофизиологической и психологической диагностике / И. Н. Мантрова — Иваново: ООО Нейрософт, 2007. — 216 с.
9. Шутова С. В. Сенсомоторные реакции как характеристика функционального состояния ЦНС / С. В. Шутова, И. В. Муравьева. — Тамбов: Вестник ТГУ. — Т.18, Вып. 5. — 2013. — с. 2831-2840.

ROLE OF BIOFEEDBACK TRAININGS IN CHANGE OF VOLUNTEERS PSYCHOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS

Birukova E.A.[1], Mironyuk I.S. [1], Cheretaev I.V. [1], Chaika A.V. [1], Napritimova E.A. [1]

1 — Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky, Taurian Academy, Simferopol, biotema@rambler.ru

Abstract. The study is devoted to the influence of the biofeedback (BFB) trainings for supporting resistance on the volunteers psychophysiological testing indices. The study with the participation of 20 healthy volunteers proposes the 10-day-long course of the 5-minute-long biofeedback trainings for the improvement of the psychophysiological characteristics. The biofeedback (BFB) training is performed as a specific motor task, when a volunteer shifts the pressure center to the stabilometrical platform in accordance with the algorithm set on the monitor screen. Preliminary results indicate a direct influence of the course on the volunteer's cognitive processes. It is shown, that the BFB trainings increase concentration and span of attention of volunteers, as well as the speed of sensomotor reaction, and decrease the decision-making latent period.

Keywords: trainings**,** psychophysiological testing, biofeedback

References

1. Clinical bedside evaluation of dizzy patients / V.T. Pal'chun, A.L. Guseva, Yu.V. Levina, S.D. Chistov // Metod. posobie — M., 2015. — 84 pp. *(in Russian)*
2. Skvortsov D.V. Stabilometric study / D.V. Skvortsov. M.: Maska, 2010. — 176 p. *(in Russian)*
3. Kubryak O.V. Shift in vertical stance parameters in humans viewing different imagesO.V. Kubryak, S.S. Grokhovskiy // Fiziologiya cheloveka. 2015. V.41. № 2. P. 60-63. *(in Russian)*
4. Okyzano T. Vector statokinesigram. A new method of analysis of human body sway/ T. Okyzano // Pract. Otol. Kyoto. −1983.−V.76.− № 10. −P. 2565-2580.
5. Perrin, P. Judo, better than dance, develops sensorimotor adaptabilities involved in balance control / P. Perrin, D. Deviterne, F. Huge l// J. Gait Posture. −2002. − №. 15. − P. 187-194.
6. Ustinova K. I. Recovery poznych violations method of biofeedback for stabilograms in the clinic of nervous diseases /K. I. Ustinova, L.A.Chernikova, M. E. Ioffe // Al'manakh klinicheskoy meditsiny. — 2001. — № 4. — P. 179-180. *(in Russian)*
7. Grokhovskii S.S. Practical stabilometrics. Static motor and cognitive tests with the support resistance biofeedback/O.V. Kubryak, S S. Grokhovskiy. M.: Maska, 2012. — 88 pp. *(in Russian)*
8. Mantrova I.N. Study guide on psychophysiological and psychological diagnostics / I.N. Mantrova — Ivanovo: OOO Neyrosoft, 2007.–216 pp. *(in Russian)*
9. Shutova S.V. Sensorimotor reactions as characteristics of functional state of CNS Murav'eva.– Tambov: Vestnik TGU.–T.18, V. 5.–2013.– p. 2831-2840. *(in Russian)*

УДК: 612.0/.8; 612.1/.8

ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ БОЛЕВОЙ СТРЕССОРНОЙ НАГРУЗКИ НА ЛИМФОЦИТАРНЫЙ ИНДЕКС ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПОСЛЕ АКТИВАЦИИ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ БСА И ПОЛНЫМ АДЬЮВАНТОМ ФРЕЙНДА У КРЫС

Е. В. Никенина[1,2], А. Ю. Абрамова[1,3]

1 — ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва
2 — Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва.
3 — Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва.

В работе изучали влияние болевой стрессорной нагрузки на лимфоцитарный индекс по Шаганину (соотношение лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам) периферической крови у крыс Вистар с различной прогностической устойчивостью к стрессорной нагрузке. Прогностическую устойчивость к стрессорной нагрузке оценивали в тесте «открытое поле». Активацию иммунных реакций осуществляли подкожным введением бычьего сывороточного альбумина, БСА (в дозе 2,0 мг/кг массы тела в объеме 0,25 мл физиологического раствора) в 0,25 мл полного адьюванта Фрейнда (ПАФ). Иммобилизированные крысы подвергались болевой стрессорной нагрузке через неделю после антигенной стимуляции (или введения физиологического раствора), которая осуществлялась применением в течение 1 часа электрического тока (0,15 мА в стохастическом режиме). Лимфоцитарный индекс по Шаганину (ЛИ) оценивали у крыс в исходном состоянии и через неделю после воздействий. Полученные результаты показали, что в условиях болевого стрессорного воздействия при использовании физиологического раствора отмечали более выраженное снижение ЛИ у прогностически неустойчивых крыс по сравнению с прогностически устойчивыми к стрессорной нагрузке крысами и снижение ЛИ на фоне активации иммунных процессов посредством введения БСА и ПАФ у крыс с разной прогностической устойчивостью к стрессорной нагрузке. Спустя неделю после активации иммунных реакций введением БСА и ПАФ, ЛИ у крыс с разной прогностической устойчивостью к стрессорной нагрузке однотипно. Через неделю после введения БСА и ПАФ крысам с разной прогностической устойчивостью стрессорное болевое воздействие также приводило к достоверному снижению ЛИ у всех групп крыс по сравнению с исходными данными ЛИ. У ПН к стрессороний нагрузке крыс наблюдали более выраженное снижение ЛИ по сравнению с ПУ крысами. Отсюда можно предварительно предположить, что специфические клеточные механизмы иммунной защиты играют здесь более существенную роль, нежели неспецифические факторы.

Ключевые слова: болевая стрессорная нагрузка, устойчивость к стрессорной нагрузке, активация иммунных функций, крысы.

Введение

Болевая стрессорная нагрузка приводит к изменению лимфоцитарного индекса периферической крови у животных, а также сопровождается изменением их функциональной активности (Овсянников В. Г. с соавт., 2008). Выявленные изменения в соотношении лейкоцитов после болевого раздражения носят адаптивный характер (Овсянников В. Г. с соавт., 2008). Антигенная стимуляция сопровождается лимфоцитозом, тогда как болевое стрессорное воздействие у животных приводит к нейтрофилезу и лимфопении (Сотникова Е. Д., 2006). Так, иммобилизационный стресс у собак в течение двух часов приводит к снижению лимфоцитарного индекса по Шаганину на 55%, при болевой стрессорной нагрузке в течение 15 минут ЛИ снижается на 66,7% (Сотникова Е. Д., 2006). Известно, что животные с разной прогностической устойчивостью к стрессу различаются содержанием иммунных факторов в периферической крови (Перцов с соавт., 2009). Также известно, что у крыс с разной прогностической устойчивостью к стрессу содержание лейкоцитов после стрессорной нагрузки различно (Коплик Е. В. с соавт., 2013). При этом, малоизученым остается изменение ЛИ после болевой стрессорной нагрузки на фоне антигенной стимуляции иммунных реакций у крыс с разной прогностической устойчивостью к стрессу.

Целью настоящей работы явилось исследование влияния болевой стрессорной нагрузки на лимфоцитарный индекс по Шаганину у крыс с различной прогностической устойчивостью к стрессорной нагрузке, подвергнутых стимуляции иммунных реакций.

Методика.

Работа проведена на 64 самцах крыс Вистар массой 250–300 г. При проведении экспериментов руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными на заседании этической комиссии НИИ нормальной физиологии им. П. К. Анохина РАМН (протокол № 1 от 3.09.2005 г.), требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA, 2000г.) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (1986 г.).

Структуру целенаправленного поведения у крыс оценивали в тесте «открытое поле» (Коплик Е. Н., 2002 г.). Коэффициент устойчивости к стрессу (КУС) рассчитывали по формуле:

$$КУС = \sum G(i) / \sum LP(i),$$

где: $\sum G(i)$ — суммарная горизонтальная активность (пересечение секторов на периферии и в центре открытого поля); $\sum LP(i)$) — сумма латентных периодов первого движения и выхода в центр открытого поля.

На основании результатов тестирования крыс в тесте «открытое поле» были выделены прогностически неустойчивые (ПН) к стрессорной нагрузке (КУС < 0,8) и прогностически устойчивые (ПУ) к стрессорной нагрузке (КУС > 1,2) особи.

Крысы были разделены на 8 групп по 8 крыс в каждой: 1-я группа — контрольные ПН самцы, введение физ. р-ра, 2-я группа — контрольные ПУ крысы, введение физ. р-ра, 3-я группа — контрольные ПН крысы с болевой стрессорной нагрузкой + физ. р-р, 4-я группа — контрольные ПУ крысы с болевой стрессорной нагрузкой+ физ. р-р, 5-я группа — ПН крысы с активацией иммунных реакций, 6-я группа — ПУ крысы с активацией иммунных реакций, 7-я группа — ПН крысы с болевой стрессорной нагрузкой на фоне активации иммунных

функций, 8-я группа — ПУ крысы с болевой стрессорной нагрузкой на фоне активации иммунных функций.

Пробы периферической крови крыс для оценки лимфоцитарного индекса по Шаганину (ЛИ) получали из хвостовой вены до начала проведения эксперимента, а также после декапитации на 7-е сутки эксперимента. Мазки крови окрашивали методом Романовского-Гимзе. Затем относительное количество лейкоцитов расчитывали в визуальном поле мазка под световым микроскопом Levenhuk Rainbow D2L, увеличение 100X с использованием иммерсионного масла. ЛИ крови по Шаганину рассчитывали следующим образом:

ЛИ = Л/Н,

где Л — относительное количество лимфоцитов (%), Н — относительное количество сегментоядерных нейтрофилов (%).

Неспецифическую активацию иммунных реакций воспроизводили введением БСА в дозе 2,0 мг/кг массы тела в объеме 0,25 мл физиологического раствора. Раствор БСА смешивали с 0,25 мл ПАФ и полученную взвесь вводили крысам подкожно в трех точках спины. Животным в контрольных (1-я, 2-я, 3-я и 4-я) группах вводили физиологический раствор в аналогичном объеме. Через неделю после введения БСА и ПАФ, животных из 7-ой и 8-ой групп подвергали болевой стрессорной нагрузке в течение 1 часа с одновременным стохастическим электрокожным раздражением током силой 0,15 мА, в течение 30 с через неравные промежутки времени от 3 до 7 минут. Через час после окончания процедуры крыс декапитировали. Крыс из других групп (1,2 и 5,6) декапитировали без стрессорной нагрузки в однотипных условиях.

Результаты экспериментов обрабатывали с помощью соответствующих статистических и аналитических методов с использованием пакета программ Statistica 6.1.478. Достоверность межгрупповых различий в исходном состоянии между показателями ЛИ у ПН и ПУ крыс выявляли с помощью непараметрического *U*–теста Манна-Уитни. Достоверность различий в динамике между параметрами ЛИ выявляли с помощью непараметрического *T*-критерия Вилкоксона. Числовые данные приведены как среднее значение ± ошибка среднего. В связи с вариабельностью ЛИ крови у крыс в исходном состоянии, данный показатель был принят за 100%. Значения ЛИ крови крыс на 7-е сутки эксперимента выражали в % относительно исходного показателя.

Результаты экспериментов и обсуждение

В исходном (интактном) состоянии показатели ЛИ статистически значимо не отличались у ПН и ПУ к стрессорной нагрузке крыс.

На рисунках представлены изменения ЛИ (соотношений лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов). Через неделю после введения физиологического раствора у самцов крыс каких-либо достоверных изменений ЛИ не было выявлено (рис. 1, 2).

ЛИ у ПН (группа 1) и ПУ (группа 2) к стрессорной нагрузке крыс достоверно не отличались между собой. У контрольных ПН (группа 3) и ПУ (группа 4) крыс после болевой стрессорной нагрузки с электрокожным раздражением ЛИ также достоверно снижался на 81% и 53%, соответственно по сравнению с исходными данными ЛИ ($p < 0,05$, рис. 3 и 4 соответственно).

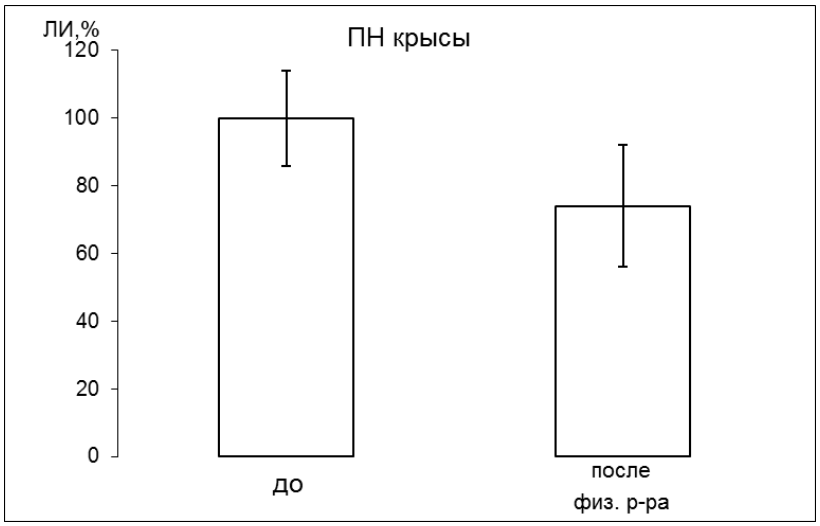


Рис. 1. — Показатели ЛИ до эксперимента и через неделю после введения физиологического раствора, ПН крысы.

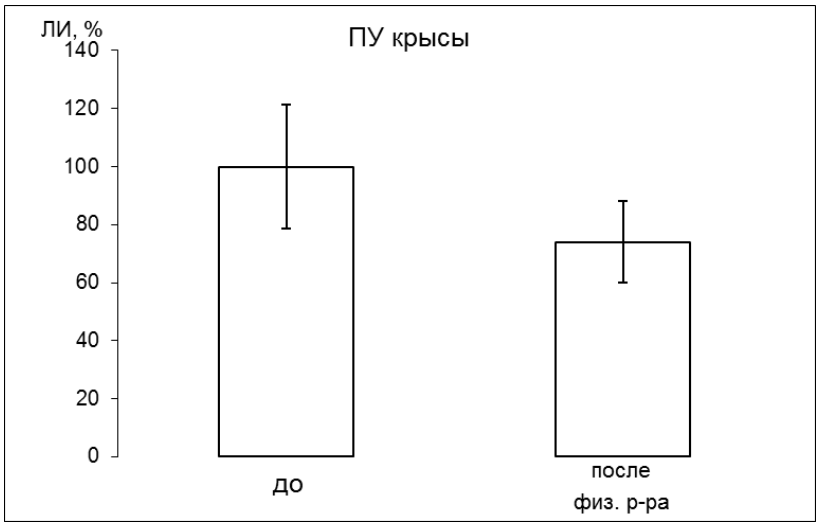


Рис. 2. — Показатели ЛИ до эксперимента и через неделю после введения физиологического раствора, ПУ крысы.

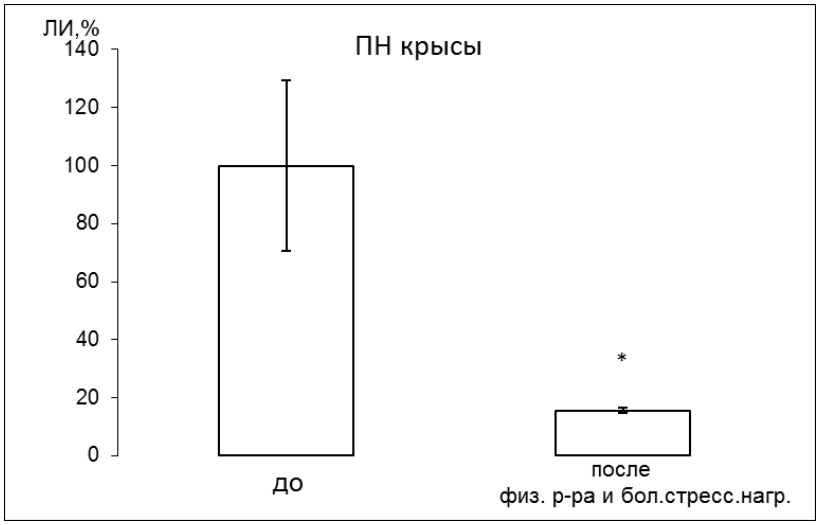


Рис. 3. — Показатели ЛИ до эксперимента и через неделю после введения

физиологического раствора на фоне болевой стрессорной нагрузки, ПН крысы.

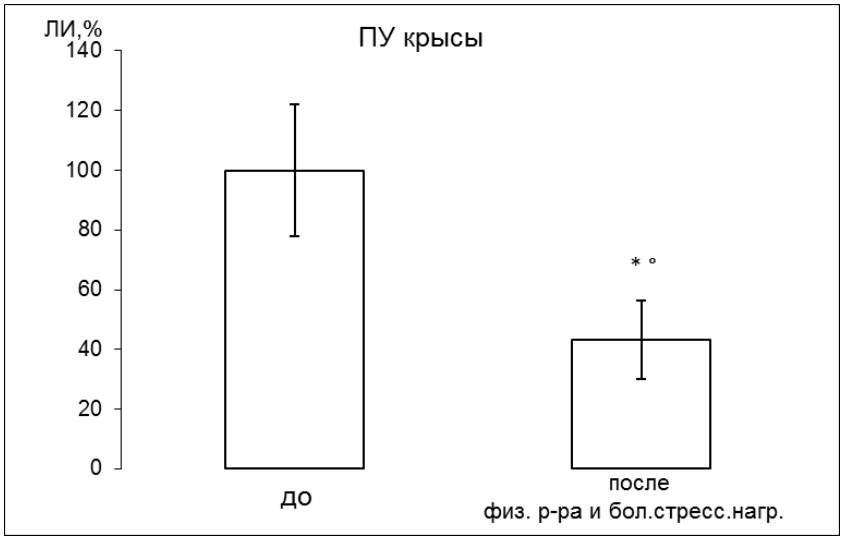


Рис. 4. — Показатели ЛИ до эксперимента и через неделю после введения физиологического раствора на фоне болевой стрессорной нагрузки, ПУ крысы. *- достоверно ниже по отношению к исходным значениям (p<0,05), °- достоверно выше по отношению к ЛИ у ПУ к стрессорной наргузке крыс (p<0,05).

В межгрупповом сравнении различия ЛИ достоверны. ЛИ у ПУ к стрессорной нагрузке крыс выше, т.е. снижение ЛИ менее выраженно, чем ЛИ у ПН к стрессорной нагрузке крыс(p<0,05). Через неделю после введения БСА и ПАФ обнаружено достоверное снижение относительно исходного ЛИ как у ПН (группа 5, на 62%), так и у ПУ (группа 6, на 61%) крыс (p<0,01, рис. 5 и 6 соответственно).

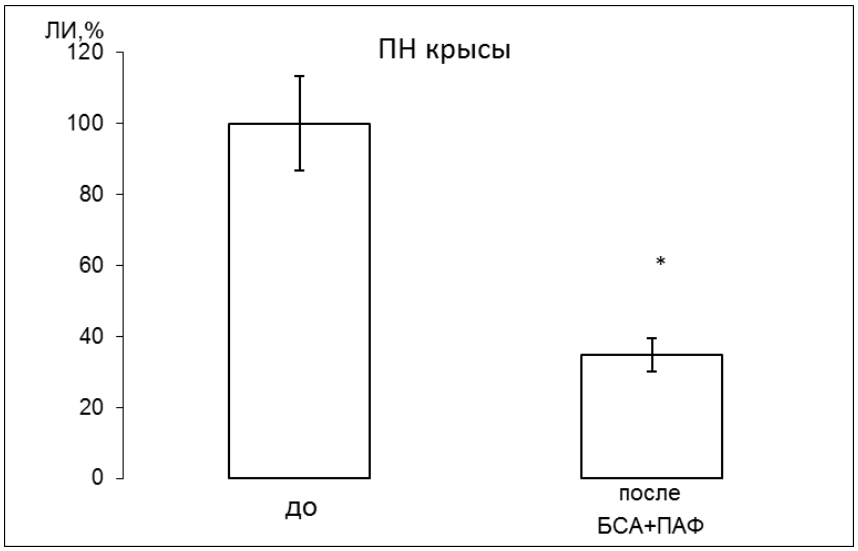


Рис.5. — Показатели ЛИ до эксперимента и через неделю после введения БСА+ПАФ, ПН крысы. *- достоверно ниже по отношению к исходным показателям (p<0,05).

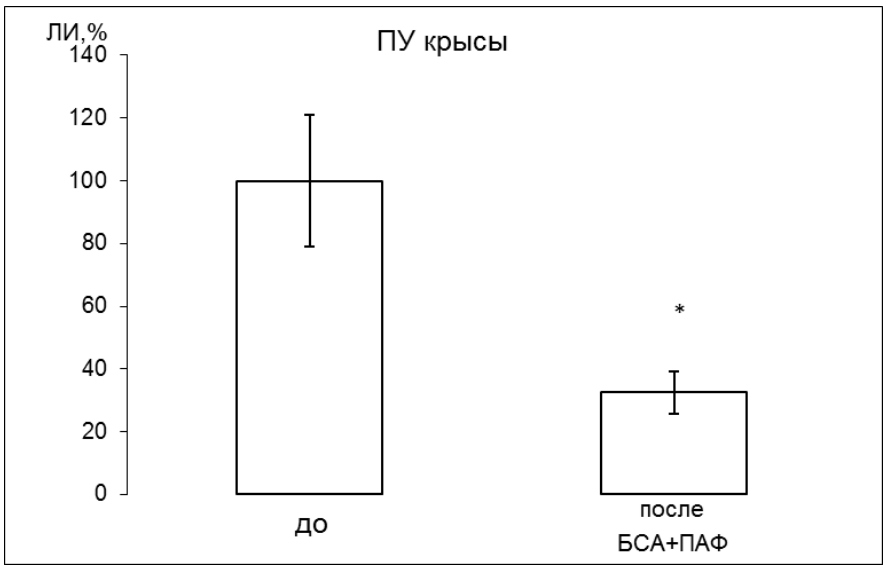


Рис.6. — Показатели ЛИ до эксперимента и через неделю после введения БСА+ПАФ, ПУ крысы. *- достоверно ниже по отношению к исходным показателям (p<0,05).

ЛИ у ПН и ПУ к стрессорной нагрузке крыс после введения БСА и ПАФ достоверно не различались между собой. После болевой стрессорной нагрузки с электрокожным раздражением на фоне недельного введения БСА и ПАФ было установлено достоверное снижение ЛИ у ПН (группа 7, на 78%) и ПУ (группа 8, на 65%) крыс по сравнению с исходными показателями (p<0,05, рис. 7 и 8 соответственно).

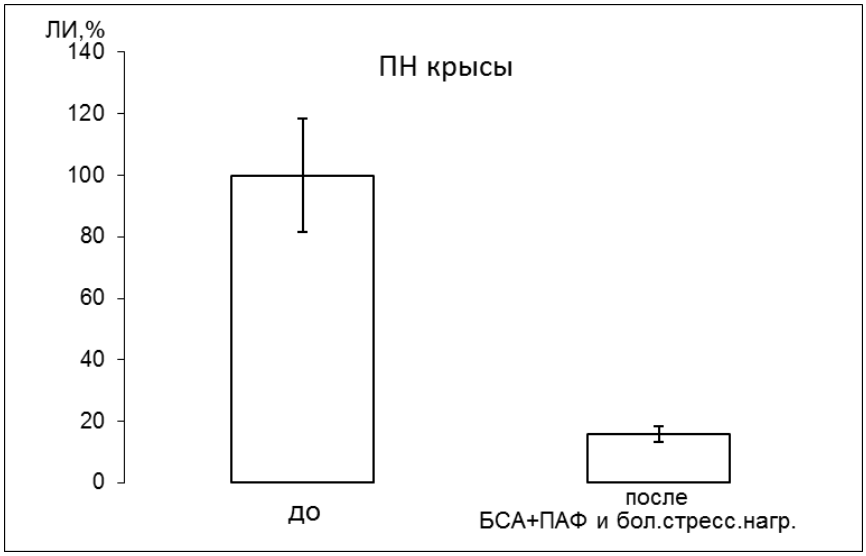


Рис. 7. — Показатели ЛИ до эксперимента и через неделю после БСА+ПАФ на фоне болевой стрессорной нагрузки, ПН крысы. * — достоверно ниже по отношению к исходным показателям (p<0,05).

ЛИ у ПН к стрессорной нагрузке крыс имел достоверные отличия от ЛИ ПУ к стрессорной нагрузке крыс после болевой стрессорной нагрузки и введения БСА и ПАФ. ЛИ у ПН к стрессорной нагрузке крыс был ниже, т.е. снижался более выраженно по сравнению с ЛИ ПУ к стрессороной нагрузке крыс.

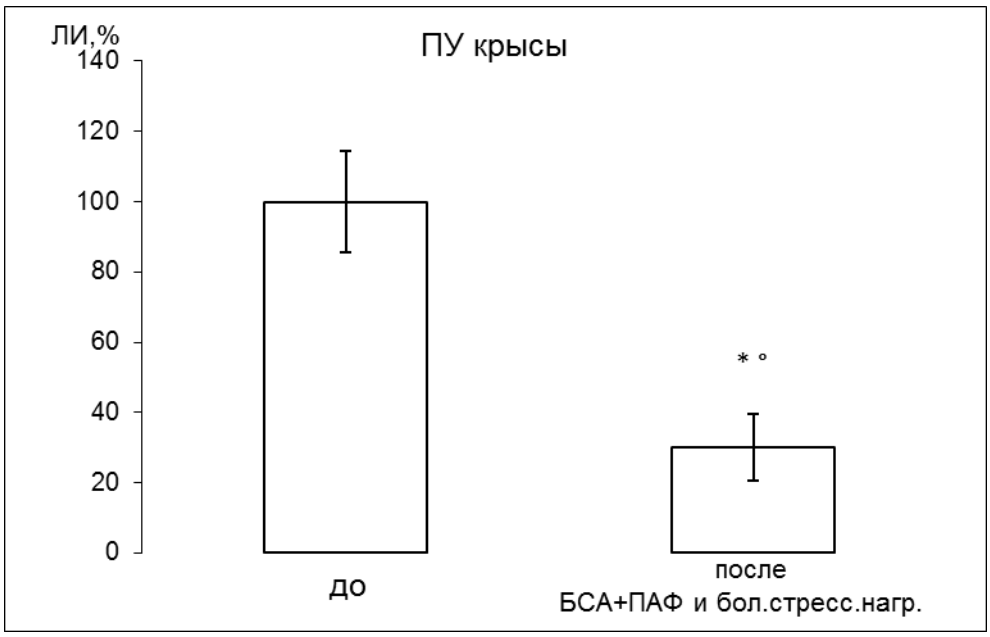


Рис. 8. — Показатели ЛИ до эксперимента и через неделю после БСА+ПАФ на фоне болевой стрессорной нагрузки, ПУ крысы. *- достоверно ниже по отношению к исходным показателям ($p<0,05$), °- достоверно выше по отношению к ЛИ у ПН к стрессорной наргузке крыс ($p<0,05$).

Таким образом, на фоне применения болевого стрессорного воздействия и физиологического раствора отмечали достоверное снижение ЛИ у всех экспериментальных групп крыс. Причем, у ПУ крыс ЛИ снижался менее выраженно по сравнению с исходными данными ЛИ. Более того, установлено достоверное снижение ЛИ как у ПН, так и у ПУ крыс через неделю после введения БСА и ПАФ. Через неделю после введения БСА и ПАФ крысам с разной прогностической устойчивостью стрессорное болевое воздействие также приводило к достоверному снижению ЛИ у всех групп крыс по сравнению с исходными данными ЛИ. У ПН к стрессоронй нагрузке крыс наблюдали более выраженное снижение ЛИ по сравнению с ПУ крысами.

Как показали результаты наших экспериментов, у ПН к стрессорной нагрузке крыс ЛИ (соотношение лимфоцитов к зрелым нейтрофилам) снижается более выраженно по сравнению с ЛИ у ПУ к стрессорной нагрузке крыс после болевой стрессорной нагрузки как на фоне физиологического раствора, так при активации иммунных реакций введением БСА и ПАФ. Возможно специфические клеточные иммунные реакции, реализуемые лимфоцитами, более выражены у ПУ по сравнению с ПН к стрессорной нагрузке крысами. На фоне активации иммунных функций введением БСА и ПАФ на 7 сутки предположительно также более выраженная активация специфических иммунных функций у ПУ по сравнению с ПН к стрессорной нагрузке крысами.

Выводы

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что у ПУ к стрессорной нагрузке особей болевая стрессорная нагрузка (на 7-е сутки с и без активации иммунных функций) приводит к менее значительному снижению ЛИ по Шаганину, т.е. снижению относительного количества сегментоядерных нейтрофилов, при одновременном увеличении лимфоцитов по сравнению с аналогичными показателями у ПУ к стрессорной нагрузке крыс. Отсюда можно предварительно предположить, что специфические клеточные механизмы

иммунной защиты играют здесь более существенную роль, нежели неспецифические факторы.

Литература

1. Коплик Е. В. и др.// Бюл. экспер.биол. мед. — 2013. — №10 — С.419-425
2. Абрамов Ю. Б. // Боль. — 2009. — №4 (25). — С.2-8.
3. Коплик Е. В. // Вестник новых медицинских технологий. — 2002. — Т.9, №1. — С.16-18.
4. Овсянников В. Г., Алексеев В. В., Кутузова А. А. // Вестник Санкт-Петербургского университета. — 2008г. — Т14. — С.44-49.
5. Сотникова Е. Д. // диссертация, Новосибирск. — 2008. — 189с.
6. Перцов С. С., Коплик Е. В., Степанюк В. Л., Симбирцев А. С. // Бюл. экспер.биол. мед. — 2009. — Т.148. — №8. — С.161-165.
7. Cunha, F. Q., Ferreira, S. H. // *Adv. Exp. Med. Biol. — 2003. — Vol.***521**. — P.22-39
8. Feng-Li Chen, Yu-Lin Dong, Zhi-Jun Zhang et al. // Brain Research Bulletin. — 2011. — Vol 57. — P.1-7.
9. Rittner H. L., H. Machelska and C. Stein // *Journal of Leukocyte Biology.* — 2005. – Vol.78. — P.1215-1222.

IMPACT OF EXPOSED PAIN STRESS LOAD ON LYMPHOCYTIC INDEX OF PERIPHERAL BLOOD AFTER ACTIVATION OF IMMUNE REACTIONS BY BSA AND FREUND'S COMPLETE ADJUVANT IN RATS

Nikenina E.V.[1,2], Abramova A.Yu.[1,3]

1 — P.K. Anokhin Research Institute of Normal Physiology, Moscow
2 — Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow
3 — Federal State Budgetary Educational Institution of the Higher Education "A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Abstract. In the present work, an effect of pain stress load on the lymphocytic index (LI) by Shaganin (ratio of lymphocytes to segmented neutrophils) of peripheral blood in Wistar rats with different predictive resistance to stress load was studied. This resistance was evaluated in open field test. Activation of immune reactions was done by subcutaneous administration of bovine serum albumin, BSA (in a dose of 2.0 mg/kg of body weight in 0.25 ml of saline solution) in 0.25 ml of complete Freund's adjuvant (CFA). Immobilized rats were subjected to a painful stress load in one week after antigen stimulation (or injection of saline), which was done by applying an electric current (0.15 mA in stochastic mode) during an hour. Shaganin's LIs were evaluated in rats at baseline and in a week after effects. Obtained results suggested that, in conditions of pain stress effect, if using saline solution, more pronounced decrease of LIs in predictably unstable rats compared to one in rats, predictably resistant to stress load, and decrease in LIs with underlying activation of immune processes by injecting BSA and CFA to rats with different predictable resistance to stress load have been observed. One week after the activation of immune reactions by injecting BSA and CFA, LIs in rats with different prognostic resistance to stress load were the same

type. In a week after injecting BSA and CFA to rats with different prognostic resistance, stress pain effect also led to a significant decrease in LIs in all groups of rats, compared to baseline data on LIs. In rats, predictably unstable to stress load, the decrease of LIs was more pronounced in comparison with ones in predictably stable rats. Hence, it can be supposed that specific cellular mechanisms of immune defense play a more significant role here than non-specific factors.

Keywords: pain stress load, resistance to stress load, activation of immune reactions, rats

References

1. Koplik E. V. i dr.// Bjul. jeksper.biol. med. — 2013. — №10 — S.419-425
2. Abramov Ju. B. // Bol'. — 2009. — №4 (25). — S.2-8.
3. Koplik E. V. // Vestnik novyh medicinskih tehnologij. — 2002. — T.9, №1. — C.16-18.
4. Ovsjannikov V. G., Alekseev V. V., Kutuzova A. A. // Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. — 2008g. — T14. — S.44-49.
5. Sotnikova E. D. // dissertacija, Novosibirsk. — 2008. — 189s.
6. Percov S. S., Koplik E. V., Stepanjuk V. L., Simbircev A. S. // Bjul. jeksper.biol. med. — 2009. — T.148. — №8. — S.161-165.
7. Cunha, F. Q., Ferreira, S. H. // Adv. Exp. Med. Biol. — 2003. — Vol.521. — P.22-39
8. Feng-Li Chen, Yu-Lin Dong, Zhi-Jun Zhang et al. // Brain Research Bulletin. — 2011. — Vol 57. — P.1-7.
9. Rittner H. L., H. Machelska and C. Stein // Journal of Leukocyte Biology. — 2005. – Vol.78. — P.1215-1222.