

УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ ГОРОДА ПЕНЗЫ
МУНИЦИПАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
СРЕДНЯЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ШКОЛА №47

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ СОСНЫ

Выполнил: ученик 9 Г класса
МБОУ СОШ №47 г. Пензы
Запевалов Артем Игоревич

Руководители:
Миронова Анна Андреевна
Мазурин Николай Николаевич

Пенза, 2021

ВВЕДЕНИЕ

Сосна обыкновенная –*Pinus silvestris* L. относится к семейству сосновые (*Pinaceae*) - вечнозеленое хвойное дерево до 40 м высотой. Путем отгонки с паром из хвои, молодых побегов и шишек извлекается эфирное масло, которое используется в пищевой, медицинской, косметологической, химической промышленности и ароматерапии.

Эфирные масла известны очень давно, еще в древнем Египте умели их получать, но использовали в основном при проведении религиозных культов, ими умасливали тела и волосы. Позже стали применять как лекарственные и косметические средства, благовония, но из-за высокой цены были доступны только знати. А масло мирра даже использовали при «помазывание на царство». В древнем Египте, Риме, Греции золото, специи и благовония были ценнейшими подарками, а их рецепты хранились в строжайшей тайне. Ароматические эфирные масла использовались как антисептики. Широко применял их в медицине Гиппократ. В средние века сильно пахнущими сухими травами окуривали больных чумой, а на улицах жгли костры из сосен и полыни [1,4,8].

Все эфирные масла обладают противовоспалительными, антисептическими и бактерицидными свойствами, положительно воздействуют на нервную систему. Эфирные масла являются биологически активными веществами.

Актуальность: Антибактериальная роль эфирных масел в современное время пандемии Covid-19, актуальна как никогда. Часто вирусная инфекция может быть сопряжена с бактериальной, и может быть причиной осложнений. По нашему мнению эфирные масла, при правильном применении в домашних условиях, могут быть полезны при борьбе с осложнениями, вызванными вирусной инфекцией Covid-19. Например, при бактериальных инфекциях верхних дыхательных путей.

Перед нами стояла **цель** изучить антибактериальные свойства эфирных масел, в частности эфирного масла сосны, как самого распространенного и легко получаемого.

Для этого были проведены исследования, в результате которых решались следующие **задачи:**

1. Изучить роль эфирных масел в жизни растений.
2. Изучить состав и свойства эфирного масла сосны обыкновенной.
3. Провести практический опыт получения эфирных масел сосны из растительного сырья.
4. Провести сравнительный анализ бактерицидных свойств эфирных масел сосны обыкновенной, купленного в розничной сети аптек, и масла, полученного путем отгонки, в сравнение с чистым растительным сырьем.
5. Дать рекомендации по использованию эфирного масла сосны обыкновенной с учетом его антибактериальных свойств.

ГЛАВА 1. ЭФИРНЫЕ МАСЛА И ИХ РОЛЬ В ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ.

1.1. Происхождение и роль эфирных масел в жизни растений

Эфирные масла в тканях растений могут быть рассеяны диффузно по всем клеткам в растворенном или эмульгированном состоянии, в цитоплазме или клеточном соке, но чаще всего они накапливаются в специальных образованиях, которые хорошо различимы под микроскопом.

Различают экзогенные и эндогенные секреторные структуры. Экзогенные – развиваются в эпидермальной ткани и представляют собой железистые пятна, железистые волоски и эфирномасличные железки. Эфирные масла вырабатываются отдельными группами выделительных клеток, разбросанными в эпидермальной ткани. Такая локализация эфирных масел наблюдается в лепестках розы, ландыша, в некоторых растениях, в эпидермисе кроющих чешуй почек тополя.

Эндогенные образования развиваются в паренхимных тканях. К ним относятся секреторные клетки, вместилища и эфиромасличные каналы (ходы).

Секреторные клетки могут встречаться одиночно (клетки - идиобласты) или же образуют в паренхиме целые слои. Одиночные клетки, например, имеются в корневищах айры, в паренхиме которого в месте соприкосновения нескольких клетках располагается одна секреторная клетка. В случае если эфирные масла состоят из веществ, растворенных в клеточном соке или цитоплазме, эфиромасличность клеток может быть обнаружена только в ходе гистохимических реакций с Суданом III.

Вместилища эфирных масел – это специальные образования в различных органах растения, в которых накапливаются эфирные масла. Вместилища представляют собой круглые или овальные полости, встречающиеся в мезофилле листа, кожуре плодов цитрусовых, в коре и древесине некоторых растений. Вместилища образуются двояким путем - схизогенным и схизолизигенным. Схизогенные вместилища образуются из межклетников, путём расхождения клеток, тесно примыкавших друг к другу. Секрет выделяется в полость межклетников живыми эпителиальными (выделительными) клетками, выстилающими полость изнутри. Чаще всего в них накапливаются слизь, реже эфирные масла и смолы. К ним относятся смоляные ходы и эфирномасличные каналы, млечники. При схизолизигенном формировании вместилищ начальные этапы его образования сходны с описанным выше, но затем окружающие полость клетки разрушаются, в результате чего вся полость увеличивается в объеме. Функцию секреторных клеток взамен лизированных (растворенных) приобретают клетки, примыкающие к полости вместилища. Эфиромасличные каналы – вместилища, имеющие вытянутую форму. Секреторные образования в некоторой степени могут служить систематическим признаком. У многих хвойных они представлены в виде ходов, расположенных во всех частях растения и выделяющие эфирные масла и смолу.

Эфирные масла широко распространены в растительном мире и их роль весьма велика. Эфирные масла являются активными метаболитами обменных процессов, протекающих в растениях. Эфирные масла при испарении окутывают растение, что способствует уменьшению теплопроницаемости воздуха и предохраняет растение от чрезмерного нагревания и переохлаждения, а также способствует регуляции транспирации. Запахи растения служат для привлечения насекомых-опылителей, что способствует опылению растений. А так же эфирные масла могут препятствовать заражению патогенными грибами и бактериями, и защищать растения от поедания животными [3,4,6].

1.2 Основные способы получения эфирных масел

Метод перегонки с водой основан на физическом законе парциального давления Дальтона - Ренье, в соответствии с которым две несмешивающиеся жидкости, нагреваемые вместе, закипают при температуре ниже температуры кипения каждой жидкости в отдельности.

Пары воды из парообразователя, проходя через растительный материал, увлекают летучее эфирное масло, которое конденсируется в холодильнике и собирается в приемник. Этот метод требует менее сложной аппаратуры, но дает меньший выход масла, качество которого

может снижаться за счет перегрева сырья. Метод перегонки с водяным паром наиболее распространенный промышленный способ получения эфирных масел, которые в основном предназначены для применения в медицинской практике. Его используют в тех случаях, когда содержание эфирного масла в сырье достаточно высокое, а температура перегонки (около 100°C) не отражается на его качестве.

Перегонку с водяным паром осуществляют в перегонных кубах или в непрерывно действующих перегонных аппаратах. Перегонные кубы представляют собой периодически действующие установки, состоящие из перегонного куба, конденсатора и приемника. Сырье загружают в куб на ложное дно. Через вентиль и змеевик в куб впускают пар, который проходя через растительную массу, увлекает с собой эфирное масло. Перегонка при пониженном давлении позволяет снизить температуру перегонки и тем самым сохранить составные части эфирных масел в неизменном виде.

Перегонку эфирного масла производят как из свежего, так и из высушенного материала. Однако не все виды эфиромасличных растений можно высушивать, некоторые из них (лаванда, роза, Melissa лекарственная, мята перечная и др.) требуют перегонки в свежем виде, так как сушка сырья данных видов приводит к значительным потерям эфирного масла и, следовательно, к уменьшению его выхода при перегонке с водяным паром.

Метод экстракционный. Эфирные масла растворяются во многих легко летучих органических растворителях. Экстракция заключается в том, что сырье в специальных экстракторах подвергают извлечению петролейным эфиром или другим экстрагентом. Затем экстрагент отгоняют, и после удаления растворителя полученное эфирное масло представляет собой «смолку», содержащую примеси липофильных веществ (стерины, хлорофилл, каротиноиды и другие жирорастворимые витамины).

Метод «Анфлераж» основан на том, что выделяющиеся эфирные масла из собранного сырья (преимущественно из цветков, например, лепестков розы) поглощаются сорбентами (твердые жиры, активированный уголь). Этот процесс проводится в специальных рамах, герметично собираемых по 30-40шт. (одна на другую) в батарею. При работе с твердыми жирами на обе стороны стекла (рамы) наносят жировой сорбент (смесь свиного и говяжьего жира) слоем 3-5 мм. Цветки раскладывают поверх сорбента толщиной до 3 см и оставляют на 48-72 ч. По истечению этого срока сырье удаляют и на рамы помещают свежее сырье. Затем жир, насыщенный эфирным маслом, снимают со стекла и из полученной помады эфирное масло экстрагируют спиртом, спиртовое извлечение вымораживают и фильтрацией удаляют из него выпавшие примеси. Спирт отгоняют под вакуумом и получают чистое эфирное масло.

Метод прессования. Этот метод применяют при производстве эфирных масел из плодов цитрусовых. Это связано с тем, что эфирные масла локализируются в крупных вместилищах кожуры плодов, что позволяет получать их прессованием. Прессование проводят на гидравлических прессах из кожуры, оставшейся после отжатия из плодов сока. Для этого кожуру предварительно пропускают через зубчатые вальцы. Оставшееся (до 30%) в кожуре эфирное масло извлекают далее перегонкой с водяным паром [4].

1.3 Эфирное масло сосны обыкновенной, его свойства

Эфирное масло сосны начали применять в медицине и быту еще древние греки. Гиппократ описывал его как средство для очищения организма, снятия болевого синдрома, для борьбы со стрессом и поднятия жизненного тонуса.

Древние египтяне заполняли матрасы сосновой хвоей, чтобы избавиться от клопов и вшей. Отвар коры и хвои сосны использовали для остановки кровотечений, дезинфекции открытых ран и ожогов, применяли при лечении ревматизма и цинги (в хвое сосны высокое содержание витамина С). Сосновую смолу и порошок из нее использовали для избавления от лишая и других кожных заболеваний. Широко применяется в ароматизации помещений благодаря сильному освежающему аромату.

Эфирное масло сосны получают из хвои, почек, веточек и шишек сосны обыкновенной, иногда используются другие виды деревьев семейства сосновые. Получают масло методом экстракция водяным паром. Цвета масла обычно не имеет, редко бывает желтоватого. По

консистенции масло легкое и жидкое. Имеет сильный хвойный аромат, напоминающий запах бальзамического уксуса.

В состав входят пинен, кадинен, карен, борнилацетат. Более 60% масла составляют лимонен и пинен с небольшим количеством камфена, которые придают маслу сосны антисептические и противовирусные свойства. Сосна содержит в небольших количествах сложный эфир борнилацетат, который имеет противогрибковое действие [4].

Свойства эфирного масла сосны обыкновенной, которые используются в народной и официальной медицине:

- Сосновый эфир очищает органы от мокроты, избавляет от кашля, помогает при курении и хроническом бронхите. Помимо этого растительный состав эффективно противостоит головной боли, восстанавливая артериальное давление;

- Эфирное масло сосны прославилось благодаря способности снижать жар во время сезонных простуд. Состав эффективно противостоит развитию бактерий в организме, укрепляя защитные функции. Ароматерапия тонизирует. С помощью ингаляций на основе эфира можно побороть кашель;

- Регулярное вдыхание повышает мозговую деятельность, улучшает концентрацию внимания, память. У человека появляется энергия, быстро восстанавливаются силы. Средство полезно не только при умственных нагрузках, но и после физических;

- Состав масла эффективно справляется с кровотечениями, ревматизмом, ожогами, цингой и обморожениями. Масло помогает затягивать незаживающие раны, избавляет от вшей и паразитов у животных;

- Масло активно используется в массажных целях. Состав предотвращает развитие остеохондроза, миозита, артрита и невралгии. Растительный продукт при втирании снимает суставную боль. Эфир в народной медицине применяется для избавления почечнокаменного и мочекаменного недуга;

- Ароматерапия особенно необходима людям, которые подвержены мнительности, стрессам, депрессии и сильной раздражительности. После проведения нескольких процедур человек становится более рассудительным, спокойным и без труда решает сложные ситуации [2].

В ходе изучения литературных источников, было выяснено, что эфирные масла содержатся во многих растениях, и являются сильными антисептиками, а значит должны помогать в борьбе с бактериальными инфекциями, оказывать угнетающее воздействие на колонии микроорганизмов [1,3,4,5,6,7].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования стало эфирное масло сосны обыкновенной в нескольких вариациях: измельченная хвоя сосны, эфирное масло из аптеки и эфирное масло полученное в лабораторных условиях.

Растительный материал сосны обыкновенной был получен путем сбора хвои за территорией города.

Лабораторный эксперимент проведен на базе кафедры «Общая биология и биохимия» Пензенского государственного университета.

Эфирное масло сосны обыкновенной получено путем перегонки (рисунок 1).

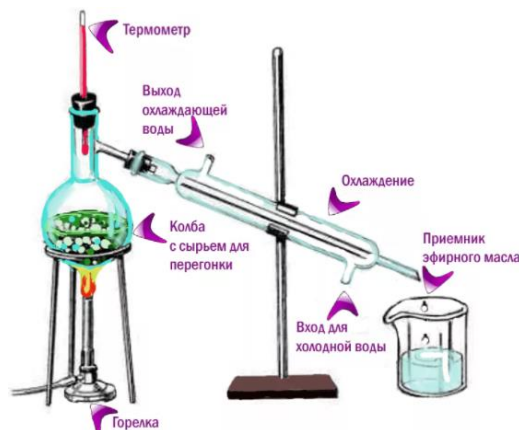


Рисунок 1. Схема сборки установки для получения эфирного масла сосны обыкновенной путем перегонки.

Для процесса перегонки собрали установку, состоящую из большой колбы, обратного холодильника, мерного стакана для эфирного масла и дистиллята. При дистилляции растительное сырье погружали в воду, которую затем доводили до кипения. В качестве сырья использовалась хвоя сосны обыкновенной. Горячая вода разрывает железы растения и содержащаяся в них эссенция высвобождается в виде пара. Этот пар вместе с паром, участвующим в процессе перегонки, собирается в трубке, проходящей через охлаждающие установки, после чего вновь приобретает жидкую форму и сливается в отстойник. Пар превращается в водный дистиллят, а эссенция растения – в эфирное масло. Так как масло легче воды, оно собирается на поверхности отстойников и его легко отделить от водной фракции.[4]

В процессе перегонки было получено совсем немного эфирного масла, всего около 0,5 мл. Но для дальнейшего опыта этого было достаточно.

Для проведения исследования по выявлению антибактериальных свойств эфирного масла сосны обыкновенной был выбран метод эксперимента.

Материалы и оборудование, использованные нами в процессе эксперимента: стерилизатор воздушный, термостат, ламинарная система, чашка Петри, пробирка, колба, мерный стакан, штатив, горелка, обратный холодильник, пробка для пробирки, штатив для пробирки, марлевые тампоны, мясо-пептонный агар (МПА).

Для приготовления МПА мы использовали 1 л мясопептонного бульона к которому добавили примерно 20 г агара. Среду нагрели до растворения агара, (температура его плавления составляет 100 °С, затвердевания — 40 °С), установили слабощелочную реакцию среды 20%-ным раствором Na_2CO_3 и через воронку разлили по чашкам Петри.

Далее все материалы и оборудование прошли стерилизацию в течении 1,5 часов при температуре более 85° С.

Все манипуляции со средой проводились в специальной ламинарной системе для соблюдения правил стерильности. Далее на мясопептонные агаровые пластины в чашках Петри были размещены в помещении с большим скоплением людей (учебная аудитория) на 45 минут для посева бактериальной флоры. Клетки бактерий, оседая из воздуха на поверхность питательной среды, дают начало колониям. После этого к внутренней стороне чашки Петри были прикреплены стерильные марлевые тампоны, на них нанесены исследуемые образцы эфирных масел, а так же в стерильный фильтр пакет было помещено растительное сырье сосны обыкновенной. Таким образом, мы получили 4 образца:

- образец №1 с эфирным маслом сосны обыкновенной полученный путем перегонки в условиях лаборатории;
- образец №2 с эфирным маслом сосны обыкновенной, купленный в аптеке;
- образец №3 с растительным сырьем сосны обыкновенной;
- образец №4 (контроль) без эфирных масел.

Далее все исследуемые образцы поместили в термостат и содержались там при температуре 28-30° С. Наблюдения проводились в течении 7 суток.

Результаты исследований.

В первые сутки после закладки опыта изменения наблюдались только у образца №4 (контроль), в виде 1 колонии белого цвета (таблица 1).

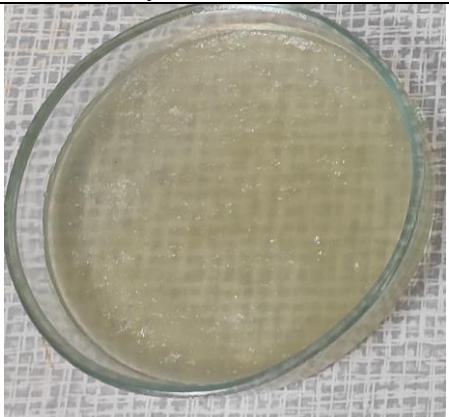
Через трое суток отначала эксперимента изменения произошли в образцах № 3,4. В образце №3 наблюдаются 1 колония бактерий, размером около 1-2мм и, которая имеют желтый цвет. Образец №4 (контроль) характеризуется наличием 3-х колоний, размером около 2-3 мм, которые имеют белый и серый цвет.

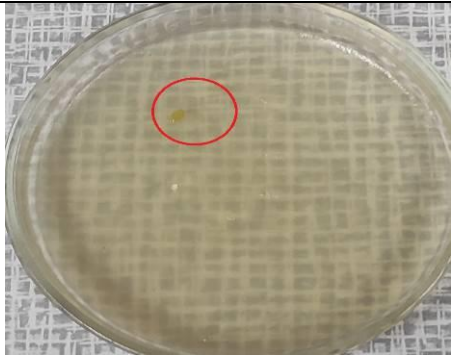
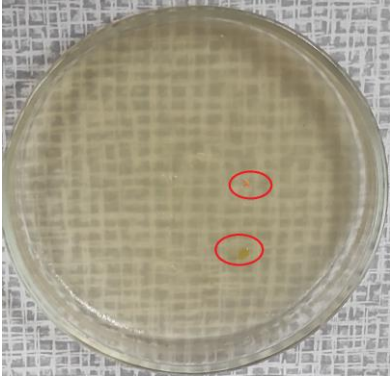
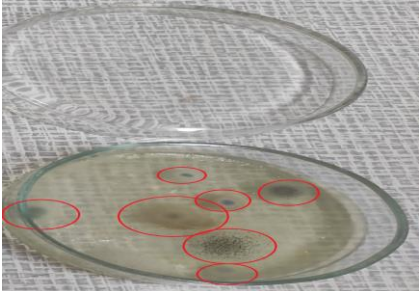
4 сутки наблюдения проводились, но существенных изменений в образцах не наблюдалось, потому их результаты мы не описывали.

На пятые сутки наблюдений состояние исследуемых образцов изменяется не сильно. Образец №1 – никаких изменений. На образце №2 так же никаких изменений не выявлено. Образец №3 – мы наблюдаем 1 колония, размер которых не превышает 2 мм, цвет желтый.

Итоги мы подвели через 7 суток с начала опыта, в чашке образец №1 не произошло никаких изменений, можно сказать, что полученное нами в лабораторных условиях эфирное масло сосны обыкновенной обладает хорошими антибактериальными свойствами. Эфирное масло сосны обыкновенной купленное в аптеке (образец №2) так же показывает хороший результат, оно хорошо подавляет рост колоний микроорганизмов. Наблюдается всего 1 колония, размер которой не превышает 3 мм, цвет – желтый.

Таблица 1. Результаты опыта по антибактериальной активности эфирного масла сосны обыкновенной.

	1 сутки	3 сутки	5 сутки	7 сутки
Образец №1	Нет изменений	Нет изменений	Нет изменений	

Образец №2	Нет изменений	Нет изменений	Нет изменений	
Образец №3	Нет изменений	Нет изменений	1 колония, около 1-2 мм, желтого цвета	
Образец №4 (контроль)	1 колония, 1-2 мм, цвет белый	3 колонии, 2-3 мм, цвет-белый, серый	Многочисленные колонии, около 4-5 мм, серого цвета и виден мицелий грибов	

Образец № 3 (хвоя сосны) так же показывает неплохой результат по подавлению роста микрофлоры на питательной среде, но все же наблюдается рост 2 небольших колоний, оранжевого цвета, размер около 2 мм. А контрольный образец (образец №4) показывает, что обсеменение микрофлорой произошло, и колонии бактерий и грибов растут быстро и хорошо без воздействия эфирных масел.

ГЛАВА 3. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ЭФИРНОГО МАСЛА СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ.

Перед применением эфирных масел необходимо провести аллерготест. Для этого на сгиб локтя капнуть разведенным в базовой жидкости хвойным маслом. Через 15-20 минут осмотреть данный участок кожи. Аллергии и индивидуальной непереносимости нет, если цвет остался прежним, не появилось покраснения, высыпаний, зуда, жжения. Даже после отрицательной пробы нужно пользоваться средством с осторожностью и не превышать допустимых дозировок, поскольку аллергические реакции способны иметь накопительный характер и проявиться значительно позже.

По данным ученых эфирное масло благотворно влияет на психоэмоциональное состояние человека, повышает деятельность мозга, увеличивает концентрацию внимания и память. Доказано, что масло сосны одно из эффективнейших средств при заболеваниях верхних дыхательных путей (кашле, воспалительных процессах и т.д.); Масло сосны применяется при простуде, бронхите, астме, ларингите, гриппе, синусите, одышке.

Наш опыт показывает, что позитивное антибактериальное действие оказывает не только эфирные масла, купленные в магазине или полученные в лабораторных условиях, но и растительный материал сосны обыкновенной (хвоя, ветки, шишки) собранный непосредственно в сосновом лесу. Исходя из этого, можно сказать, что прогулки в сосновом лесу так же благоприятно скажутся на вашем здоровье, а совокупности с физическими нагрузками (ходьба) будут вдвойне эффективнее.

Но стоит отметить, что людям с бронхиальной астмой и заболеваниями сердечно-сосудистой системы нужно быть особо осторожными с эфирными маслами в целом и эфирным маслом сосны, в частности.

ВЫВОДЫ:

1. Роль эфирных масел в жизни растений значительна. Они являются активными метаболитами обменных процессов, протекающих в растительном организме. При испарении окутывают растение, тем самым уменьшая теплопроницаемость воздуха, что способствует предохранению растений от чрезмерного нагревания или переохлаждения, а также эфирные масла регулируют транспирацию. Эфирные масла и их запахи служат для привлечения насекомых-опылителей. И так же они могут препятствовать заражению патогенными грибами и бактериями, а также защищать растения от поедания животными.

2. Мы установили, что эфирное масло сосны получают из хвои, почек, веточек и шишек сосны обыкновенной. В состав эфирного масла сосны обыкновенной более чем на 60% составили лимонен и пинен с небольшим количеством камфена, которые придают маслу сосны антисептические и противовирусные свойства, а так же масло содержит в небольших количествах сложный эфир борнилацетат, который имеет противогрибковое действие.

3. Мы провели опыт по получению эфирного масла сосны, путем перегонки паром, для этого собрали специальную установку. В качестве сырья использовалась хвоя сосны обыкновенной. Сначала получили в пробирке смесь из двух фракций: воды и масла, дав ему отстояться собрали масло пипеткой.

4. Для сравнительного анализа бактерицидных свойств разных вариантов масла сосны обыкновенной нами был проведен опыт, который показал, что эфирные масла сосны, в целом, обладают антибактериальной эффективностью. Эфирное масло сосны, полученное в лабораторных условиях показало лучший антибактериальный эффект, чуть менее эффективно растительное сырье и эфирное масло сосны купленное в аптеке.

5. Основные рекомендации по использованию эфирных масел сосны обыкновенной связаны с тем, что оно может оказывать антибактериальное действие, его можно использовать в качестве ароматерапии для борьбы или предотвращения бактериальных заболеваний верхних дыхательных путей, или как дополнение к антибактериальной терапии при covid -19, так как часто вирусные заболевания могут быть сопряжены с бактериальной инфекцией.

Так же стоит порекомендовать прогулки в сосновом лесу, которые так же могут оказывать благотворное влияние на здоровье, а вместе с легкими физическими нагрузками оказывают значительный оздоровительный эффект. Но при этом стоит учитывать противопоказания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Коростелева Н. С., Ефремов А. А. Компонентный состав и антимикробная активность эфирного масла зимней древесной зелени сосны обыкновенной // Вестник КрасГАУ. 2013. № 12. С. 258–263.
2. Ламоткин С. А., Ахрамович Т. И., Гиль Е. В. Оценка антимикробной активности эфирных масел ряда хвойных пород деревьев // Инновационное развитие экономики: мат-лы второго Крымского инновационного форума ФГБУН «НИИСХ Крыма» / Научно-технический союз Крыма. 2020. С. 61–64.
2. Макарчук, Н. М. Фитонциды в медицине / Н. М. Макарчук, Я. С. Лещинская, Ю. А. Акимов. – Киев, 1990. – 216 с.
3. Меруерт О., Сухенко Л. Т., Смирнова Н. В. Влияние фитонцидов хвойных растений на микрофлору воздуха. Сборник: Биоразнообразие, рациональное использование биологических ресурсов и биотехнологии. Материалы Международной научно-практической онлайн-конференции. Сост. Н.В. Смирнова, А.С. Баймухамбетова. Астрахань, 2021. С. 105-108.
4. Миревич В.М., Привалова Е.Г. Учебное пособие. БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА РАСТЕНИЙ (полисахариды, эфирные масла, фенологликозиды, кумарины, флавоноиды), 2018 г., С. 70
5. Млечко Е.А., Цой М.В. Влияние эфирного масла сосны обыкновенной *Pinussylvestris*L. На ростовые показатели культуры микроорганизмов. ВестникВолГУ. Серия 9. Вып. 13. 2015, С. 15-18.
6. Санационные свойства эфирных масел некоторых видов растений / К. Г. Ткаченко, Н. В. Кондрашова [и др.] // Растительные ресурсы. – 1999. – Т. 35, вып. 3. – С. 118–125.
7. Чуркин С.П. Изучение состава эфирного масла сосны обыкновенной // Экстрактивные вещества древесных пород Сибири. Красноярск, 1972. С. 42–47