

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 577.115:543.544.13

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12028

Применение метода тонкослойной хроматографии для определения степени гидролиза соевого лецитина

Виктор Николаевич Леонтьев[✉], Ольга Степановна Игнатовец,
Олеся Илгамовна Лазовская, Яна Леонидовна Страх

Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь,
leontiev@belstu.by[✉]

Аннотация. Целью настоящего исследования является определение степени ферментативного гидролиза соевого лецитина с помощью метода тонкослойной хроматографии в сочетании с современной программой обработки данных визуализации. Гидролиз фосфолипидов осуществляли под действием ферментного препарата фосфолипазы A_2 (ФЛА₂) в присутствии ионов кальция в течение 2 ч при температуре 50°C и pH 5.7. Хроматографическое разделение компонентов реакционной среды проводили через 10, 20, 30, 60, 90 и 120 мин после внесения ферментного препарата ФЛА₂ в системе хлороформ : метанол : аммония гидроксид в соотношении 6.5 : 2.5 : 0.4 (об/об/об). Идентифицированы следующие фосфолипиды и их лизоформы: $R_f = 0.41 \pm 0.03$ для фосфатидилэтаноламина (ФЭ), $R_f = 0.28 \pm 0.02$ для фосфатидилхолина (ФХ), $R_f = 0.09 \pm 0.01$ для фосфатидилинозитола (ФИ), $R_f = 0.06 \pm 0.01$ для фосфатидной кислоты (ФК), $R_f = 0.15 \pm 0.02$ для лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ), $R_f = 0.08 \pm 0.01$ для лизофосфатидилхолина (ЛФХ), $R_f = 0.03 \pm 0.01$ для лизофосфатидилинозитола (ЛФИ) и $R_f = 0.02 \pm 0.01$ для лизофосфатидной кислоты (ЛФК). Показано, что в соевом лецитине до ферментативной реакции присутствуют ФХ, ФЭ, ФИ и ФК, содержание которых после внесения ферментного препарата ФЛА₂ уменьшается за счет образования ЛФХ, ЛФЭ, ЛФИ и ЛФК соответственно. Получена зависимость степени гидролиза (α , %) ФХ от продолжительности ферментативной реакции. Установлено, что интенсивное превращение ФХ в ЛФХ под действием ферментного препарата ФЛА₂ наблюдается в течение 60 мин ($\alpha = 82\%$). Дальнейшая конверсия ФХ происходит незначительно: по истечении 90 мин – 84%, после 120 мин – 87%, что обусловлено ингибированием активности фермента конечным продуктом реакции. **Ключевые слова:** соевый лецитин, ферментативная реакция, фосфолипаза A_2 , лизолецитин, тонкослойная хроматография, степень гидролиза.

Благодарности: исследование выполнено при финансовой поддержке ООО «ИЦ «Бирюч-НТ» (Российская Федерация) в рамках научной работы «Разработка промышленно-адаптируемого метода получения соевого лизолецитина»

Для цитирования: Леонтьев В.Н., Игнатовец О.С., Лазовская О.И., Страх Я.Л. Применение метода тонкослойной хроматографии для определения степени гидролиза соевого лецитина // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 1. С. 120-127. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12028>

Original article

Application of the thin layer chromatography method for the determination of the degree of hydrolysis of soy lecithin

Viktor N. Leontyev[✉], Olga S. Ignatovets, Olesya I. Lazovskaya, Yana L. Strakh

Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus, leontiev@belstu.by[✉]

Abstract. The aim of this study was the determination of the degree of enzymatic hydrolysis of soy lecithin using thin layer chromatography in combination with a modern imaging data processing program. Hydrolysis

of phospholipids was carried by the action of the enzyme phospholipase A₂ (PLA₂) in the presence of calcium ions for 2 h at a temperature of 50°C and pH 5.7. Chromatographic separation of the components of the reaction medium was carried out 10, 20, 30, 60, 90, and 120 min after adding the PLA₂ in the chloroform: methanol: ammonium hydroxide system in a ratio of 6.5 : 2.5 : 0.4 (v/v/v). The following phospholipids and their lysoforms were identified: R_f = 0.41±0.03 for phosphatidylethanolamine (PE), R_f = 0.28±0.02 for phosphatidylcholine (PC), R_f = 0.09±0.01 for phosphatidylinositol (PI), R_f = 0.06±0.01 for phosphatidic acid (PA), R_f = 0.15±0.02 for lysophosphatidylethanolamine (LPE), R_f = 0.08±0.01 for lysophosphatidylcholine (LPC), R_f = 0.03±0.01 for lysophosphatidylinositol (LPI) and R_f = 0.02±0.01 for lysophosphatidic acid (LPA). It was shown that soy lecithin contained PC, PE, PI, and PA before the enzymatic reaction, the content of these compounds after the addition of the PLA₂ decreases due to the formation of LPC, LPE, LPI, and LPA, respectively. The dependence of the degree of hydrolysis (α, %) of PC on the duration of the enzymatic reaction was obtained. It was established that the intensive conversion of PC to LPC under the action of the PLA₂ occurred during 60 min (α = 82%). Further conversion of PC occurred insignificantly: 84% after 90 min and 87% after 120 min, which was due to the inhibition of enzyme activity by the final reaction product.

Keywords: soy lecithin, enzymatic reaction, phospholipase A₂, lysolecithin, thin layer chromatography, degree of hydrolysis.

Acknowledgments: the study was supported by the ООО Biruch-NT Innovation Centre (Russian Federation) as part of the scientific work “Development of an industrially adaptable method for obtaining soybean lysolecithin”.

For citation: Leontyev V.N., Ignatovets O.S., Lazovskaya O.I., Strakh Ya.L. Application of the thin layer chromatography method for the determination of the degree of hydrolysis of soy lecithin. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 120-127. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12028>

Введение

Лизолецитин – продукт ферментативного гидролиза лецитина, который находит широкое применение в качестве диспергирующего и эмульгирующего агента в пищевой [1], косметической [2], фармацевтической промышленности [3] и в сельском хозяйстве [4].

Согласно [5] соевый лецитин представляет собой смесь фракций фосфолипидов: 15-18% фосфатидилхолина (ФХ), 11-14% фосфатидилэтаноламина (ФЭ), 9-10% фосфатидилинозитола (ФИ) и 4-5% фосфатидной кислоты (ФК). При действии фосфолипазы A₂ (ФЛА₂) на фосфолипиды происходит направленное отщепление остатков высших жирных кислот из второго положения с образованием соответствующих лизофосфолипидов (лизолецитина): лизофосфатидилхолина (ЛФХ), лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ), лизофосфатидилинозитола (ЛФИ) и лизофосфатидной кислоты (ЛФК) (рис. 1).

Фермент ФЛА₂ (КФ 3.1.1.4) – глобулярный белок с молекулярной массой 14–18 кДа. Для проявления каталитической активности ФЛА₂ требуется нали-

чие ионов Ca²⁺ в миллимолярных концентрациях [7]. Предполагаемый механизм катализа ферментативной реакции гидролиза фосфолипидов представлен на рис. 2. В каталитическом центре (His/Asp) ФЛА₂ локализуются две молекулы воды, одна из которых координирована с атомом азота остатка гистидина, а другая молекула – с ионом Ca²⁺. Последняя молекула воды как нуклеофил атакует карбонильную группу сложноэфирной связи субстрата. При этом образуется тетраэдрический интермедиат, который затем распадается на остаток жирной кислоты и лизофосфолипид.

Отличительной особенностью ФЛА₂ является способность проявлять ферментативную активность только на поверхности раздела фаз «фосфолипид – вода» [9]. Наряду с каталитическим центром у ФЛА₂ имеются два сайта связывания (рис. 3): один отвечает за связывание фермента (Е) с липидной поверхностью (М), а второй – за связывание конкретной молекулы фосфолипида (S) и ее гидролиз с образованием продуктов (Р) [10]. Именно наличие второго сайта связывания обеспечивает ФЛА₂ высокую регио- и стереоспецифичность [11].

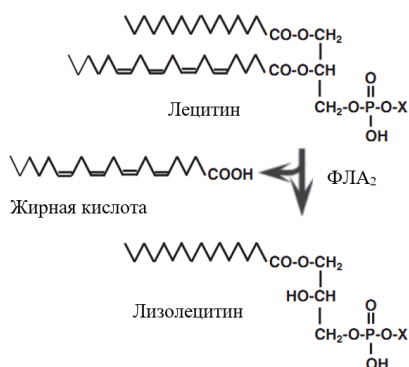


Рис. 1. Реакция гидролиза лецитина под действием ФЛА₂ с образованием лизолецитина [6]

Fig. 1. The reaction of lecithin hydrolysis under the influence of PLA₂ with the formation of lysolecithin [6]

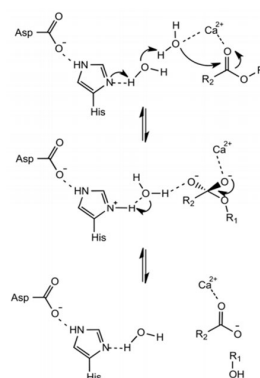


Рис. 2. Предполагаемый механизм катализа реакции гидролиза фосфолипидов под действием ФЛА₂ [8]

Fig. 2. Proposed mechanism of catalysis of the phospholipid hydrolysis reaction under the influence of PLA₂ [8]

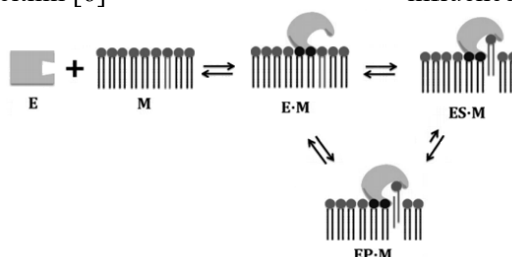


Рис. 3. Схема взаимодействия ФЛА₂ с липидной поверхностью [12]

Fig. 3. Interaction scheme of PLA₂ with the lipid surface [12]

Существующие в настоящее время автоматизированные методы (ГЖХ, ВЭЖХ, ВЭЖХ-МС, ³¹P ЯМР, капиллярный электрофорез) анализа фосфолипидов и продуктов их гидролиза требуют дорогостоящего аппаратного оформления. Поэтому для разделения фосфолипидов широко используют метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) [13, 14], затраты средств на организацию которого на несколько порядков ниже. Преимущества метода ТСХ (экспрессность, высокая эффективность, простота проведения хроматографического процесса, возможность параллельного разделения нескольких образцов на одной пластинке, малое количество анализируемого вещества, возможность гибкого варьирования условий разделения компонентов пробы) в сочетании с современными программными средствами обработки данных визуализации [15] делают его востребованным не только для анализа качественного

и количественного состава фосфолипидов и их лизоформ, но и для оценки эффективности протекания ферментативной реакции.

Таким образом, целью настоящего исследования является определение степени гидролиза соевого лецитина под действием ФЛА₂ с применением метода ТСХ.

Экспериментальная часть

Реактивы. В работе использовали соевый лецитин (ОАО «ЭФКО», Российская Федерация), ферментный препарат ФЛА₂ (ООО «ИЦ «Бирюч-НТ», Российская Федерация), кальция хлорид (х.ч.; ОАО «Белреахим», Республика Беларусь), натрия ацетат тригидрат (х.ч.; ОАО «Белреахим», Республика Беларусь), хлороформ (х.ч.; АО «ЭКОС-1», Российская Федерация), метанол (х.ч.; Sigma-Aldrich, США), аммония гидроксид (х.ч.; ООО «Сигма Тек», Российская Федерация).

Получение эмульсии соевого лецитина. Для получения эмульсии использовали соевый лецитин и 0.1 М ацетатный буферный раствор (pH 5.7) в соотношении 20 : 80 масс. %. Перемешивание смеси обеспечивали погружной лопастной мешалкой (Daihan Scientific, Корея) при скорости вращения от 200 до 450 об/мин и температуре 50°C.

Проведение ферментативной реакции. После образования устойчивой эмульсии реакцию запускали добавлением ферментного препарата ФЛА₂ в количестве 2% и раствора CaCl₂ до конечной концентрации 10 мМ. Ферментативную реакцию проводили в течение 2 ч при температуре 50°C и 450 об/мин.

ТСХ-анализ. Отбор проб из реакционной смеси осуществляли через 10, 20, 30, 60, 90 и 120 мин после внесения ферментного препарата ФЛА₂. Навеску массой 17.5±0.5 мг растворяли в 0.5 см³ смеси хлороформ : метанол (0.4 : 0.1, об/об). Полученный раствор объемом 5 мм³ наносили капилляром на линию старта пластинки TLC Silica gel 60 (Merck, Германия). После испарения смеси растворителей пластинку помещали в хроматографическую камеру и проводили элюирование в системе хлороформ : метанол : аммония гидроксид в соотношении 6.5 : 2.5 : 0.4 (об/об/об). Разделение компонентов реакционной смеси завершали при достижении элюентом линии финиша, расположенной на высоте 1 см от верхнего края пластинки. Затем сушили пластинку на воздухе и проявляли пятна в парах йода.

Денситометрическое определение. После проявления пятен в парах йода пластинку сканировали, а полученное изображение обрабатывали с помощью специальной программы «Денситометр Sorbfil» (ЗАО «Сорбполимер», Российская Федерация), версия 2.0 (http://www.sorbfil.com/dens_download.htm), которая позволяет не только идентифицировать фосфолипиды и их лизоформы по величине R_f, но и одновременно проводить расчеты по содержанию

этих соединений [16]. Принцип работы программы состоит в построении аналоговой кривой хроматограммы по отклонению яркости пятен от яркости фона пластинки с последующим нахождением пиков на этой кривой [1]. При этом площадь пика пропорциональна количеству вещества в пятне [15].

Следует отметить, что определение R_f с помощью программы дает более точные результаты, поскольку в данном случае центром пятна считается область с максимальной интенсивностью окрашивания. В случае размытых зон неправильной формы такое определение центра является более точным, чем при визуальной оценке, так как истинный центр зоны неправильной формы не совпадает с геометрическим [1].

Определение степени гидролиза. Эффективность протекания ферментативной реакции оценивали по степени гидролиза (α, %) преобладающего в соевом лецитине фосфолипида:

$$\alpha = \left(\frac{N_0 - N_t}{N_0} \right) \times 100\%, \quad (1)$$

где N₀ – количество ФХ в пятне в начальный момент времени (до внесения ферментного препарата ФЛА₂); N_t – количество ФХ в пятне в момент времени t (после внесения ферментного препарата ФЛА₂).

Обсуждение результатов

Хроматограмма соевого лецитина и продуктов его гидролиза под действием ферментного препарата ФЛА₂ приведена на рис. 4.

Идентификацию фосфолипидов и их лизоформ проводили путем сравнения полученных величин R_f с литературными данными (табл. 1). При этом следует отметить отличие в величине R_f для ФЭ от литературных данных, которое может быть обусловлено степенью чистоты органических растворителей и аммония гидроксида, используемых для приготовления элюирующей смеси, поскольку известно [19], что относительная скорость

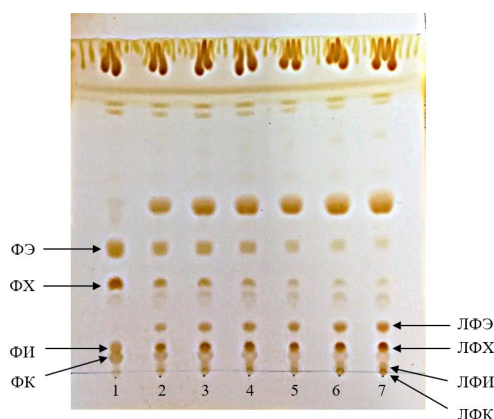


Рис. 4. Хроматограмма соевого лецитина и продуктов его гидролиза: 1 – до внесения ферментного препарата ФЛА₂; 2 – через 10 мин; 3 – через 20 мин; 4 – через 30 мин; 5 – через 60 мин; 6 – через 90 мин; 7 – через 120 мин после внесения ферментного препарата ФЛА₂

Fig. 4. Chromatogram of soy lecithin and its hydrolysis products: 1 – before adding the enzyme preparation PLA₂; 2 – after 10 minutes; 3 – after 20 minutes; 4 – after 30 minutes; 5 – after 60 minutes; 6 – after 90 minutes; 7 – 120 minutes after adding the enzyme preparation PLA₂

Таблица 1. Величины R_f фосфолипидов и их лизоформ

Table 1. R_f values of phospholipids and their lysoforms

Фосфолипиды соевого лецитина и их лизоформы	Элюирующая смесь		
	хлороформ : метанол : аммония гидроксид		
	6.5 : 2.5 : 0.4 [собственные результаты]	6.5 : 2.5 : 0.4 [17]	6.5 : 2.5 : 0.5 [18]
ФЭ	0.38	0.55	0.41
ФХ	0.27	0.30	0.33
ЛФЭ	0.14	0.20	0.20
ФИ	0.09	0.10	0.11
ЛФХ	0.08	0.08	0.08
ФК	0.05	0.05	0.05
ЛФИ	0.03	0.03	–
ЛФК	0.01	0.01	0.05

Таблица 2. Значения площадей пиков ФХ, характеризующие изменения его содержания в процессе ферментативной реакции (n=3, P=0.95)

Table 2. Values of PC peak areas characterising changes in its content during the enzymatic reaction (n=3, P=0.95)

Продолжительность ферментативной реакции, мин	Площадь пика ФХ, усл. ед.
0	220 539
10	100 170
20	96 937
30	67 672
60	40 557
90	34 795
120	27 701

перемещения индивидуальных фосфолипидов существенно зависит от незначительных изменений полярности элюента.

Как видно из хроматограммы, в анализируемой смеси до ферментативной реакции присутствуют ФХ, ФЭ, ФИ и ФК

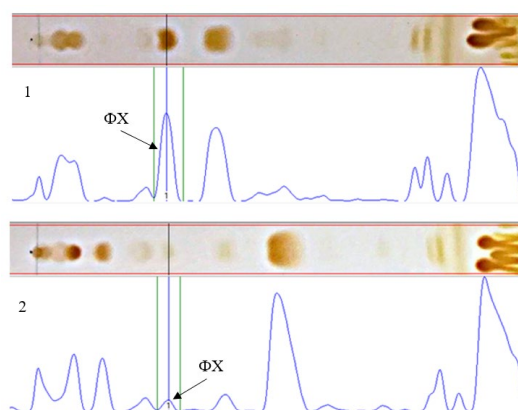


Рис. 5. Аналоговые кривые треков на хроматограмме соевого лецитина и продуктов его гидролиза: 1 – до внесения ферментного препарата ФЛА₂; 2 – через 120 мин после внесения ферментного препарата ФЛА₂

Fig. 5. Analogue track curves on the chromatogram of soy lecithin and its hydrolysis products: 1 – before adding the enzyme preparation PLA₂; 2 – 120 minutes after adding the enzyme preparation PLA₂

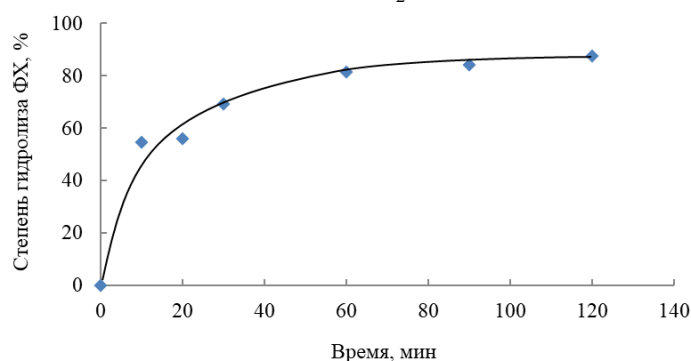


Рис. 6. Зависимость степени гидролиза ФХ от продолжительности ферментативной реакции

Fig. 6. Dependence of the degree of PC hydrolysis on the duration of the enzymatic reaction

(трек 1), содержание которых после внесения ферментного препарата ФЛА₂ уменьшается за счет образования ЛФХ, ЛФЭ, ЛФИ и ЛФК соответственно (треки 2-7).

Для расчета степени гидролиза ФХ использовали значения площадей его пиков на аналоговых кривых треков (табл. 2 и рис. 5).

Исходя из данных табл. 2, получили зависимость степени гидролиза ФХ от продолжительности ферментативной реакции (рис. 6). Установлено, что интенсивное превращение ФХ в ЛФХ под действием ферментного препарата ФЛА₂ наблюдается в течение 60 мин ($\alpha=82\%$). Дальнейшая конверсия ФХ происходит незначительно: по истечении 90 мин –

84%, после 120 мин – 87%, что обусловлено ингибированием активности фермента конечным продуктом реакции.

Заключение

Полученные результаты показали, что применение метода ТСХ в сочетании с программными средствами обработки данных визуализации позволяет не только осуществить идентификацию фосфолипидов и их лизоформ, но и наблюдать за изменением их количественного состава в процессе ферментативной реакции для последующего определения степени гидролиза соевого лецитина. При этом важно отметить, что главным преимуществом метода ТСХ при

анализе продуктов гидролиза соевого лецитина является высокая разрешающая способность в отличие от метода ВЭЖХ, который, как отмечено в работе [20], не дает возможности эффективно разделить лизофосфолипиды.

Список литературы/References

1. Zharkova I.M., Rudakov O.B., Poljanskij K.K., Rosljakov Ju.F. Lecitiny v tehnologijah produktov pitanija. Voronezh, VGUIT, 2015, 256 p. (In Russ.)
2. Hwang H., Chun H., Kim D., Shin M., Kim Y., In S., Kim T., Kang N., Lysophosphatidylcholine exerts an anti-skin photoaging effect via heat shock protein 70 induction, *J. Cosmet. Dermatol.*, 2021; 20(12): 4060-4067. <https://doi.org/10.1111/jocd.14068>
3. Ahmmed M.K., Hachem M., Ahmmed F., Rashidinejad A., Oz F., Bekhit A.A., Carne A., Bekhit A.E.-D.A., Marine fish-derived lysophosphatidylcholine: properties, extraction, quantification, and brain health application, *Molecules*, 2023; 28(7): 3088. <https://doi.org/10.3390/molecules28073088>
4. Brautigam D.L., Li R., Kubicka E., Turner S.D., Garcia J.S., Weintraut M.L., Wong E.A., Lysolecithin as feed additive enhances collagen expression and villus length in the jejunum of broiler chickens, *Poult. Sci.*, 2017; 96(8): 2889-2898. <https://doi.org/10.3382/ps/pex078>
5. Wu Y., Wang T., Soybean lecithin fractionation and functionality, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2003; 80(4): 319-326. <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0697-x>
6. Murakami M., Taketomi Y., Sato H., Yamamoto K., Secreted phospholipase A₂ revisited, *J. Biochem.*, 2011; 150(3): 233-255. <https://doi.org/10.1093/jb/mvr088>
7. Ivanusec A., Sribar J., Krizaj I., Secreted phospholipases A₂ – not just enzymes: revisited, *Int. J. Biol. Sci.*, 2022; 18(2): 873-888. <https://doi.org/10.7150/ijbs.68093>
8. Kim R.R., Chen Z., Mann T.J., Bastard K., Scott K.F., Church W.B., Structural and functional aspects of targeting the secreted

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

human group IIA phospholipase A₂, *Molecules*, 2020; 25(19): 4459. <https://doi.org/10.3390/molecules25194459>

9. Jain M.K., Berg O.G., Coupling of the i-face and the active site of phospholipase A₂ for interfacial activation, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2006; 10(5): 473-479. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.08.015>

10. Alekseeva A.S., Boldyrev I.A., Fosfolipaza A₂. Metody monitoringa aktivnosti, *Biologicheskie membrany: Zhurnal membrannoj i kletочноj biologii*, 2020; 37(5): 323-336. <https://doi.org/10.31857/S0233475520050035> (In Russ.)

11. Litvinko N.M., Gidroliz UF-inducirovannogo perekisno-okislennogo fosfatidilholina fosfolipazami raznoj substratnoj specifichnosti, *Izvestija Nacional'noj akademii nauk Belarusi. Serija himicheskikh nauk*, 2021; 57(2): 195-205. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-2-195-205> (In Russ.)

12. Mouchlis V.D., Bucher D., McCammon J.A., Dennis E.A., Membranes serve as allosteric activators of phospholipase A₂, enabling it to extract, bind, and hydrolyze phospholipid substrates, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2015; 112(6): 516-525. <https://doi.org/10.1073/pnas.1424651112>

13. Safonova E.F., Nazarova A.A., Selmenev V.F., Brezhneva T.A., Slivkin A.I., Vybór optimal'nyh parametrov razdelenija fosfolipidov v tonkom sloe sorbenta, *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 2002; 36(4): 41-43. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2002-36-4-41-43> (In Russ.)

14. Dynska-Kukulska K., Ciesielski W., Methods of extraction and thin-layer chromatography determination of phospholipids in biological samples, *Rev. Anal. Chem.*, 2012; 31(1): 43-56. <https://doi.org/10.1515/revac-2011-0030>

15. Kogan Ju.D., Gol'cberg M.A., Otechestvennoe oborudovanie dlja kolichestvennoj tonkoslojnoj hromatografii, *Rossijskij himicheskij zhurnal*, 2003; 47(1): 136-140. (In Russ.)
16. Maljavina V.V., Primenenie programmnyh sredstv vizualizacii i obrabotki dannyh TSH-analiz pri proizvodstve fosfolipidnyh produktov, *Farmacija*, 2003; 2: 26-30. (In Russ.)
17. Avanti Polar Lipids. TLC solvent systems – lipid migration. Available at: <https://avantilipids.com/tech-support/analytical-procedures/tlc-solvent-systems> (accessed 4 May 2023).
18. Kates M. Tehnika lipidologii. Vydelenie, analiz i identifikacija lipidov. M., Mir Publ., 1975, 322 p.
19. Sikorskaja A.S., Nazarova A.A., Sel'emenev V.F., Podbor optimal'nyh uslovij razdelenija fosfolipidnyh kompleksov, poluchennyh iz semjan podsolnechnika, *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2009; 9(2): 215-220. (In Russ.)
20. Helmerich G., Koehler P., Comparison of methods for the quantitative determination of phospholipids in lecithins and flour improvers, *J. Agric. Food Chem.*, 2003; 51(23): 6645-6651. <https://doi.org/10.1021/jf0345088>

Информация об авторах / Information about the authors

В.Н. Леонтьев – заведующий кафедрой биотехнологии, к.х.н., Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

О.С. Игнатовец – доцент кафедры биотехнологии, к.б.н., Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

О.И. Лазовская – ведущий инженер кафедры биотехнологии, Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

Я.Л. Страх – ассистент кафедры биотехнологии, Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

V.N. Leontiev – Head of the Department of Biotechnology, Ph.D. (Chemistry), Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus, e-mail: leontiev@belstu.by

O.S. Ignatovets – Associate Professor of the Department of Biotechnology, Ph.D. (Biology), Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus

O.I. Lazovskaya – Lead Engineer of the Department of Biotechnology, Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus

Ya.L. Strakh – Assistant of the Department of Biotechnology, Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus

Статья поступила в редакцию 30.05.2023; получена после исправлений 13.09.2023; одобрена после рецензирования 19.02.2024; принята к публикации 21.02.2024.

The article was submitted 30.05.2023; received after corrections on 13.09.2023; approved after reviewing 19.02.2024; accepted for publication 21.02.2024.