

DOI: 10.15593/2224-9400/2020.3.03

УДК 579.61

Л.В. Волкова, А.А. Дулькевич, А.В. Семкова

Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ
ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ МИЦЕЛИЯ
MEDUSOMYCES GISEVI**

*Представлены материалы по химическому составу культуральной жидкости гриба *Medusomyces Gisevi*, ее влиянию на организм человека, проведена оценка безопасности биологически активной добавки на основе *Medusomyces Gisevi*. Экспериментально и теоретически обоснована целесообразность использования зооглеи в качестве перспективного сырья для создания биологически активной добавки.*

*Разработана рациональная технология получения биологически активной добавки, содержащей гомогенизат мицелия гриба *Medusomyces Gisevi*. Биологически активную добавку получали путем гомогенизации зооглеи мицелия гриба *Medusomyces Gisevi*, с последующей обработкой ультразвуком и лиофильным высушиванием. Стандартизация препарата проводилась с использованием хроматографических и спектрофотометрических методов.*

*Изучены параметры безопасности полученной биологически активной добавки. Определение острой токсичности лиофилизированного гомогенизата зооглеи мицелия гриба *Medusomyces Gisevi* проводили на сертифицированных половозрелых животных обоего пола – белых мышах стока CD-1. При изучении токсичности при курсовом введении добавки было выявлено, что общее состояние животных, получавших добавку в дозе 500 мг/кг и в контрольной группе животных, оставалось стабильным в течение всего срока наблюдения.*

*Проведена сравнительная оценка массы тела мышей до введения и через 14 сут после введения сухого гомогенизата мицелия гриба *Medusomyces Gisevi*, определены морфологические показатели крови мышей, получавших добавку БАД ЧГ-1 в дозе 500 мг/кг. Сделан вывод об отсутствии острой токсичности биологически активной добавки БАД ЧГ-1. При макроскопическом исследовании органов выявлено, что добавка в дозе 500 мг/кг влияла на печень, вызывая ее уменьшение, поэтому механизм влияния добавки на печень требует дальнейшего изучения.*

Ключевые слова: *Medusomyces Gisevi*, биологически активная добавка, острая токсичность, мыши.

L.V. Volkova, A.A. Dulkevich, A.V. Semkova

Perm National Research Polytechnic University, Perm

**DETERMINATION OF ACUTE TOXICITY
OF A MEDUSOMYCES GISEVI MYCELIUM
DIETARY SUPPLEMENT**

The paper presents materials on the chemical composition of the culture fluid of the Medusomyces Gisevi fungus, its effect on the human body, and assesses the safety of a biologically active supplement based on Medusomyces gisevi. The expediency of using zoogley as a promising raw material for creating a biologically active additive is experimentally and theoretically grounded.

A rational technology was developed for the production of a biologically active supplement containing the mycelium homogenisate of the fungus Medusomyces Gisevi. A dietary supplement was obtained by homogenizing the zoogley of the mycelium of the fungus Medusomyces Gisevi, followed by sonication and freeze drying. The standardization of the drug was carried out using chromatographic and spectrophotometric methods.

The safety parameters of the obtained biologically active additives were studied. The acute toxicity of the lyophilized zoogley homogenisate of the mycelium of the mycelium of the fungus Medusomyces Gisevi was determined on certified sexually mature animals of both sexes – white CD-1 mice. When studying the toxicity of the course administration of the supplement, it was found that the general condition of the animals receiving the supplement at a dose of 500 mg/kg and in the control group of animals remained stable throughout the entire observation period.

A comparative assessment was made of the body weight of mice before administration and 14 days after administration of the dry homogenisate of the mycelium of the fungus Medusomyces Gisevi, the morphological parameters of the blood of mice treated with the supplement “BAA ChG-1” at a dose of 500 mg/kg were determined. It is concluded that there is no acute toxicity of the biologically active additive “BAA ChG-1”. A macroscopic examination of the organs revealed that the additive at a dose of 500 mg/kg affected the liver, causing its decrease, therefore, the mechanism of the effect of the additive on the liver requires further study.

Keywords: *Medusomyces gisevi, biologically active supplement, acute toxicity, mice.*

Первые публикации по описанию действия чайного гриба относятся к 1913 г. и принадлежат немецкому микологу Линдау. Известно, что чайный гриб представляет собой симбиоз двух видов организмов – дрожжевых грибков и уксуснокислых бактерий, в результате действия которых чай дополняется и обогащается целебными свойствами дрожжей и уксуса, а также рядом продуктов жизнедеятельности колонии.

Таким образом, настой чайного гриба является продуктом двух комбинированных брожений и имеет очень сложный состав:

1. Органические кислоты: уксусная, глюконовая, щавелевая, лимонная, яблочная, молочная, пировиноградная, фосфорная.
2. Ферменты: каталаза, линаза, протеаза, карбогидраза, амилаза и др.
3. Витамины: аскорбиновая кислота, тиамин.
4. Липиды: стерины, фосфатиды, жирные кислоты.
5. Этиловый спирт.
6. Пигменты: хлорофилл, ксантофилл.
7. Сахара: моносахариды, дисахариды.
8. Пуриновые основания из чайного листа.

Наряду с богатым химическим составом культуральной жидкости чайного гриба существуют данные об естественном антибактериальном и антибиотическом действии чайного гриба. Из настоя гриба можно получить антибиотическое вещество с высоким титром, действующее бактерицидно и бактериостатически на грамположительные и грамотрицательные бактерии. А дополнительный антимикробный эффект, вызываемый культуральной жидкостью после ферментации чая, можно связать с уксусной кислотой, полученной в ходе процесса.

Кроме того, во многих источниках говорится о противогрибковом, противоопухолевом, антидиабетическом и иммуномодулирующем действиях чайного гриба [1, 2]. Установлено положительное воздействие этого напитка на пищеварительную, сердечно-сосудистую, нервную и другие системы организма человека [3, 4].

В последние годы проводится активный поиск растительных источников получения биологически активных добавок, главным преимуществом которых является мягкое воздействие на организм при отсутствии выраженной токсичности. Одним из способов решения данной проблемы является употребление различных биологически активных добавок, исключающее использование синтетических стимуляторов роста и антибиотиков.

Особое внимание при создании биологически активных добавок уделяется подбору экологически чистого, недорогого и безвредного сырья, содержащего вещества, оказывающие биостимулирующее действие и благотворное влияние на макроорганизм.

В связи с этим на кафедре химии и биотехнологии ПНИПУ была разработана рациональная технология получения биологически активной добавки, содержащей гомогенизат мицелия гриба *Medusomyces Gisevi*.

Известно, что его состав является многокомпонентным и может обеспечить вышеуказанные требования. Поэтому использование мице-

лия чайного гриба в качестве сырья для получения биологически активной добавки является перспективным направлением.

Необходимым этапом разработки биологической добавки является не только определение его специфической активности, но и изучение его безвредности.

Цель работы – изучение безопасности биологически активной добавки на основе мицелия гриба *Medusomyces Gisevi*.

Материалы и методы. Объектом исследования явился гомогенизат зооглеи мицелия гриба *Medusomyces Gisevi*, лиофилизированный при следующих условиях: замораживание при температуре $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 40 мин и сушка в режиме среднего рабочего давления в камере конденсора $-82\text{ }^{\circ}\text{C}$. Потеря влаги составила 96,3 %. Методом ВЖЭХ установлен аминокислотный состав из 16 аминокислот, наибольшее количество представлено фенилаланином – 2,426 % и глицином – 1,102 %, а также определено содержание сырой клетчатки – 60,97 % и уровень белка – 0,037 %.

Определение острой токсичности лиофилизированного гомогенизата зооглеи мицелия гриба *Medusomyces Gisevi* проводили на базе НОЦ «ХИМБИ» под руководством канд. хим. наук О.П. Красных согласно «Методическим рекомендациям по изучению общетоксического действия фармакологических средств» [5] на сертифицированных половозрелых животных обоего пола – белых мышах стока CD-1 (самцы и самки трехмесячного возраста, полученные из питомника лабораторных животных «Пушино» и прошедшие карантин в течение 14 сут). Все группы состояли из 3 особей обоего пола (самцов и самок). Животных содержали в стандартных условиях по 3 головы в клетке. Содержание экспериментальных животных осуществлялось в стандартных условиях на обычном рационе при свободном допуске к воде, пище, в условиях нормального температурного и светового режима.

Распределение по группам производили случайным образом, в качестве критерия выбора животных использовали гомогенность групп по массе тела так, чтобы индивидуальная масса животных не отличалась более чем на 15 % от средней массы животных одного пола.

В соответствии с путем введения, используемым в животноводстве, биологически активная добавка вводилась перорально, через зонд. Учитывали, что максимально допустимый объем жидкости, рекомендованный для введения лабораторным мышам в желудок, составляет 1,0 мл при массе более 30 г. Биологически активная добавка

БАД ЧГ-1 вводилась двукратно, с интервалом 15 мин. Первая группа животных получала гомогенизат в дозировке 500 мг/кг, вторая – 2500 мг/кг и третья – 5000 мг/кг животного. Дозу 10 000 мг/кг массы тела животного ввести не удалось.

Общая продолжительность наблюдения за животными после введения исследуемого препарата составила 14 дней, причем в первый день после введения вещества животные находились под непрерывным наблюдением.

Забор крови у животных проводили после 12-часового голодания из хвостовой вены в объеме 0,5 мл через 14 сут после введения исследуемого образца. Уровень гемоглобина определяли калориметрическим методом. Для определения количества эритроцитов использовали метод подсчета в камере Горяева, которую помещали под микроскоп Micros (Австрия), объектив 8X, окуляр 10X или 15X. Для определения СОЭ кровь смешивали в соотношении 4:1 с физиологическим раствором хлорида натрия, содержащим цитрат натрия. Подсчет лейкоцитов проводили в камере Горяева. Для подсчета лейкоцитарной формулы крови мазки крови окрашивали по Романовскому–Гимзе. Подсчет клеток производили под микроскопом Micros (Австрия) с применением иммерсионного масла. Для подсчета тромбоцитов использовали метод Фонио.

Эвтаназию животных проводили в CO₂-камере. После вскрытия визуальному осмотру подверглись: сердце, легкие, почки, печень, желудок, кишечник. Эксперименты проводили в соответствии с правилами гуманного обращения с животными [6].

Результаты и обсуждение. При изучении токсичности при курсовом введении добавки было выявлено, что общее состояние животных, получавших добавку в дозе 500 мг/кг и в контрольной группе животных, было стабильным в течение всего срока наблюдения. Изменения в поведенческих реакциях, интенсивности и характере двигательной активности не наблюдалось. Потребление пищи и воды, частота и глубина дыхательных движений, ритм сердечных сокращений у животных всех групп находились в пределах физиологической нормы. Изменения состояния шерстного и кожного покрова, а также окраски слизистых оболочек, у животных всех групп не выявлено. Задержки мочеиспускания и изменения окраски мочи у животных в ходе исследования не отмечалось, явлений диареи и обстипации не наблюдалось. Динамика изменения массы мышцей опытных и контрольной групп, представлена в табл. 1.

Таблица 1

Сравнительная оценка массы тела мышей до введения и через 14 сут после введения сухого гомогенизата мицелия гриба *Medusomyces Gisevi*

Испытуемые дозы, мг/кг массы тела	Масса животных до ведения препарата, г	Масса животных на 14-е сутки наблюдения, г	Прирост массы тела, г
500	35,40±2,27	36,90±2,57	1,5±0,3
2500	35,40±2,54	37,00±2,60	1,6±0,3
5000	35,30±2,89	36,60±2,48	1,3±0,2
Контрольная группа	35,20±3,36	36,60±2,37	1,4±0,2

Установлено, что динамика изменения массы тела в контрольной и опытных группах аналогичны. Отсутствует статистическая достоверность. В течение 14 сут эксперимента гибели животных не отмечено, в связи с чем можно сделать вывод об отсутствии острой токсичности биологически активной добавки БАД ЧГ-1.

Далее было проведено изучение токсического действия добавки при курсовом введении в течение 9 дней в дозе 500 мг/кг, так как данная дозировка является оптимальной.

Влияние добавки на гематологические показатели крови животных представлено в табл. 2.

Таблица 2

Морфологические показатели крови мышей, получавших добавку БАД ЧГ-1 в дозе 500 мг/кг ($M \pm m$, $n=6$)

Показатель (нормированное значение)	Показатели у группы мышей	
	до введения	после введения
Эритроциты, $10^{12}/л$ (5,5–10)	5,95±0,01	5,70±0,12
Гемоглобин, г/л (110–180)	159,67±4,36	160,40±3,93
Тромбоциты, $10^9/л$ (430–840)	526,67±19,01	514,00±15,36
Лейкоциты, $10^9/л$ (5–14)	7,43±0,74	6,42±0,74
Палочкоядерные (1,1–3,2)	1,17±0,48	3,60±0,25*
Сегментоядерные	26,83±1,45	36,60±1,78
Эозинофилы (0–6)	1,67±0,42	1,00±0,38
Моноциты (0–5)	1,67±0,33	1,20±0,38
Лимфоциты (62–75)	69,00±1,31	63,60±1,81*
СОЭ, мм/ч (0,7–2,1)	1,83±0,31	2,20±0,37

* ($P < 0,05$) – статистически достоверный результат в сравнении с исходным показателем.

В группах животных, получавших добавку в дозе 500 мг/кг, количество эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, величина СОЭ и лейкоцитарная формула в крови не отличались от показателей животных контрольной группы и находились в пределах физиологической нормы для белых мышей.

По данным макроскопического (визуального) исследования внутренних органов животных, получавших добавку, и животных контрольной группой было установлено, что грудная и брюшная полости не содержали экссудата, у животных всех групп положение внутренних органов грудной и брюшной полостей физиологическое, патологических изменений не наблюдалось.

При визуальном осмотре печени установлено, что у опытной группы наблюдалась бледная окраска печени, рыхлая паренхима, острые края. Размеры печени уменьшены, по сравнению с размерами печени животных контрольной группы. Результаты измерений массы печени представлены в табл. 3. При взвешивании масса печени контрольной группы составила $1,750 \pm 0,121$, опытной группы – $1,430 \pm 0,105$.

Таблица 3

Динамика изменения массы печени и почек
экспериментальных животных

Наименование групп	Масса печени, г	Масса почек, г
Контрольная группа	$1,750 \pm 0,121$	$0,453 \pm 0,112$
Опытная группа	$1,430 \pm 0,105$	$0,414 \pm 0,052$

При исследовании почек различий не установлено, за исключением окраски: у животных опытной группы окраска почек желтовато-серая. Величина, форма сердца и легких у животных опытной и контрольной группы не имели различий. Слизистая желудка и кишечника животных обеих групп была блестящей, гладкой, бледного цвета. Возможно, изменение состояния печени связано с введением большого количества витаминов и минеральных веществ, содержащихся в добавке. Механизм влияния добавки на печень требует дальнейшего изучения.

Заключение. В ходе исследования была обоснована целесообразность использования мицелия гриба *Medusomyces Gisevi* для получения биологически активной добавки, изучены параметры ее безопасности.

При изучении токсического действия добавки при курсовом введении установлено, что при ежедневном введении добавки в течение 9 дней в дозе 500 мг/кг общее состояние животных опытных групп не

изменилось в сравнении с животными контрольной группы. Добавка не повлияла на функцию почек у животных обеих групп. При изучении действия добавки на картину крови установлено, что добавка не оказывала влияния на количество эритроцитов, лейкоцитов, СОЭ и лейкоцитарную формулу крови у животных всех групп.

При макроскопическом исследовании органов выявлено, что добавка в дозе 500 мг/кг влияла на печень, вызывая ее уменьшение, по сравнению с массой печени у животных контрольных групп. Влияния добавки на другие органы и системы организма белых мышей не установлено.

Список литературы

1. Барбанчик Г.Ф. Чайный гриб и его лечебные свойства. – Омск: Ом. обл. кн. изд-во, 1957. – 54 с.
2. Шакарян Г.А., Даниелова Л.Т. Антибиотические свойства настоя *Medusomyces Gisevi* (чайного гриба) // Труды Ереванского зооветинститута. – 1948. – № 10. – С. 38.
3. Даниелян Л.Т. Чайный гриб и его биологические особенности. – М.: Медицина, 2005. – 176 с.
4. Неумывакин И.П. Чайный гриб природный целитель. Мифы и реальность. – М.: Диля, 2007. – 160 с.
5. Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации: Федер. закон от 27 дек. 2018 г. № 498-ФЗ. – Доступ из справ.-правовой системы «КонсультантПлюс».
6. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия фармакологических средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – Ч. 1. – М., 2012.
7. Пат. 2500198 Рос. Федерация. Способ получения биологически активного биоматериала и биоматериал, полученный данным способом / В.Х. Хачатрян. – № 2012135672/13; заявл. 21.08.2012; опубл. 10.12.2013.
8. Лунева Н.М., Серкова А.Н., Глазова Н.В. Белковый состав нативного раствора чайного гриба (*Medusomyces gisevi* Lindau) // Современные тенденции развития науки и технологий. – 2016. – № 1–5. – С. 21–24.
9. Алиев Р.К., Аллахвердибеков Г.Б., Тагдиев Д.Г. К характеристике химического состава и некоторых фармакологических свойств настоя чайного гриба // Изв. АН Азербайджанской ССР. – 1955. – № 7. – С. 285–287.
10. Юркевич Д.И., Кутышенко В.П. Медузомицет (Чайный гриб): научная история, состав, особенности физиологии и метаболизма // Биофизика. – 2002. – № 6. – С. 1116–1129.
11. Веревкина М.Н. Содержание минеральных элементов и соединений в культуральной жидкости и теле «чайного гриба» // Актуальные вопросы

микробиологии и биотехнологии XXI века и инновационные пути их решения. Научно-практическая конференция к 100-летию СГАУ им. Н.И. Вавилова. – М., 2012. – С. 10–13.

12. Природные микробные ассоциации / М.Н. Вережкина, Е.В. Светлакова, С.Н. Поветкин, С.В. Пруцаков // Ветеринария Кубани. – 2010. – № 4. – С. 19–20.

13. ГОСТ 33215–2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. – М., 2013.

14. Greenwalt C.J., Steinkraus K.H., Ledford R.A. Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects // J. Food Prot. – 2000. – № 63(7). – P. 976–981.

15. Antibacterial Activity of Polyphenolic Fraction of Kombucha Against Enteric Bacterial Pathogens / D. Bhattacharya, S. Bhattacharya, M.M. Patra, S. Chakravorty, S. Sarkar, W. Chakravorty, H. Koley, R. Gachhui // Curr. Microbiol. – 2016. – № 73(6). – P. 885–896.

References

1. Barbanchik, G. F. Chainyi grib i ego lechebnye svoistva [Kombucha and its medicinal properties]. Omskoe oblastnoe knizhnoe izdatel'stvo, 1957, 54 p.

2. Shakarian G.A., Danielova L.T. Antibioticheskie svoistva nastoia Medusomyces Gisevi (chainogo griba) [Antibiotic properties of the infusion of Medusomyces Gisevi (Kombucha)]. *Trudy Erevanskogo zoovetinstituta*, 1948, no.10, 38 p.

3. Danielian L.T. Chainyi grib i ego biologicheskie osobennosti [Kombucha and its biological features]. Moscow, OAO "Meditsina", 2005, 176 p.

4. Neumyvakin, I.P. Chainyi grib prirodnyi tselitel'. Mify i real'nost' [Kombucha is a natural healer. Myths and reality]. Moscow, Dilia, 2007, 160 p.

5. FZ ot 27 dekabria 2018 g. no. 498. FZ "Ob otvetstvennom obrashchenii s zhivotnymi i o vnesenii izmenenii v otdel'nye zakonodatel'nye akty Rossiiskoi Federatsii» [On Responsible Handling of Animals and on Amending Certain Legislative Acts of the Russian Federation].

6. Metodicheskie rekomendatsii po izucheniiu obshchetoksicheskogo deistviia farmakologicheskikh sredstv [Guidelines for the study of the general toxic effects of pharmacological agents]. Rukovodstvo po provedeniiu doklinicheskikh issledovaniu lekarstvennykh sredstv, Moscow, 2012.

7. Khachatryan V.Kh. Sposob polucheniia biologicheskii aktivnogo biomateriala i biomaterial, poluchennyi dannym sposobom [A method of obtaining biologically active biomaterial and biomaterial obtained by this method]. Patent Rossiiskaia Federatsiia no. 2500198 (2013).

8. Luneva N.M., Serkova A.N., Glazova N.V. Belkovyi sostav nativnogo rastvora chainogo griba (Medusomyces gisevi Lindau) [The protein composition of

the native solution of Kombucha (*Medusomyces gisevi* Lindau)]. *Sovremennye tendentsii razvitiia nauki i tekhnologii*, 2016, pp. 1-5, 21- 24.

9. Aliev R.K., Allakhverdibekov G.B., Tagdiev D.G. K kharakteristike khimicheskogo sostava i nekotorykh farmakologicheskikh svoistv nastoia chainogo griba [On the characterization of the chemical composition and some pharmacological properties of Kombucha infusion]. *Izv. AN Azerbaidzhanskoi SSR*, 1955, no.7, pp. 285–287.

10. Iurkevich D.I., Kutyshenko V.P. Meduzomitset (Chainyi grib): nauchnaia istoriia, sostav, osobennosti fiziologii i metabolizma [Medusomycet (Kombucha): scientific history, composition, features of physiology and metabolism]. *Biofizika*, 2002, no.6, pp. 1116–1129.

11. Verevkina M.N. Soderzhanie mineral'nykh elementov i soedinenii v kul'tural'noi zhidkosti i tele «chainogo griba» [The content of mineral elements and compounds in the culture fluid and the body of "Kombucha"]. *Aktual'nye voprosy mikrobiologii i biotekhnologii XXI veka i innovatsionnye puti ikh resheniia. Nauchno-prakticheskaiia konferentsiia k 100-letiiu SGAU im. N.I. Vavilova*, 2012, pp. 10-13.

12. Verevkina M.N., Svetlakova E.V., Povetkin S.N., Prutsakov S.V. Prirodnye mikrobnye assotsiatsii [Natural microbial associations]. *Veterinariia Kubani*, 2010, no.4, pp. 19-20.

13. GOST 33215-2014 Rukovodstvo po soderzhaniiu i ukhodu za laboratornymi zhiivotnymi. Pravila oborudovaniia pomeshchenii i organizatsii protsedur [Guide for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipment of premises and organization of procedures].

14. Greenwalt C.J., Steinkraus K.H., Ledford R.A. Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects, *J. Food Prot.*, 2000, Jul., no. 63 (7), pp. 976-981.

15. Bhattacharya D., Bhattacharya S., Patra M.M., Chakravorty S., Sarkar S., Chakraborty W., Koley H., Gachhui R. Antibacterial Activity of Polyphenolic Fraction of Kombucha Against Enteric Bacterial Pathogens. *Curr. Microbiol.*, 2016, Dec., no. 73 (6), pp. 885-896.

Получено 20.07.2020

Об авторах

Волкова Лариса Владимировна (Пермь, Россия) – доктор медицинских наук, профессор кафедры химии и биотехнологии (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29; e-mail: wolkowalw@mail.ru).

Дулькевич Анна Алексеевна (Пермь, Россия) – студент кафедры химии и биотехнологии, Пермский национальный исследовательский политехнический университет (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29).

Семкова Алена Владиславовна (Пермь, Россия) – студент кафедры химии и биотехнологии, Пермский национальный исследовательский политехнический университет (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29; e-mail: alen.petrukhina@yandex.ru).

About the authors

Larisa V. Volkova (Perm, Russian Federation) – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Chemistry and Biotechnology (29, Komsomolsky av., Perm, 614990; e-mail: wolkowalw@mail.ru).

Anna A. Dulkevich (Perm, Russian Federation) – Student of the Department of Chemistry and Biotechnology, Perm National Research Polytechnic University (29, Komsomolsky av., Perm, 614990).

Alena V. Semkova (Perm, Russian Federation) – Student of the Department of Chemistry and Biotechnology, Perm National Research Polytechnic University (29, Komsomolsky av., Perm, 614990; e-mail: alen.petrukhina@yandex.ru).