



УДК 579.695

Влияние агрегативной устойчивости клеток актиномицета *Streptomyces chromogenes* s.g 0832 на очистку сточных вод

© 2020 Брындина Л.В.¹, Полянский К.К.²¹ Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова, Воронеж² Воронежский филиал Российского экономического университета им. Г.В. Плеханова, Воронеж

Поступила в редакцию 25.02.2020 г.

DOI: 10.17308/sorpchrom.2020.20/2775

С 1 января 2019 г. в Российской Федерации вступил целый ряд изменений, связанных с экологическим нормированием деятельности хозяйствующих субъектов. Все эти изменения направлены на переход предприятий к наилучшим доступным технологиям. Их внедрение позволит минимизировать, а в лучшем случае, предотвратить негативное воздействие на окружающую среду.

Высокий уровень водопотребления предприятиями АПК (особенно мясной отраслью) привел к серьезным экологическим проблемам. Отработанные технологические жидкости содержат большое количество белков, жиров и другие специфические загрязнения. Большая доля всех стоков попадает в центральные системы водоотведения городов без требуемой очистки. Поэтому внедрение биологических технологий своевременно и актуально.

Сорбционные и флокулирующие свойства микробных клеток известны давно. Отмечено, что поверхность клеточной стенки микроорганизмов способна регулировать агрегативную устойчивость клеток. Но на качество процесса влияет конкретный вид микроорганизма, стадия его культивирования, состав среды, на которой происходит его рост, и другие факторы внешней среды.

На основании вышеизложенного целью работы было изучение агрегативной устойчивости клеток актиномицета *Streptomyces chromogenes* s.g 0832.

В результате проведенных исследований установлено, что адгезионная устойчивость бактериальных клеток *Str. chromogenes* s.g. 0832 зависит от продолжительности их культивирования. Наилучшие адгезионные свойства соответствуют культуре актиномицета после 48 часов биосинтеза. Величина ζ -потенциала к этому времени составила – 52.3 мВ. Отмечен также высокий выход биомассы (1.5 г) и максимальная протеолитическая активность (6.1 мг/дм³). При обработке сточных вод 48-часовыми клетками *Str. chromogenes* s.g. 0832 после 70 минут контакта удалось повысить степень очистки по показателю «мутность» в 13.3 раза по сравнению с исходным стоком. Таким образом, в результате выполненного эксперимента подтверждено влияние электрокинетического потенциала поверхности бактериальных клеток на их агрегативную устойчивость. Полученные данные могут быть применены для повышения эффективности очистки сточных вод биологическим способом.

Ключевые слова: агрегативная устойчивость, клетки микроорганизмов, сточные воды, биологическая очистка.

Введение

Интенсивное развитие агропромышленного комплекса привело к существенной нагрузке на окружающую среду сопровождающееся увеличением объемов сточных вод, характеризующихся высокой загрязненностью биоразлагаемыми органическими веществами.

Одним из эффективных способов очистки таких стоков считается биологическая очистка. Она оптимально приближена к естественным процессам самоочищения

водоемов. Поэтому создание комплексной технологии биологической очистки сточных вод является актуальной задачей. Развитие биотехнологии позволило обратить внимание на использование в очистке сточных вод клеток микроорганизмов. В последние годы они активно начинают завоевывать рынок как самостоятельные флокулянты в очистке стоков.

Сорбционные и флокулирующие свойства клеток микроорганизмов, обусловленные адсорбционным взаимодействием их клеток с взвешенными частицами, успешно применяются в очистке стоков от коллоидных и грубодисперсных примесей [1-3]. Клетки микроорганизмов, находящиеся в культуральной жидкости, можно рассматривать как коллоидную дисперсную систему, в которой они являются специфичной дисперсной фазой, а культуральная жидкость – дисперсной средой. Такая система седиментационно неустойчива. Клетки микроорганизмов в такой биологической суспензии могут находиться как свободно, так и в виде крупных агломератов. В связи с этим биосуспензия может проявлять различную агрегативную устойчивость. При агрегации клеток одним из определяющих факторов является их заряд, чем выше его значение, тем устойчивее биосуспензия.

Достаточно хорошо изучены сорбционные возможности бактерий родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, а также микроскопических грибов *Penicillium*, *Aspergillus* [4-7]. Актиномицеты как биофлокулянты остаются до настоящего времени практически неисследованными. А между тем, они обладают высокой лабильностью, легко приспосабливаются к различным условиям окружающей среды, способны усваивать труднодоступные для других микроорганизмов органические вещества. Стоит отметить, что их клеточные стенки состоят в основном из гликопептида, полисахаридов и тейховых кислот, что создает благоприятные условия для бактериальных клеток в окружающей среде [8,9]. На долю пептидогликана приходится 50% общего количества аминокислот и аминсахаров клеточных стенок [10]. В ряде работ отмечается влияние состава клеточной стенки на устойчивость биосуспензий [11,12].

Целью исследования было изучить агрегативную устойчивость клеток актиномицета *Streptomyces chromogenes s.g 0832*.

Эксперимент

Культивирование актиномицета *Streptomyces chromogenes s.g 0832* проводили в глубинных условиях при 28 – 30°C на лабораторной качалке с частотой вращения $n=220-240$ об/мин в течение 120 часов в колбах объемом 750 см³, содержащих 100 см³ среды состава: (г/дм³): картофельный крахмал – 50; соевая мука – 5; перо – 10; КН₂РO₄ – 0.80; СаСО₃ – 4.0; FeSO₄ – 0.010; ZnSO₄ – 0.020 водопроводная вода; рН среды 6.7-6.8. Питательную среду засеивали 5% по объему посевного материала, которым служила 48-часовая культура, выращенная глубинно на среде состава (г/дм³): картофельный крахмал – 20; соевая мука – 20; КН₂РO₄ – 0.5; (NH₄)₂SO₄ – 3.0; NaCl – 2.5; СаСО₃ – 3.0; водопроводная вода; рН среды 6.7-6.8. Условия культивирования те же, что и при основном выращивании.

Протеолитическую активность (ПА) определяли по ГОСТ 20264.2-88. Сначала готовили 2%-ный раствор казеината натрия в 0.066 М фосфатном буфере с рН 8.0. Затем в опытную пробирку вносили 2 см³ этого субстрата, в контрольную – 2 см³ раствора фермента и помещали в ультратермостат при 30°C. Через 10 минут в опытную пробирку вносили 2 см³ ферментного раствора, а в контрольную – 4 см³ 0.3 М раствора трихлоруксусной кислоты. После проведения гидролиза в течение 10 минут в опытную пробирку приливали 4 см³ 0.3 М раствора трихлоруксусной кислоты, в контрольную – 2 см³ 2%-го раствора казеината натрия. Быстро перемешивали и выдерживали

еще 20 минут при 30°C. Затем фильтровали в сухие пробирки. Из фильтратов брали по 1 см³, добавляли по 5 см³ 0.5 М раствора Na₂CO₃, перемешивали и быстро при непрерывном помешивании приливали по 1 см³ рабочего раствора Фолина. Через 20-30 минут проводили измерение оптической плотности растворов на ФЭК КФК-2 при 670 нм в кюветах с поглощающим свет слоем 10мм против контроля.

За единицу ПА принимали такое количество фермента, которое за 1 мин при 30°C катализировало переход в неосаждаемое трихлоруксусной кислотой состояние количество казеината натрия, содержащее 1 микромоль тирозина (1 микромоль тирозина равен 0.181 мг).

Сухой вес биомассы определяли путем высушивания мицелия актиномицета в сушильном шкафу при температуре 105°C до постоянной массы.

Исследование процесса очистки сточных вод проводили на образцах сточных вод ООО «Петровский мясокомбинат» при температуре 22±3°C. Клетки микроорганизма вносили в сток после 24, 48, 72 и 96 часов его выращивания в глубинных условиях, концентрация культуральной жидкости составила 3% к объему сточной воды.

Определение ζ-потенциала основано на способности бактериальных клеток перемещаться в электрическом поле к одному из полюсов. Подсчет количества бактериальных клеток проводили в камере Горяева под микроскопом. Средой служил физиологический раствор, который активировали в электроактиваторе «Эсперо-1». Использовали свежеприготовленные катодит и анолит, а также растворы, в которых требуемые величины рН, а также окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) получали, добавляя фосфатный буфер. Величину ζ-потенциала рассчитывали по формуле:

$$\zeta = \frac{U \cdot \mu \cdot L}{\varepsilon_0 \cdot \varepsilon \cdot E^2},$$

где U – электрофоретическая скорость, м·с⁻¹; μ – вязкость воды при температуре опыта, м²·с⁻¹; ε₀=8/85·10⁻¹² – электрическая постоянная, Кл/(В·м); ε – диэлектрическая проницаемость среды; E – разность потенциалов внешнего электрического поля, В; L – расстояние между электродами, м.

Определение мутности (мг/дм³) проводили фотометрическим методом на фотозлектроколориметре (КФК-2; λ=540 нм, l=50 мм). Полученные значения оптической плотности определяли по калибровочному графику, полученному для формазина. Степень очистки (D) при внесении культуральной жидкости микроорганизма *Str. chromogenes s.g. 0832* в сточную воду определяли по формуле:

$$D = \frac{(n_0 - n) \cdot 100}{n_0},$$

где n₀ – мутность исходной сточной воды, n – мутность сточной воды после обработки клетками *Str. chromogenes s.g. 0832*.

Обсуждение результатов

В результате проведенных исследований установлено, что клетки *Str. chromogenes s.g. 0832* имеют отрицательный ζ-потенциал. Отрицательные значения потенциала клеток, очевидно, являются следствием присутствия отрицательно заряженных молекул липидов, полисахаридов клеточной стенки *Str. chromogenes s.g. 0832* [13].

На рисунке 1 показана зависимость ζ-потенциала от возраста микроорганизма. Установлено, что максимальное его значение – 52.3 мВ соответствует 48 часам культивирования и говорит о стабильности клеточной суспензии [14,15]. К 72 часам культивирования происходит уменьшение ζ-потенциала на 23% от максимального значения. Хотя А.С. Гордиенко с соавторами утверждают, что с возрастом культуры отри-

цательный ζ -потенциал бактерий увеличивается [16]. Возможно в нашем случае происходит активное выделение экзоферментов. Это приводит к росту гидрофильных групп на поверхности клетки, снижая ее электрический потенциал, и как следствие, происходит потеря агрегативной устойчивости микробной клетки [17-19].



Рис. 1. Зависимость ζ -потенциала клеток *Str. chromogenes 0832s.g.* от продолжительности культивирования

Дальнейшие исследования показали, что динамика изменения ζ -потенциала клеток находится в корреляционной зависимости с уровнем накопления биомассы и протеолитической активности. На рисунке 2 представлены кинетические зависимости мутности, биомассы и накопления протеолитической активности системы «клетки – культуральная жидкость».



Рис. 2. Динамика накопления биомассы и протеолитической активности культурой *Str. chromogenes s.g. 0832* (биомасса, г; протеолитическая активность, ед/см³, мутность, мг/дм³)

В начальной стадии культивирования актиномицета *Str. chromogenes s.g. 0832* происходит незначительное увеличение биомассы. Это объясняется усвоением клетками исходного субстрата. Затем скорость развития популяции клеток *Streptomyces chromogenes s.g. 0832* увеличивается в 3 раза и достигает своего максимального значения к 48 часам культивирования. К этому же времени отмечено и максимальное накопление протеолитической активности, значительных изменений мутности не наблюдается. На протяжении 48 часов седиментация практически отсутствует, мутность системы снизилась на 10,8% от исходного значения. Клеточная суспензия остается стабильной. С активным ростом биомассы *Str. chromogenes s.g. 0832* к 48 часам культивирования протеолитическая активность составила 6.044 ед/см³, но уже к 72 часам биосинтеза ее значение падает до 76,7%.

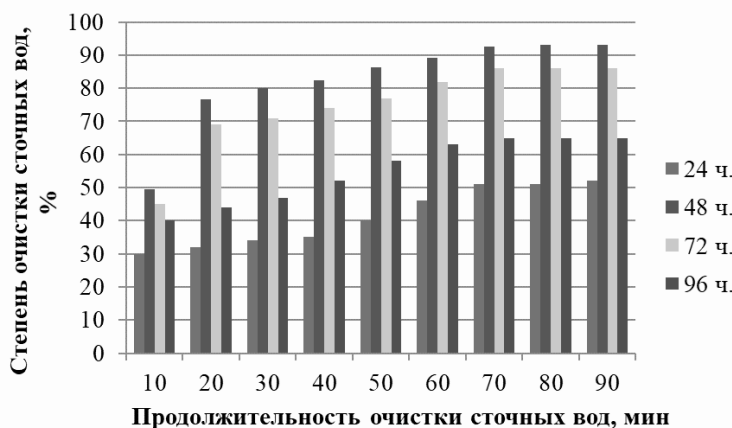


Рис. 3. Влияние продолжительности культивирования *Str. chromogenes s.g. 0832* на степень очистки сточных вод по показателю «мутность»

К 96 часам концентрация клеток актиномицета снижается до 67% от максимального значения, а ферментативная активность – на 36.7%. К 120 часам биосинтеза автолиз клеток усиливается, концентрация клеток снижается до 53.3%, так как уменьшается концентрация питательных веществ и увеличивается количество метаболитов. Уровень ферментативной активности уменьшился на 40%. Потеря агрегативной устойчивости составила 30%.

Изучение процесса очистки сточных вод осуществляли в лабораторных условиях. Оценку эффективности очистки стока клетками актиномицета проводили по изменению мутности.

По данным рисунка 3 видно, что максимальный эффект очистки достигается к 70 минутам с культурой актиномицета *Str. chromogenes s.g. 0832*, после 48 часов культивирования, так как к этому времени клетки микроорганизма имели наилучшие адгезионные свойства и сохраняли высокую стабильность. К этому времени концентрация примесей снижается в 13.3 раза от исходного значения 5.31 мг/дм³.

Адгезия бактерий – это сложный процесс, который зависит не только от физико-химических условий. Согласно экспериментальным исследованиям зарубежных авторов [20, 21], положительное влияние на усиление бактериальной адгезии оказывала обработка поверхности субстратов фибриногеном. Было отмечено, что большее количество бактерий прилипает к поверхностям, покрытым фибриногеном или фибронектином. Эти наблюдения показали, что на адгезию бактерий к биоматериалам может существенно влиять состав адсорбированных белков на границе раздела фаз [22]. Возможно в нашем случае присутствие в сточных водах ООО «Петровский мясокомбинат» специфических белковых примесей (в том числе и фибриллярных) усилило адгезионные свойства микроорганизмов.

Обработка сточных вод микробными клетками после 24 ч биосинтеза уменьшила уровень загрязненности стоков примесями только в 2 раза и составила 2.6 мг/дм³ по показателю «мутность» к 70 минутам. Видимо к этому времени адгезионные свойства клеточных стенок невысоки из-за недостаточно развитого мицелия.

Обработка сточных вод 72-часовыми бактериальными клетками *Str. chromogenes s.g. 0832* позволила очистить стоки от загрязнений через 70 минут контакта до 86% (рис.3). Снижение степени очистки на 6.6% по сравнению с очисткой 48-часовой культурой микроорганизма возможно связано с уменьшением протеолитической активности (рис. 2). Ферменты, выделяемые актиномицетом *Str. chromogenes s.g.*

0832, за счет образования фермент-субстратного комплекса увеличивают точки соприкосновения поверхности молекул белковых примесей с поверхностью микробных клеток, повышая прочность связи клеток. Падение ферментативной активности приводит к уменьшению интенсивности формирования межклеточных связей, и как следствие к ослаблению агрегативной устойчивости биосистемы.

Очистка сточных вод клетками *Str. chromogenes s.g. 0832*, полученными после 96 часов культивирования, показала неэффективность их использования в этом процессе. Снизить уровень загрязненности стока к 70 минутам обработки удалось лишь на 65%. Это можно объяснить старением и интенсивным распадом клеточных структур, и как следствие, снижением их седиментационной устойчивости.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что адгезионная устойчивость бактериальных клеток *Str. chromogenes s.g. 0832* зависит от продолжительности их культивирования. Наилучшие адгезионные свойства соответствуют культуре актиномицета после 48 часов биосинтеза. Величина ζ -потенциала к этому времени составила – 52.3 мВ. Отмечен также высокий выход биомассы (1.5 г) и максимальная протеолитическая активность (6.1 мг/дм³). При обработке сточных вод 48-часовыми клетками *Str. chromogenes s.g. 0832* после 70 минут контакта удалось повысить степень очистки по показателю «мутность» в 13.3 раза по сравнению с исходным стоком. Таким образом, в результате выполненного эксперимента подтверждено влияние электрокинетического потенциала поверхности бактериальных клеток на их агрегативную устойчивость. Полученные данные могут быть применены для повышения эффективности очистки сточных вод биологическим способом.

Список литературы

1. Брындина Л.В., Полянский К.К. // *Вестник Тамбовского университета. Сер. Естественные и технические науки*. 2013. Т.18. Вып. 4. С.1463-1465.
2. Кошкина Л.Ю., Сироткин А.С. // *Химическая промышленность*. 2001. № 9. С. 40-42.
3. Ксенофонтов Б.С. // *Безопасность жизнедеятельности*. 2009. № 10. С.18 -20.
4. Stratford M. // *Yeast*. 1992. Vol.8. pp.25-38.
5. Wackett L.P. Sadowsky M.J., Martinez B., Shapir N. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002. Vol. 58. pp. 39-45.
6. Zhang T., Lu W., Tian C. // *Chin J. Appl. and Environ. Biol.* 2003. Vol. 9. No 1. pp. 67-70.
7. Zhou X., Huang L., Wang J., Zhou J. et al. // *Chim. J. Appl. and Environ. Biol.* 2003. Vol. 9. No 4. pp. 436-438.
8. Jiang C., Xu L. // *Yunnan, China Appl. Environ. Microbiol.*, 1996. Vol. 62. No 1. pp. 249-253.
9. Зенова Г.М., Звягинцева Д.Г. Разнообразие актиномицетов в наземных экосистемах. М. МГУ. 2002. 132 с.
10. Мецлер Д. Биохимия. Химические реакции в живой клетке. М. Мир. 1980. Т. 1. 407 с.
11. Шкоп Я.Я., Фомченко Н.В., Агрегация клеток микроорганизмов в процессе разделения микробных суспензий. ИНГИТЕЙ микробпром. М. 2020. 60 с.
12. Barany S., Szepesszentgyorgyi A. // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2004. Vol. 111. No 1-2. pp. 117-129.
13. Wilson W., Wade M., Holman S. // *J. Microbiol. Meth.*, 2001, vol.43, pp.153-164.
14. Мирошников А.И., Фомченко В.М., Иванов А.Ю. Электрофизический анализ и разделение клеток. М. Наука. 1986. 182 с.
15. Sonnenfeld E.M., Beveridge T.J., Koch A.L. Doyle R.J. // *J. Bacteriol.* 1985. Vol. 163. pp. 1167-1171.
16. Гордиенко А.С., Дыренко Д.И., Бега З.Т., Курдиш И.К. // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2008. Т. 44. № 4. С. 442-447.
17. Archibald A.R., Hancock I.C., Harwood C.R. American Society for Microbiology. Washington. D.C. 1993. pp. 381-410.

18. Фомченко В.М., Ажермачев А.К., Чугунов В.А., Бабаева П.В. // *Коллоидный журнал*. 1983. Т. 25. № 2. С.273-281.
19. Курмаева, А.И., Юсупова Р.И. // *Коллоидный журнал*. 1991. Т. 53. № 5. С.866-873.
20. Mohammad S.F, Topham N.S, Burns G.L, Olsen D.B. // *ASAIO Trans*. 1988. Vol. 34 (3). pp. 573-577.
21. Mahmoud H., Williams D.W., Hannigan A., Lynch C.D. // *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2012. Vol. 100 (5). pp. 1319-1327.
22. Звягинцев Д.Г. Взаимодействие микроорганизмов с твердыми поверхностями. М. МГУ. 1973. 176 с.

Effect of the aggregate stability of actinomycete cells of *Streptomyces chromogenes* s.g 0832 on waste water treatment

© 2020 Bryndina L.V.¹, Polyansky K.K.²

¹Morozov Voronezh State Forest Engineering University, Voronezh

²Voronezh branch of Plekhanov Russian University of Economics, Voronezh

Since 1 January 2019, a number of changes related to the environmental regulation of economic entities have been introduced in the Russian Federation. All these changes are aimed at the adoption of the best available technologies by businesses. Their introduction will help to mitigate, and at best, to eliminate the negative impact on the environment.

The high level of water consumption by agricultural enterprises (especially the meat industry) has led to serious environmental problems. Discharge liquids contain a large amount of protein, fat, and other specific contaminants. A large proportion of all waste water flows into the urban waste water disposal systems without any treatment. Therefore, the introduction of biological technologies is timely and relevant.

The sorption and flocculating properties of microbial cells have been known for a long time. It has been noted that the surface of the cell wall of microorganisms is able to regulate the aggregate stability of cells. However, the quality of the process is affected by the specific type of microorganism, the stage of its cultivation, the composition of the medium in which it has been growing, and other environmental factors.

Therefore, the aim of the study was to investigate the aggregate stability of actinomycete cells of *Streptomyces chromogenes* s.g 0832.

As a result of the research, it was found that the adhesion resistance of bacterial cells of *Str. chromogenes* s. g. 0832 depends on the duration of their cultivation. The best adhesion properties are demonstrated by actinomycete culture after 48 hours of biosynthesis. The value of the ζ -potential by this time was 52.3 mV. High biomass yield (1.5 g) and maximum proteolytic activity (6.1 mg/dm³) were also observed. As a result of 70 minutes of contact in the process of waste water treatment with 48-hour-old *Str. chromogenes* s.g. 0832, the degree of purification in the "turbidity" indicator increased by 13.3 times compared to the initial flow. Thus, the performed experiment confirmed the effect of the electrokinetic potential of the surface of bacterial cells on their aggregate stability. The obtained data can be applied to improve the efficiency of biological waste water treatment.

Keywords: aggregate stability, microbial cells, waste water, biological treatment.

References

- Bryndina L.V., Polyanskij K.K., *Vestnik Tambovskogo universiteta. Ser. Estestvennye i tekhnicheskie nauki*, 2013, Vol.18, No 4, pp.1463-1465.
- Koshkina L.YU., Sirotkin A.S., *Khimicheskaya promyshlennost'*, 2001, No 9, pp. 40-42.
- Ksenofontov B.S., *Bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti*, 2009, No 10, pp.18-20.
- Stratford M., *Yeast.*, 1992, Vol. 8, pp. 25-38.
- Wackett L.P. Sadowsky M.J., Martinez B., Shapir N., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2002, Vol. 58, pp. 39-45.
- Zhang T., Lu W., Tian C., *Chin J. Appl. and Environ. Biol.*, 2003, Vol. 9, No 1, pp. 67-70.
- Zhou X., Huang L., Wang J., Zhou J. et al., *Chim. J. Appl. and Environ. Biol.*, 2003, Vol. 9, No 4, pp. 436-438.

8. Jiang C., Xu L., *Yunnan, China Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, Vol. 62, No 1, pp. 249-253.
9. Zenova G.M., Zvyaginceva D.G. *Raznoobrazie aktinomicetov v nazemnyh ekosistemah*, M., MGU, 2002, 132 p.
10. Mecler D. *Biokhimiya. Khimicheskie reakcii v zhivoj kletke*, M., Mir, 1980, Vol. 1, 407 p.
11. Shkop Ya.Ya, Fomchenko N.V., *Agregaciya kletok mikroorganizmov v processe razdeleniya mikrobnih suspenzij. INTITEJ mikrob-prom*, M., 2020, 60 p.
12. Barany S., Szepesszentgyorgyi A., *Advances in Colloid and Interface Science*, 2004, Vol. 111, No 1-2, pp. 117-129.
13. Wilson W., Wade M., Holman S., *J. Microbiol. Meth.*, 2001, Vol. 43, pp.153-164.
14. Mirosnikov A.I., Fomchenko V.M., Ivanov A.YU. *Elektrofizicheskij analiz i razdelenie kletok*, M., Nauka, 1986, 182 p.
15. Sonnenfeld E.M., Beveridge T.J., Koch A.L. Doyle R.J., *J. Bacteriol*, 1985, Vol. 163, pp. 1167-1171.
16. Gordienko A.S., Dyrenko D.I., Bega Z.T., Kurdish I.K., *Prikladnaya biohimiya i mikrobiologiya*, 2008, Vol. 44, No 4, pp.442-447.
17. Archibald A.R., Hancock I.C., Harwood C.R., American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1993, pp. 381-410.
18. Fomchenko V.M. Azhermachev A.K., ChHugunov V.A., Babaeva P.V., *Kolloidnyj zhurnal*, 1983, Vol. 25, No 2, pp.273-281.
19. Kurmaeva, A.I., Yusupova R.I., *Kolloidnyj zhurnal*, 1991, Vol. 53, No 5. pp.866-873.
20. Mohammad S.F, Topham N.S, Burns G.L, Olsen D.B., *ASAI Trans.*, 1988, Vol. 34, No 3, pp. 573-577.
21. Mahmoud H, Williams D.W, Hannigan A, Lynch C.D., *J Biomed Mater Res V Appi Biomater.*, 2012, Vol. 100, No 5, pp. 1319-1327.
22. Zvyagincev D.G. *Vzaimodejstvie mikroorganizmov s tverdymi poverhnostyami*, M., MGU, 1973, 176 p.

Брындина Лариса Васильевна – профессор кафедры безопасности жизнедеятельности и правовых отношений, д.с.х.н., Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова

Полянский Константин Константинович – профессор кафедры коммерции и товароведения, д.т.н., Воронежский филиал Российского экономического университета им. Г.В. Плеханова.

Bryndina Larisa V. - Professor of the Department of life safety and legal relations, doctor of agricultural Sciences, Voronezh state forest engineering University. G. F. Morozov e-mail: bryndinv@mail.ru

Polyansky Konstantin K. - Professor of the Department of Commerce and commodity science, doctor of technical Sciences, Voronezh branch of The Russian University of Economics. G. V. Plekhanova