

ВЛИЯНИЕ ИМПУЛЬСНЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА СОРБЦИОННЫЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ ПЛЕНОК

Васильева Т.И., Шарова Т.В., Хренова А.А., Глушников В.А., Кленова Н.А.

Самарский университет

ул. Московское шоссе, 34, г. Самара, 443086, РФ; e-mail: vastaty@rambler.ru

Поступила в редакцию: 09.07.2019

Аннотация. Исследовано влияние импульсного магнитного поля при определенных его параметрах (напряженности H , частоте f , количестве импульсов n) на взаимодействие флавоноидов из водного растительного экстракта с макромолекулами бактериальной целлюлозной пленки. О том, что произошло связывание молекул флавоноидов с целлюлозой, судили по достоверному уменьшению концентрации флавоноидов в растворе растительного экстракта после воздействия на него импульсными магнитными полями, а также по дальнейшему вымыванию данных биологически активных веществ из высушенных пленок бактериальной целлюлозы. Была выдвинута гипотеза об усилении сорбционных свойств бактериальных целлюлозных пленок в условиях воздействия импульсных магнитных полей из-за увеличения подвижности микрофибрилл целлюлозы.

Ключевые слова: импульсное магнитное поле, флавоноиды, бактериальная пленка, целлюлоза.

В настоящее время появилось достаточно большое количество работ по влиянию импульсных магнитных полей на химические и биологические системы, так в сильном магнитном поле возрастает сорбционная способность газов на полимерных пленках [1]. Обнаружен эффект упрочнения модифицированной древесины березы после импульсной обработки в слабом (до 0,5 Тл) магнитном поле с возникновением ковалентных связей С–О–С между боковыми группами макромолекул целлюлозы [2]. Бактериальная целлюлоза имеет уникальное строение, что позволяет в нее вводить разнообразные системы с сохранением высокой прочности на разрыв, она отличается химической чистотой, наличием мелких, равномерно расположенных пор, отсутствием токсичности и аллергенности [3,4]. Флавоноиды как вещества для абсорбции представляют собой особый интерес, так как они обладают антиоксидантным, противовоспалительным, капилляроукрепляющим действием [5].

Целью настоящей работы было изучение влияния ИМП высокой напряженности на интенсивность взаимодействия флавоноидов с матрицей – бактериальной целлюлозной пленкой.

Эксперименты проводились на научно-технических базах лабораторий кафедры «Обработка металлов давлением» и кафедры биохимии, биотехнологии и биоинженерии Самарского университета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На рисунке 1 представлена схема воздействия ИМП на растительный экстракт и бактериальные пленки, размещенные в стандартном флаконе.

При этом использовалась магнитно-импульсная установка МИУ-15 [6], параметры которой приведены в таблице 1.

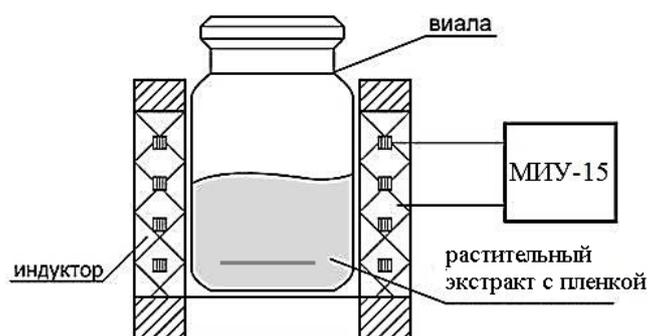


Рисунок 1. Схема воздействия ИМП на растительный экстракт с целлюлозной пленкой

Таблица 1. Параметры МИУ-15

Запасаемая энергия, W , кДж	Напряжение разряда, U , кВ	Собственная частота разрядного тока, f , кГц	C_0 , Мкф	L_0 , мкГн
18	1...20	55	100	0,09

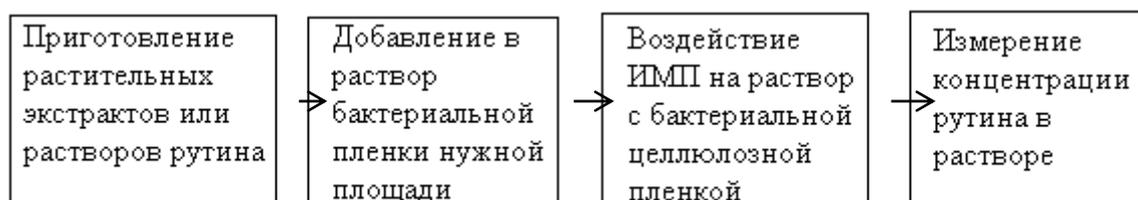


Рисунок 2. Процесс подготовки и проведения экспериментов

Таблица 2. Параметры воздействия ИМП на растительные экстракты

W, кДж	0,45	1,83	4,11
U, кВ	3,0	6,0	9,0
N (одновитковый индуктор), А/м 10^6	0,09	0,37	0,82
f кГц	10		
N	1		

Синтез бактериальной целлюлозной пленки осуществляли по методике [7] с использованием штамма бактерий *Gluconacetobacter sucrofermentas H-110*. Питательная среда содержала водный раствор с D-глюкозой – 20 г/л, дрожжевым экстрактом – 5,0 г/л, пептоном – 5,0 г/л, Na_2HPO_4 – 2,7 г/л, лимонной кислотой – 1,15 г/л, при pH 6,0. Культивирование проводили в шейкере-инкубаторе в течение трех суток со скоростью перемешивания 150 об/мин при температуре 30°C, затем стационарно в течение семи суток при той же температуре, до появления поверхностной пленки бактериальной целлюлозы. Бактериальную целлюлозу отделяли от культуральной среды и периодически промывали 0,5%-водным раствором NaOH, затем дистиллированной водой и 0,5%-м раствором HCl и вновь дистиллированной водой до нейтральной реакции. Затем образцы помещали на ровную поверхность и сушили при комнатной температуре до постоянной массы.

Концентрацию флавоноидов определяли с помощью спектрофотометрического анализа их комплексов с хлоридом алюминия в интервале $\lambda_{\text{max}} = 408-420$ нм [5]. В качестве стандарта служил рутин (ч.д.а.).

Статистическую обработку полученных данных проводили стандартным способом с помощью t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали различия с уровнем $p < 0,05$ [8].

Последовательность процесса подготовки и проведения экспериментов приведена на рисунке 2

Исследование проводили при воздействии ИМП с напряжением в диапазоне U от 3 кВ до 9 кВ (табл. 2) при частоте $f = 10$ кГц (одновитковый индуктор) и количестве импульсов $n = 1$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

По стандартной методике количественного определения флавоноидов используют спиртовые растительные экстракты [9]. Спиртовой раствор более активная реакционная среда, чем вода, поэтому измерения концентрации флавоноидов проводили как в спиртовом растворе, так и водном растворе, учитывая то, что рутин относится к гликозилированным флавоноидам [10], которые растворяются в воде, особенно при нагревании.

Были получены спектры поглощения водного и спиртового растворов рутина с алюминия хлоридом и было выявлено, что максимумы поглощения (λ_{max}) комплекса рутина (конц. 0,2 мг/мл) с 2% хлоридом алюминия спиртового и водного растворов совпадают и наблюдаются для $\lambda_{\text{max}} = 415$ нм. Для этой длины волны были построены калибровочные графики отдельно для водного и спиртового растворов, по которым в процессе работы находили концентрацию рутина.

Для выбора объекта исследования для растительных экстрактов сравнивали концентрации флавоноидов в водных экстрактах различного растительного сырья. Для дальнейших экспериментов был выбран укроп пахучий (*Anethum graveolens*), содержащий достаточно высокое содержание растворимых в воде флавоноидов.

Изучение влияния импульсных магнитных полей на взаимодействие флавоноидов из растительного экстракта укропа (спиртового и водного) с бактериальной целлюлозной пленкой показало, что взаимодействие с пленкой спиртовых растворов вызывает значительное усиление желтой окраски раствора (рис. 2), поэтому дальнейшие исследования мы продолжили с водными растительными экстрактами, а также непосредственно с водным раствором рутина.

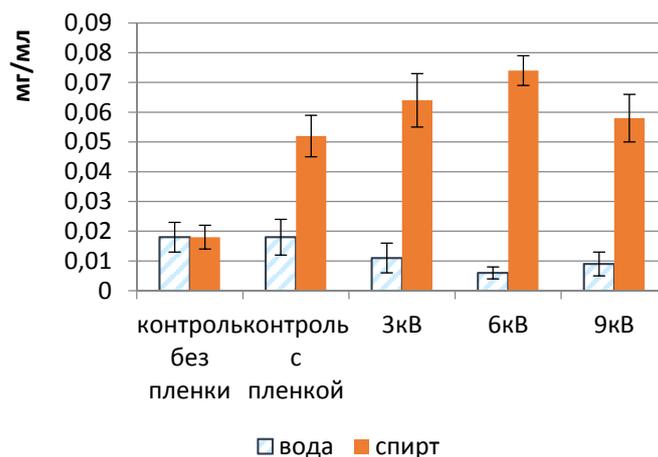


Рисунок 2. Влияние импульсного магнитного поля на концентрацию флавоноидов свежего укропа водного и спиртового экстрактов, содержащих бактериальную целлюлозную пленку

В условиях воздействия импульсного магнитного поля на концентрацию флавоноидов укропа водного экстракта, содержащего бумагу (калька) и бактериальную целлюлозную пленку наблюдали тенденцию к снижению флавоноидов при этих же напряжениях 6 кВ (рис. 3).

Дальнейшие эксперименты мы проводили только при ИМП с напряжением 6 кВ, но бактериальную пленку брали с разной площадью.

При влиянии импульсного магнитного поля ($U = 6$ кВ) на концентрацию флавоноидов укропа в водном экстракте, содержащем бактериальную целлюлозную пленку разной площади ($S = 0,8$ см² и $S = 1,6$ см²) были получены результаты, представленные на рисунках 4 и 5.

Было обнаружено достоверное снижение концентрации флавоноидов на 37 % в водном растворе укропа, содержащим бактериальную целлюлозную пленку большей площади ($S = 1,6$ см²), при воздействии ИМП с напряжением 6 кВ.

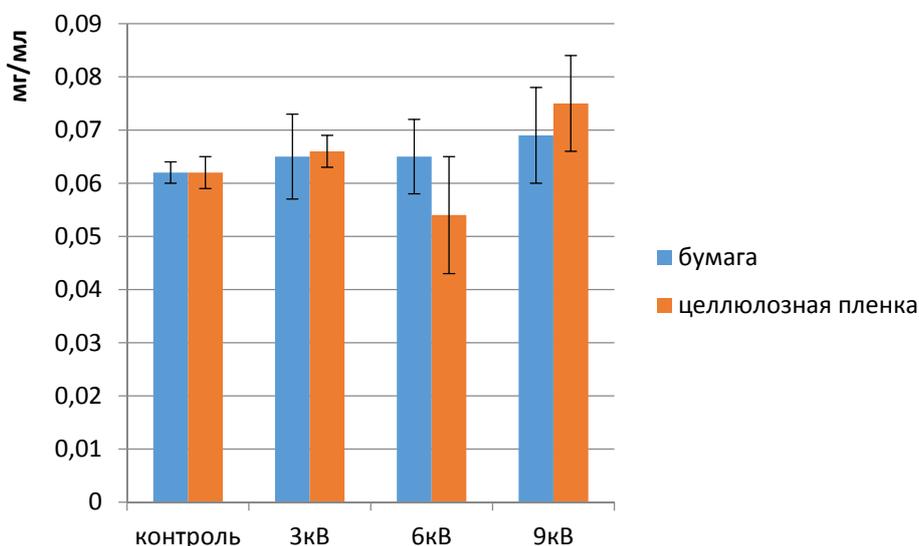


Рисунок 3. Влияние импульсного магнитного поля на концентрацию флавоноидов свежего укропа водного экстракта, содержащего бумагу (калька) и бактериальную целлюлозную пленку

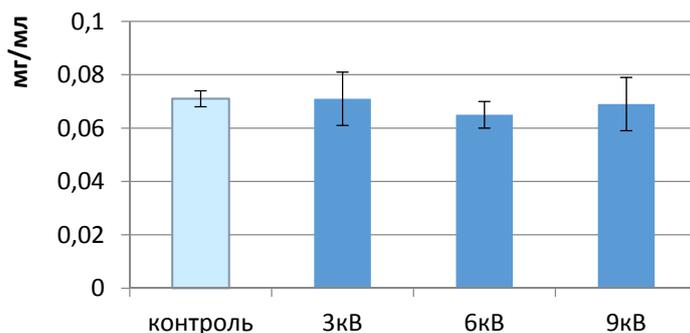


Рисунок 4. Влияние импульсного магнитного поля на концентрацию флавоноидов укропа в водном экстракте, содержащем бактериальную целлюлозную пленку ($S = 0,8 \text{ см}^2$)

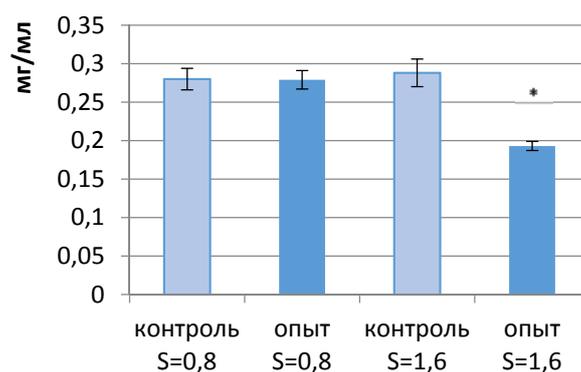


Рисунок 5. Влияние импульсного магнитного поля ($U=6 \text{ кВ}$) на концентрацию флавоноидов укропа в водном экстракте, содержащем бактериальную целлюлозную пленку разной площади ($S = 0,8 \text{ см}^2$ и $S = 1,6 \text{ см}^2$)

Чтобы исключить различные вещества, содержащиеся в растворе укропа, дальнейший эксперимент мы проводили с водным раствором рутина при концентрации $0,2 \text{ мг/мл}$. При изучении влияния импульсного магнитного поля ($U = 6 \text{ кВ}$) на концентрацию рутина в водном растворе, содержащем бактериальную целлюлозную пленку разной площади, получены подобные результаты: снижение концентрации рутина в растворе, содержащем бактериальную целлюлозную пленку с площадью $0,8 \text{ см}^2$, в условиях воздействия ИМП примерно на 8%, а в растворе, содержащем пленку большей площади $1,6 \text{ см}^2$ на 13% (рис. 6).

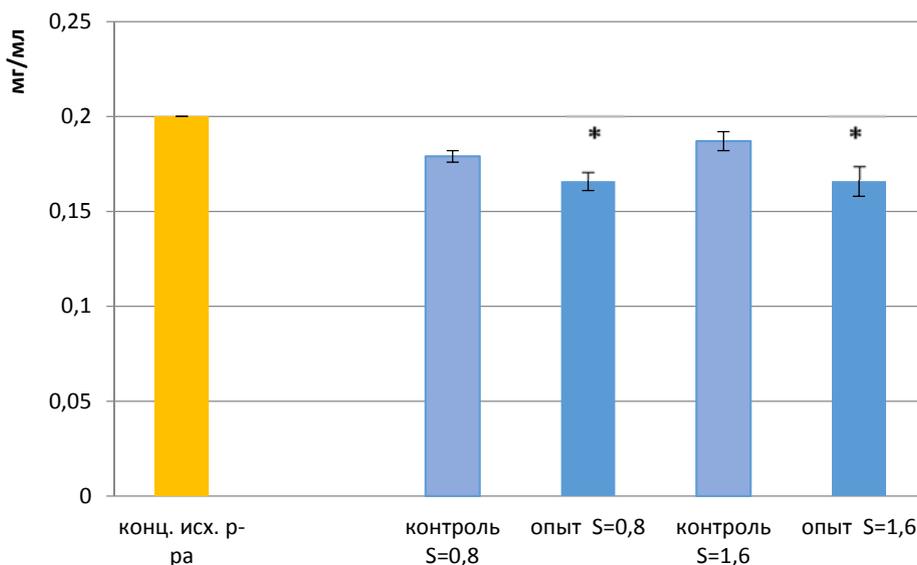


Рисунок 6. Влияние импульсного магнитного поля ($U = 6 \text{ кВ}$) на концентрацию рутина в водном растворе, содержащем бактериальную целлюлозную пленку разной площади ($S = 0,8 \text{ см}^2$ и $S = 1,6 \text{ см}^2$)

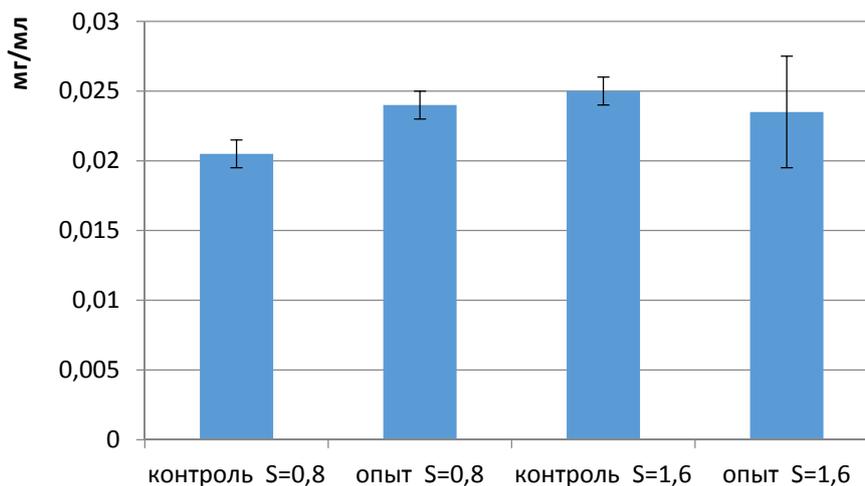


Рисунок 7. Концентрация рутина после замачивания в водном растворе облученных пленок разной площади ($S = 0,8 \text{ см}^2$ и $S = 1,6 \text{ см}^2$)

Без воздействия ИМП бактериальные пленки также впитывали в себя раствор с рутином, о чем свидетельствует снижение концентрации рутина относительно исходного раствора с концентрацией 0,2 мг/мл в среднем на 10% (рис. 6).

После замачивания в водном растворе высушенных облученных пленок разной площади концентрация рутина оказалась достоверно выше там, где пленки с меньшей площадью облучались в ИМП, что видно на рисунке 7. Это свидетельствует о том, что рутин не связывается с молекулами целлюлозы пленки, а располагается между целлюлозными волокнами. Импульсное магнитное способствует большей адсорбции молекул раствора, возможно из-за усиления движения молекул. При увеличении площади пленки в 2 раза концентрация рутина в растворе, который подвергался облучению, не отличается от контроля, что свидетельствует о небольшой задержке флавоноидов внутри пленки. Схема, показывающая усиление впитываемости бактериальной целлюлозной пленки в условиях воздействия ИМП на раствор с пленкой, представлена на рисунке 8.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что рутин не связывается с молекулами целлюлозы пленки, а располагается между целлюлозными волокнами. А импульсное магнитное поле способствует большему впитыванию молекул раствора, возможно из-за усиления движения молекул.

ВЫВОДЫ

1. Обнаружена тенденция к снижению концентрации флавоноидов при воздействии импульсных магнитных полей с напряжением 6 кВ на водный экстракт укропа, содержащий бактериальную целлюлозную пленку и достоверное снижение концентрации флавоноидов на 37% в водном растворе укропа, содержащим бактериальную целлюлозную пленку площадью $1,6 \text{ см}^2$, при воздействии ИМП с напряжением 6 кВ.
2. Выявлено достоверное снижение концентрации рутина на 7,3%, в его водном растворе, содержащем бактериальную целлюлозную пленку площадью $0,8 \text{ см}^2$ и на 11 % с площадью $1,6 \text{ см}^2$.
3. Впитывающая способность бактериальных целлюлозных пленок зависит от их площади, чем больше площадь выше сорбционные свойства. Но из пленок меньшей площади ($0,8 \text{ см}^2$), обработанных импульсным магнитным полем, рутин вымывался полностью, а из пленок большей площади ($1,6 \text{ см}^2$), вышедшая концентрация рутина, не отличалась от контроля, что свидетельствует о задержке молекул флавоноидов внутри пленок.

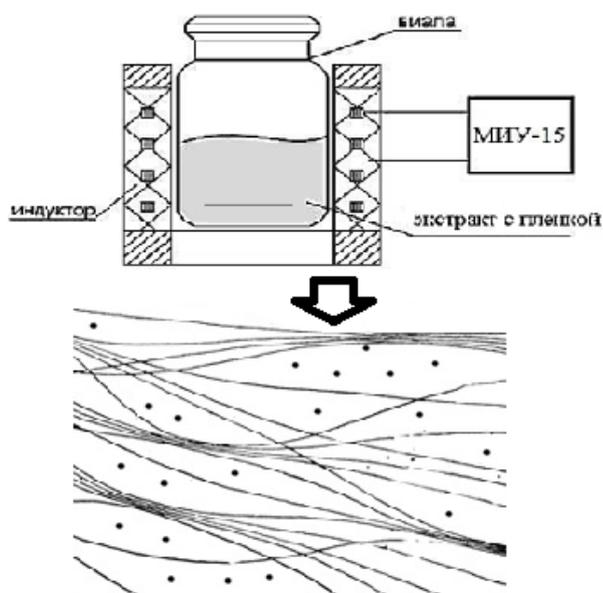


Рисунок 8. Схема, показывающая усиление сорбционных свойств бактериальной целлюлозной пленки в условиях воздействия ИМП на раствор с пленкой

Список литературы / References:

1. Кривошеев С.И., Шнеерсон Г.А., Платонов В.В., Селемир В.Д., Таценко В.М., Филиппов А.В., Бычкова Е.А. Влияние сильного магнитного поля на адсорбцию газов. *Журнал технической физики*, 2016, т. 86, № 1, с. 127-131. [Krivosheev S.I., Shneerson G.A., Platonov V.V., Selemir V.D., Tatsenko V.M., Filippov A.V., Bychkova E.A. The effect of a strong magnetic field on gas adsorption. *Journal of Technical Physics*, 2016, vol. 86, no. 1, pp. 127-131. (In Russ.)]
2. Постников В.В., Камалова Н.С., Кальченко С.В. О возможном влиянии импульсного магнитного поля на образование ковалентных связей между макромолекулами целлюлозы в модифицированной древесине. *Физика и химия обработки материалов*, 2009, № 6, с. 91-93. [Postnikov V.V., Kamalova N.S., Kalchenko S.V. On the possible influence of a pulsed magnetic field on the formation of covalent bonds between cellulose macromolecules in modified wood. *Physics and Chemistry of Materials Processing*, 2009, no. 6, pp. 91-93. (In Russ.)]
3. Basavaraj S.H., Gupta S.G. Production of bacterial cellulose from *Enterobacter amnigenus* GH-1 isolated from rotten apple. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2010, vol. 26, iss. 10, no. 253, pp. 1823-1828.
4. Malcolm B.R. *Cellulose: Molecular and Structural Biology, Selected Articles on the Synthesis, Structure, and Applications of Cellulose*. B.R. Malcolm ed., Springer, 2007, 355 p.
5. Лобанова А.А., Будаева В.В., Сакович Г.В. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья. *Химия растительного сырья*, 2004, № 1, с. 47-52. [Lobanova A.A., Budaeva V.V., Sakovich G.V. The study of biologically active flavonoids in extracts from plant materials. *Chemistry of Plant Raw Materials*, 2004, no. 1, p. 47-52. (In Russ.)]
6. Глушченков В.А., Карпухин В.Ф. *Технология магнитно-импульсной обработки материалов*. Самара: Изд-во Федоров, 2014, 208 с. [Glushchenkov V.A., Karpukhin V.F. Technology of magnetic pulse processing of materials. Samara: Fedorov Publishing House, 2014, 208 p. (In Russ.)]
7. Grande Cr.J. [et al.] Nanocomposites of bacterial cellulose/hydroxyapatite for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*, 2009, vol. 5, pp. 1605-1615.
8. Фролов Ю.П. *Математические методы в биологии. ЭВМ и программирование: Теоретические основы и практикум*. Самара: Самарский университет, 1997, 256 с. [Frolov Yu.P. *Mathematical methods in biology. Computer and programming: Theoretical foundations and a workshop*. Samara: Samara University, 1997, 256 p. (In Russ.)]
9. Ермаков А.И. *Методы биохимического исследования растений*. Ленинград: Колос, 1972, 125 с. [Ermakov A.I. *Methods of biochemical research of plants*. Leningrad: Kolos, 1972, 125 p. (In Russ.)]
10. Смирнова М.М., Яборова О.В., Накарякова Н.И., Люст Е.Н., Олешко О.А. Определение суммы флавоноидов в траве пиона. *Фундаментальные исследования*, 2014, № 12, ч. 1, с. 164-168. [Smirnova M.M., Yaborova O.V., Nakaryakova N.I., Lust E.N., Oleshko O.A. Determination of the amount of flavonoids in peony grass. *Basic Research*, 2014, no. 12, part 1, pp. 164-168. (In Russ.)]

EFFECT OF PULSED MAGNETIC FIELDS ON SORPTION PROPERTIES BACTERIAL CELLULOSE FILMS**Vasilyeva T.I., Sharova T.V., Khrenova A.A., Glushenkov V.A., Klenova N.A.**

Samara University

Moscow highway st., 34, Samara, 443086, Russian Federation e-mail: vastaty@rambler.ru

Abstract. The effect of the pulsed magnetic field at certain parameters (intensity H , frequency f , number of pulses n) on the interaction of flavonoids from the aqueous plant extract with macromolecules of the bacterial cellulose film was studied. The fact that there was a binding of flavonoid molecules with cellulose was judged by a significant decrease in the concentration of flavonoids in the solution of the plant extract after exposure to pulsed magnetic fields, as well as by further leaching of these biologically active substances from the dried films of bacterial cellulose. The hypothesis was proposed about the strengthening of the sorption properties of bacterial cellulose films in the conditions of influence of pulsed magnetic fields for increasing the mobility of microfibril cellulose.

Key words: *pulsed magnetic field, flavonoids, bacterial cellulose film.*