

БИОХИМИЯ

УДК 544.47:577.13

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ЭКСТРАКЦИЯ САПОНИНОВ ИЗ КОРНЕЙ МЫЛЬНЯНКИ *SAPONARIA OFFICINALIS* L.*

**Д.А. Еделев¹, М.Г. Сульман², А.И. Сидоров², Е.В. Ожимкова²,
Б.Б. Тихонов², В.Ю. Долуда², Э.М. Сульман²**

¹Московский государственный университет пищевых производств

²Тверской государственной технической университет

Проведена низкочастотная (30 кГц) ультразвуковая экстракция и исследованы основные физико-химических свойств сапонинсодержащих экстрактов из корней мыльнянки *Saponaria officinalis* L. Разработанная методика позволяет существенно сократить время экстракции.

Ключевые слова: сапонины, экстракция, ультразвук.

Введение. Благодаря своим физико-химическим свойствам и широкому спектру биологической активности сапонины нашли широкое применение в различных отраслях промышленности. Способность сапонинов ингибировать патогенную грибковую микрофлору и высокая активность против вызывающих поражение кожи грибов (*Trichophyton rubrum* Malmsten, *T. mentagrophytes*, *Sabouraudites cantis*, *Epidermophyton floccosum* (Harz) Langeron et Miloch.), и патогенных дрожжей *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout обуславливает их широкое использование в косметологии в качестве натуральных детергентов при производстве шампуней, различных видов кремов и зубных паст. В сельском хозяйстве сапонины успешно применяются как натуральные инсектициды [21]. В пищевой промышленности сапонины могут использоваться в качестве функционально-технологических ингредиентов: эмульгаторов при производстве эмульсионных продуктов питания [2; 16; 17], пенообразователей при производстве безалкогольных напитков и солюбилизаторов жирорастворимых витаминов и эфирных масел [20; 31]. В пищевой индустрии используется экстракт квиллайи мыльной (*Quillaja saponaria* Mol.), который применяется в США и России по рекомендации U.S. Food and Drug Administration и СанПиН 2.3.2.1078-01 соответственно, в качестве пенообразователя (E999). В соответствии с вышеупомянутым СанПиН разрешено применение еще одной сапонинсодержащей пищевой добавки – отвара мыльного корня колючелистника качимовидного и колючелистника железистого

* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (государственный контракт №16.522.12.2018)

(*Acantophyllum* sp.) в качестве стабилизатора. Требования к сырью регламентируются ГОСТ 3448-78 «Корень колючелистника. Технические условия». В последнее время описано использование в производстве продуктов питания сапонинсодержащих экстрактов из корней мыльнянки *Saponaria officinalis* L. [2; 16; 17].

Все сапонины относятся к классу гликозидов и в зависимости от химической природы агликона подразделяются на тритерпеновые и стероидные. Растительные сапонины относятся, в основном, к тритерпеновым гликозидам, среди которых выделяют α -, β -амириновые, лупановые и дамарановые гликозиды. Подавляющее большинство растительных сапонинов относится к производным β -амиринового ряда и отличаются как степенью окисления тритерпенового цикла, так и строением углеводных цепей. В состав углеводной части сапонинов входят практически одни и те же углеводы: *D*-глюкоза, *D*-галактоза, *L*-рамноза, *L*-рибоза, *L*-арабиноза, *D*-ксилоза, *D*-фукоза, *D*-хиновоза, а также *D*-глюкуроновая кислота. При этом углеводные цепи могут содержать от 1 до 11 различных моносахаридов, отличающихся как характером связи, так и местом присоединения к агликону. Сапонины могут быть монодесмозидами (монозиды), содержащими одну углеводную цепь, присоединенную к гидроксильной группе при C_3 углеродном атоме (*O*-гликозидная связь), однако, доминирующими являются бидесмозиды (бисмозиды) – гликозиды, содержащие две углеводные цепи; вторая углеводная цепь присоединена *O*-ацилгликозидной связью к C_{28} углеродному атому агликона. Сапонины могут быть нейтральными и кислыми. Кислый характер может быть обусловлен как карбоксильными группами агликона, так и остатками урановых кислот, входящими в состав углеводной части. Таким образом, свойства получаемых экстрактов зависят от фракционного состава сапонинов [19].

Тритерпеновые гликозиды – вторичные метаболиты растений, которые широко распространены в растительном мире и обнаружены более чем в 90 семействах. Сапонины накапливаются в различных органах растений, их содержание в зависимости от рода растения колеблется в больших пределах – от 0,5 до 30%. Для многих сапонинсодержащих растений, в том числе семейства гвоздичных, лютиковых, бобовых, аралиевых, тритерпеновые гликозиды служат хемотаксономическим признаком. Одним из самых распространенных и чаще других используемых методов выделения сапонинов является экстракция.

Получение высокоочищенных сапонинов для медицинских исследований [18; 19; 23; 24; 28; 32; 35–37] осуществляют, как правило, двумя способами: 1) сочетанием метанольной экстракции с водно-бутанольной переэкстракцией и с последующим осаждением и переосаждением подходящим растворителем; 2) сочетанием водной или

водно-спиртовой экстракции с препаративной высокоэффективной хроматографией.

Для пищевых целей используют получаемые при высокой температуре водные экстракты или отвары без дополнительной очистки. Однако большинство традиционных методов экстрагирования являются достаточно длительными, трудоемкими и малоэффективными. Следовательно, возникает вопрос о рациональном выборе эффективных подходов для интенсификации процесса экстрагирования.

По мере развития производства экстракционных процессов совершенствуются и разрабатываются более эффективные способы обработки лекарственного растительного сырья. Интенсификация методов экстрагирования с использованием ультразвука осуществляется благодаря созданию колебательного движения системы твердое тело жидкость в звуковом или ультразвуковом диапазонах. Это приводит к изменению гидродинамических условий. Частицы среды подвергаются сильным механическим и гидродинамическим ударам, что способствует усилению капиллярного эффекта, внутренней и внешней диффузии и, следовательно, ускорению процесса массообмена [10].

В производстве ультразвуков находят применение для ускорения процесса экстрагирования и обеспечивает полноту извлечения действующих веществ. Воздействие ультразвука создает кавитацию и турбулентные потоки в жидком экстрагенте, в результате происходит быстрое набухание материала и растворение содержимого растительной клетки, увеличивается скорость обтекания частиц сырья, в пограничном диффузионном слое возникают турбулентные и вихревые потоки. Молекулярная диффузия внутри частиц материала и в пограничном диффузионном слое практически заменяется конвективной, что приводит к интенсификации массообмена. В результате кавитации происходит разрушение клеточных структур, что ускоряет процесс перехода полезных веществ в экстрагент за счет их вымывания.

Сильные турбулентные течения, гидродинамические потоки способствуют переносу масс, растворению веществ, интенсивному перемешиванию внутри клетки, чего невозможно достичь другими способами экстракции. Кроме того, изменение давления при сжатии и разряжении в момент прохождения волны ультразвука может вызывать эффект губки, при котором улучшается проникновение экстрагента в материал [3].

Из сырья природного происхождения ультразвуком возможно извлекать практически все известные соединения, продуцируемые растениями. При использовании ультразвука наблюдается не только значительное ускорение производственного процесса, но и увеличение по сравнению с другими способами экстрагирования, выхода целевого продукта. С увеличением степени дисперсности частиц сырья коэффициент отражения звуковой энергии на границе раздела фаз,

ввиду быстрой пропитки мелкоизмельченного сырья экстрагентом, будет минимальным, интенсивнее происходит растворение и вымывание содержимого из разрушенных клеток. Следовательно, при использовании ультразвуковой обработки, время экстрагирования сокращается [1; 11; 12; 14].

Большое количество исследований в области ультразвуковой интенсификации различных гомо- и гетерогенных процессов посвящено выделению из смесей веществ, а также очистке вод, почв и воздуха. Так, описаны ультразвуковая экстракция диметионата [25], экстракция гербицидов из почвы с использованием ультразвука [33], жидкофазная экстракция полициклических ароматических углеводородов из загрязненных вод с помощью ультразвука [27], экстракция полициклических ароматических углеводородов из лесных почв [22].

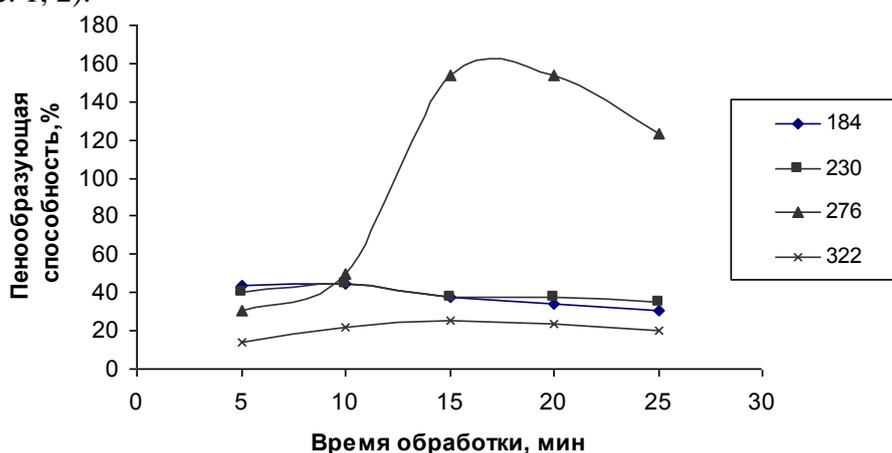
На сегодняшний день также предложены методики ультразвуковой предобработки лигноцеллюлозного материала [9; 13]. Доказана эффективность использования ультразвукового воздействия для интенсификации экстракции гликанов льна [5; 7; 8; 13; 34]. Исследовано применение в лабораторном масштабе микроволновой и ультразвуковой экстракции гинзенозидов из женьшеня [26; 38; 39], сапонинов из нута и глицирризиновой кислоты из корня солодки [30]. Однако, для достижения максимального выхода ценных компонентов в жидкую фазу при сохранении ими своей нативной структуры необходим индивидуальный подход к выбору оптимальных режимов ультразвуковой обработки для каждого вида сырья. В представленной работе исследован процесс получения сапонинсодержащих экстрактов *Saponaria officinalis* L. с использованием низкочастотного ультразвука.

Материал и методика. Растительный материал – корни мыльнянки осеннего сбора. Для получения водных экстрактов сапонинов был использован ультразвуковой диспергатор IKASONIC U 50 control (IKA Labortechnik, Германия). Ультразвуковая обработка проводилась следующим образом: ультразвуковой генератор настраивался по интенсивности воздействия; навеска растительного сырья помещалась в химический стакан и заливалась дистиллированной водой (гидромодуль 1:5). Затем насадку ультразвукового генератора погружали в стакан с растительным сырьем и проводили обработку сырья. После завершения обработки раствор отфильтровывали через пористый стеклянный фильтр и определяли объем полученного экстракта.

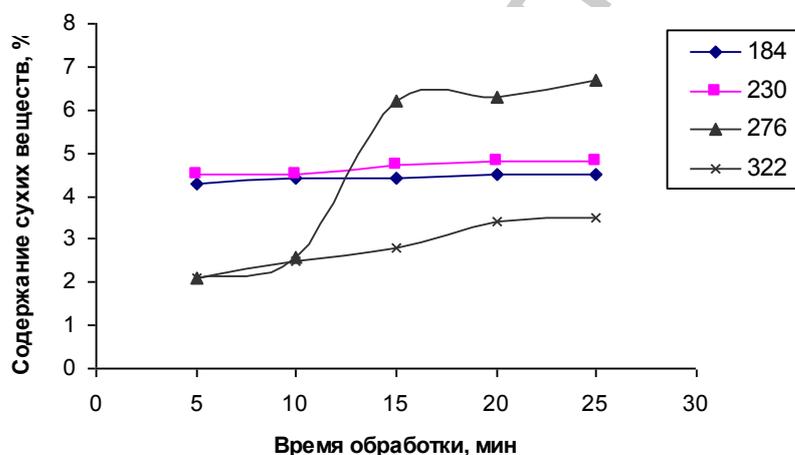
Для полученных экстрактов определяли содержание сухих веществ рефрактометрическим (согласно ГОСТ 28562-90) и гравиметрическим методами (прибор TG209 F1, Iris, Netzsch, Германия). Пенообразующую способность определяли согласно ГОСТ 23409.26-78.

Для определения оптимальных условий ультразвукового воздействия были проведены две серии экспериментов, в которых варьировались интенсивность и продолжительность ультразвуковой обработки сырья. В первой серии экспериментов для экстракции использовали сухие корни, во второй корни, предварительно замоченные в течение 20 минут.

Результаты и обсуждение. В серии экспериментов без предварительного замачивания сырья получены следующие результаты (рис. 1, 2).



Р и с . 1 . Зависимость пенообразующей способности сапонисодержащих экстрактов от времени ультразвуковой обработки (эксперимент без предварительного замачивания сырья)

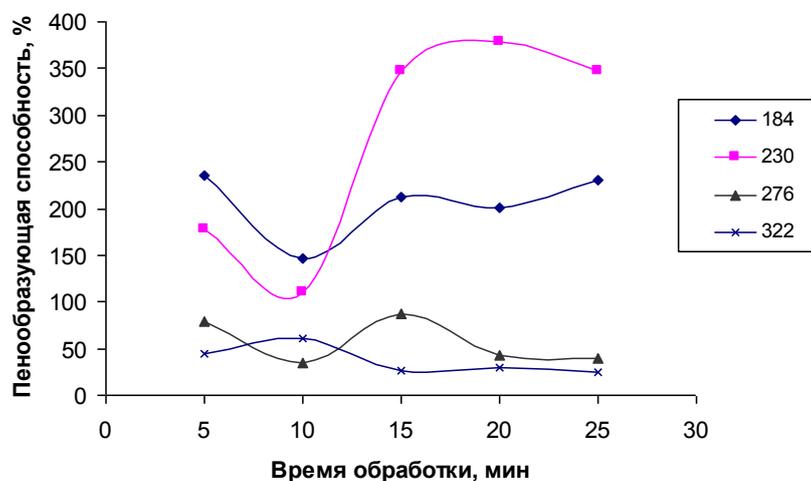


Р и с . 2 . Зависимость содержания сухих веществ в сапонисодержащих экстрактах от времени ультразвуковой обработки (эксперимент без предварительного замачивания сырья)

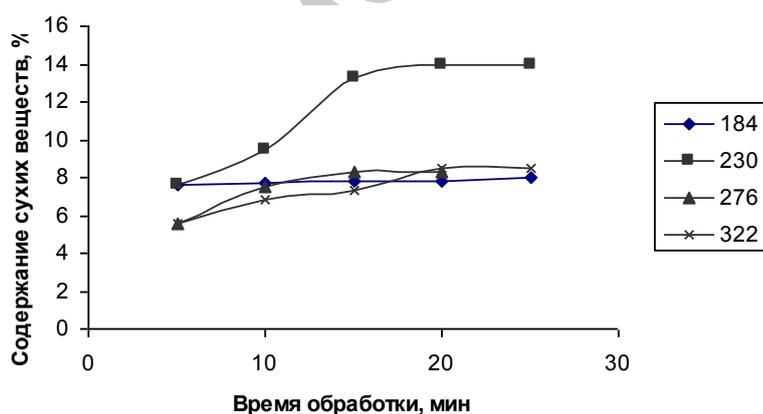
Таким образом, оптимальными параметрами ультразвуковой экстракции сапонинов из красного мыльного корня (без

предварительного замачивания сырья) являются интенсивность 276 Вт/см², время обработки 15 минут.

В серии экспериментов с предварительным замачиванием сырья получены следующие результаты (рис. 3–4).



Р и с . 3 . Зависимость пенообразующей способности сапонисодержащих экстрактов от времени ультразвуковой обработки (эксперимент с предварительным замачиванием сырья)



Р и с . 4 . Зависимость содержания сухих веществ в сапонисодержащих экстрактах от времени ультразвуковой обработки (эксперимент с предварительным замачиванием сырья)

Таким образом, оптимальные параметры ультразвуковой экстракции сапонинов из красного мыльного корня (с предварительным замачиванием сырья в течение 20 минут): интенсивность 230 Вт/см², время обработки 20 минут.

Заключение. Зависимости пенообразующей способности и содержания сухих веществ в экстракте от интенсивности ультразвукового воздействия носят нелинейный характер. Появление

максимумов на этих кривых, вероятнее всего, связано с особенностью ультразвукового воздействия на растительное сырье, а именно влиянием ультразвуковых волн на смачивание и пропитку растительного материала, на скорость выхода экстрагента из клеток и т. д. Полученные экстремальные зависимости хорошо согласуются с литературными данными по ультразвуковой экстракции [4–9; 13; 22; 27; 29; 34].

Общее заключение по ультразвуковой экстракции сапонинов из красного мыльного корня: оптимальные условия для ультразвуковой обработки – интенсивность ультразвукового воздействия 230 Вт/см², продолжительность обработки 20 минут, при этом рекомендовано предварительное замачивание корней в течение 20 минут. Дальнейшее увеличение интенсивности и времени ультразвукового воздействия приводит к ухудшению свойств экстрактов. Использование меньшей интенсивности и меньшего времени обработки не позволяет добиться необходимых показателей экстрактов.

Список литературы

1. Акопян В.Б., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с «биологическими объектами» (ультразвук в медицине, ветеринарии и экспериментальной биологии). М.: Изд-во РГТУ им. Н.Э. Баумана, 2005. 300 с.
2. Клочкова И.С., Юдина Т.П., Черевач Е.И. Экстракт *Saponaria officinalis* L. в технологии производства сбивных кондитерских изделий // Кондитерское производство. 2011. № 2. С. 12–15.
3. Маргулис М. А. Основы звукохимии. М.: Высшая школа, 1984. 272 с.
4. Ожимкова Е.В. Ультразвуковая экстракция гетерополисахаридов из растительного сырья // Материалы XII Молодеж. конф. по органической химии. Иваново, 2009. С. 333–335.
5. Ожимкова Е.В., Сидоров А.И. Использование низкочастотного ультразвукового поля для интенсификации экстракции гликанов из *Linum usitatissimum* // Вестн. ТГТУ. 2008. Вып.13. С. 249–252.
6. Ожимкова Е.В., Сидоров А.И., Плащина И.Г., Мартиросова Е.И., Ущановский И.В., Даниленко А.Н. Низкочастотная ультразвуковая экстракция гликанов из *Linum usitatissimum* // Вестн. МИТХТ. 2009. Т. 4, № 3. С.70–74.
7. Способ получения полисахаридов льна: Патент РФ № 2358983. Заявка № 2008100613, приоритет 9.01.2008. ГОУ ВПО «Тверской государственный технический университет».
8. Способ получения полисахаридного комплекса из цветов липы сердцевидной: Патент РФ № 2373956. Заявка № 2008139200,

- приоритет 2.10.2008. ГОУ ВПО «Тверской государственный технический университет».
9. Прутенская Е.А., Сульман М.Г., Ожимкова Е.В. Влияние ультразвуковой предобработки на состав материала // Известия ВУЗов. Химия и химические технологии. 2008. Т. 51, вып. 6. С. 97–98.
 10. Сульман М.Г. Ультразвуковое воздействие в физико-химических процессах получения биологически активных веществ: автореф. ... дис. д-ра хим. наук. Тверь, 2000. 38 с.
 11. Сульман Э.М., Прутенская Е.А., Ожимкова Е.В., Ракитин М.Ю., Сульман М.Г. Ультразвуковая экстракция биологически активных веществ из растительного материала – перспективное направление инновационных научно-исследовательских работ // Вестн. Твер. гос. ун-та. Серия Химия. 2011. С. 147–152.
 12. Сульман Э.М., Прутенская Е.А., Ожимкова Е.В., Сульман М.Г. Применение ультразвуковой обработки растительного материала в различных отраслях химической промышленности // Вестник ТГТУ. 2011. Вып. 18. С. 92–94.
 13. Сульман Э.М., Сульман М.Г., Прутенская Е.А. Влияние ультразвуковой предобработки на состав лигноцеллюлозного материала в биотехнологических процессах // Катализ в промышленности. 2010. № 5. С. 58–63.
 14. Хмелев В.Н., Сливин А.Н., Барсуков Р.В. Применение ультразвука высокой интенсивности в промышленности. Бийск: Изд-во Алтай. гос. техн. ун-та, 2010. 203 с.
 15. Юдина Т.П., Черевач Е.И., Цыбулько Е.И., Бабин Ю.В., Гореньков Э.С. Анализ экстрактов сапониноносных растений семейства гвоздичных *Acanthophyllum gypsophiloides* и *Saponaria officinalis* // Хранение и переработка сельхозсырья. 2006. № 10. С. 29–31.
 16. Юдина Т.П. Оптимизация состава и структуры кремов функционального назначения с использованием эмульгатора из корней мыльнянки // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2006. № 6. С. 51–54.
 17. Юдина Т.П., Черевач Е.И., Цыбулько Е.И., Бабин Ю.В. Поиск перспективного источника сапонинов для получения растительного эмульгатора // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2008. № 2–3. С. 33–36.
 18. Arabski M, Węgierek-Ciuk A, Czerwonka G, Lankoff A, Kaca W. Effects of saponins against clinical E. coli strains and eukaryotic cell line // J. Biomed. Biotechnol. 2012. Vol. 2012. P. 1–6.
 19. Arrau S., Carlos Cartagena C.D., Rodriguez-Diaz M., Gonzalez P., Silva X., Cassels B.K., Mirandad H.F. Antinociceptive activity of *Quillaja saponaria* Mol. saponin extract, quillaic acid and derivatives in mice // J.

- Ethnopharm. 2011. Vol. 133. P. 164–167.
20. *Cheeke P.R.* Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. Proceedings of the American Society of Animal Science: [Electronic resource]. 1999. Mode of access: <http://www.asas.org/JAS/symposia/proceedings/0909.pdf> (дата обращения: 11.10.2005).
 21. *Francis G., Kerem Z., Makkar H.P.S., Becker K.* The biological action of saponins in animal systems: A review // *Brit. J. Nutr.* 2002. Vol. 88. P. 587–605.
 22. *Hartmann R.* Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons (PAHs) in Forest Soils - Critical-Evaluation of a New Analytical Procedure // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 1996. № 62. P. 161–173.
 23. *Hyun T. K., Kim J.-S.* The pharmacology and clinical properties of *Calopanax pictus* // *Journal of Medicinal Plants Research.* 2011. Vol. 3(9). P. 613–620.
 24. *Joh E.H., Kim D.H.* Kalopanaxsaponin A ameliorates experimental colitis in mice by inhibiting IRAK-1 activation in the NF- κ B and MAPK pathways // *Br. J. Pharmacol.* 2011. Vol. 162, № 8. P. 1731–1742.
 25. *Karamfilov V.K., Fileman T.W., Evans K.M., Mantoura R.F.* Determination of Dimethoate and Fenitrothion in Estuarine Samples by C-18 Solid-Phase Extraction and High-Resolution Gas-Chromatography with NitrogenPhosphorus Detection // *Anal. Chim. Acta.* 1996. № 335. P. 51–61.
 26. *Kwon J.-H., Belanger M.R., Pare J.R.J.* Optimization of microwave-assisted extraction (MAP) for ginseng components by response surface methodology // *J. Agric. Food Chem.* 2003. Vol. 51. P. 1807–1810.
 27. *Manoli E. Samara C.* Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons in waste-waters and sewage-sludge – extraction and cleanup for HPLC analysis with fluorescence detection // *Chromatographia.* 1996. Vol 43. P. 135–142.
 28. *Naknukool S, Horinouchi I, Hatta H.* Stimulating macrophage activity in mice and humans by oral administration of quillaja saponin // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2011. Vol. 75, №10. P. 1889–1893.
 29. *Ozhimkova E.V., Sidorov A.I., Molchanov V.P., Plaschina I.G., Martirosova E.I., Uschapovsky I.V., Danilenko A.N.* Study of low-frequency ultrasound on polysaccharides extraction from flax seed // *Biotechnology in medicine, foodstuffs, biocatalysis, environment and biogeotechnology*, Nova Science Publishers Inc., N. Y., 2010. Chapter 11, P. 99–105.
 30. *Pan X., Liu H., Jia G., Shu Y.Y.* Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root // *Biochem. Eng. J.* 2000. Vol. 5. P. 173–177.
 31. *Richardson T., Jimenez-Flores R.* 1994. Process to remove cholesterol from dairy products. US Patent 5326579.

32. Sajadi Tabassi S.A., Hosseinzadeh H., Ramezani M., Moghimipour E., Mohajeri S.A. Isolation, characterization and study of enhancing effects on nasal absorption of insulin in rat of the total saponin from *Acanthophyllum squarrosum* // Ind. J. Pharm. 2007. Vol. 39, Is. 5. P. 226–230.
33. Schneider R.J. Evaluation of an Extraction Method for Triazine Herbicides from Soils for Screening Purposes // Agribiol. Res. 1995. № 48. P. 193–206.
34. Sulman E., Sulman M., Prutenskaya E. Effect of Ultrasonic Pretreatment on the Composition of Lignocellulosic Material in Biotechnological Processes // Catalysis in Industry. 2011. Vol. 3, Is. 1. P. 28–33.
35. Tafaghodi M, Eskandari M, Kharazizadeh M, Khamesipour A, Jaafari M.R. Immunization against leishmaniasis by PLGA nanospheres loaded with an experimental autoclaved *Leishmania major* (ALM) and *Quillaja saponins* // Trop. Biomed. 2010. Vol. 27, №3. P. 639–650.
36. Tam K.I., Roner M.R. Characterization of in vivo anti-rotavirus activities of saponin extracts from *Quillaja saponaria* Molina // Antiviral Res. 2011. Vol. 90, №3. P. 231–241.
37. Tsuzuki J.K., Svidzinski T.I., Shinobu C.S., Silva L.F., Rodrigues-Filho E., Cortez D.A., Ferreira I.C. Antifungal activity of the extracts and saponins from *Sapindus saponaria* L. // An. Acad. Bras. Cienc. 2007. Vol. 79, №4. P. 577–583.
38. Vongsangnak W., Gua J., Chauvatcharin S., Zhong J.-J. Towards efficient extraction of notoginseng saponins from cultured cells of *Panax notoginseng* // Biochem. Eng. J. 2004. Vol. 18. P. 115–120.
39. Wu J., Lin L., Chau F. Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells // Ultrason. Sonochem. 2001. Vol. 8. P. 347–352.

ULTRASONIC EXTRACTION OF SAPONINS FROM *SAPONARIA OFFICINALIS* L. ROOTS

**D.A. Edelev¹, M.G. Sulman², A.I. Sidorov², E.V. Ozhimkova²,
B.B. Tikhonov², V.Y. Doluda², E.M. Sulman²**

¹Moscow State University of Food Production

²Tver State Technical University

The presented work is devoted to the low-frequency (30 kHz) ultrasonic

extraction and to researching of the main physical and chemical properties of saponin containing extracts from *Saponaria officinalis* L. roots. The developed technique allows to reduce essentially the extraction time.

Keywords: *saponins, extraction, ultrasound.*

Об авторах:

ЕДЕЛЕВ Дмитрий Аркадьевич—доктор медицинских наук, доктор экономических наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств», 125080, Москва, Волоколамское шоссе, д. 11, e-mail: priem@mgupp.ru

СУЛЬМАН Михаил Геннадьевич—доктор химических наук, профессор кафедры автоматизации технологических процессов, ФГБОУ ВПО «Тверской государственной технический университет», 170026, Тверь, наб. Афанасия Никитина, д. 22, e-mail: sulman@online.tver.ru

СИДОРОВ Александр Иванович—кандидат химических наук, профессор кафедры биотехнологии и химии, ФГБОУ ВПО «Тверской государственной технический университет», 170026, Тверь, наб. Афанасия Никитина, д. 22, e-mail: sulman@online.tver.ru

ОЖИМКОВА Елена Владимировна—кандидат химических наук, доцент кафедры биотехнологии и химии, ФГБОУ ВПО «Тверской государственной технический университет», 170026, Тверь, наб. Афанасия Никитина, д. 22, e-mail: sulman@online.tver.ru

ТИХОНОВ Борис Борисович—кандидат химических наук, доцент кафедры биотехнологии и химии, ФГБОУ ВПО «Тверской государственной технический университет», 170026, Тверь, наб. Афанасия Никитина, д. 22, e-mail: tiboris@yandex.ru

ДОЛУДА Валентин Юрьевич—кандидат химических наук, доцент кафедры биотехнологии и химии, ФГБОУ ВПО «Тверской государственной технический университет», 170026, Тверь, наб. Афанасия Никитина, д. 22, e-mail: sulman@online.tver.ru

СУЛЬМАН Эсфирь Михайловна—доктор химических наук, профессор, заведующая кафедрой биотехнологии и химии, ФГБОУ ВПО «Тверской государственной технический университет», 170026, Тверь, наб. Афанасия Никитина, д. 22, e-mail: sulman@online.tver.ru