

ISSN 2227-2925 (print)
ISSN 2500-1558 (online)

12+

Том 9 N 4

2019



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ

**Прикладная химия
и биотехнология**

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ

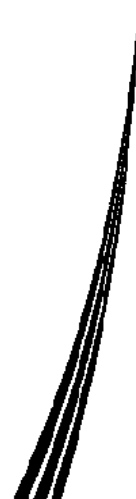
ИРКУТСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия
и биотехнология

Том 9 N 4 2019



ИЗДАТЕЛЬСТВО
Иркутского национального исследовательского
технического университета



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия и биотехнология
Том 9 N 4 2019

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор:

Евстафьев С.Н. д.х.н., профессор, заведующий кафедрой химии и пищевой технологии Иркутского национального исследовательского технического университета (г. Иркутск, Россия)

Заместитель главного редактора:

Пожидаев Ю.В. д.х.н., профессор кафедры химии и пищевой технологии Иркутского национального исследовательского технического университета (г. Иркутск, Россия)

Члены редакционной коллегии:

Боровский Г.Б. д.б.н., профессор, заместитель директора Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск, Россия)

Братская С.Ю. д.х.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией сорбционных процессов Института химии ДВО РАН (г. Владивосток, Россия)

Варфоломеев С.Д. д.х.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (г. Москва, Россия)

Верпоорт Фрэнсис доктор наук, профессор кафедры экологических технологий, пищевых технологий и молекулярной биотехнологии, Гентский Университет Глобал Кампус (филиал в Корее), (г. Инчхон, Корея)

Воронов В.К. д.х.н., профессор, Заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры информатики Иркутского национального исследовательского технического университета (г. Иркутск, Россия)

Го Эн-зюнь профессор, заведующий лабораторией координационной химии Шеньянского института химической технологии (г. Шеньян, Китай)

Дадашев М.Н. д.т.н., профессор, главный научный сотрудник кафедры физической и коллоидной химии Российского государственного университета нефти и газа им. И.М. Губкина (г. Москва, Россия)

Иоелович М.Я. д.х.н., профессор, руководитель химического отдела биотехнологической компании "Celdesigner" (г. Реховот, Израиль)

Метнер Франк-Юрген доктор наук, профессор, заведующий кафедрой пивоварения Берлинского технического университета (г. Берлин, Германия)

Непомнящих А.И. д.ф.-м.н., профессор, Заслуженный деятель науки РФ, заместитель директора Института геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН (г. Иркутск, Россия)

Пуревсурен Б. доктор наук, академик АН Монголии, заведующий лабораторией химии угля Института химии и химической технологии АН Монголии (г. Улан-Батор, Монголия)

Рогожин В.В. д.б.н., профессор, заведующий лабораторией исследования биологически активных веществ Якутской государственной сельскохозяйственной академии (г. Якутск, Россия)

Саловарова В.П. д.б.н., профессор, заведующая кафедрой физико-химической биологии Иркутского государственного университета (г. Иркутск, Россия)

Санжиб Кумар Панда доктор наук, профессор, профессор кафедры наук о жизни и биоинформатики Университета Ассам, (г. Силчар, Индия)

Ульянов Б.А. д.т.н., профессор кафедры химической технологии топлива Ангарского государственного технического университета (г. Ангарск, Россия)

Хуторянский В.В. к.х.н., профессор фармацевтической школы Университета Рединга (г. Лондон, Великобритания)

Цыренов В.Ж. д.б.н., профессор, Заслуженный деятель науки и техники РФ, заведующий кафедрой биотехнологии Восточно-Сибирского государственного университета технологии и управления (г. Улан-Удэ, Россия)

Чхенкели В.А. д.б.н., профессор, заведующая кафедрой анатомии, физиологии и микробиологии Иркутского государственного аграрного университета (г. Иркутск, Россия)

Шен Янминг профессор, заместитель декана факультета химической инженерии, Шеньянский институт химической технологии, (г. Шеньян, Китай)

Ответственный секретарь:

Чеснокова А.Н. к.х.н., Иркутский национальный исследовательский технический университет (г. Иркутск, Россия)

Журнал основан в 2011 г.

Периодичность издания – 4 раза в год.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору
в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Свидетельство ПИ №ФС77-62814 от 18 августа 2015 г.

Учредитель Иркутский национальный исследовательский технический университет

Подписной индекс в Каталоге российской прессы «Почта России» – 24682

Адрес учредителя и издателя:

664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83

Адрес редакции:

664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83, ауд. Д-215

E-mail: biochem@istu.edu

PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
Applied chemistry and biotechnology
Volume 9 N 4 2019

EDITORIAL BOARD

Editor in Chief :

Sergei N. Evstaf'ev

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Irkutsk National Research Technical University, Head of Chemistry and Food Technology Department (Irkutsk, Russia)

Deputy Editor:

Yuriy N. Pozhidaev

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Irkutsk National Research Technical University, Professor of Chemistry and Food Technology Department (Irkutsk, Russia)

Editorial council:

Gennadiy B. Borovskii

Dr. Sci. (Biology), Professor, Deputy Head of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, (Irkutsk, Russia)

Svetlana Yu. Bratskaya

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Correspondent member of RAS, Institute of Chemistry FEB RAS, Head of the Laboratory of Sorption Processes, (Vladivostok, Russia)

Sergey D. Varfolomeyev

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Correspondent member of RAS, Director of N.M. Emmanuel Institute of Biochemical Physics (Moscow, Russia)

Francis Verpoort

Dr., Professor, Department of Environmental Technology, Food Technology and Molecular Biotechnology, Ghent University Global Campus, (Incheon, Korea)

Vladimir K. Voronov

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Irkutsk National Research Technical University, Professor of Mathematics Department (Irkutsk, Russia)

Enjun Gao

Professor, Head of the Laboratory of Coordination Chemistry, Shenyang Institute of Chemical Technology (Shenyang, China)

Mirali N. Dadashev

Dr. Sci. (Engineering), Professor, Gubkin Russian State University of Oil and Gas, Senior research associate of Physical and Colloid Chemistry Department (Moscow, Russia)

Mikhail Ya. Ioelovich

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Head of Chemical Department, Biotechnology Company "Celdesigner" (Rehovot, Israel)

Frank-Juergen Methner

Dr., Professor, Berlin Institute of Technology, Head of Brewing Science Department (Berlin, Germany)

Alexander I.

Nepomnyashchikh

Dr. Sci. (Phys.-Math.), Professor, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Deputy Director of Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS (Irkutsk, Russia)

Purevsuren Barnasan

Dr. Sci. (Chemistry), Academician of Mongolian AS, Institute of Chemistry and Chemical Technology of Mongolian AS, Head of the Laboratory of Coal Chemistry (Ulan Bator, Mongolia)

Vasily V. Rogozhin

Dr. Sci. (Biology), Professor, Yakutsk State Agricultural Academy, Head of the Laboratory for bioactive substance studies (Yakutsk, Russia)

Valentina P. Salovarova

Dr. Sci. (Biology), Professor, Irkutsk State University, Head of Physical and Chemical Biology Department (Irkutsk, Russia)

Sanjib Kumar Panda

Dr., Professor, Assam University, Department of Life Science & Bioinformatics (Silchar, India)

Boris A. Ulyanov

Dr. Sci. (Engineering), Professor, Angarsk State Technical University, Head of Chemical Technology of Fuels Department (Angarsk, Russia)

Vitaliy V. Khutoryanskiy

Ph.D. (Chemistry), Professor of Pharmaceutical School of University of Reading (London, Great Britain)

Vladimir Zh. Tsyrenov

Dr. Sci. (Biology), Professor, Honored Worker of Science and Engineering of the Russian Federation, East Siberia State University of Technology and Management, Head of Biotechnology Department (Ulan-Ude, Russia)

Vera A. Chkhenkeli

Dr. Sci. (Biology), Professor, Irkutsk State Agricultural University, Head of Anatomy, Physiology and Microbiology Department (Irkutsk, Russia)

Yanming Shen

Professor, Vice-Dean of Department of Chemical Engineering, Shenyang Institute of Chemical Technology (Shenyang, China)

Executive Secretary:

Alexandra N. Chesnokova

Cand. Sci. (Chemistry), Irkutsk National Research Technical University (Irkutsk, Russia)

The journal was founded in 2011. The journal is issued 4 times a year.

The journal is registered with the Federal Agency for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Media.

Certificate of registration FS 77-62814 of 18 August, 2015

The journal is included in Ulrich's Periodicals Directory Founder and Publisher:

the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education

Irkutsk National Research Technical University

The subscription index in the Catalogue of the Russian Press "Pochta Rossii" is – 24682.

Address of the founder and publisher:

83, Lermontov St., Irkutsk, 664074, Russian Federation

Editorial address:

D-215, 83, Lermontov St., Irkutsk, 664074, Russian Federation,

E-mail: biochem@istu.edu

СОДЕРЖАНИЕ

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Розенцвейг И.Б., Никонова В.С., Корчевин Н.А. Халькогенирование ненасыщенных галогенорганических соединений элементными халькогенами и их металлическими производными.....	576
Барышок В.П., Ле Н.Т.З. Взаимодействие гидрата 1-герматранола со щавелевой кислотой...	590
Яковлева А.А., Анциферов Е.А., Гусева Е.А., Садловский С.В. Влияние защитного покрытия на основе органического связующего на коррозионную устойчивость стали.....	600
Танганов Б.Б., Могнонов Д.М. Количественные характеристики взаимодействий в растворах электролитов.....	612
Бадырова Н.М., Ниндакова Л.О. Хиральные комплексы переходных металлов с хелатными азотными лигандами в асимметрическом гидрировании с переносом водорода.....	621

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Шиповская Е.А., Евелева В.В., Черпалова Т.М. Исследование биосинтетической активности молочнокислых бактерий <i>Lactobacillus acidophilus</i> при сбраживании лактозы молочной сыворотки.....	635
Выборнова Т.В., Шарова Н.Ю., Принцева А.А. Возможности криоконсервирования коллекционных штаммов актиномицетов <i>Streptomyces lucensis</i> и <i>Streptomyces violaceus</i> – продуцентов ингибиторов гликозидаз.....	643
Кашеева Е.И., Миронова Г.Ф., Будаева В.В., Хан Х. Биоконверсия шелухи овса и мискантуса в глюкозные растворы.....	654
Джигоев Ю.П., Злобин В.И., Саловарова В.П., Степаненко Л.А., Рева О.Н., Борисенко А.Ю., Перетолчина Н.П., Букин Ю.С. Анализ проблемы «супербактерий» и современные подходы к ее решению.....	665
Болотникова О.И., Михайлова Н.П., Базарнова Ю.Г., Аронова Е.Б., Болотникова Т.А., Акинина Ю.Н. Проблемы и перспективы использования микроорганизмов для утилизации отходов лигноцеллюлозы.....	679
Еникеев А.Г., Еникеева Л.Ю. Значение работ Е.В.Талалаева для формирования стратегии развития биотехнологических методов защиты растений от вредителей.....	694
Дышлюк Л.С., Просеков А.Ю., Асякина Л.К. Изучение свойств биоразлагаемых пленок из природных полисахаридов.....	703
Митрофанова И.В., Иванова Н.Н., Кузьмина Т.Н., Хохлов С.Ю. Клональное микроразмножение и сохранение в условиях <i>in vitro</i> двух сортов хурмы восточной (<i>Diospyros kaki</i> thunb.)	712
Гусакова Г.С., Супрун Н.П., Раченко М.А., Чеснокова А.Н., Чупарина Е.В. Немчинова А.И., Макаров С.С. Исследование биохимического состава плодов яблони Южного Прибайкалья и продуктов виноделия, сброженных на древесной щепе.....	722

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Хабибрахманов Р.Б., Мухачев С.Г. Особенности мощностных и массообменных характеристик биореактора с дисковыми перфорированными мешалками.....	737
Крапивницкая Т.О., Богдашов А.А., Денисенко А.Н., Глявин М.Ю., Песков Н.Ю., Семенычева Л.Л., Ворожцов Д.Л. Экспериментальное исследование СВЧ-пиролиза торфа.....	750
Самохвалов Н.М., Виноградов В.В., Зыкова Ю.А. Эффективность очистки и гидравлическое сопротивление струйно-фильтрационного пылеуловителя.....	759

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Иванова А.А. Исследование нанокompозитов серебра на основе гидрофильных азотсодержащих гетероциклических сополимеров методами светорассеяния.....	768
Тигунцева Н.П., Фомина Е.С., Евстафьев С.Н. Переэтерификация подсолнечного масла в среде суб- и сверхкритического диметилкарбоната.....	773
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ.....	779

CONTENTS

CHEMICAL SCIENCES

Rozentsveig I.B., Nikonova V.S., Korchevin N.A. Chalcogenisation of unsaturated organohalogen compounds by elemental chalcogens and their metal derivatives.....	576
Baryshok V.P., Le N.T.G. Interaction of 1-germatranol hydrate with oxalic acid.....	590
Yakovleva A.A., Antsiferov E.A., Guseva E.A., Sadlovsky S.V. Effect of an organic binder protective coating on the corrosion resistance of steel.....	600
Tanganov B.B., Mogonov D.M. Quantitative characteristics of interactions in electrolyte solutions.....	612
Badyrova N.M., Nindakova L.O. Chiral complexes of transition metals with chelating nitrogen ligands in asymmetric hydrogenation with hydrogen transfer.....	621

PHYSICAL-CHEMICAL BIOLOGY

Shipovskaya E.A., Eveleva V.V., Cherpalova T.M. Biosynthetic activity study of <i>Lactobacillus acidophilus</i> lactic acid bacteria in the lactose fermentation of whey.	635
Vybornova T.V., Sharova N.Yu., Printseva A.A. Cryopreservation potential of <i>Streptomyces lucensis</i> and <i>Streptomyces violaceus</i> actinomycete collection strains as producers of glycosidase inhibitors.....	643
Kashcheyeva E.I., Mironova G.F., Budaeva V.V., Khan H. Bioconversion of oat hull and miscanthus cellulose to glucose solutions.....	654
Dzhioev Yu.P., Zlobin V.I., Salovarova V.P., Stepanenko L.A., Reva O.N., Borisenko A.Yu., Peretolchina N.P., Bukin Yu.S. Analysis of the "superbacteria" issue and contemporary approaches to its solution.....	665
Bolotnikova O.I., Mikhailova N.P., Bazarnova J.G., Aronova E.B., Bolotnikova T.A., Akinina J.N. Problems and prospects for the application of microorganisms in the disposal of lignocellulose waste.....	679
Enikeev A.G., Enikeeva L.Yu. Significance of the works of E.V. Talalaev in the formulation of a development strategy for biotechnological pest management methods.....	694
Dyshlyuk L.S., Prosekov A.Yu., Asyakina L.K. Property study of natural polysaccharide biodegradable films.....	703
Mitrofanova I.V., Ivanova N.N., Kuzmina TN, Khokhlov SYu. <i>In vitro</i> cloned micropropagation and conservation for two cultivars of <i>Diospyros kaki</i> (<i>Diospyros kaki</i> Thunb.).	712
Gusakova G.S., Suprun N.P., Rachenko M.A., Chesnokova A.N., Chuparina E.V., Nemchinova AI, Makarov SS. Study of the biochemical composition of fruits of the Southern Baikal apple tree and its wine products fermented on wood chips.....	722

CHEMICAL TECHNOLOGY

Khabibrakhmanov R.B., Mukhachev S.G. Power and mass exchange characteristics of a bioreactor equipped with disk perforated mixers.....	737
Krapivnitskaia T.O., Bogdashov A.A., Denisenko A.N., Glyavin M.Yu., Peskov N.Yu., Semenycheva L.L., Vorozhtcov D.L. Microwave pyrolysis experimental study of peat.....	750
Samokhvalov N. M., Vinogradov V. V., Zykova Y. A. Cleaning efficiency and hydraulic resistance of the jet filter dust collector.....	759

BRIEF COMMUNICATION

Ivanova A.A. Light-scattering study of silver nanocomposites based on hydrophilic nitrogen-containing heterocyclic copolymers.....	768
Tiguntceva N.P., Fomina E.S., Evstaf'ev S.N. Transesterification of sunflower oil in a sub- and supercritical dimethyl carbonate medium.....	773
AUTHORS INDEX	779

Review article / Обзорная статья

УДК 547.569.1+547.569.8+547.314.2

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-576-589>

Chalcogenisation of unsaturated organohalogen compounds by elemental chalcogens and their metal derivatives

© Igor B. Rozentsveig^{*,**}, Valentina S. Nikonova^{*}, Nikolai A. Korchevin^{*,***}

^{*} A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

^{**} Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

^{***} Angarsk State Technical University, Angarsk, Russian Federation

Abstract: The presented review addresses the prospects for application of organochalcogen compounds in various fields of technology, medicine, agriculture and organic synthesis. The unsaturated chalcogenisation products appear to be of much greater interest compared to their saturated analogues, especially in organic synthesis. This study observes halogen derivatives of ethene, propene, propyne and butene subjected to chalcogenisation as unsaturated substrates. The indicated reagents are related either to large-tonnage products of industrial organochlorine synthesis or waste products of organochlorine production with their disposal presenting an important environmental task. According to analysed publications, chalcogenisation processes are based on the application of elemental chalcogens (sulphur, selenium, and tellurium) or their available metal derivatives (Na_2S , etc.). In the reactions of chalcogens with unsaturated halogen derivatives, the elements both in an accessible form and in a free state are subjected to reductive activation resulting in the formation of anionic nucleophilic reagents. Complex metal hydrides, chalcogenide anions and rongalite are exemplified for application in terms of reducing agents. The review emphasises the prospects of basic reduction systems based on hydrazine hydrate in activation processes. Special aspects in the introduction of caustic alkalis and an monoethanolamine organic amine as bases in these systems are described. For the considered chalcogenisation processes, conditions are specified providing the most optimal yield of certain products. In some particular cases, the stereochemistry of the obtained compounds is presented considering the formation conditions for the stereoisomers of a certain configuration. For a number of the obtained compounds, the prospects of practical application are provided. In general, the current review is intended for specialists working in the field of organic synthesis and application of organochalcogen compounds.

Keywords: organochalcogen compounds, chalcogenisation, chalcogens, unsaturated organohalogen compounds, hydrazine hydrate-base systems

Information about the article: Received August 14, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Rozentsveig IB, Nikonova VS, Korchevin NA. Chalcogenisation of unsaturated organohalogen compounds by elemental chalcogens and their metal derivatives. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):576–589. (In English) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-576-589>

Халькогенирование ненасыщенных галогенорганических соединений элементными халькогенами и их металлическими производными

И.Б. Розенцвейг^{*,**}, В.С. Никонова^{*}, Н.А. Корчевин^{*,***}

^{*} Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация

^{**} Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Российская Федерация

^{***} Ангарский государственный технический университет, г. Ангарск, Российская Федерация

Резюме: В представленном обзоре рассмотрены вопросы, касающиеся перспектив использования халькогенорганических соединений в медицине, сельском хозяйстве, в различных областях техники и в органическом синтезе. Показано, что ненасыщенные продукты халькогенирования представляют

гораздо больший интерес по сравнению с их насыщенными аналогами, особенно при использовании в органическом синтезе. В качестве ненасыщенных субстратов, подвергаемых халькогенированию, представлены галогенпроизводные этена, пропена, пропиена и бутена. Указанные реагенты относятся либо к многотоннажным продуктам промышленного хлорорганического синтеза, либо являются отходами хлорорганических производств, утилизация которых является важной экологической задачей. Проанализированные публикации отражают процессы халькогенирования, базирующиеся на использовании элементных халькогенов (серы, селена и теллура) или их доступных металлических производных (Na_2S и др.). Для осуществления реакций халькогенов с ненасыщенными галогенпроизводными элементы в доступной форме в свободном состоянии подвергают восстановительной активации, в результате которой образуются анионные нуклеофильные реагенты. В качестве восстановителей показаны примеры использования комплексных гидридов металлов, халькогениданионов и ронгалита. В обзоре подчеркнуты перспективы применения для целей активации основно-восстановительных систем на базе гидразингидрата. Показаны особенности введения в качестве оснований в эти системы едких щелочей и органического амина – моноэтаноламина. Для рассмотренных процессов халькогенирования указаны условия, обеспечивающие наиболее оптимальные выходы определенных продуктов. В необходимых случаях представлена стереохимия получаемых соединений и рассмотрены условия образования стереоизомеров определенной конфигурации. Для некоторых получаемых соединений показаны перспективы практического применения. Материал обзора будет полезен специалистам в области органического синтеза и практического использования халькогенорганических соединений.

Ключевые слова: халькогенорганические соединения, халькогенирование, халькогены, ненасыщенные галогенорганические соединения, системы гидразингидрат-основание

Информация о статье: Дата поступления 14 августа 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Розенцвейг И.Б., Никонова В.С., Корчевин Н.А. Халькогенирование ненасыщенных галогенорганических соединений элементными халькогенами и их металлическими производными // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 576–589. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-576-589>

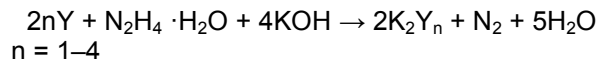
INTRODUCTION

The scope of organic chalcogen compounds can be seen to be constantly expanding. Although sulphur and its organic derivatives have been applied by humans since ancient times, more recent uses include unique medicines created on their basis, including antibiotics, anticancer drugs, drugs for human immunodeficiency, as well as protector drugs against ionising radiation. The technological application of organosulphur compounds is associated with the development of rubber vulcanisation agents, dyes, photographic materials, complexing agents, flotation reagents and extractants, polymerisation process regulators, as well as with the creation of corrosion protection agents and new types of polymeric materials, in particular for new generation chemical current sources and others directions [1]. The use of selenium and tellurium compounds was clearly indicated only in the second half of the last century and was associated, first of all, with their technical application in obtaining ligands for complex formation, organic semiconductors and electrically conductive polymers [2, 3]. However, in recent decades, numerous data have been obtained on the biological role of selenium and tellurium organic derivatives [4–6]. A detailed study for the structure of organochalcogen compounds (OCC) served as an impetus for the development of many theoretical concepts in

organic chemistry [7–9]. An important direction in the application of OCCs involves their use as precursors in contemporary organic synthesis [10–12]. By virtue of these precursors, new nanomaterials, analogues of natural compounds are obtained along with typically unstable, highly reactive compounds. Thus, the synthesis and use in modifying drugs of this class of compounds presents a specific task in modern organic chemistry.

The development and improvement of methods for OCC synthesis is constantly stimulated by the continuous expansion in the scope of their application. The most universal method of introducing a chalcogenyl substituent into the structure of an organic molecule involves the nucleophilic substitution of halogen. Chalcogen-containing anions manifest themselves as nucleophiles in these reactions (Y^{2-} , Y_n^{2-} , $\text{RY}^\cdot$ with $\text{Y} = \text{S}, \text{Se}, \text{Te}$ and R denoting an organic radical). The specified anionic forms are included in some commercial chemicals, mainly sodium sulphide, applied in the form of nanohydrate ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$). The application of the considered chalcogenide reagents is directly related to the possibility of their generation from accessible, storage-stable elemental chalcogens. In order to introduce them into a nucleophilic substitution reaction, simple substances are converted into an anionic form by chemical activation carried out due to the reductive splitting of $\text{Y}-\text{Y}$ bonds in elemental

chalcogens. Currently, although a wide range of reducing systems is available for application, their use is typically associated with the involvement of explosive reagents (organic derivatives of metals, hydrides and complex hydrides), toxic and combustible solvents, compounds of heavy metals in



In this reaction, the value of n is determined by the Y: KOH ratio.

Here, the resulting chalcogenide and polychalcogenide anions are reacting in the synthesis directly in the hydrazine hydrate solution without being isolated in an individual state. Using this activation method, a large number of saturated OCCs have been synthesised, including chalcogen-containing polymers and heterocyclic systems, some of whose unique properties have been described (see, for example, [14]).

From a practical point of view, OCCs with multiple structural bonds are of particular interest due to their significant expansion of the synthetic potential and practical significance of the studied compounds. In order to synthesise them, reactions of chalcogen-containing nucleophiles with unsaturated organohalogen compounds can be applied. In the substrates under consideration, halogen atoms can be attached to carbon atoms in both the sp^3 hybridisation state, characterised by nucleophilic reactions to proceed fairly easy, and the sp^2 hybridisation state. In the latter case, nucleophilic substitution may be hindered [15]. When the conditions change, halogen vinyl fragments in the resulting products enter into further chemical transformations, ensuring cascade reactions allowing valuable OCCs to be obtained.

The present review provides the main research results with the objects of study consisting in organohalogen derivatives of ethylene, propylene, pro-

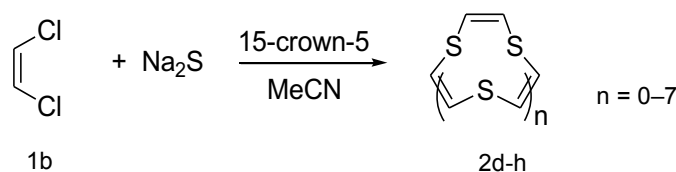
pyne and butylene. In addition, such derivatives are to be highlighted as relating either to large-tonnage organochlorine products or substances generated from organochlorine production wastes.

Halcogenisation of ethylen chlorinated derivatives. Thiylolation of vinyl halides or their derivatives, having a halogen atom attached to the sp^2 -hybridised carbon atom, is carried out either using photochemical and thermal assistance [16, 17] or by means of aprotic highly polar solvents [17]. In nucleophilic reactions, only di- and polyhalogen derivatives of ethene were studied.

The ethylene dichloro-derivatives 1,1-dichloroethene (vinylidene chloride) (1a) and 1,2-dichloroethene (*E*- and *Z*-isomers) (1b) present commercially available monomers and reagents. The unsaturated organochalcogen compounds obtained on their basis open up wide possibilities for the synthesis of polyfunctional n , π -ligands for complexation with transition metal ions.

The work [18] describes the photochemical reaction of atomic sulphur with 1,2-dichloroethene (1b), resulting in a low yielded dichlorothiirane. However, when the *Z*-1b compound and sodium sulphide nonahydrate reacts in acetonitrile with the presence of 15-crown-5 interphase transfer catalyst (0.4 equiv.), a mixture of cyclic unsaturated sulphur-containing compounds – unsaturated thiacycrocrown esters (2a-h) – was obtained at room temperature in 45 h with a total yield of 40 % [19] (Scheme 1).

Scheme 1
Схема 1



$n = 0$, 2a (44 %)*; $n = 1$, 2b (3 %); $n = 2$, 2c (traces); $n = 3$, 2d (4 %); $n = 4$, 2e (18 %); $n = 5$, 2f (16 %); $n = 6$, 2g (10 %); $n = 7$, 2h (5 %).

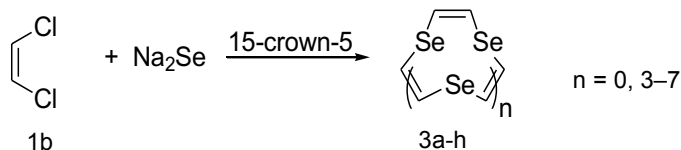
* product concentration in the mixture, according to 1H NMR data.

X-ray diffraction data were obtained for the synthesised thiacycrocrown esters, presenting all sulphur atoms in the cycle to be directed inward (endodentate ligand), i.e. totally *Z*-configured.

The dimensions of the cavities for the (2d-h) joints consistently increase from 1.76 to 5.36 Å.

In the treatment of *Z*-1b dichloroethene by sodium selenide obtained from selenium, sodium hydroxide and reducing agent of rongalite (sodium hydroxymethylsulphinate), six unsaturated selenocrown esters (3a-f) were synthesised (total yield of 29 %) using 0.1 eq. of 15-crown-5 ether additives [20] (Scheme 2).

Scheme 2
Схема 2



$n = 0$, 3a (24 %)*; $n = 3^{**}$, 3b (6 %); $n = 4$, 3c (22 %); $n = 5$, 3d (20 %); $n = 6$, 3e (16 %); $n = 7$, 3f (12 %).

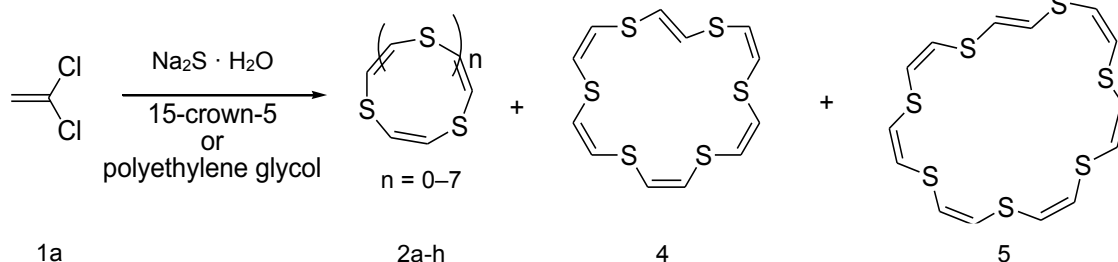
* product concentration in the mixture, according to ^1H NMR data.

** no traces of $n = 1$ and 2 compounds were detected in the mixture.

As an example, the complexation of crown ether selenium with silver ions is presented in [20].

Type 2 unsaturated thiocrown ethers were also synthesised in the reaction of vinylidene chloride (1a) with sodium sulphide nonahydrate in acetonitrile with the presence of catalysts: 15-crown-5 or polyethylene glycol with a molecular weight of 300, 750 and 2000 units [21]. In this case, an interesting feature of the reaction consists in the formation of 18-membered (4) and 21-membered (5) cycles with *E*-configuration of one of the double bonds in addition to the formation of (2a-h) cycles with exclusively *Z*-configuration of sulphur atoms in the double bond (Scheme 3).

Scheme 3
Схема 3



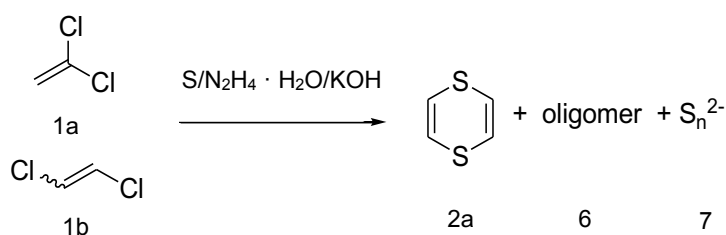
2a – 39 %*; 2b – 4 %; 2c – no traces; 2d – 6 %; 2e – 21 %; 2f – 13 %; 2g – 9 %; 2h – 5 %; 4 – 2 %; 5 – 2 %. Product concentration in the mixture, according to ^1H NMR data (0.4 equiv. of 15-crown-5 catalyst, room temperature, duration of 48 hours). In the case of applying the polyethylene glycol (0.1–0.5 equiv.) as a catalyst, a mixture of thiocrown ethers of approximately the same composition was obtained with a maximum yield of 15 %.

According to the work [21], in the product mixture, the absence of compounds with a geminal arrangement of sulphur atoms relative to the double bond carbons is accounted for mechanism involving the isomerisation of the geminal intermediate into a vicinal product. The considered scheme of the mechanism illustrates the formation of *E*-configuration-

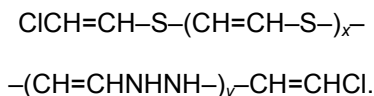
ated cycles. However, according to the authors, the initial act of the process is presented by direct nucleophilic substitution of chlorine atoms in vinylidene chloride (1a), leading to contradiction in the inertness notion of halogen atoms attached to a double bond.

Using the "sulphur-hydrazine hydrate-KOH" system generating exclusively S^{2-} anions at a KOH:S ratio exceeding 2, the thiylation of (1a) and (1b) dichloroethenes easily proceeds at a temperature of 23 °C and results in a mixture of three product types: 1,4-dithiin (2a) (16–31 and 14–46 % of yield, when using the (1a) and (1b) compounds, respectively), the (6) oligomer (26–75 %) and the (7) product of oxidative condensation of sulphur, i.e. a mixture of polysulphide anions S_n^{2-} (S_2^{2-} , S_3^{2-} and even traces of S_4^{2-}) (Scheme 4) [22].

Scheme 4
Схема 4



In the case of applying (1a) dichloride and (1b) compound, the molecular weight of the resulting (6) oligomeric product comprises 2260–6120 and 1750–2000 units, respectively. Based on the elemental analysis data, the following structure was assigned to the oligomer:

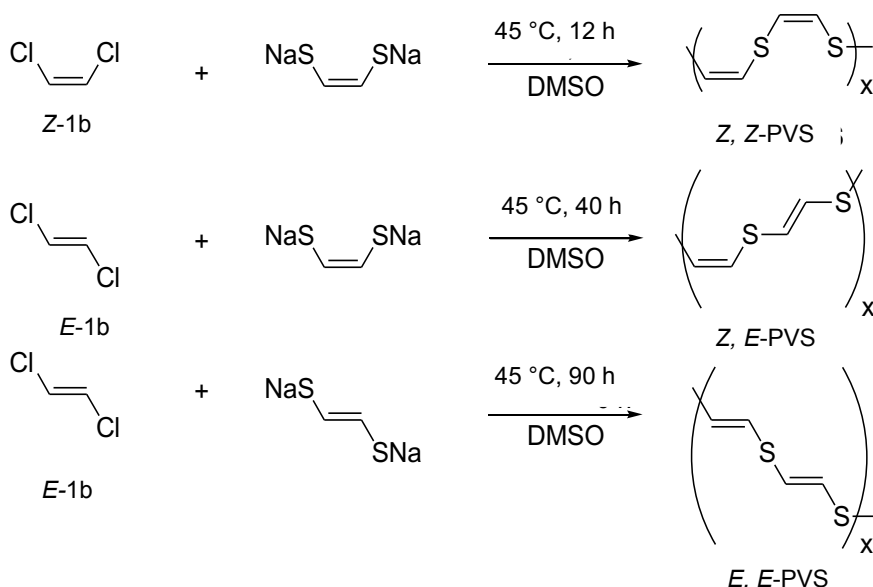


For oligomers obtained using the (1a) compound, the value of x and y was equal to 30–88 and 6–15, respectively. In the case of using the

(1b) dichloride, the above values were 22–24 and 1–6, respectively. According to IR spectroscopy and taking the results of the *E*- and *Z*-polyvinyl sulphide (PVS) studies into account, the vinylene units in the oligomer chain are exclusively *Z*-configured [23]. In current study, PVSs were obtained by polycondensation of *E*- and *Z*-1b dichlorides with *E*- and *Z*-isomers of hardly accessible sodium 1,2-ethanedithiolate (Scheme 5).

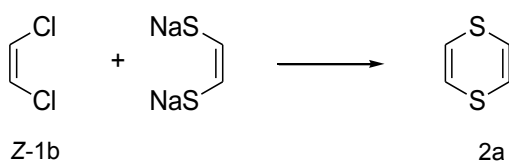
The electrical conductivity of obtained PVS is also examined by the authors of work [23], and *E*, *E*-PVSs are demonstrated to possess higher conductivity in comparison with *Z*,*Z*-polymer with the $\lg \sigma$ value ranging approximately from -4,5 to -6 S/cm).

Scheme 5
Схема 5



For 1,4-Ditiin (2a) in the reaction represented by Scheme 4, the substantially higher yield is observed in comparison with the data, obtained by the authors of works [19, 21], and its separation from other reaction products proceeds quite easily. A slightly higher yield of 47 % was established in the study for the reaction of *Z*-1b dichloride with *Z*-1,2-sodium ethanedithiolate in dry DMSO [24] (Scheme 6).

Scheme 6
Схема 6

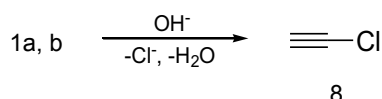


The (2a) compound involves an important object for structural studies, making the development of preparatively available methods for its preparation to be an important synthetic task.

After the separation of (2a) and (6) products, the formation of (7) polysulphide anions in the remaining aqueous hydrazine solution was confirmed by their alkylation by 1-bromopropane with the isolation and identification of dipropyl polysulphides.

The formation of the monotypic products presented in Scheme 4 under application of vinylidene chloride (1a) or both isomers of 1,2-dichloroethene (1b), as well as the participation of hydrazine in the formation of (6) oligomers, allowed the authors of [22] to propose a scheme for product formation having the primary key act consisting in the dehydrochlorination of (1) compounds with the formation of highly reactive chloroacetylene (8) (Scheme 7).

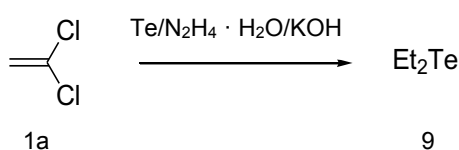
Scheme 7
Схема 1



The presence of excess hydrazine in the reaction medium prevents the formation of macrocyclic structures presented in [19, 21] and, with the participation of (8) reagent and S^{2-} anions, results in the formation of nitrogen containing oligomers.

During the reaction of selenium and tellurium with (1a) vinylidene chloride under conditions similar to sulphur application, no analogues of 1,4-dithiine were isolated [25]. In the case of tellurium, the presence of diethyl telluride (9) is convincingly proved by the authors of this work with the formation accounted for the reductive hydrogenation of multiple bonds with the participation of hydrazine and telluride anions (Scheme 8).

**Scheme 8
Схема 8**



Tetrachloroethylene, a derivative of ethylene having four chlorine atoms, is the subject of large-scale industrial production. Having relatively stable

characteristics, this compound is widely applied in terms of a solvent for dry cleaning of textile materials and degreasing metal surfaces. The works [26, 27] describe only the interaction of tetrachlorethylene with sodium polysulphide Na_2S_x formed upon activation of sulphur with sodium sulphide $Na_2S \cdot H_2O$ (Scheme 9) [27].

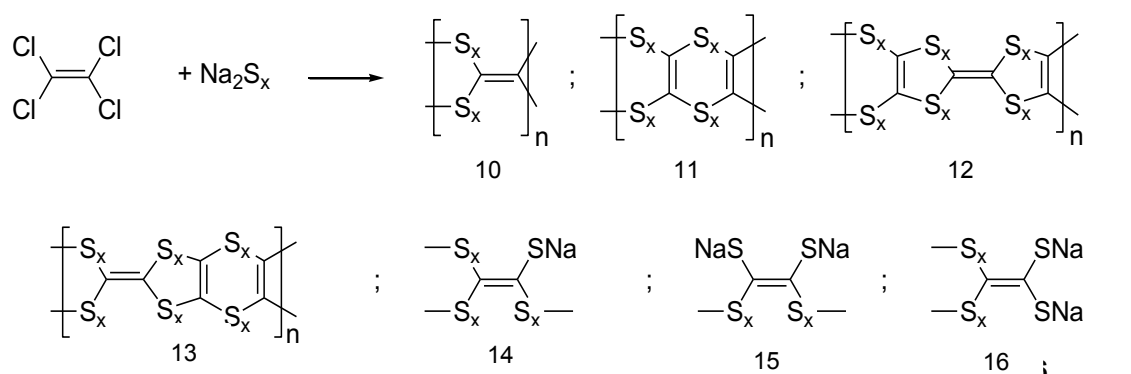
**Scheme 9
Схема 9**



In order to obtain an anhydrous polysulphide, water is removed by azeotropic distillation using octane.

The obtained anhydrous polysulphide ($x=2-5$) reacts with tetrachlorethylene in a DMSO medium and a temperature of 90–110 °C (1.5–3 h) and forms polysulphide polymers having semiconductor properties (when doped with iodine, the electrical conductivity is 10^{-8} S/cm) [26]. According to the authors of this work, the obtained polymer is assumed to contain fully polycondensed structures (10–13), as well as fragments with incomplete polycondensation (14–16) (Scheme 10).

**Scheme 10
Схема 10**



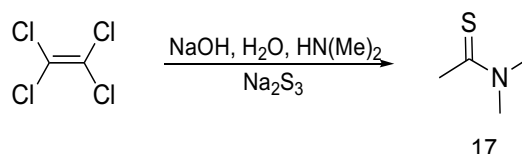
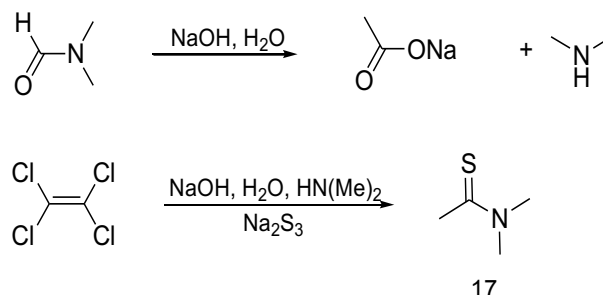
The structure of fragments (10–15) was confirmed by reductive cleavage of polymers by the "hydrazine hydrate-alkali" system and subsequent methylation of cleavage products.

Although the reaction of tetrachlorethylene with Na_2S_4 and Na_2S_5 in aqueous alkaline DMF also results in polymer products, the Na_2S_3 trisulphide in this reaction forms an individual compound of dimethylthioacetamide (17) with the participation of dimethylamine resulting from the alkaline hydrolysis of DMF [28] (Scheme 11).

The simplest chlorine derivative of propene, 3-chloropropene (allyl chloride), present a multi-ton product of industrial organochlorine synthesis. The high mobility of halogen in the allyl position ensures the production of a wide range of allyl chalcogenides [see, for example, 29, 30] studied in the *chalcogen* Claisen rearrangement of allylaryl (heteroaryl) chalcogenides [31, 32], identification the

chalcogen atom characteristics affecting the allyl rearrangement in the series of allylphenylchalcogenides [33], as well as in the synthesis of various heterocyclic structures [34].

**Scheme 11
Схема 11**

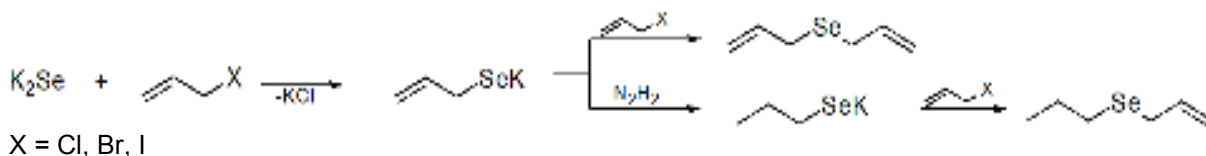


Halogen derivatives of propene and propyne

By application of AlX ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) and elemental chalcogens in the hydrazine hydrate/ KOH system, all three diallyl chalcogenides were obtained [35]. As expected, allyl iodide is the most reactional, followed by bromide and chloride. When AlI is introduced in the synthesis of diallyl selenide, the by-product of allyl propyl selenide is

formed due to the participation of hydrazine and atmospheric oxygen, in other words, hydrogenation of one double bond is observed [35, 36]. In the presence of atmospheric oxygen in an alkaline medium, hydrazine forms a highly reactive diimide hydrogenating the intermediate-generated potassium allyl selenolate contained in the aqueous hydrazine phase (Scheme 12).

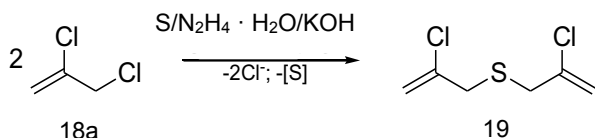
**Scheme 12
Схема 12**



In parallel, the formed diallyl selenide and the allyl propyl selenide obtained by hydrogenation transits into the organic phase, avoiding further reduction. In the case of using allyl bromide, the reaction of diallyl selenide formation proceeds quickly and potassium allyl selenate transits from the aqueous hydrazine phase without hydrogenation [35].

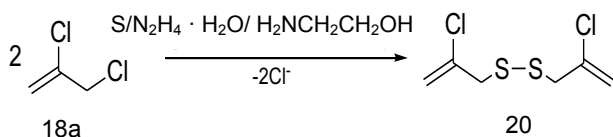
The chalcogenisation of the dichloro-derivative of propene, 2,3-dichloropropene-1 (18a), was studied only in the hydrazine hydrate-base system. Dichloropropene (18a) with a S_2^{2-} disulphide anion, generated in the hydrazine hydrate- KOH system at a ratio of $\text{KOH} : \text{S} = 1 : 1$ and yielded in 78 %, forms not an expected disulphide, but rather a monosulphide derivative (19) [37] (Scheme 13).

**Scheme 13
Схема 13**



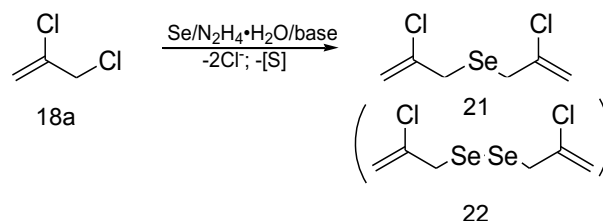
The corresponding disulphide (20) was obtained in the yield of 70 % by generating an anion disulphide in the hydrazine hydrate-monoethanolamine system [38] (Scheme 14).

**Scheme 14
Схема 14**



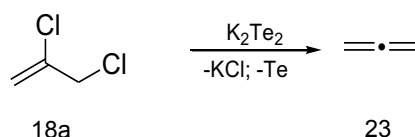
The diselenide anion obtained both in the hydrazine hydrate- KOH system and in the hydrazine hydrate-monoethanolamine system forms a monoselenide derivative (21) in a reaction with dichloride (18a) (72–70 % yield). However, in the latter case, diselenide (22) was identified with the yield of 7 % [39] (Scheme 15).

**Scheme 15
Схема 15**



No tellurium-containing products are formed by tellurium in the K_2Te or K_2Te_2 with dichloride forms (18a). The products of the reaction turned out to be propadiene (23) (78 %) and regenerated elemental tellurium [40] (Scheme 16).

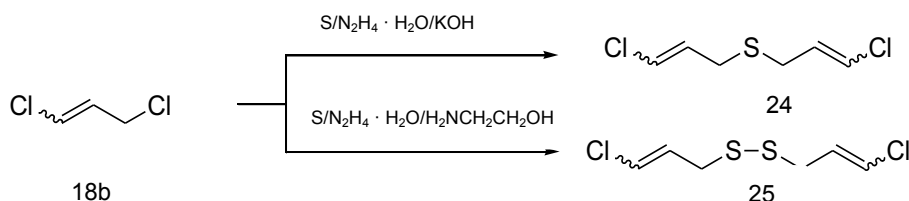
**Scheme 16
Схема 16**



The proposed reaction can serve as a convenient preparative method for producing propadiene, which is widely used in various organic synthesis processes [41].

1,3-Dichloropropene (18b) presents an isomer of dichloride (18a) with the chlorine atoms located in the 1,3-positions. Commercial product (18b) consists of *E*- and *Z*-isomers mixture with a proportion of 1.1 : 1. According to the work [42], in a reaction with (sulphur-hydrazine hydrate-base) systems, with either KOH or monoethanolamine is used as the base, dichloropropene (18b) behaves similarly to the 18a compound. In the first system, monosulphide (24) (72 % yield, a mixture of three geometric isomers) is formed during the generation of S_2^{2-} anions (Scheme 17). When monoethanolamine is used as the base (also generating anions S_2^{2-} [13]), the corresponding disulphide (25) is quantitatively isolated.

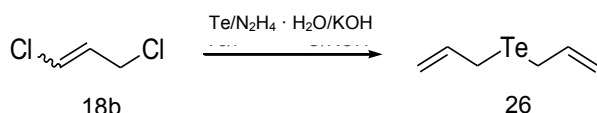
**Scheme 17
Схема 17**



When applying selenium, a complex mixture of products is formed in both systems with the possibility of isolating the corresponding selenide in a yield of up to 15 % [42].

The reaction of dichloropropene (18b) with tellurium in the hydrazine hydrate-KOH system appears to be completely different from the corresponding reaction of the isomer (18a) provided in Scheme 16. As a result of the interaction of dichloride (18b) with tellurium activated to K_2Te , diallyl telluride (26) was obtained with a yield of 57 % (Scheme 18) [42]. This work discusses the mechanism of reductive cleavage of the C-Cl bond with sp^2 -hybridised carbon atom.

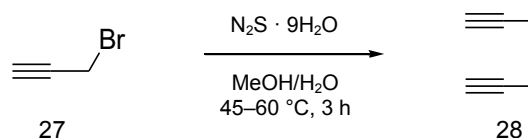
**Scheme 18
Схема 18**



The method of obtaining diallyltelluride (26), presented in Scheme 18, turns to be preparatively more effective than the synthesis of this compound by allyl iodide.

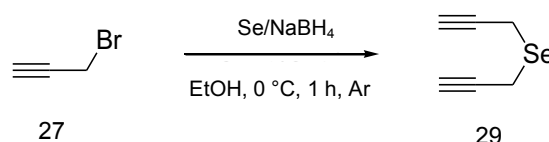
Among the halogen derivatives of propyne, propargyl bromide (27) is most often applied in laboratory practice. By applying it under the action of sodium sulphide nanohydrate, dipropargyl sulphide (28) is obtained with a yield of 48 % [43] (Scheme 19).

**Scheme 19
Схема 19**



Dipropargyl selenide (29) is formed with a 61–70 % yield in the reaction of two equivalents of propargyl bromide (27) with sodium selenide (Scheme 20), obtained during the reduction of selenium by $NaBH_4$ in ethanol [44].

**Scheme 20
Схема 20**



With the substitution of propargyl bromides, the corresponding substituted propargyl sulphide and selenide were obtained, some of which were successfully applied in the synthesis of heterocyclic compounds [45].

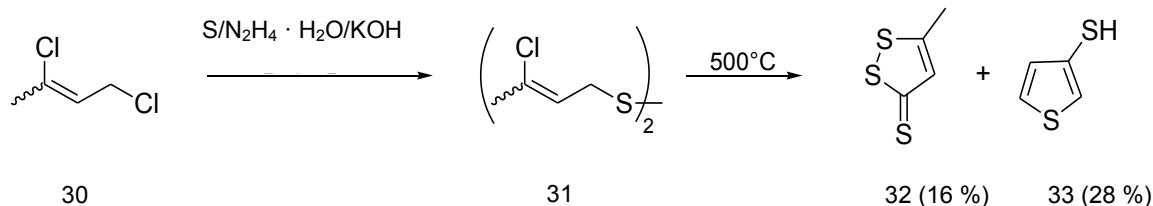
No dipropargyl telluride was obtained due to its extreme instability.

Chlorinated derivatives of butene

1,3-Dichlorobut-2-ene (30) was studied in the chalcogenisation reactions as a C_4 unsaturated halogenated hydrocarbon. Dichloride (30) presents a waste product of chloroprene production. Using the (sulphur-hydrazine hydrate-KOH) system (sulphur is activated to anions S_2^{2-}), the corresponding disulphide (31) was obtained from dichlorobutene (30) in 84 % yield and successfully used in obtaining heterocyclic compounds: 5-methyl-1,2-dithiol-3-thione (32) and 3-thiophenol (33) (Scheme 21) [46].

So far from this example, despite the fact that the dichloride (30) is a homolog of 1,3-dichloropropene (18b), its behaviour in chalcogenisation reactions appears to be significantly different.

**Scheme 21
Схема 21**



CONCLUSION

The presented research data demonstrate the possibility of obtaining valuable organochalcogen

compounds using simple unsaturated halogen derivatives and elemental chalcogens with the simultaneous action of basic reduction systems. Due

to the availability of precursors, the ease of implementation of the proposed methods and the high practical significance of the obtained products, the considered methods are a powerful tool in the development of organochalcogen synthesis and the expanded scope of OCC applications. For preparative purposes, the prospects and advantages

of using basic reduction systems based on hydrazine hydrate for chalcogen activation are presented in a particularly informative form. The authors hope the presented results will attract the attention of researchers involved in the synthesis, structural study and practical application of OCC.

REFERENCES

1. Belen'kii LI. (ed.) *Chemistry of organosulfur compounds: general problems*. New York: Ellis Horwood; 1990. 560 p.
2. McGarrigle EM, Myers EL, Illa O, Shaw MA, Riches SL, Aggarwal VK. Chalcogenides as organocatalysts. *Chemical Reviews*. 2007;107(12):5841–5883. <https://doi.org/10.1021/cr068402y>
3. Nogami T, Tasaka Y, Inoe K, Mikawa H. New conductive aliphatic tellurium polymers: poly(methylene ditelluride) and related polymers. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. 1985;5:269–271. <https://doi.org/10.1039/C3985000269>
4. Petrovich YuA, Podorozhnaya RP. Selenoenzymes and other selenoproteins and their biological role. *Uspekhi sovremennoi biologii*. = Successes of modern biology. 1981;91(1):127–144. (In Russian)
5. Gusarova NK, Kuznetsova EE, Potapov VA, Pushechkina TA, Fedoseev AP, Kirdei EG. Synthesis and biological activity of organylthioselenides. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal* = Pharmaceutical Chemistry Journal. 1984;18(1):26–28. (In Russian)
6. Sadekov ID, Bargan IA, Maksimenko AA, Minkin VI. The study of tellurorganic compounds antibacterial properties. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*. = Pharmaceutical Chemistry Journal. 1982;16(9):1073–1077. (In Russian)
7. Lin YA, Davis BG. The allylic chalcogen effect in the olefin metathesis. *Belstein Journal of Organic Chemistry*. 2010;6:1219–1228. <https://doi.org/10.3762/bjoc.6.140>
8. Trofimov BA, Shainyan BA. Vinyl sulfides. In: Patai S, Rappoport Z. (eds.) *Chemistry of sulfur-containing functional groups. Supplement S*. New York: John Wiley & Sons; 1993. P. 659–797.
9. Beletskaya IP, Ananikov VP. Unusual influence of the structures of transition metal complexes on catalytic C-S and C-Se bond formation under homogeneous and heterogeneous conditions. *European Journal of Organic Chemistry*. 2007;21:3431–3444. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200700119>
10. Shinada T, Fuji T, Ohtani Y, Yoshida Y, Ohfuné Y. Syntheses of gabosine A, B, D, and E from allyl sulfide derived from (–)-quinic acid. *Synlett*. 2002;8:1341–1343. <https://doi.org/10.1055/s-2002-32985>
11. Ma S, Hao X, Meng X, Huang X. Studies on the regio- and stereoselectivity of halohydroxylation of 1,2-allenyl sulfides or selenides. *Journal of Organic Chemistry*. 2004;69(17):5720–5724. <https://doi.org/10.1021/jo049593c>
12. Vasil'ev AA, Engman L. Iodothyronine deiodinase mimics. Deiodination of o,o'-diiodophenols by selenium and tellurium reagents. *Journal of Organic Chemistry*. 1998;63(12):3911–3917. <https://doi.org/10.1021/jo972240b>
13. Deryagina EN, Russavskaya NV, Papernaya LK, Levanova EP, Sukhomazova EN, Korchevin NA. Synthesis of organochalcogen compounds in basic reducing systems. *Russian Chemical Bulletin*. 2005;54(11):2473–2483. <https://doi.org/10.1007/s11172-006-0143-0>
14. Levanova EP, Vakul'skaya TI, Shevchenko SG, Grabel'nykh VA, Sukhomazova EN, Elaev AV, et al. Synthesis and paramagnetic properties of polytelluride oligomers. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2008;44(10):1422–1427. <https://doi.org/10.1134/S1070428008100047>
15. Shainyan BA. Reactions involving bimolecular nucleophilic substitution at a vinyl centre. *Russian Chemical Reviews*. 1986;55(6):511–530. <https://doi.org/10.1070/RC1986v055n06ABEH003205>
16. Voronkov M.G., Deryagina E.N., Kuznetsova M.A., Kalikhman I.D. High-temperature organic synthesis. Reaction of vinyl chloride with hydrogen sulfide – new method for synthesis of vinyl thiol. *Zhurnal organicheskoi khimii* = Journal of Organic Chemistry. 1978;14(1):185–188. (In Russian)
17. Voronkov MG, Vlasova NN, Zhila GYu. Photochemical reaction of acetylene with hydrogen sulfide. *Zhurnal organicheskoi khimii* = Journal of Organic Chemistry 1984;20(1):211–212. (In Russian)
18. Lown EM, Dedio EL, Strausz OP, Gunning NE. The reactions of sulfur atoms. VIII. Further investigation of the reactions with olefins. Relative rates of addition of sulfur (³P) and (¹D) atoms. *Journal of the American Chemical Society*. 1967;89(5):1056–1062. <https://doi.org/10.1021/ja00981a003>
19. Tsuchiya T, Shimizu T, Kamigata N. Unsaturated thiacycrown ethers: synthesis, physical properties, and formation of a silver complex. *Journal of the American Chemical Society*. 2001;123(47):11534–11538. <https://doi.org/10.1021/ja0102742>
20. Shimizu T, Kawaguchi M, Tsuchiya T, Hirabayashi K, Kamigata N. Unsaturated selenacycrown ethers: synthesis, structure, and formation of silver complexes. *Journal of Organic Chemistry*. 2005;70(13):5036–5044. <https://doi.org/10.1021/jo0502807>
21. Sun D-Q, Yang J-K. An economical approach to the synthesis of unsaturated thiacycrown ethers. *Synthesis*. 2011;15:2454–2458. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1260066>
22. Levanova EP, Nikonova VS, Grabel'nykh VA, Russavskaya NV, Albanov AI, Rozentsveig IB, et al.

Reactions of Dichloroethenes with Sulfur in the System Hydrazine hydrate–KOH. *Russian Journal of General Chemistry*. 2018;88(3):383–388. <https://doi.org/10.1134/S1070363218030015>

23. Ikeda Y, Nagoya I, Ozaki M. Electronic states and electrical conductivities of polyvinylene-sulphides. *Synthetic Metals*. 1987;21(2):235–240. [https://doi.org/10.1016/0379-6779\(87\)90092-0](https://doi.org/10.1016/0379-6779(87)90092-0)

24. Russell J. The NMR spectra of 1,4-dioxin and 1,4-dithiin partially oriented in a nematic phase. *Organic Magnetic Resonance*. 1972;4(3):433–439. <https://doi.org/10.1002/mrc.1270040310>

25. Levanova EP, Nikonova VS, Grabel'nykh VA, Russavskaya NV, Albanov AI, Rozentsveig IB, et al. Reactions of 1,1-Dichloroethene with elemental chalcogens in the system hydrazine hydrate–alkali. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2016;52(7):1070–1071. <https://doi.org/10.1134/S1070428016070307>

26. Trofimov BA, D'yachkova SG, Gusarova NK, Sinegovskaya LM, Myachina GF, Korzhova SA, et al. The synthesis of polysulfide polymers from tetrachloroethene and sodium polysulfides. *Sulfur Letters*. 1999;22(5):169–177.

27. Sultangareev PG, Rozinov VG, Albanov AV, Voronkov MG. Reactions of Polychloroethylenes with Sodium Polysulfides in Aqueous-Alkaline Dimethylformamide. *Russian Journal of General Chemistry*. 2003;73(2):325–236. <https://doi.org/10.1023/A:1024781130432>

28. Trofimov BA, D'yachkova SG, Scotheim T, Gusarova NK, Myachina GF, Korzhova SA, et al. Reduction of poly[dicarbon polysulfides] synthesized from tetrachloroethene and sodium polysulfides. *Sulfur Letters*. 1999;23(1):33–47. <https://doi.org/10.1080/10426500008045219>

29. Deryagina EN, Korchevin NA, Papernaya LK. Новые пути синтеза несимметричных диорганисульфидов New ways for the synthesis of asymmetric diorganyl sulfides. *Zhurnal obshchei khimii* = Journal of General Chemistry. 1997;67(5):866–869. (In Russian)

30. Kataev EG, Kataeva LM, Chmutova GA. Allyl phenyl selenide and its prototropic isomerization. *Zhurnal organicheskoy khimii* = Journal of Organic Chemistry. 1966;2(12):2244–2248. (In Russian)

31. Kwart H, Evans R. The thio-Claisen rearrangement. The mechanism of thermal rearrangement of allyl aryl sulphides. *Journal of Organic Chemistry*. 1966;31(2):413–419. <https://doi.org/10.1021/jo01340a016>

32. Mortensen JZ, Hedegaard B, Lawesson S-O. Thiophene chemistry. XVII. Thio-Claisen rearrangement of allyl thienyl sulfides. *Tetrahedron*. 1971;27(10):3831–3838. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)98244-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)98244-4)

33. Anisimov AV, Viktorova EA, Danilova TA. *Molecular rearrangements of organosulfur compounds*. Moscow: Moscow State University; 1989, 122 p. (In Russian).

34. Korchevin NA, Sukhomazova ÉN, Russavskaya NV, Turchaninova LP, Sigalov MV, Klyba LV,

et al. Thermal transformations of allyl 2-thienyl sulfide and selenide. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 1991;27(10):1049–1052. <https://doi.org/10.1007/BF00486794>

35. Deryagina EN, Korchevin NA, Russavskaya NV, Grabel'nykh VA. A mechanism of the hydrogenation of the double bond in the synthesis of allyl chalcogenides in the hydrazine hydrate–potassium hydroxide system. *Russian Chemical Bulletin*. 1998;47(9):1827–1829. <https://doi.org/10.1007/BF02495714>

36. Amosova SV, Musorin GK, Kopylova IG, Keiko VV. Allyl propyl selenide formation in reaction of Se–KOH–N₂H₄·H₂O with allyl chloride. *Zhurnal obshchei khimii* = Journal of General Chemistry. 1990;60(2):473. (In Russian)

37. Levanova EP, Grabel'nykh VA, Russavskaya NV, Klyba LV, Zhanchipova ER, Albanov AI, et al. Reactions of 2,3-dichloro-1-propene with sulfur and tellurium in the system hydrazine hydrate–KOH. *Russian Journal of General Chemistry*. 2009;79(6):1097–1101 <https://doi.org/10.1134/S1070363209060103>

38. Levanova EP, Grabel'nykh VA, Russavskaya NV, Rozentsveig IP, Tarasova OA, Korchevin NA. Reaction of 2,3-dichloroprop-1-ene with sulfur in hydrazine hydrate–monoethanolamine system. *Russian Journal of General Chemistry*. 2011;81(3):611–612. <https://doi.org/10.1134/S1070363211030315>

39. Levanova EP, Grabel'nykh VA, Russavskaya NV, Albanov AI, Elae AV, Tarasova OA, et al. Features of the reaction of 2,3-dichloroprop-1-ene with selenium in a hydrazine hydrate – base systems. *Russian Journal of General Chemistry*. 2011;81(7):1560–1561.

40. Levanova EP, Vshivtsev VYu, Grabel'nykh VA, Sukhomazova EN, Russavskaya NV, Albanov AI, et al. Reaction of tellurium with 2,3-dichloro-1-propene in the system hydrazine hydrate–alkali. A novel approach to synthesis of allene. *Russian Journal of General Chemistry*. 2008;78(10):1980–1981. <https://doi.org/10.1134/S1070363208100289>

41. Taber AM, Mushina EA, Krentsel' BA. *Allen hydrocarbons: production, properties, application*. Moscow: Nauka; 1987. 205 p. (In Russian)

42. Levanova EP, Nikonova VS, Grabel'nykh VA, Rozentsveig IB, Russavskaya NV, Albanov AI, et al. Chalcogenation of 1,3-dichloropropene with elemental chalcogens in the system hydrazine hydrate – base. *Russian Journal of General Chemistry*. 2016;86(6):1282–1287. <https://doi.org/10.1134/S1070363216060104>

43. Gal Y-S, Choi S-K. Cyclopolymerization of dipropargyl sulfide by transition metal catalysts. *Journal of Polymer Science. Part C: Polymer Letters*. 1988;26(2):115–121. <https://doi.org/10.1002/pol.1988.140260210>

44. Amosova SV, Martynov AV. Dipropargyl selenide. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2011;47(11):1282–1287. <https://doi.org/10.1134/>

45. Braverman S, Zafrani Y, Gottlieb HE. Base catalyzed rearrangement of π -conjugated sulfur and selenium bridged propargylic systems. *Tetrahedron*. 2001;57(44):9177–9185. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)00923-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)00923-1)

46. Turchaninova LP, Sukhomazova EN, Leva-

nova EP, Korchevin NA, Deryagina EN, Voronkov MG. High-temperature organic synthesis XL. Thermal heterocyclization of bis(3-chloro-2-butenyl)disulfide. *Zhurnal organicheskoy khimii = Journal of Organic Chemistry*. 1992;28(12):2473–2476. (In Russian)

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Получение и свойства органических соединений серы / под ред. Л.И. Беленького. М.: Химия. 1998. 560 с.

2. McGarrigle E.M., Myers E.L., Illa O., Shaw M.A., Riches S.L., Aggarwal V.K. Chalcogenides as organocatalysts // *Chemical Reviews*. 2007. Vol. 107. Issue 12. P. 5841–5883. <https://doi.org/10.1021/cr068402y>

3. Nogami T., Tasaka Y., Inoe K., Mikawa H. New conductive aliphatic tellurium polymers: poly(methylene ditelluride) and related polymers // *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. 1985. Issue 5. P. 269–271. <https://doi.org/10.1039/C39850000269>

4. Петрович Ю.А., Подорожная Р.П. Селеноэнзимы и другие селенопротеины. Их биологическое значение // *Успехи современной биологии*. 1981. Т. 91. N 1. С. 127–144.

5. Гусарова Н.К., Кузнецова Э.Э., Потапов В.А., Пушечкина Т.А., Федосеев А.П., Кирдей Е.Г. [и др.]. Синтез и биологическая активность органилтиоселенидов // *Химико-фармацевтический журнал*. 1984. Т. 18. N 1. С. 26–28.

6. Садеков И.Д., Барган И.А., Максименко А.А., Минкин В.И. Изучение антибактериальных свойств теллуруорганических соединений // *Химико-фармацевтический журнал*. 1982. Т. 16. N 9. С. 1073–1077.

7. Lin Y.A., Davis B.G. The allylic chalcogen effect in the olefin metathesis // *Belstein Journal of Organic Chemistry*. 2010. No. 6. P. 1219–1228. <https://doi.org/10.3762/bjoc.6.140>

8. Trofimov B.A., Shainyan B.A. Vinyl sulfides. Edited by Patai S., Rappoport Z. *Chemistry of sulfur-containing functional groups. Supplement S*. New York: John Wiley & Sons. 1993. P. 659–797.

9. Beletskaya I.P., Ananikov V.P. Unusual influence of the structures of transition metal complexes on catalytic C-S and C-Se bond formation under homogeneous and heterogeneous conditions // *European Journal of Organic Chemistry*. 2007. Issue 21. P. 3431–3444. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200700119>

10. Shinada T., Fuji T., Ohtani Y., Yoshida Y., Ohfuné Y. Syntheses of gabosine A, B, D, and E from allyl sulfide derived from (-)-quinic acid // *Synlett*. 2002. Issue 8. P. 1341–1343. <https://doi.org/10.1055/s-2002-32985>

11. Ma S., Hao X., Meng X., Huang X. Studies on the regio- and stereoselectivity of halohydroxylation of 1,2-allenyl sulfides or selenides // *Journal of Organic Chemistry*. 2004. Vol. 69. Issue 17. P. 5720–5724. <https://doi.org/10.1021/jo049593c>

12. Vasil'ev A.A., Engman L. Iodothyronine deiodinase mimics. Deiodination of o,o'-diiodophenols by selenium and tellurium reagents // *Journal of Organic Chemistry*. 1998. Vol. 63. Issue 12. P. 3911–3917. <https://doi.org/10.1021/jo972240b>

13. Deryagina E.N., Russavskaya N.V., Papernaya L.K., Levanova E.P., Sukhomazova E.N., Korchevin N.A. Synthesis of organochalcogen compounds in basic reducing systems // *Russian Chemical Bulletin*. 2005. Vol. 54. Issue 11, P. 2473–2483. <https://doi.org/10.1007/s11172-006-0143-0>

14. Levanova E.P., Vakul'skaya T.I., Shevchenko S.G., Grabel'nykh V.A., Sukhomazova E.N., Elaev A.V., et al. Synthesis and paramagnetic properties of polytelluride oligomers // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2008. Vol. 44. Issue 10, P. 1422–1427. <https://doi.org/10.1134/S1070428008100047>

15. Shainyan B.A. Reactions involving bimolecular nucleophilic substitution at a vinyl centre // *Russian Chemical Reviews*. 1986. Vol. 55. Issue 6. P. 511–530. <https://doi.org/10.1070/RC1986v055n06ABEH003205>

16. Воронков М.Г., Дерягина Э.Н., Кузнецова М.А., Калихман И.Д. Высокотемпературный органический синтез. Реакция хлористого винила с сероводородом - новый метод синтеза винилтиола // *Журнал органической химии*. 1978. Т. 14. N 1. С. 185–188.

17. Воронков М.Г., Власова Н.Н., Жила Г.Ю. Фотохимическая реакция ацетилен с сероводородом // *Журнал органической химии*. 1984. Т. 20. N 1. С. 211–212.

18. Lown E.M., Dedio E.L., Strausz O.P., Gunning N.E. The reactions of sulfur atoms. VIII. Further investigation of the reactions with olefins. Relative rates of addition of sulfur (^3P) and (^1D) atoms // *Journal of the American Chemical Society*. 1967. Vol. 89. No. 5. P. 1056–1062. <https://doi.org/10.1021/ja00981a003>

19. Tsuchiya T., Shimizu T., Kamigata N. Unsaturated thiacycrown ethers: synthesis, physical properties, and formation of a silver complex // *Journal of the American Chemical Society*. 2001. Vol. 123. Issue 47. P. 11534–11538. <https://doi.org/10.1021/ja0102742>

20. Shimizu T., Kawaguchi M., Tsuchiya T., Hirabayashi K., Kamigata N. Unsaturated selenacycrown ethers: synthesis, structure, and formation of silver complexes // *Journal of Organic Chemistry*. 2005. Vol. 70. Issue 13. P. 5036–5044. <https://doi.org/10.1021/jo0502807>

21. Sun D.-Q., Yang J.-K. An economical ap-

proach to the synthesis of unsaturated thiacyclopentanes // *Synthesis*. 2011. No. 15. P. 2454–2458. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1260066>

22. Levanova E.P., Nikonova V.S., Grabel'nykh V.A., Russavskaya N.V., Albanov A.I., Rozentsveig I.B., et al. Reactions of Dichloroethenes with Sulfur in the System Hydrazine Hydrate – KOH // *Russian Journal of General Chemistry*. 2018. Vol. 88. Issue 3. P. 383–388. <https://doi.org/10.1134/S1070363218030015>

23. Ikeda Y., Nagoya I., Ozaki M. Electronic states and electrical conductivities of polyvinylene-sulphides // *Synthetic Metals*. 1987. Vol. 21. No. 2. P. 235–240. [https://doi.org/10.1016/0379-6779\(87\)90092-0](https://doi.org/10.1016/0379-6779(87)90092-0)

24. Russell J. The NMR spectra of 1,4-dioxin and 1,4-dithiin partially oriented in a nematic phase // *Organic Magnetic Resonance*. 1972. Vol. 4. No. 3. P. 433–439. <https://doi.org/10.1002/mrc.1270040310>

25. Levanova E.P., Nikonova V.S., Grabel'nykh V.A., Russavskaya N.V., Albanov A.I., Rozentsveig I.B., et al. Reactions of 1,1-Dichloroethene with elemental chalcogens in the system hydrazine hydrate-alkali // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2016. Vol. 52. Issue 7, P. 1070–1071. <https://doi.org/10.1134/S1070428016070307>

26. Trofimov B.A., D'yachkova S.G., Gusarova N.K., Sinegovskaya L.M., Myachina G.F., Korzhova S.A., et al. The synthesis of polysulfide polymers from tetrachloroethene and sodium polysulfides // *Sulfur Letters*. 1999. Vol. 22. Issue 5. P. 169–177.

27. Sultangareev P.G., Rozinov V.G., Albanov A.V., Voronkov M.G. Reactions of Polychloroethylenes with Sodium Polysulfides in Aqueous-Alkaline Dimethylformamide // *Russian Journal of General Chemistry*. 2003. Vol. 73. Issue 2. P. 325–326. <https://doi.org/10.1023/A:1024781130432>

28. Trofimov B.A., D'yachkova S.G., Scotheim T., Gusarova N.K., Myachina G.F., Korzhova S.A., et al. Reduction of poly[dicarbon polysulfides] synthesized from tetrachloroethene and sodium polysulfides // *Sulfur Letters*. 1999. Vol. 23. No. 1. P. 33–47. <https://doi.org/10.1080/10426500008045219>

29. Дерягина Э.Н., Корчевин Н.А., Паперная Л.К. Новые пути синтеза несимметричных диорганисульфидов // *Журнал общей химии*. 1997. Т. 67. N 5. С. 866–869.

30. Катаев Е.Г., Катаева Л.М., ЧмUTOва Г.А. Аллилфенилселенид и его прототропная изомеризация // *Журнал органической химии*. 1966. Т. 2. N 12. С. 2244–2248.

31. Kwart H., Evans R. The thio-Claisen rearrangement. The mechanism of thermal rearrangement of allyl aryl sulphides // *Journal of Organic Chemistry*. 1966. Vol. 31. No. 2. P. 413–419. <https://doi.org/10.1021/jo01340a016>

32. Mortensen J.Z., Hedegaard B., Lawesson S.-O. Thiophene chemistry. XVII. Thio-Claisen rearrangement of allyl thienyl sulfides // *Tetrahedron*.

1971. Vol. 27. No. 10. P. 3831–3838. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)98244-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)98244-4)

33. Анисимов А.В., Викторова Е.А., Данилова Т.А. Молекулярные перегруппировки сероорганических соединений. Органические сульфиды. М.: Изд-во МГУ. 1989. 122 с.

34. Korchevin N.A., Sukhomazova É.N., Russavskaya N.V., Turchaninova L.P., Sigalov M.V., Klyba L.V., et al. Thermal transformations of allyl 2-thienyl sulfide and selenide // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 1991. Vol. 27. Issue 10. P. 1049–1052. <https://doi.org/10.1007/BF00486794>

35. Deryagina E.N., Korchevin N.A., Russavskaya N.V., Grabel'nykh V.A. A mechanism of the hydrogenation of the double bond in the synthesis of allyl chalcogenides in the hydrazine hydrate-potassium hydroxide system // *Russian Chemical Bulletin*. 1998. Vol. 47. Issue 9. P. 1827–1829. <https://doi.org/10.1007/BF02495714>

36. Амосова С.В., Мусорин Г.К., Копылова И.Г., Кейко В.В. Образование аллилпропилселенида при взаимодействии системы Se–KOH–N₂H₄·H₂O с хлористым аллилом // *Журнал общей химии*. 1990. Т. 60. N 2. С. 473.

37. Levanova E.P., Grabel'nykh V.A., Russavskaya N.V., Klyba L.V., Zhanchipova E.R., Albanov A.I., et al. Reactions of 2,3-dichloro-1-propene with sulfur and tellurium in the system hydrazine hydrate-KOH // *Russian Journal of General Chemistry*. 2009. Vol. 79. Issue 6. P. 1097–1101 <https://doi.org/10.1134/S1070363209060103>

38. Levanova E.P., Grabel'nykh V.A., Russavskaya N.V., Rozentsveig I.P., Tarasova O.A., Korchevin N.A. Reaction of 2,3-dichloroprop-1-ene with sulfur in hydrazine hydrate-monoethanolamine system // *Russian Journal of General Chemistry*. 2011. Vol. 81. Issue 3. P. 611–612. <https://doi.org/10.1134/S1070363211030315>

39. Levanova E.P., Grabel'nykh V.A., Russavskaya N.V., Elaeв A.V., Tarasova O.A., et al. Features of the reaction of 2,3-dichloroprop-1-ene with selenium in a hydrazine hydrate – base systems // *Russian Journal of General Chemistry*. 2011. Vol. 81. Issue 7. P. 1560–1561.

40. Levanova E.P., Vshivtsev V.Yu., Grabel'nykh V.A., Sukhomazova E.N., Russavskaya N.V., Albanov A.I., et al. Reaction of tellurium with 2,3-dichloro-1-propene in the system hydrazine hydrate-alkali. A novel approach to synthesis of allene // *Russian Journal of General Chemistry*. 2008. Vol. 78. Issue 10. P. 1980–1981 <https://doi.org/10.1134/S1070363208100289>

41. Табер А.М., Мушина Е.А., Кренцель Б.А. Алленовые углеводороды: получение, свойства, применение. М.: Наука. 1987. 205 с.

42. Levanova E.P., Nikonova V.S., Grabel'nykh V.A., Rozentsveig I.B., Russavskaya N.V., Albanov A.I., et al. Chalcogenation of 1,3-dichloropropene with elemental chalcogens in the system hydrazine hydrate – base // *Russian Journal of General Chemistry*. 2016. Vol. 86. Issue 6. P. 1282–1287.

<https://doi.org/10.1134/S1070363216060104>

43. Gal Y.-S., Choi S.-K. Cyclopolymerization of dipropargyl sulfide by transition metal catalysts // Journal of Polymer Science. Part C: Polymer Letters. 1988. Vol. 26. No. 2. P. 115–121. <https://doi.org/10.1002/pol.1988.140260210>

44. Amosova S.V., Martynov A.V. Dipropargyl selenide // Russian Journal of Organic Chemistry. 2011. Vol. 47. Issue 11. P. 1282–1287. [https://doi.org/ 10.1134/](https://doi.org/10.1134/)

45. Braverman S., Zafrani Y., Gottlieb H.E. Base

catalyzed rearrangement of π -conjugated sulfur and selenium bridged propargylic systems // Tetrahedron. 2001. Vol. 57. Issue 44. P. 9177–9185. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)00923-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)00923-1)

46. Турчанинова Л.П., Сухомазова Э.Н., Леванова Е.П., Корчевин Н.А., Дерягина Э.Н., Воронков М.Г. Высокотемпературный органический синтез XL. Термическая гетероциклизация бис-(3-хлор-2-бутенил)дисульфида // Журнал органической химии. 1992. Т. 28. N 12. С. 2473–2476.

Contribution

Igor B. Rozentsveig, Valentina S. Nikonova, Nikolai A. Korchevin analyzed the data, summarized the material and wrote the manuscript. Igor B. Rozentsveig, Valentina S. Nikonova, Nikolai A. Korchevin have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

AUTHORS' INDEX

Igor B. Rozentsveig,

Dr. Sci. (Chemistry), Associated Professor,
Head of Laboratory of Haloorganic Compounds,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute
of Chemistry SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation;
Professor,
Department of Theoretical
and Applied Organic Chemistry
and Polymerization Processes,
Irkutsk State University,
1, K. Marks St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
✉e-mail: i_roz@irioch.irk.ru

Valentina S. Nikonova,

Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute
of Chemistry SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation;
e-mail: valentina_serg@inbox.ru

Критерии авторства

Розенцвейг И.Б., Никонова В.С., Корчевин Н.А. проанализировали литературные источники, обобщили имеющийся по данной теме материал и написали рукопись. Розенцвейг И.Б., Никонова В.С., Корчевин Н.А. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Розенцвейг Игорь Борисович,

д.х.н., доцент, заведующий лабораторией
галогенорганических соединений,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация;
профессор кафедры теоретической
и прикладной органической химии
и полимеризационных процессов,
Иркутский государственный университет,
664003, ул. К. Маркса, 1,
Российская Федерация,
✉e-mail: i_roz@irioch.irk.ru

Никонова Валентина Сергеевна,

к.х.н., научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
e-mail: valentina_serg@inbox.ru

Nikolai A. Korchevin,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Leading Researcher,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute
of Chemistry SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk 664033,
Russian Federation;
Professor,
Department of Electrochemical
Production Technologies,
Angarsk State Technical University,
60, Chaikovsky St., Angarsk 665835,
Russian Federation,
e-mail: rusnatali64@yandex.ru

Корчевин Николай Алексеевич,
д.х.н., профессор,
ведущий научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация;
профессор кафедры технологии
электрохимических производств,
Ангарский государственный
технический университет,
665835, г. Ангарск, ул. Чайковского, 60,
Российская Федерация,
e-mail: rusnatali64@yandex.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 547.918: 547.455.623

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-590-599>

Взаимодействие гидрата 1-герматранола со щавелевой кислотой

© В.П. Барышок*, Н.Т.З. Ле**

* Иркутский национальный исследовательский технический университет, г. Иркутск, Российская Федерация

** Институт химии Вьетнамской академии наук и технологий,
г. Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам

Резюме: Поликарбоновые кислоты участвуют во многих жизненных процессах, а герматраны проявляют высокую биологическую активность. В то же время реакции 1-замещенных герматранов с поликарбоновыми кислотами исследованы недостаточно. С одной стороны, сообщалось об устойчивых в присутствии воды соединениях герматранов с веществами, содержащими карбоксильную группу. С другой стороны, известно, что герматрановый цикл гидрата 1-герматранола в водной среде разрушается D-винной кислотой с образованием бис(μ-тарtrato)ди(гидроксо)-германата(IV) триэтаноламмония. Нами исследовано взаимодействие гидрата 1-герматранола ($\text{H}_2\text{O} \cdot \text{HGe}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$) со щавелевой кислотой ($\text{HOC}(\text{O})\text{COOH}$) в воде, диметилсульфоксиде, ацетонитриле и изоамиловом спирте. Реакция в водной среде при 20–25 °С быстро приводит к расщеплению герматранового остова с образованием бис(оксалато-О,О')дигидроксигерманата триэтаноламмония $[(\text{C}_2\text{O}_4)_2\text{Ge}(\text{OH})_2]^{2-} \cdot \text{H}^+ \cdot [(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{NH}]^+$. Выдерживание реакционного остатка после упаривания воды при 50 °С в вакууме 2 мм рт. ст. в течение 2 ч приводит в результате топохимической реакции соответственно к моно- и бис(герматран-1-ил)оксалату ($\text{ROC}(\text{O})\text{COOGe}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ($\text{R} = \text{H}$ и $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3\text{Ge}$), а также к восстановлению 1-герматранола. При дополнительном выдерживании этой реакционной массы в вакууме 2 мм рт. ст. при 100 °С в течение 40 мин в ней образуются бис(герматран-1-ил)оксид $\text{O}[\text{Ge}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}]_2$ и герматран-1-ил)формиат. При растворении в воде полученных реакционных смесей полученные соединения вновь превращаются в бис(оксалато-О,О')дигидроксигерманат триэтаноламмония и 1-герматранол. Нагревание смеси гидрата 1-герматранола со щавелевой кислотой в среде диметилсульфоксида и ацетонитрила наряду с 1-герматранил-оксалатами приводит к образованию продукта гидролитического расщепления герматранового остова – бис(оксалато-О,О')дигидроксигерманата триэтаноламмония, а кипячение в изоамиловом спирте – преимущественно к реакции этерификации с выходом 1-изоамилоксигерматрана более 90 %.

Ключевые слова: гидрат 1-герматранола, щавелевая кислота, бис(оксалато-О,О')дигидроксигерманат триэтаноламмония, (герматран-1-ил)оксалат, бис(герматран-1-ил)оксалат, герматран-1-ил)формиат, бис(герматран-1-ил)оксид, этерификация, расщепление, топохимическая реакция

Благодарности: Авторы благодарят И.А. Ушакова, доцента Института высоких технологий ИРНТУ, к.х.н., за снятие некоторых спектров ЯМР ^1H и ^{13}C .

Информация о статье: Дата поступления 18 августа 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Барышок В.П., Ле Н.Т.З. Взаимодействие гидрата 1-герматранола со щавелевой кислотой // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. 590–599. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-590-599>

Interaction of 1-germatranol hydrate with oxalic acid

Viktor P. Baryshok*, Le Nhat Thuy Giang**

* Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

** Institute of Chemistry of Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, Vietnam

Abstract: Polycarboxylic acids are involved in many life processes, along with germatranes exhibiting high biological activity. At the same time, the studies on the reactions of 1-substituted germatranes with polycarboxylic acids appear to be insufficient. On the one hand, compounds of germatranes with substances containing a carboxyl group are stable in the presence of water. On the other hand, it is known that the germatran cycle of 1-germatranol hydrate in an aqueous medium is destroyed by D-vinic acid with the formation of bis(μ-tartrato)di(hydroxo)germanate(IV) triethanolammonium. We have studied the interaction of 1-germatranol hydrate ($\text{H}_2\text{O} \cdot \text{HGe}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$) with oxalic acid ($\text{HOC}(\text{O})\text{COOH}$) in water, dimethyl sulfoxide, acetonitrile and isoamyl alcohol. The reaction in an aqueous medium at 20–25 °C quickly leads to the cleavage of the germatran skeleton with the formation of bis(oxalato-O,O')dihydroxygermanate triethanolammonium $[(\text{C}_2\text{O}_4)_2\text{Ge}(\text{OH})_2]^{2-} \cdot \text{H}^+ \cdot [(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{NH}]^+$. Holding the reaction residue after evaporation of water at 50 °C in vacuum 2 mm Hg. st. for 2 h leads to the topochemical reaction, respectively to mono- and bis(germatran-1-yl)oxalate ($\text{ROC}(\text{O})\text{COOGe}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ($\text{R} = \text{H}$ and $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3\text{Ge}$), as well as to the restoration of 1-germatranol. Upon further holding of this reaction mass in vacuum 2 mm Hg. st. at 100 °C for 40 min, bis(germatran-1-yl)oxide $\text{O}[\text{Ge}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}]_2$ and germatran-1-yl formate are formed. Upon dissolution in water, the obtained reaction mixtures convert the obtained compounds back into bis(oxalato-O,O')dihydroxygermanate triethanolammonium and 1-germatranol. Heating the mixture of 1-germatranol hydrate with oxalic acid in dimethyl sulfoxide and acetonitrile, in addition to 1-germatran-1-yl oxalates, leads to the formation of the product of hydrolytic cleavage of the germatran skeleton – bis(oxalato-O,O')dihydroxygermanate triethanolammonium, and boiling in isoamyl alcohol – predominantly to the reaction of esterification with a yield of 1-isoamyl oxigermatran more than 90 %.

boxyl group were reported to be stable in the presence of water. On the other hand, the germatranic cycle of 1-germatranol hydrate in an aqueous medium is acknowledged to be decomposed by D-tartaric acid to bis(μ -tartrato)di(hydroxy)germanate(IV) triethanolammonium form. In this work, the interaction of 1-germatranol hydrate ($\text{H}_2\text{O} \cdot \text{HOGe}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$) with oxalic acid ($\text{HOC}(\text{O})\text{COOH}$) in water, dimethyl sulphoxide and acetonitrile alcohol was studied. The reaction in an aqueous medium at 20–25 °C quickly leads to the cleavage of the germatrane skeleton followed by the formation of $[(\text{C}_2\text{O}_4)_2\text{Ge}(\text{OH})_2]^{2-} \cdot \text{H}^+ \cdot [(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{NH}]^+$ bis(oxalate-O,O') dihydroxygermanate triethanolammonium. As a result of the topochemical reaction, exposing the reaction residue following evaporation of water at 50 °C in a vacuum of 2 mm Hg for 2 h subsequently leads to the formation of $(\text{ROC}(\text{O})\text{COOGe}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{R}=\text{H}))$ and $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3\text{Ge}$ mono- and bis(germatran-1-yl)oxalate), as well as to the reduction of 1-germatranol. Under additional exposure of the reaction mixture in a 2 mm Hg vacuum at 100 °C for 40 min, $\text{O}[\text{Ge}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}]_2$ bis(germatran-1-yl)oxide and (germatran-1-yl)formate is formed. Following the water dissolution of the reaction mixtures, the resulting compounds undergo another conversion to bis(oxalate-O,O')dihydroxygermanate triethanolammonium and 1-germatranol. Heating a mixture of 1-germatranol hydrate with oxalic acid in a dimethyl sulphoxide and acetonitrile medium along with 1-germatran-1-yl oxalates leads to the formation of a hydrolytic cleavage product of the germatrane skeleton, bis(oxalate-O,O')dihydroxygermanate triethanolammonium, while the boiling of isoamyl alcohol mainly provides for the esterification reaction with a 1-isoamyloxygermatrane yield exceeding 90 %.

Keywords: 1-germatranol hydrate, oxalic acid, bis(oxalate-O,O')dihydroxy germanate triethanolammonium, (germatran-1-yl)oxalate, bis(germatran-1-yl)oxalate, germatran-1-yl)formate, bis(germatran-1-yl)oxide, esterification, cleavage, topochemical reaction

Acknowledgements: The authors are grateful to I.A. Ushakov, Cand. Sci. (Chemistry), associate professor of the Institute of High Technologies, IRNITU, for the registration some ^1H and ^{13}C NMR spectra.

Information about the article: Received August 18, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Baryshok VP, Le NTG. Interaction of 1-germatranol hydrate with oxalic acid. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):590–599. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-590-599>

ВВЕДЕНИЕ

Герматраны обладают широким спектром биологического действия. Они проявляют противоопухолевый, ранозаживляющий и иммуностимулирующий эффекты, полезны при нарушениях обмена веществ, хронических респираторных и сердечно-сосудистых заболеваниях, болезнях органов пищеварения, печени, почек, некоторых формах аллергии, гипертонии и катаркте [1–21].

Заметно большая устойчивость герматранового цикла по сравнению с силатрановым к гидролитическому расщеплению позволяет использовать герматраны в качестве транспортирующего агента биологически активных фрагментов в живые клетки [11]. Гидрат 1-герматранола стимулирует иммунную систему [12, 13], может быть использован для профилактики пародонтита, гингивита и кариеса [14], обладает гемоглобинопротекторным и антиоксидантным действием, активирует триптофанитРНК-синтеазу [15], интенсифицирует рост растений [16, 17]. 1-(2-аминоэтоксигерматран снижает интенсивность перекисного окисления липидов [18]. Композиции герматранов с лекарственными препаратами и биологически активными веществами, в том числе с карбоновыми кислотами, представленные как комплексные соединения, снижают токсический эффект и увеличивают лечебный эффект фармакологи-

ческих препаратов [19–21].

Первый представитель 1-ацилосигерматранов $\text{RC}(\text{O})\text{OGe}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ – 1-ацетоксигерматран ($\text{R}=\text{CH}_3$), синтезирован с выходом 91 % реакцией 1-метоксигерматрана с 98%-й уксусной кислотой и ее ангидридом в среде о-дихлорбензола при 100 °C [22]. 1-Ароилокси-, 1-арилоксиацетокси-, 1- α -карбоксифурил- и 1- α -карбокситенилгерматраны получены при взаимодействии 1-хлоргерматрана с соответствующими калийными солями карбоновых кислот в среде о-дихлорбензола с выходом 41,5–86 % [23]. Предложен также метод синтеза 1-ацилосигерматранов последовательной реакцией диоксида германия с триэтаноломином и карбоновыми кислотами в среде о-ксилола или изоамилового спирта [24, 25].

Сообщалось о синтезе 1-карбоксизамещенных герматрана, в том числе бис(герматран-1-ил)-оксалата, реакцией замещения гидроксильной группы в гидрате 1-герматранола карбоксильным анионом аммониевой соли соответствующей карбоновой кислоты без приведения каких-либо характеристик индивидуальных соединений [26].

Продукты взаимодействия гидрата 1-герматранола с органическими кислотами как в этаноле, так и в воде представлены также как аммониевые соли 1-герматранола $[\text{HN}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3\text{GeOH}] \text{RCOO}^-$, водородные ком-

плексы по атому кислорода или карбоксилатные по атому Ge: $\text{HOGe}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+\text{HOC}(\text{O})-\text{X}-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ($\text{X}=-\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{O})\text{C}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$), $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ [19–21]. Однако ни одно из этих предположений до сих пор не получило обоснования. Приведенный в [20] довод о том, что химические сдвиги в спектрах ЯМР ^1H в D_2O протонов групп CH_2N и OCH_2 в различных комплексах 1-герматранола с органическими кислотами практически не отличаются (δ , м.д., 3,41–,42 т и 3,88–3,89 т соответственно), скорее, не согласуется с сохранением в них бициклического герматранового остова и предложенной для них оригинальной координацией атома азота герматрана с карбонильным атомом углерода органической кислоты. Малый внутренний сдвиг между сигналами протонов $\Delta[\delta(\text{OCH}_2) - \delta(\text{NCH}_2)]$ указывает на кватернизованный атом азота.

Кроме того, известно, что при взаимодействии гидрата 1-герматранола с D-винной кислотой в водной среде герматрановый цикл разрушается и образуется бис(μ -тарtrato)ди(гидроксо)германат(IV) триэтаноламмония [27].

Таким образом, строение аддуктов 1-герматранола с поликарбоновыми кислотами до сих пор достоверно не установлено.

Целью настоящего исследования являлось изучение взаимодействия гидрата 1-герматранола со щавелевой кислотой в среде воды, изоамилового спирта, диметилсульфоксида и ацетонитрила.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ИК-спектры записаны на спектрометре Bruker Vertex-70 в микрослое и в таблетках с KBr. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C зарегистрированы на приборе Bruker DPX-400 (400,13 и 101,62 МГц соответственно) в DMCO-D_6 , CD_3CN или D_2O (внутренний стандарт – ацетонитрил CH_3CN).

Элементный анализ продуктов реакции выполнен на газоанализаторе Thermo Finnigan Flash EA 1112.

Температуру плавления определяли на приборе Micro-Hot-Stage PolyTherm A.

Все растворители (диметилсульфоксид, ацетонитрил, изоамиловый спирт) квалификации ч. или ч.д.а. дополнительно очищали по методикам, описанным в [28].

Диоксид германия марки ч. использовали без дополнительной очистки.

Триэтаноламин марки ч. дополнительно перегоняли при 2 мм рт. ст. ($T_{\text{кип.}} - 162-163\text{ }^\circ\text{C}$; $d_4^{20} = 1,1242$; $n_D^{20} = 1,4852$).

Гидрат 1-герматранола синтезировали по методике, представленной в работе [29]. Щавелевую кислоту квалификации ч.д.а. перекристаллизовывали из воды и использовали в виде дигидрата или предварительно обезвоживали выдерживанием в сушильном шкафу при $110\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 1 ч.

Количественный состав реакционных смесей определяли по интегральной интенсивности химических сдвигов протонов характеристических групп в индивидуальных соединениях в спектрах ЯМР ^1H (табл. 1, 2).

А. Раствор 0,0200 г (0,079 ммол) гидрат-герматранола (1) в 0,2 мл дейтерированной воды и 0,0071 г (0,079 ммол) безводной щавелевой кислоты (1 : 1) в 0,1 мл D_2O смешивали и анализировали методом ЯМР ^1H и ^{13}C (стандарт H_2O). Практически сразу после смешивания растворов в спектре ЯМР ^1H реакционного раствора дополнительно к химическим сдвигам ^1H групп NCH_2 и OCH_2 исходного герматранола 1 появляются равные им по интенсивности также два триплетных сигнала при 3,94 (OCH_2) и 3,47 м.д. NCH_2 . Добавление к реакционному раствору еще одного мольного эквивалента щавелевой кислоты приводит к полному превращению 1 в бис(оксалато-О,О')дигидроксигерманат триэтаноламмония (2).

Элементный состав остатка (массой 0,0391 г после выдерживания раствора 2 в течение 5 суток в вакуум-эксикаторе (~10 мм рт. ст.) следующий, %: С – 24,30; Н – 5,21; N – 2,83; Ge – 14,91.

Таблица 1

Химические сдвиги ^1H , ^{13}C и КССВ в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C бис(оксалато-О,О')дигидроксигерманата триэтаноламмония
 $[(\text{HO})_2\text{Ge}(\text{C}_2\text{O}_4)_2]^{2-} \cdot \text{H}^+[(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+\text{H}] 2$

Table 1

Chemical shifts ^1H , ^{13}C and $^3J_{\text{HH}}$ values in the ^1H and ^{13}C NMR spectra of bis(oxalato-O,O')-triethanolammonium dihydroxygermanate
 $[(\text{HO})_2\text{Ge}(\text{C}_2\text{O}_4)_2]^{2-} \cdot \text{H}^+[(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+\text{H}] 2$

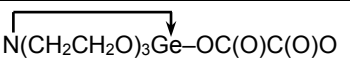
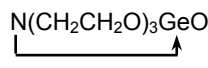
Растворитель	^1H , δ , м.д. (число протонов, группа, КССВ $^3J_{\text{HH}}$, Гц)	^{13}C , δ , м.д. (группа)
DMCO-D_6	3,29 т (12Н, N^+CH_2 , 5,24)	55,49 (NCH_2)
	3,75 т (12Н, OCH_2 , 5,24)	55,54 (OCH_2) 165,6 ($\text{C}=\text{O}$)
D_2O	3,47 (OCH_2 , –) 3,94 (NCH_2 , –)	54,9 (NCH_2) 55,2 (OCH_2)

Таблица 2

Химические сдвиги ^1H и ^{13}C в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C
 1-замещенных герматранов $\text{RGe}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$

Table 2

Chemical shifts of ^1H and ^{13}C in ^1H and ^{13}C NMR spectra
 of 1-substituted germatranes

Соединение	R	Растворитель	^1H , δ , м.д. (число протонов, группа, КССВ $^3J_{\text{HH}}$, Гц)	^{13}C , δ , м.д. (группа)
1	HO	DMCO-D ₆	2,82 т (6H, NCH ₂ , 5,68) 3,62 т (6H, OCH ₂ , 5,68)	50,66(NCH ₂) 55,94(OCH ₂)
		CD ₃ CN	2,89 т (6H, NCH ₂ , 5,50) 3,73 т (6H, OCH ₂ , 5,64)	51,89(NCH ₂) 57,39(OCH ₂)
		DD ₂ O	3,05 т (6H, NCH ₂ , 5,68) 3,82 т (6H, OCH ₂ , 5,56)	52,27(NCH ₂) 58,05(OCH ₂)
3а	HOС(О)С(О)О	DMCO-D ₆	3,12 т (6H, NCH ₂ , 5,50) 3,86 т (6H, OCH ₂ , 5,50)	—
3б		DMCO-D ₆	2,92 т (12H, NCH ₂ , 5,64) 3,70 т (12H, OCH ₂ , 5,64)	—
4	HCOO	DMCO-D ₆	3,02 т (6H, NCH ₂ , 5,68) 3,77 т (6H, OCH ₂ , 5,68) 8,28 с (HCOO)	—
5		DMCO-D ₆	2,74 т (12H, NCH ₂ , 5,50) 3,56 т (12H, OCH ₂ , 5,50)	51,05(NCH ₂) 56,17(OCH ₂)
		CD ₃ CN	2,79 т (12H, NCH ₂ , 5,70) 3,65 т (12H, OCH ₂ , 5,62)	52,36(NCH ₂) 57,59(OCH ₂)
6	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CH ₂ O	DMCO-D ₆	0,82 д (6H, CH ₃ , 6,32) 1,26 к (2H, CH ₂ CH ₃ , 6,76) 1,62 м (1H, CH) 2,84 т (6H, NCH ₂ , 5,68) 3,64 т (6H, OCH ₂ , 5,68) 3,61 т (2H, OCH ₂ CH ₂ CH, 6,72)	22,7(CH ₃) 24,2 (CH) 21,1 (CH ₂) 61,5 (CH ₂ O)

Взаимодействие 1-герматранола со щавелевой кислотой. Реакция в водной среде.

$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{NO}_{13}\text{Ge}_3\text{H}_2\text{O}$. Вычислено, %: С — 24,62; Н — 5,16; N — 2,87; Ge — 14,88.

Б. Раствор 1,000 г (3,940 ммол) 1 и 0,497 г (3,940 ммол) дигидрата щавелевой кислоты в 10 мл воды нагревали до 45 °С в течение 2 ч, затем выдерживали в вакууме 2 мм рт. ст. при 50 °С в течение 1 ч. Полученная в результате топахимической реакции масса (I) имела следующий состав, % мол.: 1 — 25,6; (герматран-1-ил)оксалат (3а) — 27,5; бис(герматран-1-ил)оксалата (3б) — 8,0; бис(оксалато-О,О')дигидроксигерманата триэтаноламмония (2) — 38,9.

Дополнительное выдерживание реакционной массы I при 100 °С в вакууме 2 мм рт. ст. в течение 40 мин обусловило продолжение топахимической реакции. Состав реакционного остатка (II), % мол.: 1 — 24,6; (герматран-1-ил)оксалата (3а) — 14,8; бис(герматран-1-ил)оксалата (3б) — 10,5; бис(оксалато-О,О')дигидроксигерманата триэтаноламмония (2) — 38,8; (герматран-1-ил)формиата (4) — 10,9; бис(герматран-1-ил)оксалата (5) — 0,4. После растворения в D₂O реакционная смесь II превращается в дигидроксигерманат (2) и 1-герматранол (1).

Реакция в среде изоамилового спирта. Смесь 1,000 г (3,940 ммол) гидрата 1-герматранола (1) и 0,48 г (1,970 ммол) дигидрата щавелевой кислоты в 50 мл изоамилового спирта ки-

пятили с азеотропной отгонкой воды в течение 7 ч до полного растворения реагентов. После упаривания растворителя при 130 °С досуха твердый остаток промывали сухим диэтиловым эфиром и выдерживали в вакууме 2 мм рт. ст. 1 ч. Получили 1,000 г светло-коричневого мелкокристаллического порошка. Его компоненты и состав по химическим сдвигам и их интегральной интенсивности в спектре ЯМР ^1H , % мол.: 1-изоамилоксигерманата (6) — 97,8; бис(герматран-1-ил)оксалата (3б) — 2,2.

Реакция в диметилсульфоксиде. Раствор 0,020 г (0,079 ммол) гидрата 1-герматранола (1) и 0,010 г (0,079 ммол) дигидрата щавелевой кислоты в 0,4 мл DMCO-D₆ нагревали до 80 °С в течение 1 ч, затем реакционный раствор анализировали методом ЯМР ^1H . Степень превращения 1 — 76,0 %; выход (герматран-1-ил)оксикарбонилметановой кислоты (3а) — 26,4 % мол.; бис(герматран-1-ил)оксалата 3б — 2,6 % мол.; бис(оксалато-О,О')дигидроксигерманата триэтаноламмония (2) — 45,0 % мол.

Реакция в среде ацетонитрила.

Смесь 1,000 г (3,940 ммол) гидрата 1-герматранола и 0,497 г (3,940 ммол) дигидрата щавелевой кислоты в 40 мл ацетонитрила нагрева-

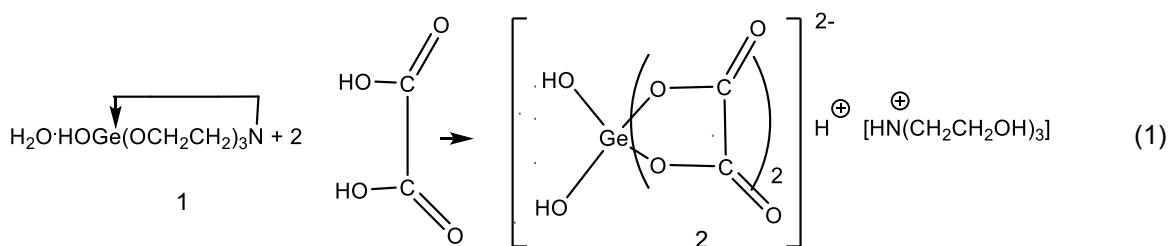
ли до 45 °С в течение 2 ч. Затем растворитель испаряли, реакционный остаток выдерживали при 50 °С в вакууме 2 мм рт. ст. в течение 1 ч и анализировали методом ЯМР ^1H . Конверсия герматранола (1) составила 45,1 % мол.; выход составил, % мол.: 3а – 21,3; 3б – 8,4; 2 – 15,4.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что диоксид германия образует с раствором щавелевой кислоты моно-, ди- и триоксалатогерманиевые кислоты [30–32]. *Трис*-(оксалато-О,О')германиевая кислота выделена в виде тригидрата и солей с неорганическими катионами и органическими основаниями. *Бис*-(оксалато)германиевая кислота также

образует аналогичные соли и комплексы соответственно типа $[(\text{HO})_2\text{Ge}(\text{C}_2\text{O}_4)_2]\cdot\text{H}\cdot\text{M}$ и $[(\text{HO})_2\text{Ge}(\text{C}_2\text{O}_4)_2]\cdot\text{M}_2$ (где М – катион щелочного металла или аммония) [31, 32].

Смешивание растворов в D_2O гидрата 1-герматранола и безводной щавелевой кислоты в соотношении 1 : 1 немедленно приводит к появлению в спектре ЯМР ^1H реакционного раствора сигналов 2, равных по интенсивности химическим сдвигам ^1H групп NCH_2 и OCH_2 исходного герматранола. Слабополюсный сдвиг резонанса протонов группы NCH_2 свидетельствует о кватернизации в ней атома азота. Добавление к реакционному раствору еще одного мольного эквивалента щавелевой кислоты приводит к полному превращению 1 в 2 (схема (1)).



Таким образом, 1-герматранол в водном растворе реагирует со щавелевой кислотой в соотношении 1 : 2, а не 1 : 1 или, с учетом двухосновности и силы этой кислоты, даже 2 : 1, как можно было бы ожидать в случае кислотного гидролиза 1 с образованием оксалатов триэтаноламмония и *орто*-германиевой кислоты. При кислотном гидролизе 1-герматранола под действием щавелевой кислоты образуется комплексная соль *бис*-(оксалато-О,О')дигидроксигерманата триэтанол-аммония 2.

Выдерживание при 50 °С и остаточном давлении 2 мм рт. ст. в течение 2 ч реакционного остатка I, полученного по схеме (1) после упаривания водного реакционного раствора эквимольных количеств 1-герматранола и щавелевой кислоты, приводит к топохимической реакции и образованию 27,5 % мол. 1-моногерматранилоксалата (3а) и 8,0 % мол. 1,1'-*бис*-(герматранил)оксалата (3б).

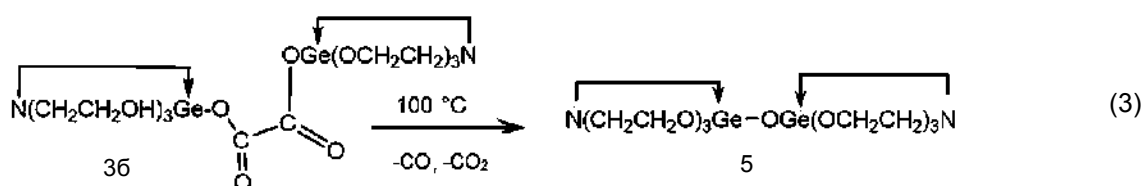
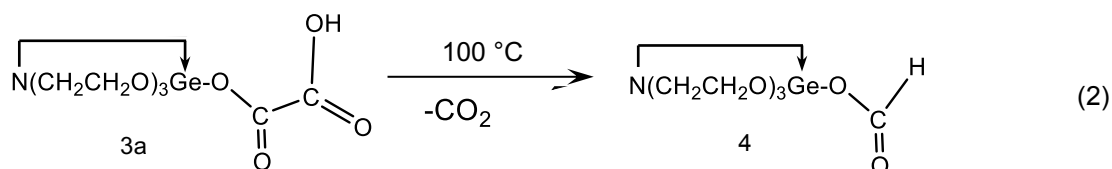
После дополнительного нагревания реакционной массы I до 100 °С в вакууме 2 мм рт. ст. в

течение 40 мин доля (герматран-1-ил)оксалата (3а) снижается вдвое, а *бис*-(герматран-1-ил)оксалата (3б), напротив, немного возрастает. Кроме того, в реакционной смеси II появляются (герматран-1-ил)формиат (4) – 12,6 %, и *бис*-(герматран-1-ил)оксан (5) – 0,4 %.

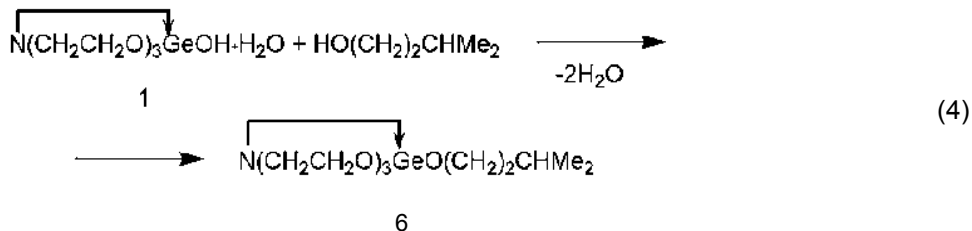
Образование формиата 4 обусловлено, возможно, процессом декарбоксилирования оксалатного фрагмента в моногерматранилоксалате 3а, содержание которого уменьшается до 14,8 % мол. (схема (2)).

Бис-(герматран-1-ил)оксан (5) образуется из гидрата 1-герматранола (1) лишь при нагревании до 220 °С [33]. Его появление при 100 °С в твердофазной реакции обязано, скорее, полному термолизу оксалатной группы в *бис*-(герматран-1-ил)оксалате (3б) (схема (3)).

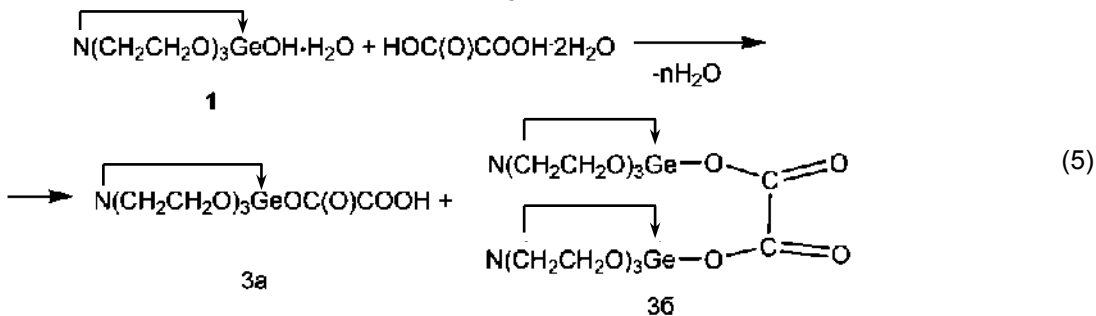
В спектре ЯМР ^1H вновь растворенной в воде реакционной смеси I присутствуют химические сдвиги протонов лишь исходного герматрана 1 и комплекса 2.



лучен лишь в следовых количествах (2,2 % мол.). Вероятно, при 130 °С большая часть щавелевой кислоты декарбоксилируется и дегидратируется, и осуществляется ранее изученная реакция этерификации гидрата 1-герматранола растворителем – изоамиловым спиртом (схема (4)) [34].

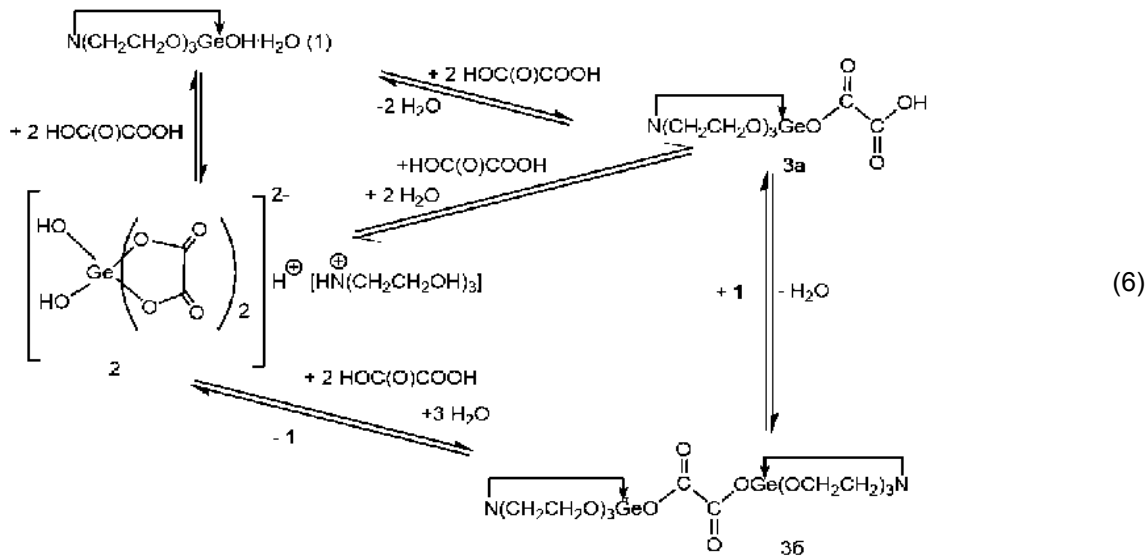


Однако присутствие воды как в исходных реагентах, так и в реакции этерификации приводит преимущественно к разрушению герматранового остова с образованием комплекса триэтанолламмония с диоксалатогерманиевой кислотой (2) (45,0 % мол.).



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, реакция гидрата 1-герматранола (1) со щавелевой кислотой может осуществляться топохимически и является обратимой: в ДМСО и CH_3CN осуществляется как по пути замещения гидроксильной группы в 1-герматраноле, так и в направлении расщепления герматранового цикла, а в водной среде приводит лишь к кислотному гидролизу 1 с образованием бис(оксалато-О,О')дигидроксигерманата триэтаноламмония (2) (схема (6)).



БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Lukevics E., Ignatovich L. In: The Chemistry of Organic Germanium, Tin and Lead Compounds. Edited by Z. Rappoport. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd. 2002. Vol. 2. P. 1653–1678.
2. Lukevics E., Ignatovich L. The Use of Metals in Medicine. In: Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents: M. Gielen and E.R.T. Tiekink (eds.), J. Wiley, Chichester, England. 2005. Vol. 15. P. 279–295.
3. Лукевиц Э.Я., Гар Т.К., Игнатович Л.М., Миронов В.Ф. Биологическая активность соединений германия. Рига: Зинатне, 1990. 191 с.
4. Игнатенко М.А. Противоопухолевая активность кремний- и германий-органических соединений (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 1987. Т. 21. N 4. С. 402–408.
5. Менчиков Л.Г., Игнатенко М.А. Биологическая активность органических соединений германия (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 2012. Т. 46. N 11. С. 3–6. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2012-46-11-3-6>
6. Ye L., Zhang W. Synthesis and biological activity of 3-(2,8,9-trioxa-aza-1-germatricyclo-[3.3.3.0]undecane-1-yl)-hydroxycinnamic acid // Medicinal Chemistry. 2007. Vol. 3. Issue 5. P. 466–468. <https://doi.org/10.2174/157340607781745465>
7. Ye L., Luo Y., Peng X., Zhou Y., Ou X. Synthesis and biological activity of 3-(2,8,9-trioxa-aza-1-germatricyclo[3.3.3.0]undecane-1-yl)-caffeic acid // Medicinal Chemistry. 2009. Vol. 5. P. 382–384.
8. Ye L., Ou X., Peng X., Luo Y. Synthesis of 3-(2,8,9-trioxa-5-aza-1-germatricyclo-[3.3.3.0]undecane-1-yl)-3-(4-hydroxyl-3-methoxyphenyl)-propionic acid and its inhibitory effect on the cervical tumor U14 in vitro and in vivo // Medicinal Chemistry. 2012. Vol. 8. P. 595–598.
9. Лукевиц Э., Игнатович Л., Хохлова Л., Беляков С. Синтез, строение и токсичность арилгерматранов // Химия гетероциклических соединений. 1997. N 2 (356). С. 275–277.
10. Лукевиц Э.Я., Германе С.К., Трушуле М.А., Миронов В.Ф., Гар Т.К., Домброва О.А. [и др.]. Синтез и нейротропная активность герматранилметиламидов и -имидов // Химико-фармацевтический журнал. 1988. N 2. С. 163–167.
11. Башкирова С.А., Доскоч Я.Е., Бессонов А.Е., Березовская И.В., Калмыкова Е.А., Возможности сочетанного применения биологически активного вещества органического соединения германия и нестероидных противовоспалительных препаратов // Справочник врача общей практики. 2009. N 9. С. 61–65.
12. Пат. № 2108096, Российская Федерация, МПК А 61 К 31/28, А 61 К 37/04. Средство, стимулирующее в эксперименте синтез иммуноглобулинов / В.Ф. Миронов, Е.А. Чернышев, В.В. Малочкин, А.И. Мартынов, Г.А. Куликов; № 95110653/14; заявл. 26.06.1995; опубл. 10.04.1998.
13. Пат. № 2272624, Российская Федерация, МПК А 61 К 31/28. Применение 1-гидроксигерматрана (моногидрата) в качестве средства актопротекторного действия и стимулирующего тканевое дыхание в организме и способ его получения / А.Д. Исаев, С.А. Башкирова, К.В. Павлов; патентообладатель ООО «Сафрон»; № 2005117990/15; заявл. 10.06.2005; опубл. 27.03.2006.
14. Пат. № 2236196, Российская Федерация, МПК А 61 С 15/04. Зубная нить / С.И. Шкуренко, В.А. Купленая, В.В. Щербинин, А.Л. Крылов, А.В. Беляков, К.В. Галичев [и др.]. № 2003110014/15; заявл. 09.04.2003; опубл. 20.09.2004.
15. Барышок В.П., Абзаева К.А., Расулов М.М., Подгорбунская Т.А. 1-герматранол-гидрат – активатор триптофанил-тРНК-синтетазы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8. N 1. С. 153–158. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-1-153-158>
16. Воронков М.Г., Левит Т.Х., Кириллов А.Ф., Барышок В.П., Козьмик Р.А., Скуртул А.М. [и др.]. Действие герматранола на морозостойкость винограда // Доклады АН СССР. 1988. Т. 299. N 2. С. 509–512.
17. Shigarova A.M., Grabelnych O.I., Baryshok V.P., Borovskii G.B. Possible mechanisms of the influence of germatranes on the resistance of wheat seedlings // Applied Biochemistry and Microbiology. 2016. Vol. 52. N 4. P. 410–415. <https://doi.org/10.1134/S0003683816040153>
18. Жигачева И.В., Бинюков В.И., Миль Е.М., Генерозова И.П., Расулов М.М. Влияние германийорганического соединения на функциональное состояние митохондрий растительного и животного происхождения // Научный альманах. 2015. N 7 (9). С. 955–966. <https://doi.org/10.17117/na.2015.07.955>
19. Пат. № 2104033, Российская Федерация, МПК А 61 К 47/22. Способ снижения токсичности лекарственных средств, металлов, органических и неорганических соединений и других токсинов / В.В. Щербинин, Е.А. Чернышев; № 97103219/15; заявл. 11.03.1997; опубл. 10.02.1998.
20. Пат. № 2233286, Российская Федерация, МПК А 61 К 31/28, С 07 F 7/30. Биохимические комплексы германия с высокой терапевтической активностью и широким спектром использования / Е.В. Соловьев, В.В. Щербинин, Е.А. Чернышев, М.В. Котрелев, К.В. Павлов, Н.Ю. Хромова [и др.]; № 2001107254/15; заявл. 17.08.1998; опубл. 20.01.2003.
21. Пат. № 2333912, Российская Федерация, МПК С 07 F 7/30. Соли 1-гидрокси-герматрана с окси-, кето- и дикарбоновыми кислотами / А.Д. Исаев, С.А. Башкирова; патентообладатель ООО «Сафрон»; № 2006146303/04; заявл. 26.12.2006; опубл. 20.09.2008.
22. Гар Т.К., Хромова Н.Ю., Сони́на Н.В., Никитин В.С., Полякова М.В., Миронов В.Ф. Синтез, химические свойства и их спектры Ge-замещен-

ных герматранов // Журнал общей химии. 1979. Т. 49. N 7. С. 1516–1522.

23. Qinglan X., Jitao W., Hua L., Honggen H., Xinkan Y. Studies on metal-atranes and synthesis and molecular structure of 1-acyloxy-2,8,9-trioxa-5-aza-1-germatricyclo[3.3.3.0^{1,5}]undecanes // *Guangdong Weiliang Yuansu Kexue*. 1998. Vol. 5. Issue 2. P. 26–31 // *Chem. Abs.*, 130, 9909

24. Baryshok V.P., Le N.T.G., Voronkov M.G. 1-Acyloxygermatranes // *Russian Journal of General Chemistry*. 2013. Т. 83. N 8. P. 1501–1502. <https://doi.org/10.1134/S1070363213080045>

25. Baryshok V.P., Le N.T.Z. Reaction of 1-germatranol hydrate with carboxylic acids // *Russian Journal of General Chemistry*. 2015. Vol. 85. N 12. P. 2748–2753. <https://doi.org/10.1134/S1070363215120154>

26. Воронков М.Г., Кочина Т.А., Елисеев Г.С. Герматранильные производные биологически активных карбоновых кислот // *Физика и химия стекла*. 2012. Т. 38. N S6. С. 921–925.

27. Барышок В.П., Ле Н.Т.З. Взаимодействие гидрата 1-герматранола с D-винной кислотой в воде // *Бутлеровские сообщения*. 2015. Т. 42. N 4.

С. 100–103.

28. Лабораторная техника органической химии / под ред. Б. Кейла; пер. с чешского В.А. Вавера [и др.]. М.: Мир. 1966. 753 с.

29. Воронков М.Г., Овчинникова З.А., Барышок В.П. Синтез 1-герматранола и его С-замещенных // *Известия Академии наук СССР. Серия химическая*. 1987. Т. 4. С. 880–882.

30. Тананаев И.В., Шпирт М.Я. Химия германия. М.: Химия, 1967. 452 с.

31. Авдеевская К.А., Тананаев И.В., Миронова В.С. Диоксалатогерманаты щелочных металлов и аммония // *Журнал неорганической химии*. 1968. Т. 13. N 5. С. 1313–1316.

32. Назаренко В.А. Аналитическая химия германия. М.: Наука, 1973. 264 с.

33. Миронов В.Ф. Термические превращения герматранола. Бис(герматранил)оксан // *Металлоорганическая химия*. 1993. Т. 6. N 2. С. 243–246.

34. Воронков М.Г., Овчинникова З.А., Романенко Л.С., Барышок В.П. Метод синтеза 1-органоксигерматранов // *Металлоорганическая химия*. 1989. Т. 2. N 6. С. 1308–1310.

REFERENCES

1. Lukevics E, Ignatovich L. In: Rappoport Z. (ed.) *The Chemistry of Organic Germanium, Tin and Lead Compounds*. Chichester: John Wiley and Sons, Ltd. 2002. Vol. 2. P. 1653–1678.

2. Lukevics E, Ignatovich L. The Use of Metals in Medicine. In: M. Gielen M, Tiekink ERT. (eds.) *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents*: Chichester, England: J. Wiley. 2005. Vol. 15. P. 279–295.

3. Lukevics EYa, Gar TK, Ignatovich LM, Mironov VF. *Biological activity of germanium compounds*. Riga: Zinatne; 1990. 191 p. (In Russian)

4. Ignatenko MA. Antitumor activity of silicon- and germanium-organic compounds (review). *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal* = Chemical and Pharmaceutical Journal. 1987;21(4):402–408. (In Russian)

5. Menchikov LG., Ignatenko MA. Biological Activity of Organogerman Compounds (review). *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal* = Chemical and Pharmaceutical Journal. 2012;46(11):3–6. (In Russian) <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2012-46-11-3-6>

6. Ye L, Zhang W. Synthesis and biological activity of 3-(2,8,9-trioxa-aza-1-germatricyclo-[3.3.3.0]undecane-1-yl)-hydroxycinnamic acid. *Medicinal Chemistry*. 2007;3(5):466–468. <https://doi.org/10.2174/157340607781745465>

7. Ye L, Luo Y, Peng X, Zhou Y, Ou X. Synthesis and biological activity of 3-(2,8,9-trioxa-aza-1-germatricyclo[3.3.3.0]undecane-1-yl)-caffeic acid. *Medicinal Chemistry*. 2009;5:382–384.

8. Ye L, Ou X, Peng X, Luo Y. Synthesis of 3-(2,8,9-trioxa-5-aza-1-germatricyclo-[3.3.3.0]undecane-1-yl)-3-(4-hydroxyl-3-methoxyphenyl)-propionic acid and its inhibitory effect on the cervical tumor U14 in vitro and in vivo. *Medicinal Chemistry*. 2012;8(595–598).

9. Lukevics E, Ignatovich L, Khokhlova L, Belyakov S. Synthesis, Structure, and Toxicity of Arylgermatranes. *Khimiya geterotsiklicheskich soedinenii* = Chemistry of Heterocyclic Compounds. 1997;2:275–277. (In Russian)

10. Lukevics EYa, Hermene SK, Trushule MA, Mironov VF, Gar TK, Dombrowa OA, et al. Synthesis and neurotropic activity of germatranylmethamides and –imides. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal* = Chemical and Pharmaceutical Journal. 1988;2:163–167 (in Russian).

11. Bashkirova SA, Doskoch YaE, Bessonov AE, Berezovskaya IV, Kalmykova EA. The effects of a combined application of biologically active substance of organic compound germanium and non-steroid antiinflammatory drugs. *Spravochnik vracha obshchei praktiki* = General practitioner handbook. 2009;9:61–65. (In Russian)

12. Mironov VF, Chernyshev EA, Malochkin VV, Martynov AI, Kulikov GA. *Compound stimulating during experiment synthesis of immunoglobulins*. Patent RF, no. 2108096;1995. (In Russian)

13. Isaev AD, Bashkirova SA, Pavlov KV. *Using 1-hydroxygermatrane monohydrate as actoprotecting agent and stimulating tissue respiration in body and method for its preparing*. Patent RF, no. 2272624; 2005. (In Russian)

14. Shkurenko SI, Kuplenaya VA, Shcherbinin VV, Krylov AL, Belyakov AV, Galichev KV, et al. *Dental floss*. Patent RF, no. 2236196; 2003. (In Russian)

15. Baryshok VP, Abzaeva KA, Rasulov MM, Podgorbunskaya TA. 1-Germatranol hydrate as an activator of tryptophanyl-tRNA synthetase. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2018;8(1):153–158. (In Russian)

<https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-1-153-158>

16. Voronkov MG, Levit TKh, Kirillov AF, Baryshok VP, Koz'mik RA, Skurtul AM, et al. Action of germatranol on frost resistance of vine. *Doklady Akademii Nauk SSSR* = Doklady of the USSR Academy of Sciences. 1988;299(2):509–512. (In Russian)

17. Shigarova AM, Grabelnykh OI, Baryshok VP, Borovskii GB. Possible mechanisms of the influence of germatranes on the resistance of wheat seedlings. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2016;52(4):410–415. <https://doi.org/10.1134/S0003683816040153>

18. Zhigacheva IV, Binyukov VI, Mil EM, Genozova IP, Rasulov MM. Influence of organogermanium compound on the functional state of mitochondria of plant and animal origin. *Nauchnyi al'manakh* = Science almanac. 2015;7:955–966. (In Russian) <https://doi.org/10.17117/na.2015.07.955>

19. Shcherbinin VV, Chernyshev EA. *Method of decrease of toxicity of medicinal agents, metals, organic and inorganic compounds and other toxins*. Patent RF, no. 2104033; 1997. (In Russian)

20. Solov'ev EV, Shcherbinin VV, Chernyshev EA, Kotlev MV, Pavlov KV, Khromova NYu, et al. *Germanium biochemical complexes with high therapeutic activity and broad spectrum applying*. Patent RF, no. 2233286; 1998. (In Russian)

21. Isaev AD, Bashkurova SA. *Salts of 1-hydroxygermatrane with oxy-, keto- and dicarbonic acids*. Patent RF, no. 2333912; 2006. (In Russian)

22. Gar TK, Khromova NYu, Sonina NV, Nikitin VS, Polyakova MV, Mironov VF. Synthesis, chemical properties and the spectra of Ge-substituted germatranes. *Zhurnal obshchey khimii* = Journal of General Chemistry. 1979;49(7):1516–1522. (In Russian)

23. Qinglan X, Jitao W, Hua L, Honggen H, Xinkan Y. Studies on metal-atranes and synthesis and molecular structure of 1-acyloxy-2,8,9-trioxa-5-aza-1-germatricycle[3.3.3.0.1,5]undecanes. *Guangdong Weiliang Yuansu Kexue*. 1998;5(2):26–31 // Chem. Abs., 130, 9909 (1999).

24. Baryshok VP, Le NTG, Voronkov MG. 1-Acyloxygermatranes. *Russian Journal of General Chem-*

istry. 2013;83(8):1501–1502. <https://doi.org/10.1134/S1070363213080045>

25. Baryshok VP, Le NTZ. Reaction of 1-germatranol hydrate with carboxylic acids. *Russian Journal of General Chemistry*. 2015;85(12):2748–2753. <https://doi.org/10.1134/S1070363215120154>

26. Voronkov MG, Kochina TA, Eliseev GS. Germatranyl biologically active derivatives of carboxylic acids. *Fizika i khimiya stekla* = Glass Physics and Chemistry. 2012;38(S6):921–925. (In Russian)

27. Baryshok VP, Le NTG. Interaction of 1-germatranol hydrate with D-tartaric acid in water medium. *Butlerovskie soobshcheniya* = Butlerov Communications. 2015;42(4):100–103. (In Russian)

28. Keil B. (ed.) *Laboratorní technika organické chemie*. Praha: Nakladatelství Československé Akademie Ved, 1963. (Russ. ed.: Keil B. (ed.) *Laboratornaya tekhnika organicheskoi khimii*. Moscow: Mir; 1966, 753 p.)

29. Voronkov MG, Ovchinnikova ZA, Baryshok VP. The synthesis of 1-germatranol and its C-substitutes. *Izvestiya Akademii nauk SSSR. Seriya khimicheskaya* = Bulletin of the Academy of Sciences of the SSSR. Division of Chemical Sciences. 1987;4:880–882. (In Russian)

30. Tananaev IV, Shpirt MYa. *Chemistry of Germanium*. Moscow: Khimiya; 1967. 452 p. (In Russian)

31. Avduevskaya KA, Tananaev IV, Mironova VS. Dioxalatogermanates of alkali metals and ammonium. *Zhurnal neorganicheskoi khimii* = Journal of Inorganic Chemistry. 1968;13(5):1313–1316. (In Russian)

32. Nazarenko VA. *Analytical chemistry of Germanium*. Moscow: Nauka; 1973. 264 p. (In Russian)

33. Mironov VF. Thermal transformations of germatranol. Bis(germatranyl)oxane. *Metalloorganicheskaya khimiya* = Organometallic chemistry. 1993;6(2):243–246. (In Russian)

34. Voronkov MG, Ovchinnikova ZA, Romanenko LS, Baryshok VP. Method of synthesis of 1-organoxygermatranes. *Metalloorganicheskaya khimiya* = Organometallic chemistry. 1989;2(6): 1308–1310 (In Russian)

Критерии авторства

Барышок В.П., Ле Н.Т.З. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Барышок В.П., Ле Н.Т.З. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Contribution

Viktor P. Baryshok, Le Nhat Thuy Giang carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Viktor P. Baryshok, Le Nhat Thuy Giang have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Барышок Виктор Петрович,
д.х.н., профессор, профессор кафедры
химических технологий,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, Российская Федерация,
г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
✉e-mail: baryvik@yandex.ru

Ле Ньят Тхюи Занг,
к.х.н., доцент, химик-исследователь,
Институт химии Вьетнамской академии
наук и технологий,
Социалистическая Республика Вьетнам,
г. Ханой, ул. Хоанг Кук Вьет, 18,
e-mail: nhatgiang99h_05@yahoo.com

AUTHORS' INDEX

Viktor P. Baryshok,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Irkutsk National Research Technical University 83,
Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
✉e-mail: baryvik@yandex.ru

Le Nhat Thuy Giang,
Ph.D. (Chemistry), Associate Professor,
Researcher,
Institute of Chemistry of Vietnam Academy
of Science and Technology,
18, Hoang Kuok Viet St., Hanoi, Vietnam,
e-mail: nhatgiang99h_05@yahoo.com

Оригинальная статья / Original article

УДК 669:620.19

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-600-611>

Влияние защитного покрытия на основе органического связующего на коррозионную устойчивость стали

© А.А. Яковлева, Е.А. Анциферов, Е.А. Гусева, С.В. Садловский

Иркутский национальный исследовательский технический университет, г. Иркутск, Российская Федерация

Резюме: Разработка методов и приемов защиты стальной поверхности конструкций, находящихся в агрессивной среде, например, в морской воде, относится к важным задачам материаловедения. Использование красок и эмалей на основе органических связующих в качестве защитных покрытий является одним из направлений при решении указанных задач. Перспективность этого направления обусловлена возможностями создания композиций за счет варьирования физико-химических свойств и коллоидно-химических качеств компонентов – пленкообразователей, связующих, пигментов и наполнителей. При исследовании свойств защитных покрытий на основе акрилового латекса и зависимости их от антикоррозионных добавок и пигментов использованы методы коррозионных испытаний, приведенные в ряде государственных стандартов. Программа коррозионных испытаний включала использование прибора для рентгеноспектрального анализа Shimadzu EDX-800HS, сушильный шкаф ШС 80-01 СПУ, аналитические весы серии HR-150AZ с точностью взвешивания до $\pm 0,0001$ г и ряд других современных приборов. Показано, что использование акрилового латекса на основе мономеров сложного эфира бутилакрилата и стирола в качестве защитного покрытия неэффективно в случае, когда металлическая поверхность подвержена агрессивным воздействиям. В работе подобраны оптимальные по химическому составу, дисперсности и количественным соотношениям композиции, позволяющие существенно повысить защитную способность антикоррозионных покрытий. Добавление в состав акриловой эмали «Ржавостоп» пигмента на основе фосфата цинка и нитрита натрия в качестве антикоррозионной добавки заметно повышает защитные свойства композиции. Покрытые ею образцы стали Ст3 не проявляют признаков коррозии до 2–3 дней в модельных растворах, имитирующих морскую воду. Обогащение акриловой эмали «Ржавостоп» черным пигментом, в котором не менее 95 % составляет 2-этилгексильный эфир 3-ди(2-гидроксиэтиламино)пропионовой кислоты, многократно усиливает эффект сцепления пленкообразователя с металлической поверхностью. Добавление тетраоксихромата цинка дополняет полученный эффект и не дает коррозии распространяться по поверхности. Признаки коррозии на образцах стали Ст3 в рассматриваемых условиях не проявляются до 7–8 дней.

Ключевые слова: сталь, механизм коррозии, состав антикоррозионного покрытия, пленкообразователь, акриловый латекс, пигмент, наполнитель

Информация о статье: Дата поступления 20 мая 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Яковлева А.А., Анциферов Е.А., Гусева Е.А., Садловский С.В. Влияние защитного покрытия на основе органического связующего на коррозионную устойчивость стали // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 600–611. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-600-611>

Effect of an organic binder protective coating on the corrosion resistance of steel

Ariadna A. Yakovleva, Evgenii A. Antsiferov, Elena A. Guseva, Sergei V. Sadlovsky

Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: The development of methods and techniques for protecting the surfaces of steel structure exposed to aggressive environments, e.g. sea water, presents itself as an urgent task in material science. One of the directions in solving these problems involves the application of paints and enamels based on organic binders.

The promising aspects of this direction are due to the possibilities of creating compositions by varying the physicochemical properties and colloidal chemical qualities of the components – film formers, binders, pigments and fillers. In this study, properties of protective coatings based on acrylic latex are examined together with their dependency on anti-corrosion additives and pigments using the corrosion test methods described in a number of state standards. In the corrosion test programme, an EDX-800HS X-ray spectrometer (Shimadzu, Japan), ShS 80-01 SPU oven and an HR-150AZ analytical balance with weighing accuracy up to ± 0.0001 g were applied in conjunction with a number of other modern instruments. The application of acrylic latex based on butyl acrylate ester monomers and styrene as a protective coating was proved to be ineffective in the case of metal surfaces subjected to aggressive action. The work provides the compositions optimal in terms of chemical formula, dispersion and quantitative ratios and possible to significantly increase the protective ability of anticorrosion coatings. The addition of a pigment based on zinc phosphate and sodium nitrite as an anti-corrosion additive to the composition of the Rzhavostop acrylic enamel significantly increases the protective properties of the composition. The enamel-coated samples of St3 steel exhibit no signs of corrosion for up to 2–3 days of maintaining in model solutions of sea water. The enrichment of Rzhavostop acrylic enamel with black pigment with at least 95 % of 3-di(2-hydroxyethyl-amino) propionic acid 2-ethylhexyl ester greatly enhances the effect of the film former adhering to the metal surface. The addition of zinc tetraoxochromate complements the effect and prevents corrosion from spreading over the surface. In 7–8 days, no signs of corrosion were detected in St3 steel samples of under the considered conditions.

Keywords: steel, corrosion mechanism, composition of anti-corrosion coating, film former, acrylic latex, pigment, filler

Information about the article: Received May 20, 2019; accepted for publication December 5, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Yakovleva AA, Antsiferov EA, Guseva EA, Sadlovsky SV. Effect of an organic binder protective coating on the corrosion resistance of steel. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):600–611. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-600-611>

ВВЕДЕНИЕ

Коррозионные процессы являются предметом активного исследования. Это неудивительно, поскольку ущерб от деградации металлических изделий очень велик. Выявление закономерностей и механизмов протекания коррозии и установление каких-либо лимитирующих факторов являются важнейшим направлением современного материаловедения.

Известно, что коррозия как самопроизвольный процесс разрушения металла в результате его физико-химического взаимодействия со средой является процессом неизбежным^{1,2} [1, 2]. Решение проблем, связанных, например, с утратой механической прочности металлического изделия, возможно на основе анализа сложной системы «металл – окружающая среда» с учетом специфики взаимодействий в этой системе, а также рассмотрения механизма поверхностных процессов во всей их полноте. Представляется, что одно из актуальных направ-

лений в решении проблем коррозии связано с защитой поверхности металла какими-либо покрытиями. Антикоррозионные покрытия могут замедлить развитие разрушительного процесса, позволить отодвинуть сроки ремонта, реконструкции или полной замены металлических изделий. В настоящее время существует огромное количество антикоррозионных покрытий с разнообразными свойствами и характеристиками, а также способами их нанесения³ [3–13].

Для наших исследований интересными представляются покрытия из композитов (красок и эмалей), которые перекрывают доступ кислорода к металлической поверхности и тем самым препятствуют протеканию на них окислительных процессов [14–16]. Конкретизация цели связана с оценкой влияния защитного покрытия на основе органического связующего на коррозионную устойчивость стали Ст3.

Цель работы – провести испытания защитных покрытий на основе органических связующих на образцах стали Ст3 и оценить их коррозионную устойчивость.

¹ Жук Н.П. Курс теории коррозии и защиты металлов: учеб. пособие для студентов металлургических вузов и факультетов. М.: «Альянс», 2006. 472 с.

² Ангел Р. Коррозия и защита от коррозии: учеб. пособие. 2-е изд. / пер. с англ. А.Д. Калашникова. Долгопрудный: Интеллект, 2014. 334 с.

³ Ермилов П.И., Индейкин Е.А., Толмачев И.А. Пигменты и пигментированные лакокрасочные материалы: учеб. пособие для вузов. Л.: Химия, 1987. 200 с.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Стали данного типа относятся к наиболее распространенным в машиностроении, поскольку имеют достаточно высокую механическую прочность при доступности и экономичности. Без стали марки Ст3 в наше время невозможно возводить наземные и подземные коммуникации, строить здания и сооружения различного назначения, выпускать агрегаты, станки, транспортные средства и пр. По ГОСТ 380-2005 в стали данной марки присутствуют следующие примеси, % по массе, не более: хром – 0,30; никель – 0,30; медь – 0,30; сера – 0,005; фосфор – 0,04; азот – 0,10. Именно такой состав имеют используемые нами образцы. Идентификация и установление их химического состава были проведены методом РФА на приборе Shimadzu EDX-800HS (табл. 1).

Таблица 1
Результаты рентгенофлуоресцентного анализа

Table 1
Results of X-ray fluorescence analysis

Компонент	Концентрация, % масс.
Fe	98,48034
Mn	0,47359
Si	0,40000
Cu	0,30000
C	0,2–0,3
Cr	0,09226
Ni	0,07321
P	0,04300
S	0,03724

Для защиты стальной поверхности использованы покрытия, предоставленные компанией ООО «Капитель-Иркутск». В данном сообщении приведены результаты начального этапа амбициозного проекта предприятия по созданию покрытий для защиты корпусов морских судов. Очевидно, что осуществление такого проекта невозможно без учета множества факторов, определяющих ситуацию. Однако разработка модели для коррозионных испытаний, в которой были бы воссозданы все условия на поверхности корпуса корабля, пребывающего в морской воде, является чрезвычайно сложной задачей. Исследования коррозионной устойчивости стали Ст3 в средах, по составу близких морской воде, проведены согласно общепринятым подходам, представленным в ГОСТ 9.908-85 «Единая система защиты от коррозии и старения. Металлы и сплавы. Методы определения показателей коррозии и коррозионной стойкости (с изменениями)» и ГОСТ 9.905-2007 «Единая система защиты от коррозии и старения. Методы коррозионных испытаний. Общие требования». На данном этапе мы намеренно обошлись без учета реальных условий, возни-

кающих, например, при движении корабля и т.п., поскольку это многократно усложняет задачу оценки определяющих факторов⁴ [17].

Известно, что горьковато-солончатый вкус морской воды определяют различные соли, преимущественно натрия и магния, в целом же в воде встречается около 32 химических элементов, включая растворенные газы. Вдали от берегов в разных местах океанов может изменяться общее количество веществ, находящихся в растворе в морской воде, но состав их остается практически неизменным (табл. 2)⁵ [18].

Таблица 2
Основные составляющие океанской воды

Table 2
The main components of ocean water

Катионы	Содержание, % масс.	Анионы	Содержание, % масс.
Na ⁺	30,60	Cl ⁻	55,02
Mg ²⁺	3,68	SO ₄ ²⁻	7,71
Ca ²⁺	1,17	Br ⁻	0,19
K ⁺	1,13	HCO ₃ ⁻	0,41
Sr ²⁺	0,02	H ₃ BO ₃ ⁻	0,07
Сумма	36,60	Сумма	63,40

При выборе модельной среды (по составу и концентрации рабочего раствора) особенно тщательно была проанализирована современная информация по солености бассейнов, примыкающих к территории России, – Черного и Японского морей. Черное море характеризуется высоким поступлением пресных вод из впадающих в него рек, а также преобладанием осадков над испарениями. Это сказывается на концентрации соли в воде, делая ее относительно низкой и равной в среднем 18 ‰. В акватории Японского моря вариации солености выше и заключены в пределах 34,050–34,075 ‰. С учетом того, что соленость воды в других морях колеблется примерно от 8 до 42 ‰, оказывается, что соленость поверхностной воды внутренних морей из-за влияния материкового стока ниже океанской. Средняя же соленость на поверхности Мирового океана оценивается равной 34,7 ‰ [9].

Приведенные факты по солености морской воды подчеркивают ее химическую агрессивность к стальным конструкциям кораблей. Окрашивание стен и днищ морских судов обеспечивает достаточно надежную защиту поверхности от коррозии, однако, использование обычных лакокрасочных покрытий дает срав-

⁴ Сидняев Н.И. Теория планирования эксперимента и анализ статистических данных: учеб. пособие для магистров; 2-е изд., перераб. и доп. М.: Юрайт, 2017. 495 с.

⁵ Справочник по гидрохимии / под ред. А.М. Никанорова. Л.: Гидрометеиздат, 1989. 390 с.

нительно невысокую механическую прочность и недостаточную стойкость в водной среде. В настоящее время установлено, что применение лакокрасочных покрытий целесообразно, когда срок эксплуатации не превышает 10 лет, а скорость коррозии металла не превышает 0,05 мм/год [18]. Эффективность лакокрасочных покрытий может быть существенно повышена за счет создания композиций, где в базовую основу вводятся новые оригинальные добавки, иногда специально для этих целей синтезируемые^{6, 7, 8} [19, 20].

Как известно, защитные действия лакокрасочного покрытия заключаются в создании на поверхности металлического изделия сплошной пленки, которая препятствует агрессивному воздействию окружающей среды и предохраняет металл от разрушения⁶. Высокие качества пленки и хорошая адгезия обеспечиваются равномерным распределением покрытия по поверхности металла, а также упорядоченным расположением частиц наполнителя и пигмента в пленке лака или краски.

Потенциальные возможности повышения качества защитного покрытия связаны с составом покрытия в целом, а также со свойствами отдельных составляющих. Например, для твердых фракций (пигментов и наполнителей) важны коллоидно-химические особенности, а для среды (пластификаторов и пленкообразователей) интересные и важные результаты могут быть получены при добавлении каких-либо новых веществ, например, новых добавок и связующих [19, 20]. Обозначенные направления развиваются зачастую самостоятельно, но большую практическую значимость имеет направленное модифицирование серийных лакокрасочных материалов, когда в качестве добавок используются различные поверхностно-активные вещества, уже выпускаемые промышленностью, и/или ингибиторы коррозии – хроматы, фосфаты металлов, азотсодержащие и силансодержащие соединения. Улучшение качества модифицированных покрытий обеспечивается образованием на металлической поверхности комплексов, имеющих высокие адгезионные свойства.

В качестве среды, имитирующей морскую воду, использовали водопроводную воду и растворы неорганических кислот и солей, в частности, 3 %-й раствор хлорида натрия и 0,1 М

раствор соляной кислоты. Рабочие растворы готовили классическим способом⁹, использовали аптечный раствор NaCl и дистиллированную воду.

Форма и размеры подготовленных образцов были выбраны в соответствии с ГОСТ Р 9.907-2007: форма была прямоугольной и имела размеры 12·20 см² 20×12 мм². Толщина образцов составляла до 5 мм. Физическую (общую) площадь образцов определяли с помощью штангенциркуля, она составляла около 7 см².

Перед испытаниями образцов без покрытий (серия контрольных испытаний) поверхность образцов тщательно зачищали наждачной бумагой с крупными, затем мелкими зернами и полировали специальной полировальной тканью с помощью оксида хрома до зеркального блеска. После полировки образцы подвергали «морению» – на 3–5 с опускали в 5%-й раствор азотной кислоты, ополаскивали спиртом или ацетоном до полного обезвоживания.

Методика нанесения покрытий заключалась в том, что на поверхность образцов после обезжиривания небольшим валиком наносили покрытие. После его высыхания проводили повторное нанесение, стараясь устранить поры и другие изъяны пленки со всех сторон образца.

Испытания коррозионной устойчивости образцов проводили в соответствии с ранее указанными стандартами, а также ГОСТ Р 9.907-2007 «Единая система защиты от коррозии и старения. Металлы, сплавы, покрытия металлические. Методы удаления продуктов коррозии после коррозионных испытаний» и ГОСТ 9.506-87 «Единая система защиты от коррозии и старения. Ингибиторы коррозии металлов в водно-нефтяных средах. Методы определения защитной способности».

Подготовленные образцы размещали в стакане с коррозионной средой в наклонном положении, обеспечивая отношение объема жидкости (коррозионной среды) к площади поверхности образца соответствующим реальным условиям эксплуатации (обычно это соотношение составляло не менее 10 мл/см²). В работе использовали специальное приспособление для крепления с минимальной площадью контакта держателя с образцом.

После окончания эксперимента образцы доставали, промывали под проточной водой, сушили в сушильном шкафу ШС-80-01 СПУ, удаляли продукты коррозии и остатки защитных покрытий с поверхности и проводили взвешивание.

⁹ Дударева Г.Н. Анциферов Е.А., Бегунова Л.А., Дударев В.И. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа: учеб. пособие. Иркутск: Изд-во ИРНИТУ, 2018. 196 с.

⁶ Яковлев А.Д., Химия и технология лакокрасочных покрытий: учеб. пособие для вузов. Л.: Химия, 1981. 352 с.

⁷ Шукин Е.Д., Перцов А.В., Амелина Е.А. Коллоидная химия: учебник для бакалавров. 7-е изд., испр. и доп. М.: Юрайт, 2016. 444 с.

⁸ Фридрихсберг Д.А. Курс коллоидной химии: учебник; 4-е изд., испр. и доп. СПб: Лань. 2010. 410 с.

вание. Продолжительность экспонирования составляла: для незащищенных образцов – от 0,5 до 24 ч, для образцов с покрытиями – до 8 суток. Длительность испытаний отсчитывали с момента погружения образцов в испытываемую среду. Опыты проводили при комнатной температуре, считая условия изотермическими (температурные колебания были исключены).

В ходе определения коррозионной устойчивости образцов отмечали изменения внешнего вида образца, время, прошедшее до появления первого очага коррозии, количество и распределение коррозионных дефектов, фиксировали изменение массы и размеров стальных пластин. Взвешивание образцов проводили на аналитических весах серии HR-150AZ с точностью $\pm 0,0002$.

Для оценки защитных качеств покрытий были проведены испытания с исходными образцами стали без покрытий. При проведении параллельных опытов использовали по 2–3 испытуемых образца, в качестве контрольного во всех сериях использован один образец.

Для количественной оценки скорости коррозии использовали удельный показатель изменения массы, K , определяемый как¹

$$K = \Delta m / (S \cdot T),$$

где $\Delta m = m_1 - m_2$; m_1 и m_2 – масса образцов до и после испытаний соответственно, г; S – площадь образца, m^2 ; T – продолжительность коррозионных испытаний, ч.

Анализируемые далее данные по скорости коррозии представляют среднеарифметические значения из 2–3 параллельных опытов. Немногочисленные, но существенные откло-

нения от усредненных значений при определении изменения масс образцов относили к ошибкам экспериментов (некачественное удаление поверхностных пленок) и не использовали.

Защитную способность Z покрытия определяли по формуле

$$Z = [(K_{m_0} - K_{m_1}) / K_{m_0}] \cdot 100 \%,$$

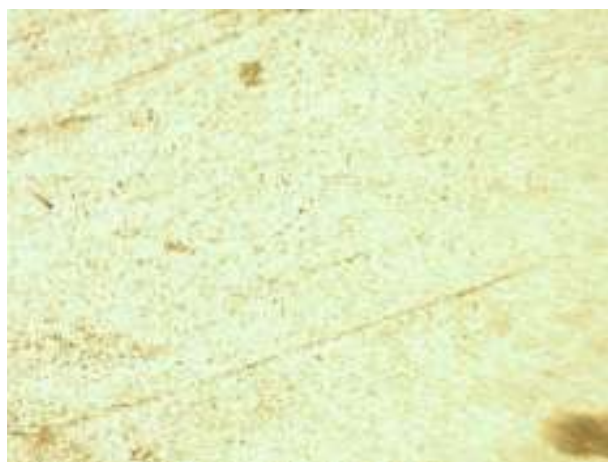
где K_{m_0} – скорость коррозии без покрытия; K_{m_1} – скорость коррозии с защитным покрытием.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

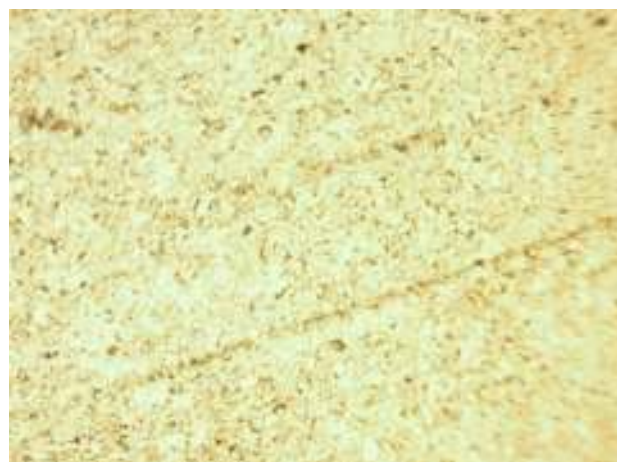
На рис. 1 представлены фотографии поверхности одного из исходных образцов, подвергнутых шлифованию и полированию, т.е. подготовленных к нанесению покрытия, при разной степени увеличения.

Для микроанализа металлической поверхности использовали микроскоп МИМ-7. Фотографии, представленные на рис. 1, позволяют выявить исходную неоднородность рельефа. Присутствие поверхностных выступов, впадин и иных дефектов структуры, с одной стороны, свидетельствует об условиях, благоприятных для хорошей адгезии наносимого защитного покрытия на основе органического связующего. Однако, с другой стороны, эта картина и настораживает, поскольку неоднородность энергетического поля будет проявлять себя на микроуровне в сложных механизмах формирования двойного электрического (ионного) слоя.

Для примера на рис. 2 представлен характер коррозии образцов стали Ст3 без защитных покрытий в воде и растворах хлорида натрия и соляной кислоты.



a



b

Рис. 1. Микрофотографии образца стали Ст3 при 100-кратном (а) и 200-кратном (б) увеличении

Fig. 1. Micrographs of steel samples at different magnifications

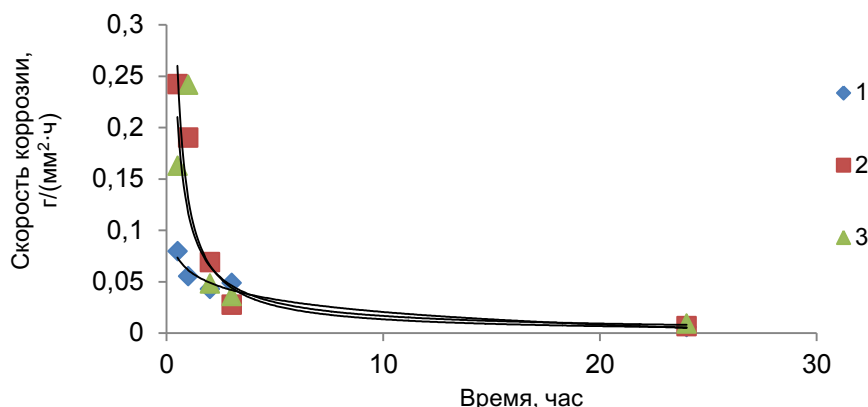


Рис. 2. Коррозия исходных образцов стали Ст3 в водопроводной воде (1), растворах хлористого натрия (2) и соляной кислоты (3)

Fig. 2. Corrosion of initial steel samples St3 in tap water (1), solutions of sodium chloride (2) and hydrochloric acid (3)

Как видно из графиков, представленных на рис. 2, коррозия исходных образцов стали Ст3 без защитного покрытия в разных средах происходит достаточно стремительно в начальный период контакта со средой, причем намного активнее в растворах. Далее скорость процесса вполне логично начинает снижаться и, наконец, после суточного выдерживания образцов становится очевидно, что характер среды практически не влияет на скорость коррозии незащищенного образца стали. Поверхность металла пассивируется и покрывается достаточно прочной пленкой, доставка растворителя через которую в стационарных условиях диффузно ограничена¹ [1].

Следующие серии опытов связаны с нанесением на образцы стали различных покрытий.

1. Рассмотрим результаты испытаний с образцами, которые были покрыты акриловой эмалью «Ржавостоп» с черным пигментом.

В составе данного защитного композита в

качестве действующего вещества присутствует 2-этилгексильный эфир 3-ди(2-гидроксиэтиламино) пропионовой кислоты. Это соединение за счет донорно-акцепторной связи образует комплексное соединение с оксидом железа, что в итоге ограничивает развитие коррозии (рис. 4).

Кроме того, в состав защитного композита входит тетраоксихромат цинка, который также не дает коррозии распространяться. На микрофотографии тетраоксихромат цинка четко виден в виде желтых пятнышек, равномерно распределенных по поверхности образца (см. рис. 4). Способность этого соединения блокировать коррозию связана, очевидно, с несколькими факторами: с входящим в состав соли ионом цинка (близким по природе ионам металла), с невысокой растворимостью в композите, обеспечивающей присутствие соли не в растворенном виде, а в виде дисперсных включений, размеры которых удачно коррелируются со структурой подложки.

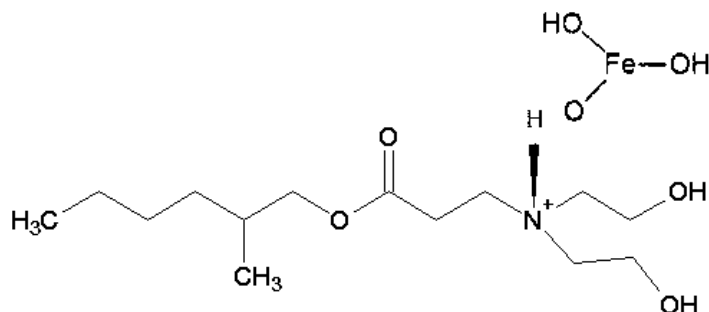


Рис. 3. Механизм комплексообразования 2-этилгексильного эфира 3-ди(2-гидроксиэтиламино) пропионовой кислоты

Fig. 3. Mechanism of 2-ethylhexyl ester of 3-di (2-hydroxyethylamino) propionic acid complexation

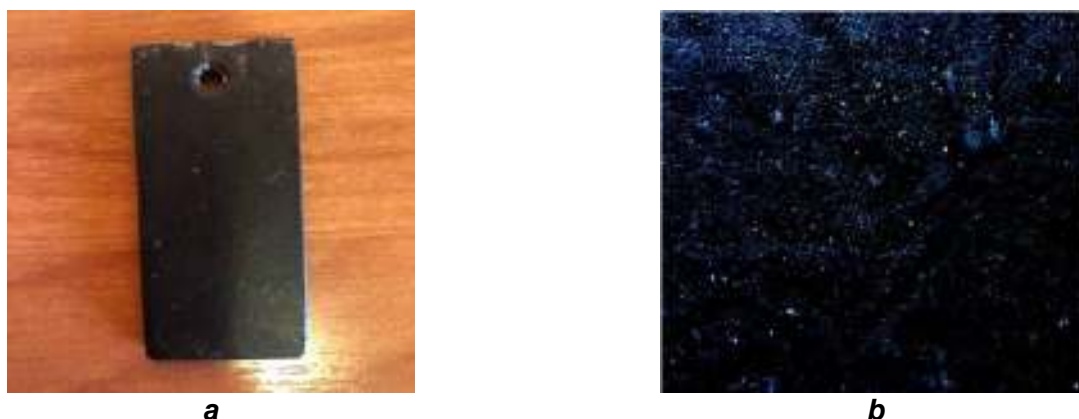


Рис. 4. Образец с нанесенной на поверхность эмалью «Ржавостоп» с черным пигментом (а); микрофотография 1000-кратного увеличения поверхности, время экспонирования – 24 ч (b)

Fig. 4. "Rzhavostop" enameled sample (with black pigment) – a; surface micrograph after 24-hour exposure (1000 times magnification) – b

На образце, представленном на рис. 4, отчетливо видна хорошая сцепляемость покрытия с поверхностью, что говорит о высокой адгезионной способности акрилового латекса.

На рис. 5 представлены результаты инфракрасного спектрофотометрирования, проведенные для определения состава используемого покрытия и примесей в нем.

На диаграмме видно (см. рис. 5), что в левой части находится вода, так как молекула гидрофоба притягивает на себя молекулы воды, а в

правой – расположены спектры, которые характеризуют молекулу 2-этилгексилового эфира 3-ди(2-гидроксиэтиламино) пропионовой кислоты.

2. На рис. 6 показан образец, который был покрыт композицией «Ржавостоп» с пигментом на основе фосфата цинка белого цвета, и микрофотография его вида при 1000-кратном увеличении после получасового выдерживания в солевом растворе. В этой эмали за коррозионную защиту «отвечает» нитрит натрия как наполнитель.

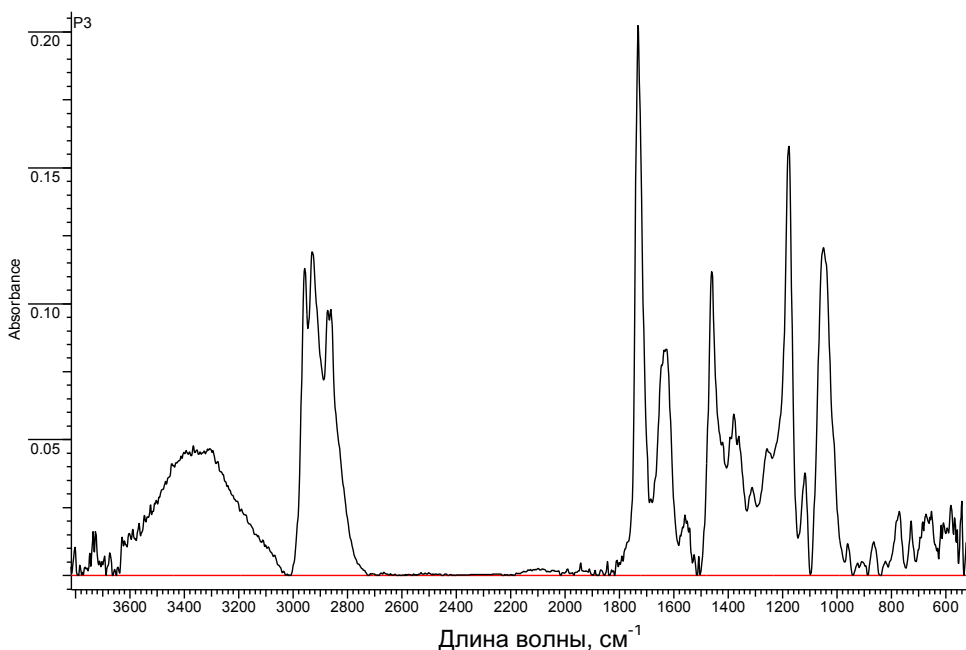


Рис. 5. Инфракрасный спектр 2-этилгексилового эфира 3-ди(2-гидроксиэтиламино) пропионовой кислоты

Fig. 5. Infrared spectrum of 2-ethylhexyl ester of 3-di (2-hydroxyethylamino) propionic acid

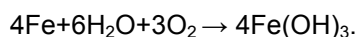


Рис. 6. Образец с нанесенной на поверхность эмалью «Ржавостоп» с белым пигментом (а); микрофотография поверхности образца при 1000-кратном увеличении, время экспонирования – 30 мин (b)

Fig. 6. "Rzhavostop" enameled sample (with white pigment) – a;
surface micrograph after 30 minutes exposure (1000 times magnification) – b

Пятна оранжевого цвета свидетельствуют, что пошел процесс коррозии, поскольку эмаль не совсем хорошо сцепилась с поверхностью или в каких-то местах защитная пленка оказалась неоднородной и имела дефекты.

3. Интересным оказывается сравнение с образцами, на которые нанесено покрытие из обычной водно-дисперсионной краски ВД-КИ-03-06 для водяных радиаторов. В таком покрытии кроме нитрита натрия отсутствуют какие-либо антикоррозионные добавки, и защита металлической поверхности происходит за счет пленкообразования и адгезии акрилового латекса на основе мономеров сложного эфира бутилакрилата и стирола. Уже в первые минуты выдерживания такого образца в растворе хлористого натрия начинается вздутие покрытия и образование быстро разрастающихся оранжевых пятен. Это говорит о том, что данное покрытие неспособно предотвратить процесс коррозии в условиях опытов. Очевидно, что активным агентом, запускающим процесс коррозии, является водная основа краски. Поскольку между металлической решеткой и макромолекулами латексов не возникает благоприятных условий для взаимодействия из-за их различной химической природы, когда силы притяжения либо отсутствуют, либо слишком малы, то между основой и покрытием создаются газовые прослойки по типу кислородной коррозии железа в воде¹:



Наблюдения показывают, что коррозия очень быстро распространяется и захватывает поверхность образца, прослойки превращаются

в пузыри, механически настолько непрочные, что после их разрушения обнажается поверхность металла, уже подвергнутая коррозионным воздействиям. Количественные характеристики (потеря массы и скорость коррозии) в этой серии опытов оказались сопоставимы с результатами, которые получены для случаев с незащищенными образцами в кислой и солевой среде.

На рис. 7 представлена защитная способность рассмотренных покрытий. За точку отсчета принята ситуация, когда образцы с незащищенной поверхностью погружены в корродирующие среды – водопроводную воду (1), раствор хлористого натрия (2) и раствор соляной кислоты (3). Скорость коррозии при этом минимальна и составляет от 0,01 до 0,02 г/(м²·ч).

При погружении образцов, покрытых эмалью «Ржавостоп» с черным пигментом, в любую из рассмотренных сред на сутки следы коррозии отсутствуют, они проявляются только через 7–8 дней. Если принять, что на образцах, покрытых эмалью «Ржавостоп» с черным пигментом, минимальное из зафиксированных в условиях опытов значение скорости составляет 0,01 г/(м²·ч), то можно показать появление коррозии в растворе хлорида натрия (рис. 8).

Полученные результаты свидетельствуют, что используемые лакокрасочные покрытия (акриловые эмали) с пигментами обладают улучшенными защитными свойствами. Коррозионная устойчивость стали Ст3 повышается при нанесении на поверхность тонкого слоя защитного покрытия на основе органического связующего, причем лучшими результаты оказываются для покрытия с черным пигментом. Изменения поверхности испытуемых образцов визуально не фиксируются до 7–8 суток.

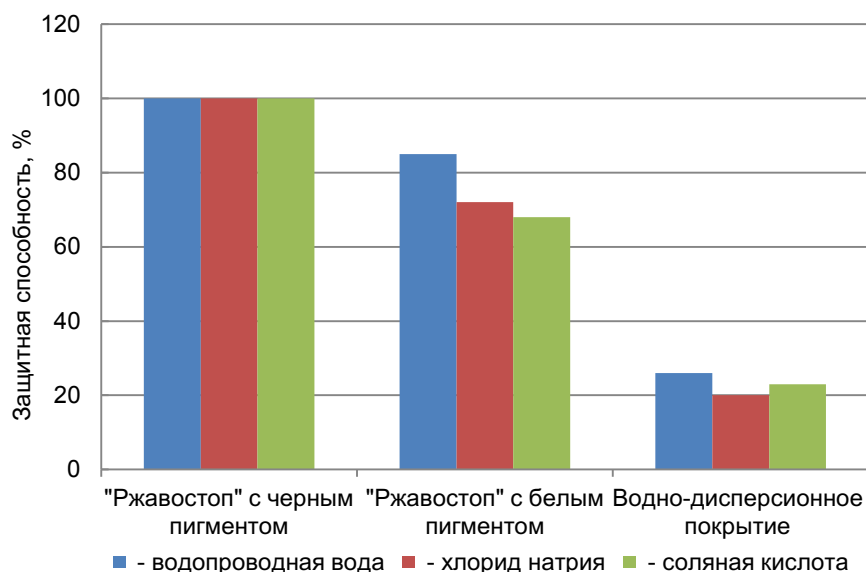


Рис. 7. Защитная сила покрытий при суточном экспонировании

Fig. 7. Protective power of coatings during daily exposure

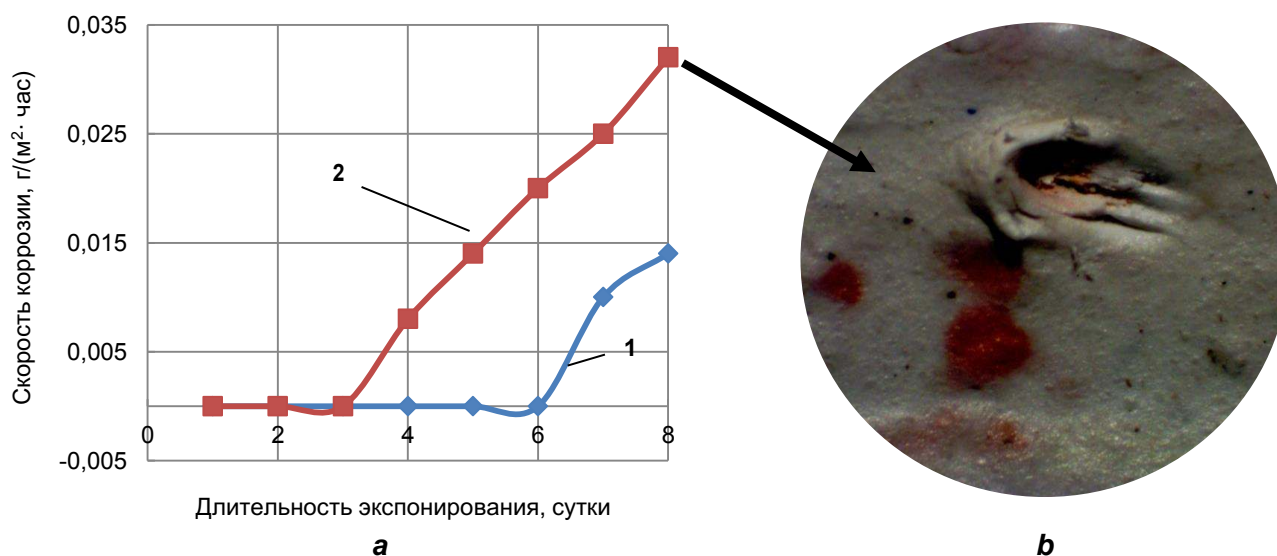


Рис. 8. Развитие коррозии на образцах, покрытых эмалью «Ржавостоп» с черным (1) и белым (2) пигментом (а); вид образца на 8-е сутки экспонирования в растворе хлорида натрия (b)

Fig. 8. Corrosion development on "Rzhavostop" enameled samples with black (1) and white (2) pigment – a; sample condition on the 8th day of exposure in sodium chloride solution – b

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что акриловый латекс на основе мономеров сложного эфира бутилакрилата и стирола, используется в качестве защитного покрытия характеризуется высокой адгезией только в условиях, когда металлическая поверхность не подвержена активной коррозии. В агрессивных средах качество покрытия из акрилового латекса заметно снижа-

ется, и возможность его повышения оказывается связанной с добавками пигментов и наполнителей, выполняющих функцию антикоррозионных добавок. В работе подобраны оптимальные по химическому составу, дисперсности и количественным соотношениям композиции, которые позволяют существенно повысить защитную способность покрытий.

Внесение в состав акриловой эмали «Ржа-

востоп» пигмент на основе фосфата цинка и нитрита натрия в качестве антикоррозионной добавки не приводит к изменению цвета эмали, но заметно повышает защитные способности композиции. Покрытые ею образцы стали Ст3 не проявляют признаков коррозии до 2–3 дней в модельных растворах, имитирующих морскую воду.

Установлено, что обогащение акриловой эмали «Ржавостоп» черным пигментом, в кото-

ром не менее 95 % составляет 2-этилгексильный эфир 3-ди(2-гидроксиэтиламино) пропионовой кислоты, усиливает эффект сцепления пленкообразователя с металлической поверхностью многократно. Добавление тетраоксихромата цинка дополняет полученный эффект и не дает коррозии распространяться по поверхности. Признаки коррозии на образцах стали Ст3 в рассматриваемых условиях не проявляются длительное время.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Улиг Г.Г., Ревы Р.У. Коррозия и борьба с ней: Введение в коррозионную науку и технику / пер. с англ. под ред. А.М. Сухотина. Л.: Химия, 1989. 454 с.
2. Пригожин И., Кондепуди Д. Современная термодинамика. От тепловых двигателей до диссипативных структур / пер. с англ. Ю.А. Данилова, В.В. Белого. М.: Мир, 2002. 460 с.
3. Розелфельд И.Л., Рубинштейн Ф.И., Жигалова К.А. Защита металлов от коррозии лакокрасочными покрытиями. М.: Химия, 1987. 224 с.
4. Ильдарианова Ф.И., Богословский К.Г. Выбор лакокрасочных покрытий для долговременной противокоррозионной защиты металлоконструкций нефтегазовой отрасли // Коррозия территории Нефтегаз. 2013. N 2 (25). С. 22–27.
5. Кулешова И.Д. Состояние и перспективы российского рынка минеральных наполнителей для лакокрасочных материалов // Лакокрасочные материалы и их применение. 2008. N 7. С. 10–13.
6. Гусева Е.А., Константинова М.К. Порошковые полимерные покрытия как альтернативный способ защиты металлов от коррозии // Вестник ИрГТУ. 2015. N 10 (105). С. 71–76.
7. Завалишин А.Н., Смирнов О.М., Тулупов С.А. Модификация поверхности металлических изделий с использованием покрытий. М.: Орбита-М, 2012. 336 с.
8. Козлов Д.Ю. Антикоррозионная защита. Екатеринбург: ООО «ИД «Оригами», 2013. 440 с.
9. Рахманкулов Д.Л., Зенцов В.Н., Гафаров Н.А., Бугай Д.Е., Габитов А.И. Ингибиторы коррозии: монография; в 4 т. Т. 3. Основы технологии производства отечественных ингибиторов коррозии. М.: Интер, 2005. 346 с.
10. Ashassi-Sorkhabi H., Shaabani B., Seifzadeh D. Corrosion inhibition of mild steel by some Schiff base compounds in hydrochloric acid // Applied Surface Science. 2005. N 239. P. 154–164.
11. Jiang X., Zheng Y.G., Ke W. Effect of flow velocity and entrained sand on inhibition performances of two inhibitors for CO₂ corrosion of N80 steel in 3 % NaCl solution // Corrosion Science. 2005. N 47. P. 2636–2658. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2004.11.012>
12. Фадеев И.В. Противокоррозионные полимерные композиции на основе олигоэфируретандиметакрилата Д-10ТМ // Автотранспортное предприятие. 2009. N 12. С. 48–51.
13. Кузнецов Ю.И. Прогресс в науке об ингибиторах коррозии // Коррозия: металлы, защита. 2015. N 3. С. 12–23.
14. Половняк В.К., Тимофеева И.В., Быстрова О.Н., Половняк С.В., Айманов Р.Д. Защитное действие азот-, фосфорсодержащих ингибиторов коррозии стали и их промышленные испытания в условиях нефтедобычи и нефтепереработки // Практика противокоррозионной защиты. 2006. N 3. С. 44–48.
15. Ершов М.А., Камаев Е.В., Скворцов В.Г. Тиосемикарбазидогидроксиэтилендифосфонный комплекс и его ингибиторные свойства // Бутлеровские сообщения. 2013. Т. 35. N 9. С. 14–20.
16. Илларионов И.Е., Садетдинов Ш.В., Стрельников И.А., Гартфельдер В.А. Влияние фосфатборатных соединений на противокоррозионную устойчивость углеродистой стали в нейтральных водных средах // Черные металлы. 2018. N 5. С. 47–53.
17. Рыжков И.Б. Основы научных исследований и изобретательства. СПб: Лань, 2013. 222 с.
18. Хорн Р. Морская химия: структура воды и химия гидросферы / пер. с англ. Ю.П. Алешко-Ожевского и Г.Н. Батурина; под ред. и с предисл. А.М. Блоха. М.: Мир, 1972. 400 с.
19. Яковлева А.А., Мальцева Г.Д. Кристаллохимические аспекты оценки энергии взаимодействия частиц глинистых минералов // Известия Сибирского отделения РАН. Геология, поиски и разведка месторождений полезных ископаемых. 2018. Т. 41. N 1 (62). С. 99–114. <https://doi.org/10.21285/2541-9455-2018-41-1-99-114>
20. Яковлева А.А., Чыонг С.Н. Изучение поглощательной способности талька // Вестник ИрГТУ. 2010. N 5 (45). С. 224–229.

REFERENCES

1. Uhlig HH, Revie RW. *Corrosion and Corrosion Control. An Introduction to Corrosion Science and Engineering*. 3rd ed. A Wiley-Interscience Publication. New York. John Wiley and Sons. 1985. (Russ. ed.: Ulig GG, Revi RW. *Korroziya i bor'ba s nei: Vvedenie v korrozionnuyu nauku i*

tekhniku. Leningrad: Khimiya, Leningradskoe otделение; 1989, 454 p.)

2. Kondepudi D, Prigogine I. *Modern thermodynamics. From heat engines to dissipative structures*. Chichester: John Wiley & Sons, 1999. (Russ. ed.: Prigozhin I, Kondepudi D. *Sovremennaya termodinamika. Ot teplovykh dvigatelei do dissipativnykh struktur*. Moscow: Mir, 2002, 460 p.)

3. Rozelfel'd IL, Rubinshtein FI, Zhigalova KA. *Protection of metals from corrosion by paintwork*. Moscow: Khimiya; 1987, 224 p. (In Russian)

4. Il'darkhanova FI, Bogoslovskii KG. The choice of paint coatings for long-term anticorrosive protection of metal structures in the oil and gas industry. *Korroziya territorii Neftegaz* = Corrosion of Oil and Gas Territory. 2013;2:22–27. (In Russian)

5. Kuleshova ID. Status and prospects of the Russian market of mineral fillers for paint-and-lacquer materials. *Lakokrasochnie materialy i ikh primenenie* = Russian coatings journal. 2008;7:10–13. (In Russian)

6. Guseva EA, Konstantinova MK. Polymer powder coatings as an alternative to protect metals from corrosion. *Vestnik Irkutskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta* = Proceedings of Irkutsk State Technical University. 2015;10:71–76. (In Russian)

7. Zavalishchin AN, Smirnov OM, Tulupov SA. *Surface modification of metal products using coatings*. Moscow: Orbita-M, 2012, 336 p. (In Russian)

8. Kozlov DYU. *Corrosion Protection*. Ekaterinburg: Origami, 2013, 440 p. (In Russian)

9. Rakhmankulov DL, Zentsov VN, Gafarov NA, Bugai DE, Gabitov AI. *Corrosion Inhibitors*. Vol. 3. Fundamentals of the production technology of domestic corrosion inhibitors. Moscow: Inter, 2005, 346 p. (In Russian)

10. Ashassi-Sorkhabi H, Shaabani B, Seifzadeh D. Corrosion inhibition of mild steel by some Schiff base compounds in hydrochloric acid. *Applied Surface Science*. 2005;239:154–164.

11. Jiang X., Zheng YG, Ke W. Effect of flow velocity and entrained sand on inhibition performances of two inhibitors for CO₂ corrosion of N80 steel in 3% NaCl solution. *Corrosion Science*. 2005;47:2636–2658. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2004.11.012>

12. Fadeev IV. Anticorrosive polymer composi-

tions based on oligoester urethane dimethacrylate D-10TM. *Avtotransportnoe predpriyatie* = Haulier. 2009;12:48–51. (In Russian)

13. Kuznetsov Yul. Progress in science of corrosion inhibitors. *Korroziya: Materialy, Zashchita* = Corrosion: Materials, Protection. 2015;3:12–23. (In Russian)

14. Polovnyak VK, Timofeeva IV, Bystrova ON, Polovnyak SV, Aimanov RD. Protective action of nitrogen- and phosphor-containing inhibitors of hydrogen sulfide corrosion of steel and their industrial tests under the conditions of oil output and refining. *Praktika protivokorroziionnoi zashchity* = Practice Corrosion Protection. 2006; 3:44–48. (In Russian)

15. Yershov MA, Kamaev EV., Skvortsov VG. Thiosemicarbasidehidroxy-ethylidenediphosphonic complex and its inhibitor characteristics. *Butlerovskie soobshcheniya* = Butlerov communications. 2013;35(9):14–20. (In Russian)

16. Illarionov IE, Sadetdinov ShV, Strel'nikov IA, Gartfel'der VA. Effect of phosphate borate compounds on the corrosion resistance of carbon steel in neutral aqueous media. *Chernye metally* = Ferrous materials. 2018;5:47–53. (In Russian)

17. Ryzhkov IB. *Fundamentals of research and invention*. St. Petersburg: Lan', 2013, 222 p. (In Russian)

18. Khorn R. *Marine chemistry: water structure and hydrosphere chemistry*. Moscow: Mir, 1972, 400 p. (In Russian)

19. Yakovleva AA, Maltseva GD. Crystallochemical aspects in the evaluation of claymineral particle interaction energy. *Izvestiya Sibirskogo otdeleniya RAEN. Geologiya, poisk i razvedka mestorozhdenii poleznykh iskopaemykh* = Proceedings of the Siberian Department of the Section of Earth Sciences of the Russian Academy of Natural Sciences. Geology, Exploration and Development of Mineral Deposits. 2018;41(1): 99–114. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2541-9455-2018-41-1-99-114>

20. Yakovleva AA, Chyong SN. Study of talc absorbing capacity. *Vestnik Irkutskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta* = Proceedings of Irkutsk State Technical University. 2010; 5:224–229. (In Russian)

Краткие авторства

Яковлева А.А., Анциферов Е.А., Гусева Е.А., Садловский С.В. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Яковлева А.А., Анциферов Е.А., Гусева Е.А., Садловский С.В. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Contribution

Ariadna A. Yakovleva, Evgenii A. Antsiferov, Elena A. Guseva, Sergei V. Sadlovsky carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Ariadna A. Yakovleva, Evgenii A. Antsiferov, Elena A. Guseva, Sergei V. Sadlovsky have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Яковлева Ариадна Алексеевна,
д.х.н., профессор кафедры химии
и пищевой технологии
им. проф. В.В. Тутуриной,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова. 83,
Российская Федерация,
✉e-mail: ayakovistu@mail.ru

Анциферов Евгений Александрович,
к.х.н., доцент кафедры химии
и пищевой технологии
им. проф. В.В. Тутуриной,
директор Института высоких технологий,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова. 83,
Российская Федерация,
e-mail: antsiferov@istu.edu

Гусева Елена Александровна,
к.т.н., доцент кафедры машиностроительных
технологий и материалов,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова. 83,
Российская Федерация,
e-mail: el.guseva@rambler.ru

Садловский Сергей Владимирович,
аспирант кафедры химии и пищевой
технологии им. проф. В.В. Тутуриной,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова. 83,
Российская Федерация,
e-mail: vip.sadlovskiy@mail.ru

AUTHORS' INDEX

Ariadna A. Yakovleva,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Chemistry and Food Technology Department,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
✉e-mail: ayakovistu@mail.ru

Evgenii A. Antsiferov,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Chemistry and Food Technology Department,
Director of the Institute of High Technologies,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: antsiferov@istu.edu

Elena A. Guseva,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Department of Engineering
Technologies and Materials,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: el.guseva@rambler.ru

Sergei V. Sadlovsky,
Postgraduate Student,
Chemistry and Food Technology Department,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: vip.sadlovskiy@mail.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 543.25:544.355-128

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-612-620>

Количественные характеристики взаимодействий в растворах электролитов

© Б.Б. Танганов*, Д.М. Могнонов***

* Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления,
г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Российская Федерация

** Байкальский институт природопользования СО РАН,
г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Российская Федерация

Резюме: В водных и неводных растворах сильных и слабых электролитов протекают сложные межчастичные и межмолекулярные взаимодействия преимущественно между заряженными частицами, молекулами растворителей, а также между ионами и диполями растворителей. В зависимости от свойств растворителя один и тот же растворенный электролит может проявлять противоположные свойства. Так, например, слабая в воде уксусная кислота при взаимодействии с более протогенным растворителем (жидкий фтористый водород) проявляет свойства основания, акцептируя протон. Это может быть объяснено различием в сродстве к протону. Однако сведений о количественных характеристиках взаимодействий в растворах сильных и слабых электролитов опубликовано недостаточно. Настоящая статья посвящена рассмотрению этих процессов в диметилформамиде (ДМФА). Авторами оценены наиболее востребованные параметры растворов электролитов: сольватные числа некоторых ионов, массы и размеры сольватированных ионов. Показано, что расчетные значения согласуются с литературными. Определены термодинамические константы диссоциации дифеновой кислоты в ДМФА и рассчитаны методом многоуровневого моделирования энергии водородных связей в растворителях, в том числе в дипольных апротонных растворителях, включая ДМФА. Следует отметить, что рассчитанные по модельным уравнениям ММУМ параметры согласуются с известными литературными. Методом многоуровневого моделирования рассчитаны энергетические и размерные характеристики ионов и химических соединений, а также характеристики ионизации, теплоемкости, критические свойства, изотермические изменения термодинамических функций от идеального состояния растворителей. Разработаны методики и построены модели состояния ионов в растворе, а также расчетные методы прогнозирования и уточнения параметров химической, биологической, медицинской и других систем.

Ключевые слова: растворы, электролиты, количественные характеристики растворов, межчастичные и межмолекулярные взаимодействия, органическая кислота, метод многоуровневого моделирования

Информация о статье: Дата поступления 16 мая 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Танганов Б.Б., Могнонов Д.М. Количественные характеристики взаимодействий в растворах электролитов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 612–620. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-612-620>

Quantitative characteristics of interactions in electrolyte solutions

Boris B. Tanganov*, Dmitrii M. Mogonov***

* East Siberian State University of Technology and Management,
Ulan-Ude, Buryat Republic, Russian Federation

** Baikal Institute of Nature Management SB RAS, Ulan-Ude, Buryat Republic, Russian Federation

Abstract: In aqueous and non-aqueous solutions of strong and weak electrolytes, complex interparticle and intermolecular interactions occur mainly between charged particles, solvent molecules, as well as between ions and solvent dipoles. Depending on the properties of the solvent, the same dissolved electrolyte may exhibit

opposite properties. So, for example, acetic acid, weak in water, when interacting with a more protogenic solvent (liquid hydrogen fluoride) exhibits the properties of a base by accepting a proton. This behaviour is understood to be determined by the difference in proton affinity. However, insufficient information has been published on the quantitative characteristics of interactions in solutions of strong and weak electrolytes. The present article considers these processes taking place in dimethylformamide (DMF). The most requested electrolyte solution parameters are evaluated: the solvation number of some ions, as well as the masses and sizes of solvated ions. The calculated values are proved to be consistent with those in the literature data. The thermodynamic constants of diphenic acid dissociation in DMF were determined and calculated using the multilevel modelling method for the energy of hydrogen bonds in solvents, thus accounting for dipolar proton solvents (including DMF). Parameters calculated according to the multilevel modelling equations are shown to be consistent with the known literature. The method of multilevel modelling was used to calculate the energy and dimensional characteristics of ions and chemical compounds, as well as the characteristics of ionisation, heat capacity, critical properties and the isothermal differences of thermodynamic functions from the ideal state of solvents. Calculation methods were developed for predicting and refining the parameters of chemical, biological, medical and other systems, supplemented by constructed models concerning state of the ions in solution.

Keywords: solutions, electrolytes, quantitative characteristics of solutions, interparticle and intermolecular interactions, organic acid, multilevel modelling

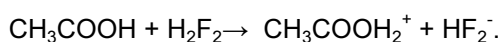
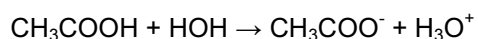
Information about the article: Received May 16, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Tanganov BB, Mogonov DM. Quantitative characteristics of interactions in electrolyte solutions. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):612–620. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-612-620>

ВВЕДЕНИЕ

Исследования растворов электролитов продолжают оставаться актуальными, поскольку до настоящего времени не разработано единой всеобъемлющей теории, отражающей полную картину процессов, происходящих в растворах (водных и неводных) сильных и слабых электролитов.

В отличие от водных в неводных растворах сильных и слабых электролитов протекают более сложные процессы [1, 2], так как органические растворители отличаются от воды и друг от друга своими свойствами, характеристиками, параметрами (кислотно-основные свойства, полярность, диэлектрическая проницаемость (ДП), способность к сольватации или, наоборот, к ассоциации, автопротолиз и т.д.). В зависимости от свойств растворителя один и тот же растворенный электролит может проявлять противоположные свойства. Например, слабая в воде уксусная кислота в среде более протогенного растворителя проявляет свойства основания, акцептируя протон:



Основными взаимодействиями в растворах электролитов являются: ион-дипольные (главным образом сольватационные), ион-ионные (катион-анионные) и диполь-дипольные (между молекулами растворителей).

В зависимости от природы растворителя ионы и молекулы электролита вступают во вза-

имодействие с диполями растворителя с образованием молекулярных сольватов (например, в среде неполярного бензола, характеризующегося низкой ДП), сольватированных ионов (в полярном растворителе вода с достаточно высокой ДП) или ассоциированных ионов (димеров, ионных тройников и других более сложных комплексов) в полярных растворителях с заметно низкими ДП (например, в ацетоне). Безусловно, на поведение растворенного вещества в меньшей мере влияют и другие свойства среды.

Отметим влияние на свойства растворенного в растворителе вещества кислотно-основных свойств самого растворителя. Так, слабая в воде уксусная кислота в среде протонного растворителя – жидкого аммиака, проявляет сильные кислотные свойства наряду с минеральными кислотами, а в среде другого растворителя, более протогенного, чем вода, – жидкого фтористого водорода (H_2F_2), обнаруживает несвойственные ей функции и ведет себя как основание, акцептируя протон растворителя. При этом H_2F_2 в безводной хлорной кислоте сам проявляет свойства основания. Данный феномен объясняется различием в протонном сродстве и протонно-донорно-акцепторными свойствами уксусной, фтороводородной и хлорной кислот. Таким образом, природа сольватационных эффектов определяется свойствами растворенных частиц и еще более – свойствами растворителя [1, 2].

Целью настоящего исследования являлось: изучение межмолекулярных и межчастичных

взаимодействий; разработка модельных уравнений, выражающих количественные показатели ион-дипольных, ион-ионных и диполь-дипольных процессов в дипольных апротонных растворителях; оценка концентрации всех равновесных частиц в кислотно-основной системе с помощью логарифмических диаграмм, а также определение констант кислотно-основного взаимодействия.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Количественные характеристики сольватационных (ион-дипольных) процессов в растворах электролитов. Д.И. Менделеев, Н.А. Меншуткин, И.А. Каблуков, М.И. Усанович, Н.А. Измайлов, Ю.Я. Фиалков, Г.А. Крестов, В.В. Александров, К.П. Мищенко, М. Бертло, М. Борн, Л. Онзагер, Д. Кирквуд, К. Бургер, Н. Бьеррум, П. Дебай, Э. Хюккель, Р. Робинсон и Р. Стокс, И. Кольтоф и др. [3–5].

Процессы сольватации ионов были рассмотрены с привлечением физических методов. Числа сольватации находят из данных по плотности, диализу, термодинамическим и электрохимическим свойствам растворов [2, 6]. Однако ни один из методов не является универсальным и не дает полного представления об этом сложном процессе. Как известно из литературы, данные, полученные разными авторами, имеют значительный разброс для одного и того же иона в одном и том же растворителе. Это можно объяснить тем, что практически во всех случаях связь изучаемых свойств с сольватацией рассматривается косвенно, без учета влияния свойств исследуемых систем, иногда делаются произвольные, ничем не оправданные допущения. Например, считали, что все диполи воды участвуют в образовании гидратных комплексов, с чем трудно согласиться, так как при этом невозможно судить об энергии

чистого растворителя [3–5].

В работе [7] была предложена концепция оценок сольватных чисел (n_s), масс (m_s) и радиусов сольватированных ионов ($r_s \cdot 10^{-8}$ см), основанная на электростатических ион-дипольных взаимодействиях в рамках плазмподобной теории состояния ионов и молекул растворенного вещества.

Расчеты проводились по выведенным авторами неэмпирическим уравнениям:

$$n_s = z_i \cdot e \cdot R_s^2 / r_i \cdot p - 5k_B \cdot T \cdot \epsilon \cdot R_s^2 / 2p \cdot e, \quad (1)$$

$$m_s = n_s \cdot M + m_i, \quad (2)$$

$$r_s = (25z_i \cdot p \cdot n_s \cdot h^2 / 3M \cdot R_s \cdot k_B^2 \cdot T^2)^{1/2} \quad (3)$$

где z_i , $r_i \cdot 10^{-8}$ см, m_i – заряд, радиус и молярная масса иона; $R_s \cdot 10^{-8}$ см, ϵ , p , M – радиус молекулы, диэлектрическая проницаемость, дипольный момент и молярная масса растворителя соответственно; e – заряд электрона; h – постоянная Планка; k_B – постоянная Больцмана; T – температура, К.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ион-дипольное взаимодействие. Оцененные по неэмпирическим уравнениям (1)–(3) значения чисел сольватации, масс и размеров частиц в воде и органическом (неводном) растворителе – диметилформамиде, совпадали в удовлетворительном согласии с имеющимися литературными данными (табл. 1).

В модельных уравнениях (1)–(3) более полно учитываются все параметры растворенного вещества и растворителя, влияющие на взаимодействие ионов электролита с растворителем: заряд, размер и масса иона; размер и масса молекулы, дипольный момент и диэлектрическая проницаемость растворителя.

Таблица 1

Сольватные числа и массы сольватированных ионов в воде и диметилформамиде (ДМФА), оцененные по уравнениям (1)–(3)

Table 1

Solvate numbers and masses of solvated ions in water and dimethyl formamide (DMF), estimated by equations (1)–(3)

Ион	Растворитель								
	H ₂ O					ДМФА			
	n_s (уравн. (1))	n_s (лит)	m_s	r_s	r_s (лит)	n_s (уравн. (1))	m_s	r_s	r_s (лит)
Li ⁺	4,64	7,00	90,4	11,45	–	8,99	664,1	3,08	4,12
Na ⁺	3,34	3,50	83,1	8,82	9,00	6,89	526,7	2,82	3,45
K ⁺	2,05	1,90	75,1	5,30	7,20	4,73	384,8	2,37	–
Rb ⁺	1,30	1,20	11,3	4,68	6,40	4,08	383,8	2,27	–
Cs ⁺	0,98	–	155,9	4,04	5,80	3,56	393,1	2,16	–
NH ₄ ⁺	1,22	–	40,1	4,53	–	3,47	271,7	2,24	–
F [–]	2,01	–	55,1	6,11	–	4,73	364,8	2,49	–
Cl [–]	1,01	–	53,7	4,10	–	3,13	264,3	2,16	1,87
Br [–]	0,75	–	93,4	3,57	–	2,78	283,1	2,08	1,92
I [–]	0,53	–	136,4	3,11	5,10	2,41	303,1	1,98	1,97
NO ₃ [–]	0,52	–	71,3	3,10	–	2,32	231,6	1,96	–
ClO ₄ [–]	0,30	–	104,8	2,64	–	1,96	242,8	1,85	–
SCN [–]	0,60	–	71,0	3,26	–	2,46	237,8	2,00	–

Количественные характеристики ион-ионных взаимодействий (кисотно-основных равновесий) – термодинамические константы диссоциации. Количественные расчеты кислотно-основных равновесий (или ион-ионных взаимодействий) при оценке констант диссоциации и построении кривых кислотно-основного титрования сводятся к вычислению рН раствора. При этом зачастую бывает невозможно оценить или рассчитать равновесные концентрации всех частиц, находящихся в растворе [7–9], и учесть их влияние на ионную силу раствора, коэффициент активности ионов и константу диссоциации [10, 11]. Поэтому предложения по альтернативным способам оценки концентраций указанных частиц в электролитном растворе и констант диссоциации кислот и оснований требуют более пристального внимания и изучения.

Ранее был предложен переработанный вариант расчета и оценок концентраций ионов водорода, гидроксид-ионов, молекул кислот или оснований и их сопряженных оснований или кислот, значительно влияющих на количественную оценку всех равновесных концентраций, на ионную силу раствора, коэффициенты активности компонентов и константу диссоциации рассматриваемых сильных и слабых электролитов [12–14]. Общий метод расчета равновесных концентраций основан на том, что все условия равновесия выражаются в виде n неизвестных, затем решается система из n уравнений. При оценке коэффициентов активности наиболее приемлемым является уравнение Дэвиса:

$$-lgf_i = [A \cdot Z_i^2 \cdot I^{0.5} / (1 + I^{0.5})] - 0,1 \cdot I,$$

где I – ионная сила раствора, так как метод Дебая требует введения a – расстояний наибольшего сближения частиц, которые, строго говоря, являются неопределенными и обычно принимаемыми не более $5 \cdot 10^{-8}$ см.

Поскольку в растворе, как было отмечено выше, все частицы (даже нейтральные молекулы) находятся в сольватированном состоянии (молекулярные сольваты, сольватированные ионы, ассоциированные сольватированные ионы и т.д.), то даже простая сумма радиусов сольватированных ионов (в первом приближении) не дает полной информации о расстояниях наименьшего сближения ионов и вряд ли будет постоянной для одних и тех же сольватированных катиона и аниона (особенно для сольваторазделенных) в любом растворителе и равной $5 \cdot 10^{-8}$ см.

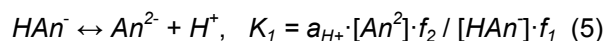
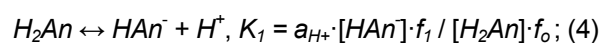
Коэффициент A определяется следующим соотношением:

$$A = (2\pi \cdot N_A / 1000)^{1/2} \cdot (e^3 / 2,303 \cdot k_B^{3/2}) \cdot (1 / \epsilon^{3/2} \cdot T^{3/2}),$$

где N_A – число Авогадро; k_B – постоянная Больцмана; ϵ – диэлектрическая проницаемость среды; T – температура, К.

Для ДМФА получена величина A , равная 1,6363.

Обычные интегральные кривые титрования, которые могут быть построены при расчетах рН в каждый момент титрования, не дают полного представления о равновесных концентрациях всех частиц, находящихся в титруемом растворе. Но для оценки кислотно-основного равновесия необходимо знать именно эти величины. Такую возможность дают логарифмические рН-диаграммы. Для их построения на оси абсцисс откладывают значения рН ($-lg a_{\text{лиония}}$), а на оси ординат – значения десятичных логарифмов концентраций [2]:



В качестве примера оценки ионных сил, применимости коэффициентов активности по Дэвису и определения термодинамических констант диссоциации ароматической двух-основной кислоты в табл. 2 приведены необходимые данные, включающие все фрагменты в буферных областях от 25 до 75 % нейтрализации дифеновой кислоты гуанидином в ДМФА: потенциал электродной системы в зависимости от объема добавленного титранта, логарифмы концентраций всех равновесных частиц, образующихся при диссоциации дикислоты, полный учет которых дает возможность объективно оценить ионные силы, коэффициенты активности по Дэвису и соответствующие величины показателей термодинамических констант диссоциации, определяемых по уравнениям (4) и (5).

На рис. 1 представлена кривая потенциометрического титрования дифеновой кислоты раствором гуанидина в среде ДМФА, характеризующаяся совместной нейтрализацией обеих карбоксильных групп.

На рис. 2 нанесены упомянутые выше логарифмические диаграммы « $lgC - lga$ ($-lga_{\text{лиония}}$)», позволяющие оценить равновесные концентрации всех заряженных и незаряженных частиц (сольватированных нейтральных молекул и ионов), образующихся при диссоциации кислоты и при титровании ее сильным основанием (табл. 2).

Ион-ионное взаимодействие. Статистическая обработка термодинамических констант диссоциации ароматической дикарбоновой кислоты в среде ДМФА, определенных экспериментально, при числе точек 30 приводит к доверительному интервалу, в котором с вероятностью 0,95 находятся экспериментальные величины: $pK_1 = 10,03 \pm 0,40$; $pK_2 = 12,22 \pm 0,78$.

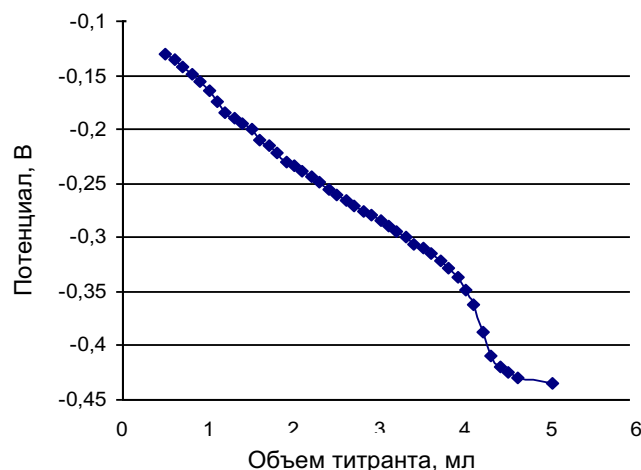


Рис. 1. Кривая потенциометрического титрования $4,215 \cdot 10^{-3}$ М раствора дифеновой кислоты $5,0178 \cdot 10^{-2}$ М раствором гуанидина в ДМФА

Fig. 1. Potentiometric titration curve of $4.215 \cdot 10^{-3}$ M diphenic acid solution with $5.0178 \cdot 10^{-2}$ M solution of guanidine in DMF

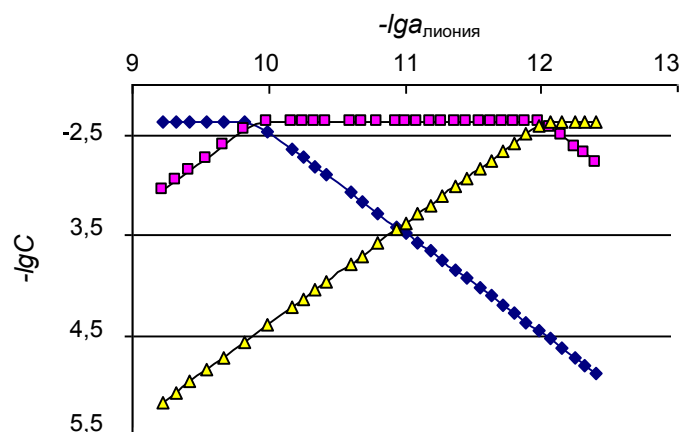


Рис. 2. Логарифмическая диаграмма оценки равновесных концентраций при взаимодействии дифеновой кислоты с гуанидином в среде ДМФА (♦ – концентрация кислоты H_2An ; ■ – иона HAn^- ; ▲ – иона An^{2-})

Fig. 2. Assessment logarithmic diagram of equilibrium concentrations in the interaction of diphenic acid with guanidine in DMF (♦ – H_2An acid concentration; ■ – HAn^- ion; ▲ – An^{2-} ion)

Данные для определения термодинамических констант диссоциации $4,215 \cdot 10^{-3}$ М раствора дифеновой кислоты титрованием $5,0178 \cdot 10^{-2}$ М раствором гуанидина в ДМФА

Таблица 2

Table 2

Data for determining the thermodynamic dissociation constants of $4.215 \cdot 10^{-3}$ M diphenic acid solution by titration with $5.0178 \cdot 10^{-2}$ M solution of guanidine in DMF

V_i	E, B	$-lg\alpha(SH^+)$	$lg[H_2An]$	$lg[HAn^-]$	$lg[An^{2-}]$	$I^{0,5}$	f_1	f_2	pK_1	pK_2
0,5	-0,130	9,21	-2,37	-3,05	-5,16	0,0212	0,9247	0,7309	9,93	11,43
1,0	-0,165	9,82	-2,37	-2,45	-4,56	0,0425	0,8578	0,5407	9,96	12,13
1,5	-0,200	10,42	-2,89	-2,37	-3,96	0,0482	0,8412	0,5000	9,97	12,23
2,0	-0,234	11,01	-3,48	-2,37	-3,37	0,0543	0,8241	0,4602	9,98	12,26
2,5	-0,260	11,45	-3,93	-2,37	-2,92	0,0669	0,7903	0,3890	10,00	12,31
3,0	-0,285	11,89	-4,36	-2,37	-2,49	0,0922	0,7290	0,2807	10,03	12,42
3,5	-0,310	12,32	-4,79	-2,68	-2,37	0,0973	0,7176	0,2634	10,35	12,44

Примечание. Таблица представлена неполностью, всего титруемых точек 30.

Как видно, константы близки: $\Delta pK = pK_2 - pK_1 = 12,22 - 10,03 = 2,19 (< 3,00)$. Поскольку разность меньше 3, то дифференцированное титрование дифеновой кислоты в среде ДМФА, рассматриваемой как смесь двух кислот, не может быть осуществлено.

Таким образом, приведенные на рис. 1 и 2 диаграммы дают возможность экспериментатору оценить значения показателей термодинамических констант диссоциации при нивелированном титровании любого электролита кислотной или основной форм.

Количественные показатели диполь-дипольных (межмолекулярных) взаимодействий в растворителях. В связи с интенсивным развитием теории и практики растворов электролитов моделированием сложных многочастичных коллективных (ион-ионных, ион-дипольных и диполь-дипольных) взаимодействий в растворах большую актуальность приобретает проблема оптимизации количественных характеристик всевозможных систем.

Метод многоуровневого моделирования (ММУМ) является одним из способов количественной оценки межмолекулярных (диполь-дипольных) взаимодействий – например, водородных связей в различных растворителях.

Теоретически модулируя процессы измерений, то есть взаимодействия системы с прибором, нужно учитывать все ситуации, рассмотренные в [15]. Данная идея положена в основу оценки энергий межмолекулярных взаимодействий во множестве чистых растворителей, ΔH , с коэффициентом многоуровневого

моделирования – $K_{\text{ММУМ}} = 0,9889$ (табл. 3):

$$\Delta H = 0,5672X_1 + 0,06800X_2 + 0,00376X_3 + 0,4913X_4 + 0,4902X_5 + 0,1332X_6 - 0,00531X_7 + 0,0212X_8 - 0,2096 \text{ (ккал/моль)} \quad (6)$$

Диполь-дипольное взаимодействие. Таким образом, использование в качестве базисных параметров термодинамических (температура кипения, молярная теплота парообразования и др.), кинетических (вязкость и др.), электрических (дипольный момент и др.) свойств и молекулярных характеристик (сумма длин химических связей в молекуле растворителя др.), по существу легко определяемых справочных величин, дает соответствие оцененных методом многоуровневого моделирования величин с реальными экспериментальными значениями независимо от природы и класса веществ с высоким значением $K_{\text{ММУМ}} = 0,9889$. Коэффициент ММУМ выражает корреляционную зависимость энергий водородной связи $\Delta H_{\text{лит}}$ и $\Delta H_{\text{расч}}(\Delta H_{\text{ММУМ}})$. Метод многоуровневого (многомерного) моделирования позволяет решать многочисленные задачи при отсутствии важных характеристик помимо химической науки и технологий в отраслях, не связанных в чистом виде с химией.

Добавим, что ММУМ применен при выборе растворителя для поликонденсации [16], при разработке технологии получения дубящих дисперсных систем [17, 18], а также с его помощью разработана математическая модель нарушения мицеллообразования в печени [19] и др.

Таблица 3

К расчету энергий водородной связи ΔH , ккал/моль, в растворителях ММУМ-8

Table 3

To the calculation of the hydrogen bond energies ΔH , kcal / mol, in solvents with MMUM-8

Растворитель	$X_1=R_s$	$X_2=\Sigma L$	$X_3=T_{\text{кип}}$	$X_4=\rho$	$X_5=\eta$	$X_6=p$	$X_7=pK_s$	$X_8=pK_{\text{HCl}}$	$Y=\Delta H_{\text{лит}}$	$\Delta H_{\text{расч}}$ (уравн. (6))
Ацетон	2,30	5,27	329,4	0,7920	0,316	2,88	32,50	4,00	3,327	3,531
МЭК	2,65	6,81	352,8	0,8054	0,428	2,79	31,00	4,45	4,070	3,989
МПК	2,81	8,35	375,7	0,8089	0,500	2,48	25,62	4,41	–	4,294
МБК	2,93	9,89	400,7	0,8304	0,542	2,16	25,30	4,35	–	4,550
ДМФА	2,53	5,12	425,7	0,9445	0,796	3,82	31,60	3,40	4,050	4,441
ДМАА	2,68	6,66	438,7	0,9366	0,919	3,79	31,20	3,30	4,055	4,732
ГМФТА	3,31	6,09	508,2	1,0253	3,340	5,37	20,56	3,56	6,800	6,815
ДМСО	2,37	5,82	462,2	1,1014	1,960	4,30	32,30	3,06	5,421	5,236
ТМС	2,70	5,94	558,2	1,2618	10,130	4,69	25,45	3,25	9,736	9,968
N-МП	2,71	6,66	475,2	1,0327	1,830	4,09	24,15	2,80	5,135	5,447
АН	2,05	3,79	353,3	0,7856	0,345	3,84	32,20	8,10	3,332	3,606
ПК	2,75	6,70	514,9	1,0257	2,510	4,94	29,10	1,15	6,260	6,004

Примечание. R_s – радиус молекулы растворителя, см·10⁸; ΣL – сумма длин связей в молекуле растворителя, см·10⁸; $T_{\text{кип}}$ – температура кипения растворителя, К; ρ – плотность растворителя, г/см³; η – вязкость растворителя, сПз; p – дипольный момент молекулы растворителя, Д; pK_s – показатель константы автопротолиза растворителя; pK_{HCl} – показатель константы диссоциации HCl в растворителях: ацетон, метилэтилкетон (МЭК), метилпропилкетон (МПК), метилбутилкетон (МБК), диметилформамид (ДМФА), диметилацетамид (ДМАА), гексаметилфосфортриамид (ГМФТА), диметилсульфоксид (ДМСО), тетраметилсульфон (ТМС), N-метил-2-пирролидон (N-МП), ацетонитрил (АН), пропиленкарбонат (ПК).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в представленной работе рассмотрены и оценены основные виды взаимодействий:

– ион-дипольные, приводящие, в зависимости от природы и свойств растворителя, к образованию молекулярных сольватов, сольватированных или ионных ассоциатов. Оценены или уточнены количественные показатели процессов сольватации: сольватные числа, массы и размеры (радиусы) сольватированных ионов. Показано, что расчетные значения согласуются с имеющимися литературными;

– ион-ионные равновесия, протекающие в растворе наряду с ион-дипольными, сводящиеся преимущественно к взаимодействию между ионами (катион-анион) и количественно харак-

теризующиеся константами диссоциации. Представлен новый подход к определению термодинамических констант по логарифмическим диаграммам « $\lg C - \lg a (SH^+)$ ». Осуществлена оценка всех равновесных частиц в рассматриваемой системе;

– диполь-дипольные (межмолекулярные) взаимодействия в растворителях, определяемые главным образом энергиями водородных связей, величины которых оценивались методом многоуровневого моделирования. Следует отметить, что рассчитанные по модельным уравнениям ММУМ параметры согласуются с известными литературными. ММУМ позволяет уточнить, воспроизвести отсутствующие параметры, прогнозировать выход конечного продукта и т.д.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Крешков А.П. Аналитическая химия неводных растворов. М.: Химия. 1982. 180 с.
2. Робинсон Р.А., Стокс Р.Г. Растворы электролитов / пер. с англ.; под ред. А.Н. Фрумкина. М.: Изд-во иностр. лит., 1963. 646 с.
3. Rockwood A.L. Meaning and Measurability of Single-Ion Activities, the Thermodynamic Foundations of pH, and the Gibbs Free Energy for the Transfer of Ions between Dissimilar Materials // Chem. Phys. Chem. 2015. Vol. 16. Issue 9. P. 1978–1991. <https://doi.org/10.1002/cphc.201500044>
4. Holguín A.R., Delgado D.R., Martínez F., Marcus Y. Solution thermodynamics and preferential solvation of meloxicam in propylene glycol + water mixtures // Journal of Solution Chemistry. 2011. Vol. 40. Issue 12. P. 1987–1999. <https://doi.org/10.1007/s10953-011-9769-0>
5. Krishnamoorthy A.N., Zeman J., Holm Ch., Smiatek J. Preferential solvation and ion association properties in aqueous dimethyl sulfoxide solutions // Physical Chemistry Chemical Physics. 2016. Vol. 18. P. 31312–31322. <https://doi.org/10.1039/C6CP05909K>
6. Tanganov B.B. Modelling of ions mobility in plasmalike concept and transfer processes in electrolyte solutions // Journal of Chemistry and Chemical Engineering. 2013. Vol. 7. Issue 8. P. 711–724.
7. Lysova S.S., Skripnikova T.A., Zevatskii Yu.E. Algorithm for calculating the dissociation constants of weak electrolytes and ampholytes in water solutions // Russian Journal of Physical Chemistry A. 2017. Vol. 91. Issue 12. P. 2366–2369. <https://doi.org/10.1134/S0036024417110139>
8. Roda G., Dallanocce C., Grazioso G., Liberti V., De Amici M. Determination of Acid Dissociation Constants of Compounds Active at Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors by Means of Electrophoretic and Potentiometric Techniques // Analytical Sciences. 2010. Vol. 26. Issue 1. P. 51–54. <https://doi.org/10.2116/analsci.26.51>
9. Levanov A.V., Isaikina O.Y., Lunin V.V. Dissociation constant of nitric acid // Russian Journal of Physical Chemistry A. 2017. T. 91. N 7. P. 1221–1228. <https://doi.org/10.1134/S0036024417070196>
10. Meychik N.R., Stepanov S.I., Nikolaeva Yu.I. Calculating the Ionization Constant of Functional Groups of Carboxyl Ion Exchangers // Russian Journal of Physical Chemistry A. 2018. Vol. 92. N 2. P. 265–270. <https://doi.org/10.1134/S0036024418010156>
11. Леванов А.В., Курбанова У.Д., Исайкина О.Я., Лунин В.В. Константы диссоциации галогенводородных кислот HCl, HBr и HI в водном растворе // Журнал физической химии. 2019. Т. 93. № 1. С. 86–94. <https://doi.org/10.1134/S0044453719010187>
12. Танганов Б.Б. Исследование равновесий в неводных растворах поликислот (модель и эксперимент). II. Термодинамические константы диссоциации поликислот // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2011. N 6. С. 55–57.
13. Tanganov B.B., Alexeeva I.A. Model for Calculating the Activity Coefficients of Electrolytes in the 0 to 16 mol/L Range of Concentrations // Russian Journal of Physical Chemistry A. 2016. Vol. 90. Issue 4. P. 792–795. <https://doi.org/10.1134/S0036024416040300>
14. Tanganov B.B., Alekseeva I.A. A Method for Calculating the Acid-Base Equilibria in Aqueous and Nonaqueous Electrolyte Solutions // Russian Journal of Physical Chemistry A. 2017. Vol. 91. Issue 6. P. 1149–1151. <https://doi.org/10.1134/S0036024417060243>
15. Танганов Б.Б. Метод многоуровневого моделирования в оценке физико-химических параметров растворителей. IV. Изотермические изменения термодинамических функций от идеального состояния // Международный журнал экспериментального образования. 2015. Вып. 11 (ч. 3). С. 433–436.
16. Танганов Б.Б., Могнонов Д.М. Применимость ММУ в оценке и выборе растворителя в полимерной химии // Актуальные проблемы сов-

ременной науки. Естественные науки: труды 3-го Международного форума молодых ученых (8-й Международной конференции) (Самара, 20–23 ноября 2007 г.). Ч. 7. Физическая химия. Самара: Изд-во Самарского гос. техн. ун-та, 2007. С. 46–49.

17. Крупенникова В.Е., Раднаева В.Д., Танганов Б.Б. Метод многоуровневого моделирования при разработке технологии получения дубящих дисперсных систем // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.

18. Krupennikova VE, Radnaeva VD, Tanga-

nov BB. The Study of the Dependence of Tanning Disperse System's Properties on its Components' Physical-Chemical Properties by Applying the Mathematical Simulation Methods // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2011. Vol. 383. Issue 1. P. 86–89. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.02.008>

19. Цыренжапов А.В., Танганов Б.Б., Николаев С.М. Моделирование нарушения поверхностно-активных свойств желчи // Вестник КазНУ. Серия математика, механика, информатика. 2005. № 3 (42). С. 238–243.

REFERENCES

1. Kreshkov AP. *Analytical chemistry of non-aqueous solutions*. Moscow: Chemistry; 1982. 180 p. (In Russian)

2. Robinson RA, Stokes RH. *Electrolyte solutions. The measurement and interpretation of conductance, chemical potential and diffusion in solutions of simple electrolytes*. 2nd ed. London, Butterworths Scientific Publication; 1959. (Russ. ed.: Robinson R, Stokes R. *Rastvory elektrolitov*. Moscow: Izdatel'stvo inostrannoi literatury; 1963. 646 p.)

3. Rockwood AL. Meaning and Measurability of Single-Ion Activities, the Thermodynamic Foundations of pH, and the Gibbs Free Energy for the Transfer of Ions between Dissimilar Materials. *Chem. Phys. Chem*. 2015;16(9):1978–1991. <https://doi.org/10.1002/cphc.201500044>

4. Holguín AR, Delgado DR, Martínez F, Marcus Y. Solution thermodynamics and preferential solvation of meloxicam in propylene glycol + water mixtures. *Journal of Solution Chemistry*. 2011; 40(12): 1987–1999. <https://doi.org/10.1007/s10953-011-9769-0>

5. Krishnamoorthy AN, Zeman J, Holm Ch, Smiatek J. Preferential solvation and ion association properties in aqueous dimethyl sulfoxide solutions. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2016;18: 31312–31322. <https://doi.org/10.1039/C6CP05909K>

6. Tanganov BB. Modelling of ions mobility in plasmalike concept and transfer processes in electrolyte solutions. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*. 2013;7(8):711–724.

7. Lysova SS, Skripnikova TA, Zevatskii YuE. Algorithm for calculating the dissociation constants of weak electrolytes and amphotites in water solutions. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2017;91(12):2366–2369. <https://doi.org/10.1134/S036024417110139>

8. Roda G, Dallanocce C, Grazioso G, Liberti V, De Amici M. Determination of Acid Dissociation Constants of Compounds Active at Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors by Means of Electrophoretic and Potentiometric Techniques. *Analytical Sciences*. 2010;26(1):51–54. <https://doi.org/10.2116/analsci.26.51>

9. Levanov AV, Isaikina OY, Lunin VV. Dissociation constant of nitric acid. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2017;91(7):1221–1228. <https://doi.org/10.1134/S0036024417070196>

10. Meychik NR, Stepanov SI, Nikolaeva Yul. Calculating the Ionization Constant of Functional Groups of Carboxyl Ion Exchangers. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2018;92(2):265–270. <https://doi.org/10.1134/S0036024418010156>

11. Levanov AV, Kurbanova UD, Isaikina OYa, Lunin VV. Dissociation Constants of Hydrohalic Acids HCl, HBr and HI in Aqueous Solutions. *Zhurnal fizicheskoi khimii* = Journal of Physical Chemistry. 2019;93(1):86–94. (In Russian) <https://doi.org/10.1134/S0044453719010187>

12. Tanganov BB. Investigation of equilibria in non-aqueous solutions of polyacids (model and experiment). II. Thermodynamic dissociation constants of polyacids. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. = International journal of applied and fundamental research. 2011;6:55–57. (In Russian)

13. Tanganov BB, Alexeeva IA. Model for Calculating the Activity Coefficients of Electrolytes in the 0 to 16 mol/L Range of Concentrations. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2016;90(4):792–795. <https://doi.org/10.1134/S0036024416040300>

14. Tanganov BB, Alekseeva IA. A Method for Calculating the Acid-Base Equilibria in Aqueous and Nonaqueous Electrolyte Solutions. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2017;91(6):1149–1151. <https://doi.org/10.1134/S0036024417060243>

15. Tanganov BB. The method of multilevel modeling in assessing the physicochemical parameters of solvents. IV. Isothermal changes in thermodynamic functions from an ideal state. *Mezhdunarodnyi zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya* = International journal of experimental education. 2015;11(3):433–436. (In Russian)

16. Tanganov BB, Mogonov DM. The applicability of MMP in the evaluation and choice of solvent in polymer chemistry. In: *Aktual'nye problemy sovremennoi nauki. Estestvennye nauki: trudy 3-go Mezhdunarodnogo foruma molodykh uchenykh (8-i Mezhdunarodnoi konferentsii)* = Actual problems of modern science. Natural sciences: Proceedings of the 3rd International Forum of Young Scientists (8th International Conference). 20–23 November 2007, Samara. Part 7. Fizicheskaya khimiya. Samara Samara State Technical University, 2007, p. 46–49. (In Russian)

17. Krupennikova VE, Radnaeva VD, Tanganov BB. The method of multi-level modeling in the development of technology for tanning disperse systems. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy* = International journal of applied and fundamental research. 2010;2: 43–47. (In Russian)

18. Krupennikova VE, Radnaeva VD, Tanganov BB. The Study of the Dependence of Tanning Disperse System's Properties on it Components' Physical-Chemical Properties by Applying the Ma-

thematical Simulation Methods. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2011;383(1):86–89. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.02.008>

19. Tsyrenzhapov AV, Tanganov BB, Nikolaev SM. Modeling the violation of the surface-active properties of bile. *Vestnik Kazakhskogo natsional'nogo universiteta. Seriya matematika, mekhanika, informatika* = Journal of Mathematics, Mechanics and Computer Science Sciences. 2005;3: 238–243. (In Russian)

Критерии авторства

Танганов Б.Б., Могнонов Д.М. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Танганов Б.Б., Могнонов Д.М. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Танганов Борис Бадмаевич,
д.х.н., профессор,
ведущий научный сотрудник
отдела организации научных исследований,
Восточно-Сибирский государственный
университет технологий и управления,
670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40а,
Республика Бурятия, Российская Федерация,
e-mail: tanganov@rambler.ru

Могнонов Дмитрий Маркович,
д.х.н., профессор,
Восточно-Сибирский государственный
университет технологий и управления,
670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40а,
Республика Бурятия, Российская Федерация;
главный научный сотрудник,
Байкальский институт
природопользования СО РАН,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьянова, 6,
Республика Бурятия, Российская Федерация,
e-mail: dmog@binm.ru

Contribution

Boris B. Tanganov, Dmitrii M. Mogonov carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Boris B. Tanganov, Dmitrii M. Mogonov have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

AUTHORS' INDEX

Boris B. Tanganov,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
East Siberian State University of Technology
and Management,
40a, Kluchevskaya St., Ulan-Ude 670013,
Republic of Buryatia, Russian Federation,
e-mail: tanganov@rambler.ru

Dmitrii M. Mogonov,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
East Siberian State University
of Technology and Management,
40a, Kluchevskaya St, Ulan-Ude 670013,
Republic of Buryatia, Russian Federation;
Chief Researcher,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sah'yanova St., Ulan-Ude 670047,
Republic of Buryatia, Russian Federation
e-mail: dmog@binm.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 547.72:547.541.1:547.13

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-621-634>

Хиральные комплексы переходных металлов с хелатными азотными лигандами в асимметрическом гидрировании с переносом водорода

© Н.М. Бадырова, Л.О. Ниндакова

Иркутский национальный исследовательский технический университет,
г. Иркутск, российская Федерация

Резюме: Реакция каталитического гидрирования с переносом водорода ненасыщенных $C=C$ и $C=O$ связей в органических соединениях в присутствии оптически активных растворимых комплексов переходных металлов с азотсодержащими мультидентатными лигандами нашла широкое распространение в последние два десятилетия. Цель данной обзорной статьи – привести сведения по наиболее эффективным и перспективным металлокомплексным катализаторам асимметрического гидрирования с переносом водорода, предложенным в последние 10–15 лет. Поскольку активность и селективность катализаторов на основе комплексов переходных металлов в значительной степени зависят от их состава и структуры, то дизайн лигандов, наличие или отсутствие стереогенных центров, устойчивость и конфигурация хелатной системы лиганда, природа дентатных атомов в них крайне важны. Усилия ученых сосредоточены на синтезе и применении в качестве лигандов оптически активных диаминов и аминоспиртов с sp^3 -гибридизованными дентатными атомами, не подвергающимися окислению в координационной сфере переходных металлов подобно фосфиновым лигандам, сохраняя в то же время высокую стереогенность. В отдельную группу выделены оптически активные лиганды с sp^2 -азотными атомами, содержащие азометиновую связь $C=N$, оксазолиновые фрагменты, которые в комплексах с переходными металлами показывают высокую стабильность в реакции каталитического гидрирования с переносом водорода. Стереоселективность катализаторов в отдельных случаях повышается с увеличением дентатности азотсодержащих лигандов, в частности, эффективны N -гетероциклические N,H,C -лиганды в составе комплексов $Rh(III)$, $Ru(II)$ комплексы с тридентатными N,N,N -лигандами с хиральными оксазолиновыми фрагментами, C,N,N -рутениевые комплексы. В обзоре катализаторы сгруппированы по дентатности лигандов (от 2 до 6), приведены сравнительные данные по активности катализаторов и стереоселективности реакций, обсуждается влияние строения хиральных лигандов на каталитические характеристики металлокомплексов.

Ключевые слова: оптическая активность, энантиоселективность, перенос водорода, комплексы переходных металлов

Информация о статье: Дата поступления 26 апреля 2018 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Бадырова Н.М., Ниндакова Л.О. Хиральные комплексы переходных металлов с хелатными азотными лигандами в асимметрическом гидрировании с переносом водорода // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 624–634. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-621-634>

Chiral complexes of transition metals with chelating nitrogen ligands in asymmetric hydrogenation with hydrogen transfer

Nataliya M. Badyrova, Lidiya O. Nindakova

Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: The reaction of catalytic hydrogenation involving hydrogen transfer through unsaturated $C=C$ and $C=O$ bonds in organic compounds in the presence of optically active soluble complexes of transition metals with nitrogen-containing multidentate ligands has recently gained increased popularity. This review is aimed at

generalising available information on the most effective and promising metal complex catalysts for asymmetric hydrogenation involving hydrogen transfer, which have been proposed in the past 10–15 years. Since the activity and selectivity of catalysts based on transition metal complexes are largely dependent on their composition and structure, the design of ligands, the presence or absence of stereogenic centres, the stability and configuration of the chelating ligand system, the nature of the dentate atoms present therein are extremely important. Researchers worldwide have been largely focused on the synthesis and use such ligands, as optically active diamines and aminoalcohols with sp^3 -hybridized dentate atoms. These compositions are not oxidized in the coordination sphere of transition metals compared to phosphine ligands, at the same time as maintaining a high level of stereogenicity. Optically active ligands with sp^2 nitrogen atoms containing the C = N azomethine bond and oxazoline fragments have been considered as a separate group. In complexes with transition metals, these ligands exhibit a high stability in the catalytic hydrogenation reaction with hydrogen transfer. The stereoselectivity of catalysts in some cases increases with an increase in the denticity of nitrogen-containing ligands. Among them are N-heterocyclic N, H, C–ligands in the Rh (III) complexes; Ru (II) complexes with tridentate N, N, N–ligands with chiral oxazoline fragments; C, N, N–ruthenium complexes. In this review, we grouped catalysts by ligand denticity (from 2 to 6). Comparative data on the activity of various catalysts and the stereoselectivity of respective reactions is provided. The effect of the structure of chiral ligands on the catalytic characteristics of metal complexes is discussed.

Keywords: optical activity, enantioselectivity, hydrogen transfer, transition metal complexes

Information about the article: Received April 26, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Badyrova NM, Nindakova LO. Chiral complexes of transition metals with chelating nitrogen ligands in asymmetric hydrogenation with hydrogen transfer. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):621–634. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-621-634>

Список сокращений и аббревиатур:

BINAP – 2,2'-бис-(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил;

DIOP – 4,5-бис-(дифенилфосфинометил)-2,2-диметилдиоксолан;

TsDPEN – (N-(*p*-толуолсульфонил)-1,2-дифенилэтилендиамин;

TsCYDN – (N-(*p*-толуолсульфонил)-1,2-циклогександиамин;

Cr* – тетраметилциклопентадиенил;

ТЭАФ – формиат триэтиламония;

и.э. – избыток энантиомера, %.

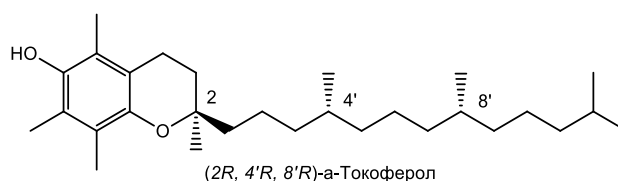
ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время каталитическое асимметрическое гидрирование с переносом водорода (АГПВ) является вторым по важности методом восстановления после гидрирования молекулярным водородом [1–7]. Гидрирование с переносом водорода (ГПВ) от источников – атом-эффективная реакция, экономически выгодная и приемлемая экологически. Исследователей привлекает очевидная экспериментальная простота этого подхода.

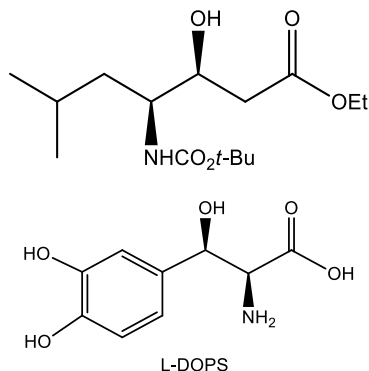
Для создания N, N- и N, O-хелатных металлокомплексных катализаторов ГПВ значительные усилия были потрачены на разработку методов синтеза оптически активных хиральных диаминов и аминокислот, применяемых в качестве лигандов. В частности, фундаментальным вкладом в разработку хиральных катализаторов являются хорошо известные классические рутениевые катализаторы Нойори, которые содер-

жат лиганды (*R,R*)- и (*S,S*)-N-(толуолсульфонил)-1,2-дифенилдиаминоэтан [8]. При асимметрическом восстановлении арилкетонов либо в 2-пропанол, либо в смеси муравьиной кислоты и триэтиламина катализаторы действуют по бифункциональному металл-лигандному внешнесферному механизму [8, 9]. Эти катализаторы были применены в промышленности.

Реакция ГПВ C=O и C=C связей в органических соединениях является ключевой стадией во множестве промышленных процессов, позволяя получить оптически активный продукт (или полупродукт) с высоким избытком энантиомера (и.э.). В частности, витамин E, (*2R,4'R,8'R*)- α -токоферол, получают в несколько стадий, при этом асимметрическая изомеризация исходного аллиламина и асимметрическое гидрирование промежуточного продукта – аллилового спирта, катализируются хиральным Ru-BINAP-комплексом [10].



Комплекс рутения $[\text{RuCl}(\text{S-BINAP})](\text{C}_6\text{H}_6)\text{Cl}$ катализирует асимметрическое гидрирование в стадии синтеза хиральных мономеров для деградируемых биополимеров, а также в промышленном синтезе интермедиатов антибиотиков на основе β -лактама [10, 11].



Высокий потенциал Ru-BINAP катализатора был продемонстрирован в получении множества лекарственных препаратов и их интермедиатов. Например, статин – лекарство для понижения холестерина, или L-трео-3,4-дигидроксибензилсерин (L-DOPS), применяемый для коррекции артериального давления [11, 12], синтезированы с участием названного катализатора.

В последние два десятилетия широкое развитие получил синтез оптически активных диаминов и аминокислот с sp^3 -гибридизованными азотными дентатными атомами, не подвергаю-

щихся окислению в координационной сфере переходных металлов, но в то же время сохраняющих высокую стереогенность [8, 13, 14]. Диапазон катализируемых реакций также заметно расширился. Поскольку активность и селективность хиральных комплексов переходных металлов в асимметрическом ГПВ (АГПВ) в значительной степени зависят от их структуры, тщательный выбор дизайна лигандов крайне важен.

В настоящем обзоре приведены данные по наиболее эффективным металлокомплексным катализаторам АГПВ, разработанным в последние 10–15 лет. Лиганды сгруппированы по дентатности с акцентом на азотсодержащие соединения.

Хиральные лиганды для асимметрического гидрирования с переносом водорода.

Бидентатные лиганды. Самые популярные катализаторы для ГПВ – комплексы Ru, Rh и Ir, содержащие различные типы лигандов с атомами азота, фосфора, кислорода и серы в качестве дентатных, например, металл-N-гетероциклические, полусэндвичевые, мультидентатные и их комбинации.

Машима с соавторами [7] установили, что комплексы: $\eta^5\text{-Cp}^*\text{-RuCl}_2(\text{TsDPEN})$, 1, [15], $\eta^5\text{-Cp}^*\text{MCl}(\text{TsDPEN})$, где M = Rh (2), Ir (3), TsDPEN (4), изоэлектронны с комплексом ($\eta^6\text{-arene}$)RuCl(TsDPEN), 5, эффективным в АГПВ кетонов и иминов [8], что вызвало последующие исследования комплексов: 2, 3 и 5 [9], а также комплексов с 1, 2 – TsCYDN 6 [16] и β -аминоспиртами 7 [17]. (рис. 1).

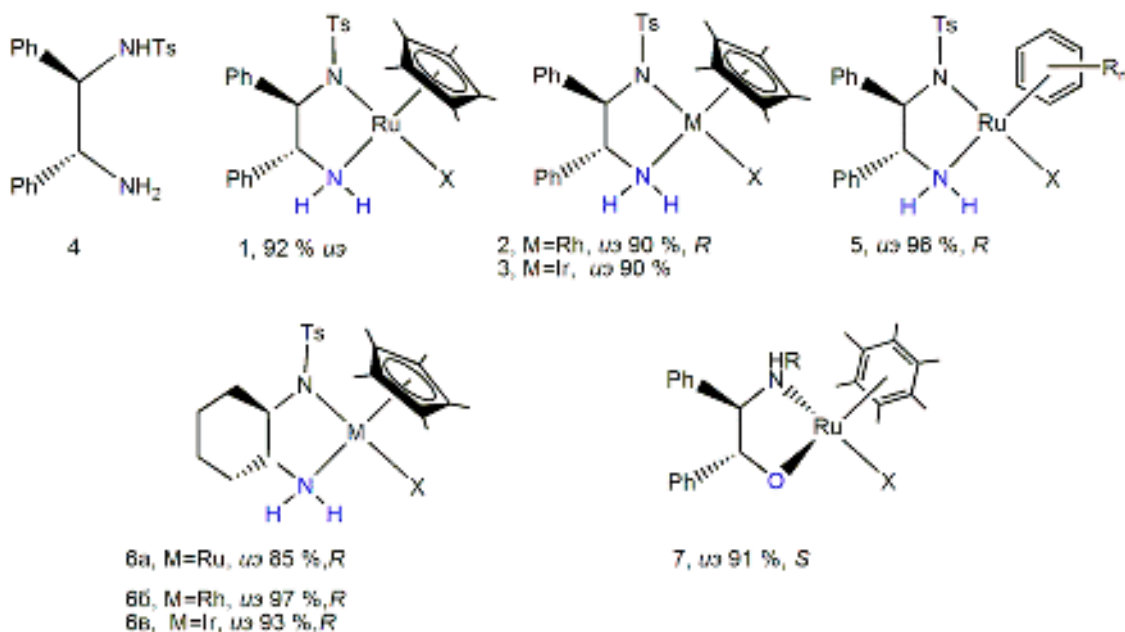


Рис. 1. Ареновые и пентаметилциклопентадиеновые комплексы с лигандами TsDPEN 4 и TsCYDN 6

Fig. 1. Arene and pentamethylcyclopentadiene complexes with ligands TsDPEN 4 and TsCYDN 6

Комплексы 2 и 3 с (1*S*,2*S*)-TsDPEN-лигандом являются прекурсорами катализатора АГПВ ацетофенона (АФ), 2-ацетонафтона, 1-тетралона и 1-инданона и приводят к образованию (*S*)-1-фенилэтанола (90 % *у.э.*), (*S*)-1-(2-нафтил)-этанола (85 % *у.э.*), (*S*)-1-тетралолола (97 % *у.э.*) и (*S*)-инданолола (99 % *у.э.*) соответственно [17]. Комплексы 6а, б, в получены взаимодействием (*R,R*)-TsCYDN с [RuCl₂(*p*-cymole)]₂ 8, [Cr*RhCl₂]₂ 9а, и [Cr*IrCl₂]₂ 9б соответственно при 40 °С в течение часа. Конфигурация *у.э.* и 1-фенетолола

приведены на рис. 1.

α-Хлорированный ацетофенон, медленно восстанавливающийся в присутствии Ru-BINAP-комплекса, легко гидрируется на комплексе 3 смесью триэтиламин:формиат (ТЭАФ) [18] (рис. 2). Оптически активный хлор-1-фенилэтанол преобразуется в хиральный оксид стирола при обработке 4М водным раствором NaOH без потери *у.э.* В частности, оксид (*S*)-*m*-хлорстирола, ключевой интермедиат для синтеза β-3-адреноблокаторов, легко образуется по этой реакции.

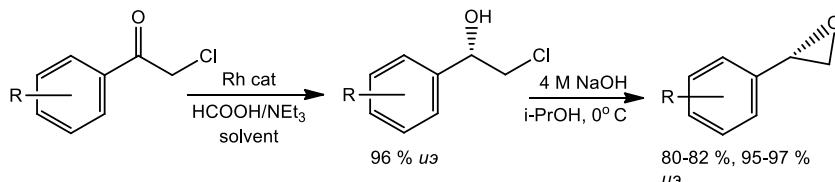


Рис. 2. АГПВ α-хлорацетофенонов на хиральном комплексе 3 и получение оксида (*S*)-*m*-хлорстирола

Fig. 2. ATH of α-chloroacetophenones over chiral complex 3 and obtaining of (*S*)-*m*-chlorostyrene oxide

Лекарственные антигистаминные препараты – бепотастина бесилат и карбиноксамин – содержат замещенный (*S*)-4-хлорфенилпиридилметанольный фрагмент. Проведено АГПВ замещенных арил-*N*-гетероарилкетонов в присутствии легкодоступного диаминового комплекса иридия (*S,S*)-10 и формиата натрия в каче-

стве источника водорода в смеси H₂O / 2-PrOH (об./об. = 1 : 1). Оптически активные арил-*N*-гетероарилметанолы были получены с 98,2 % *у.э.* введением *N*-оксида в качестве удаляемого орто-заместителя (рис. 3). Методика успешно применена в синтезе безилата бепотастина с общим выходом 51 % и 99,9 % *у.э.* [19].

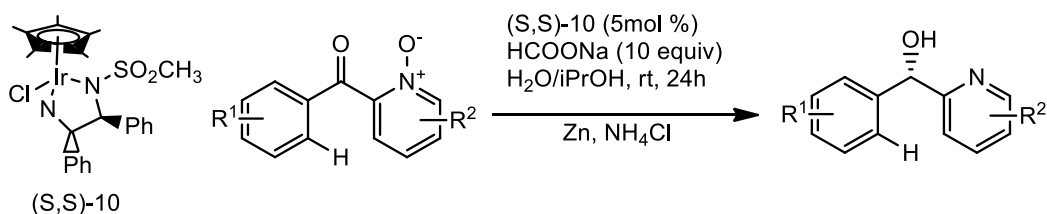


Рис. 3. Синтез оптически активных арил-*N*-гетероарилметанолов

Fig.3. Synthesis of optically active aryl-*N*-heteroarylmethanols

Большое разнообразие природных аминокислот привело к интенсивному исследованию систем [Ru^{II}(арен)(β-аминосирт)] для замены сложных в синтезе хиральных диаминов на аминокислоты, повышения активности катализатора и расширения сферы реакции АГПВ. Комплекс рутения (II) 7, формирующийся *in situ* из [RuCl₂(η⁶-C₆Me₆)]₂, (1*S*,2*S*)-2-метиламино-1,2-дифенилэтанола 11 и КОН – эффективный катализатор для АГПВ производных АФ в (*S*)-энантиомеры с *у.э.* 91 % [17].

Природа заместителя R¹ в аминокислотах на основе (1*S*,2*R*)-норэфедрина (11а, б, в) существенно влияет на эффективность комплекса [Ru^{II}(бензол)(β-аминосирт)] в реакции АГПВ *трет*-бутилацетофенона [20] (рис. 4). Высокая скорость реакции наблюдалась в при-

сутствии эфедрина 11а с *у.э.* 44 % (*S*)-энантиомера продукта, соответствующий первичный амин 11б приводил к *у.э.* 32 %, *N*-бензилзамещенный лиганд 11в вызвал увеличение *у.э.* до 68 %.

В присутствии комплекса [RuCl₂(η⁶-*p*-cymene)]₂ и лиганда (1*R*,2*S*)-(+)-*цис*-1-амино-2-инданол, (1*R*,2*S*)-(+)- 12 в 2-пропанол при комнатной температуре с 70 % выходом и 91 % *у.э.* образуется *S*-(-)-1-фенилэтанол [21]. *п*-Цимол превосходит бензол и мезитил в серии ароматических групп в составе катализатора. С этим же комплексом рутения с β-аминосиртом на основе изосорбида 13 (см. рис. 3) в АГПВ АФ получено 94 % конверсии и 91 % *у.э.* (*S*)-1-фенилэтанола. С комплексом [Ir(cod)Cl]₂ получены более скромные результаты – 51 % *у.э.* [22].

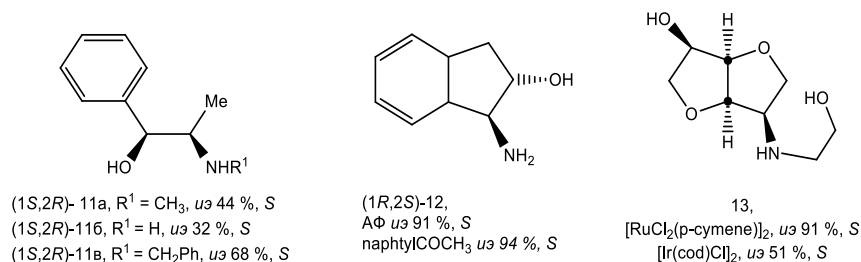


Рис. 4. Хиральные аминокспирты на основе природных соединений

Fig. 4. Chiral amino alcohols based on natural compounds

В органическом синтезе часто применяются природные монотерпены, (-)-α- и (-)-β-пинены и (+)-лимонен [23, 24]. В качестве ценного компонента в пищевых добавках, лекарственных препаратах, косметике и агрохимикатах [25] широко применяются оба энантиомера лимонена и дипентен. С химической точки зрения лимонен привлекателен как исходный реагент для синтеза хиральных лигандов. Например, разработан синтетический путь к новому семейству энантиомерно чистых моно-*N*-тозилированных 1,2-диаминов на основе (R)-(+)-лимонена, (+)-14. Лиганды в составе рутениевых комплексов 15, 16 эффективны в АГПВ ароматических кето-

нов и иминов. В частности, в присутствии комплекса 15 получены *и.э.* до 93 % в ГПВ АФ (рис. 5).

Комплексы Rh (III) и Ir (III), изоэлектронные Ru (II) комплексам, эффективны в АГПВ ряда кетонов и иминов. Например, родиевые комплексы с диаминами и аминокспиртами в качестве лигандов были запатентованы фирмой *Avesia* (Великобритания) [26] и коммерциализированы под названием «CATHy» (Catalytic Asymmetric Transfer Hydrogenation), 17 [11]. Катализатор «CATHy», как и его рутениевый аналог, активны в восстановлении кетонов и иминов формиатными системами (рис. 6).

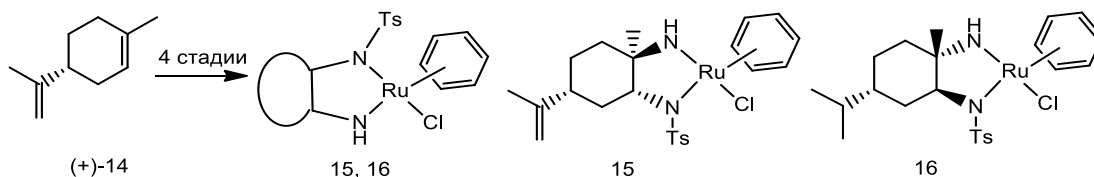


Рис. 5. Рутениевые комплексы с лигандами на основе (R)-(+)-лимонена

Fig. 5. Ruthenium complexes with ligands based on (R) - (+) – limonene

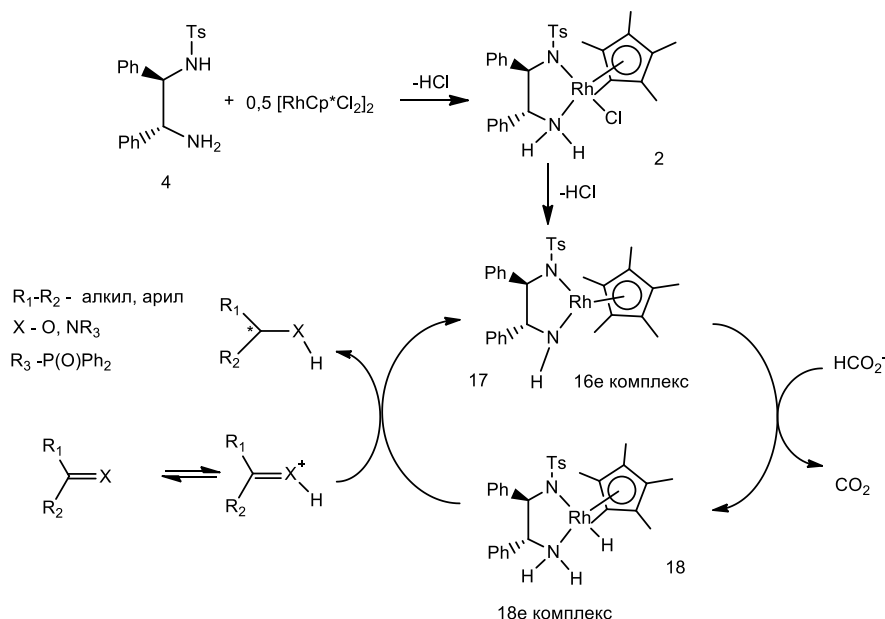


Рис. 6. Формирование катализатора CATHy и предполагаемый механизм процесса АГПВ

Fig. 6. CATHy catalyst formation and the proposed mechanism of ATH process

Электронный комплекс 17, образующийся по схеме, представленной на рис. 6, при взаимодействии с формиат-анионом переходит в гидридный комплекс 18, который в АГПВ пара-фтор-ацетофенона приводит к (S)-1-пара-фторфенилэтанолу с *у.э.* 96 %, а в АГПВ тетралона комплекс 1-(R)-амино-2-(S)-гидроксилинданилпентаметилциклопентадиенилродий (III)-хлорид, 19, дает (R)-1-тетралол с *у.э.* 97 %, частота оборотов катализатора составляет 500–2500 ч⁻¹ [11] (рис. 7).

Результаты, полученные при восстановле-

нии большого ассортимента производных АФ с использованием комплексов типа [RuCl₂(дифосфин)(диамин)], хорошо известны, так как обсуждаемые катализаторы Нойори впоследствии нашли широкое применение в промышленности [27].

Утепова с сотрудниками [28] изучала хиральные ферроценильные лиганды типа 20 в сочетании с комплексом RuCl₂(PPh₃)₃ в АГПВ ацетофенона. (R)-1-фенилэтанол выделен с 20 % выходом и *у.э.* более 99 % (рис. 8).

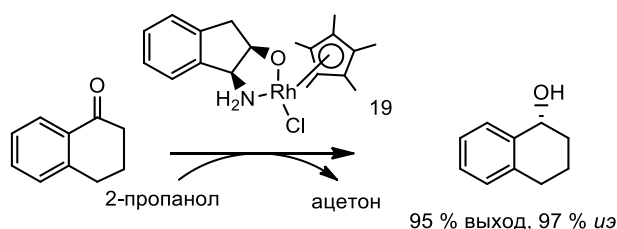


Рис. 7. ГПВ тетралона на комплексе 1-(R)-амино-2-(S)-гидроксилинданилпентаметилциклопентадиенилродий (III)хлорид

Fig. 7. ATH of tetralone over complex 1- (R) -amino-2- (S) –hydroxylindanylpentamethylcyclopentadienylrhodium (III)chloride

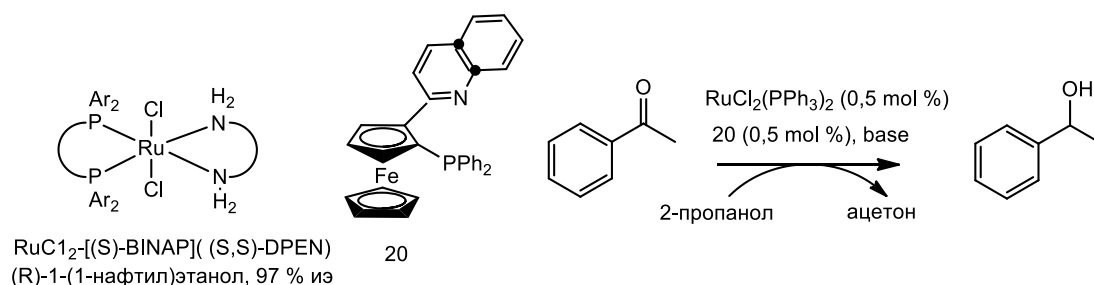


Рис. 8. Комплексы рутения с лигандами (S)-BINAP, (S,S)-DPEN) и 20

Fig. 8. Ruthenium complexes with ligands (S)-BINAP, (S,S)-DPEN) and 20

Триденатные лиганды. В качестве триденатных оптически активных лигандов в катализируемом RuCl₂(PPh₃)₃ АГПВ АФ от 2-пропанола Бруннером с коллегами [29] были оценены пиридиновые производные аминафтаола – образующийся при взаимодействии (S)-амино-

нафтаола с 2-пиридинкарбоксальдегидом имин (S)-2-(2-пиридинилметиленамино)-2'-гидрокси-1,1'-бинафтил, (S)-21 и полученный восстановлением последнего амин (S)-2-(2-пиридинилметиленамино)-2'-гидрокси-1,1'-бинафтил, (S)-22 (рис. 9).

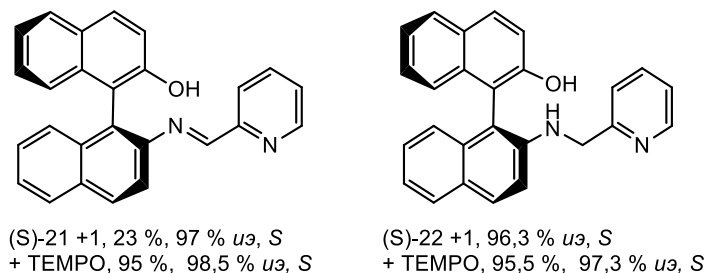


Рис. 9. Химические структуры триденатных N,N,O-лигандов на основе 2-амино-1,1'-бинаффт-2-ола и пиридинового остатка

Fig. 9. Chemical structures of tridentate N, N, O – ligands based on 2-amino-1,1'-binaphth-2-ol and pyridine residue

(S)-1-фенилэтанол образуется с *у.э.* 96,3 % на комплексе Ru с (S)-22 при 28 °C [30]. Основание Шиффа (S)-21 в тех же условиях приводит к (S)-1-фенилэтанолу с *у.э.* в 97 %. Добавление 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксида (TEMPO) и триметиламиноксида (ТМАО) вызывает повышение *у.э.* до 98,5 % *у.э.*, вероятно, в результате окисления добавками свободного PPh₃ и последующего сдвига равновесия диссоциации комплекса рутения до менее насыщенных комплексов (см. рис. 9).

Кларк и др. применяли комплекс рутения с тридентатным фосфиндиаминовым *P, N, N*-лигандом 23 для восстановления кетонов со стерически затрудненными заместителями. В АГПВ трет-бутилфенилкетона достигнута энантиоселективность до 77 % *у.э.* (S)-продукта [31]. Более селективным и активным был комплекс, генерирующийся *in situ* из лиганда 23 и комплекса [IrCl(cod)]₂. Выход продуктов в 100 % получен

в АГПВ циклогексилфенилкетона и 4-пиперидинфенилкетона, с *у.э.* 95 и 98 %, соответственно (рис. 10).

Грюцмахер с коллегами синтезировал уникальный бис-олефиндиаминовый лиганд 24, содержащий кроме DPEN остова, два дибензоциклопентильных фрагмента, что обеспечивало тридентатное *N, N, C = C*-связывание в комплексе Ir(I) [32]. Энантиоселективность реакции ГПВ АФ в присутствии комплекса составляет 82 % *у.э.* (рис. 11).

Катионный комплекс родия с *N*-циклогекс-3-ен-1-ил-5*H*-дибензо-[a,d]-циклопентен-5-иламином 25 – высокоактивный катализатор АГПВ АФ. Этанол, редко применяющийся в качестве источника водорода, неожиданно оказался наиболее результативным в ряду изученных спиртов. Даже в условиях низкой загрузки комплекса (Sub/Cat = 100000) ряд кетонов восстанавливается с выходом 98 % и TOF₅₀ до 750000 ч⁻¹.

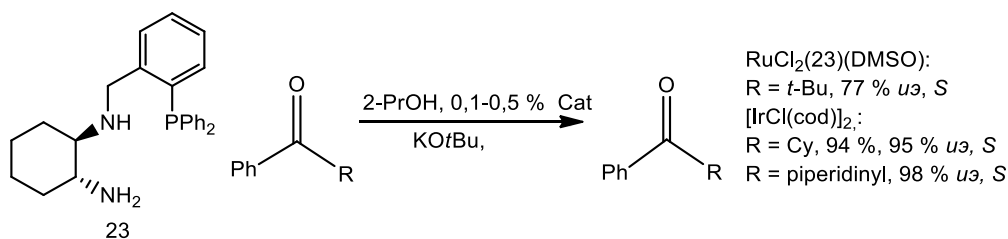


Рис. 10. АГПВ кетонов на комплексах Ru (II) и Ir (I) с *N, N, P*-лигандом 23

Fig. 10. ATH of ketones over complexes Ru (II) and Ir (I) with *N, N, P*-ligand 23

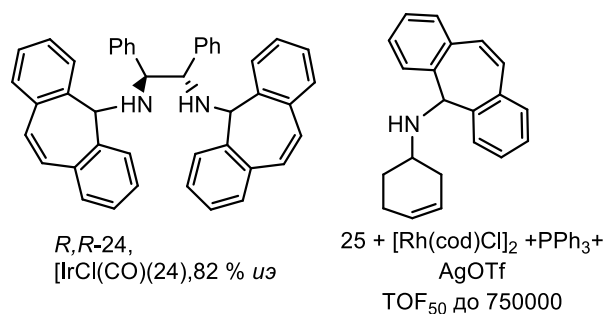


Рис. 11. Тридентатные *N, N, C = C* – и *C = C, N, C = C*-лиганды и эффективность их иридиевых и родиевых комплексов

Fig. 11. Tridentate *N, N, C = C* – and *C = C, N, C = C*-ligands and the effectiveness of their iridium and rhodium complexes

Катализаторы на основе Rh (III), структурные аналоги катализаторов Нойори, содержащие в координационной сфере тетраметилциклопентадиенильные группы, «связанные» («tethered») с тозилдиаминовыми лигандами для увеличения жесткости комплексов (рис. 12), были предложены группой Уиллса [33, 34] для АГПВ кетонов, иминов и других функционализированных субстратов.

Rh (III)-комплексы с лигандами TsDPEN, 26,

и TsCYDN-лигандами, 27, 28, структурно аналогичные рутениевым 29 [35], являются стабильными катализаторами восстановления кетонов с высокими значениями *у.э.* и TON. С комплексом 26, в частности, процесс восстановления завершается для АФ через 100 мин при отношении Sub/Cat = 200, превосходя «nontethered» аналог по характеристикам. Комплексы 26 и 27 эффективно восстанавливают β-хлорокетоны, тетралон, а также проявляют

активность в воде. Комплекс (R,R)-28 высоко активен в АГПВ производных АФ в присутствии ТЭАФ (рис. 13).

Асимметрическое восстановление производ-

ного АФ 30 открывает путь к 2-амино-1-фенил-этанолу 31 – ценному строительному блоку для получения различных фармацевтических соединений [36] (рис. 14).

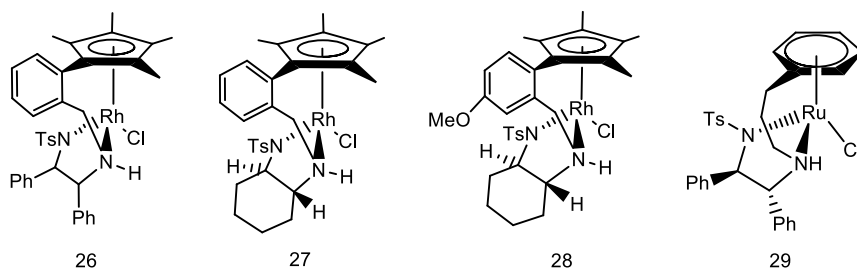


Рис. 12. Тетраметилциклопентадиенильные комплексы Rh (III) с «tethered» тозилдиаминовыми лигандами

Fig. 12. Tetramethylcyclopentadienyl complexes of Rh (III) with «tethered» tosyl-diamine ligands

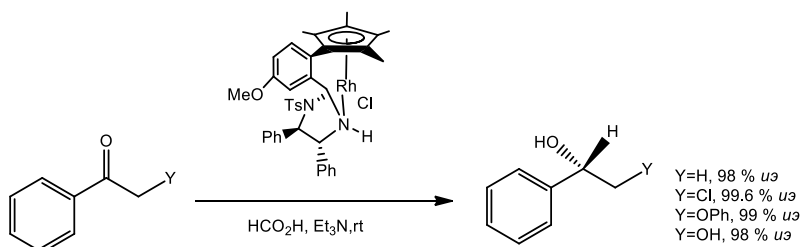


Рис. 13. АГПВ производных АФ в присутствии комплекса (R,R) 28

Fig. 13. ATH of derivatives of APh in the presence of the complex (R, R) 28

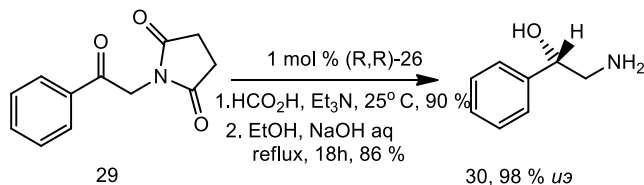


Рис. 14. Асимметрический каталитический синтез 2-амино-1-ФЭ и АГПВ метилфенилформиатов на комплексах (R,R) 26

Fig. 14. Asymmetric catalytic synthesis of 2-amino-1-PhE and ATH of methyl phenyl formates over complexes (R, R) 26

Диегесом и коллегами [0] представлены лиганды на основе тиаминов аминокислот. С системой {32 – [Cp*RhCl₂]} наблюдалось количественное превращение АФ в присутствии NaOiPr и LiCl с и.э. до 94 % S-энантиомера. Ге-

тероароматические прохиральные кетоны, например м-метоксиацетофенон и 2-пиридилметилкетон, трансформируются в соответствующие спирты с высоким и.э.: 97 % R и 99 % S соответственно (рис. 15).

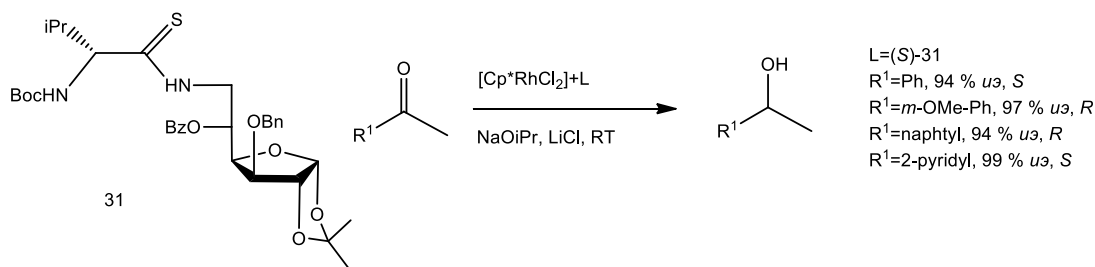


Рис. 15. Гидрирование кетонов с системой {31 – [Cp*RhCl₂]}

Fig. 15. Hydrogenation of ketone with system {31 – [Cp*RhCl₂]}

Тетрадентатные лиганды. Гао и коллеги [0] применили тетрадентатные *P,N,N,P*-лиганды 32, 33 и 34, в АГПВ, катализируемом комплексами гидридами Ir или Rh (рис. 16). Одной из наиболее эффективных была каталитическая система $[\text{IrH}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3 + 33]$ с конверсией 99 и 97 % *у.э.*

Большое внимание привлекают исследования, где в качестве катализаторов используются комплексы относительно дешевых переходных металлов (Fe, Co и Ni), являющихся альтернативой драгоценным металлам (рис. 16, 17). Однако о процессах АГПВ, катализируемых такими комплексами, сообщается одинаково редко [39–41].

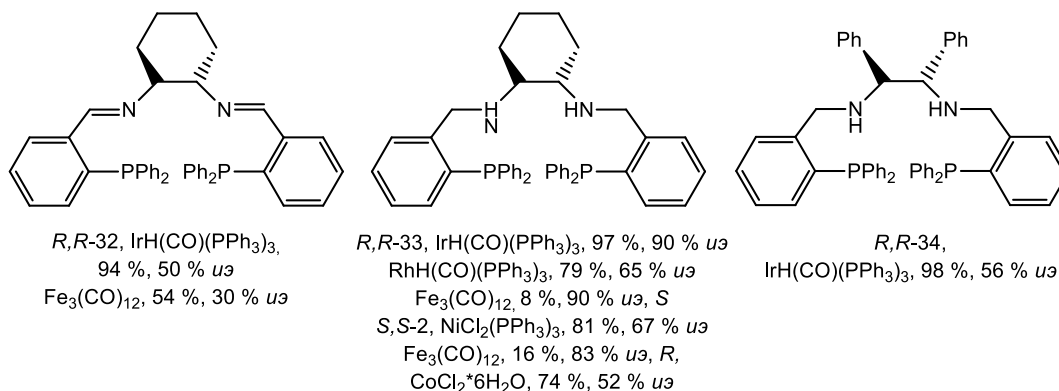


Рис. 16. Эффективность тетрадентатных *P, N, N, P* – донорных лигандов с комплексами родия (I) и иридия (I) в АГПВ АФ

Fig. 16. Efficiency of tetradentate *P, N, N, P* – donor ligands with complexes of rhodium (I) and iridium (I) in ATH of APh

Взаимодействие лигандов *N, P*, O-типа, 35 и 36, а также S,S-33 с комплексом $\text{Ni}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ приводит к образованию катализаторов АГПВ ряда кетонов [39, 40] (рис. 17). Для лиганда S,S-33 конверсия составляет 81 % при *у.э.* 67 % (условия реакции: $T = 70^\circ\text{C}$; Sub/Ni = 100; $t = 20\text{--}26$ ч, см. рис. 16). Несмотря на то что

каталитическая активность и стереоселективность *in situ* комплексов Ni уступают характеристикам комплексов Ru и Ir с аналогичными лигандами, следует признать успешность этих исследований, учитывая экономические перспективы, появляющиеся с применением неблагородных металлов.

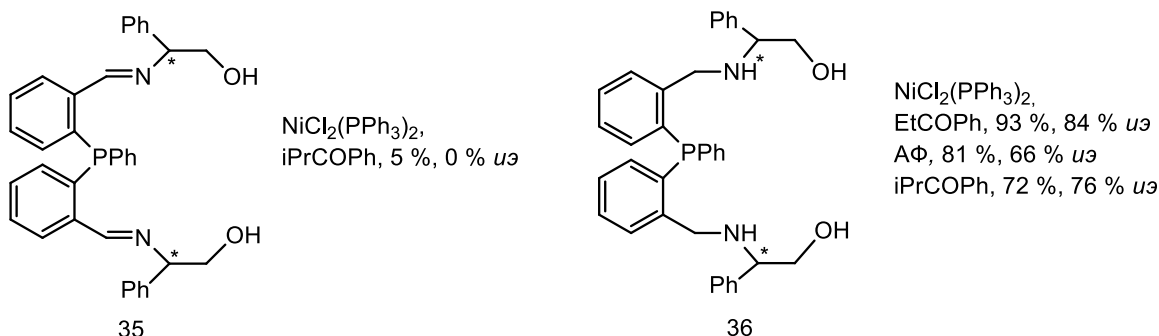


Рис. 17. Эффективность комплексов никеля в АГПВ АФ [39, 40]

Fig. 17. Efficiency of nickel complexes in ATH of APh [39, 40]

В начале 2004 г. появилось первое сообщение об АГПВ кетонов с катализатором, образующимся *in situ* из карбонильного кластера $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$, и оптически активного лиганда *P, N, N, P*-типа [41]. Несколько позднее для процесса был предложен уже ряд лигандов *P, N, N, P*- и N_4P_2 -типа, эффективно контролирующей стереохимию на атоме Fe, эффективно передавая хиральную информацию [42]. Среди предложенных лигандов выделяется 22-х членный циклический аминоксифосфин (*R,R,R,R*)-37,

высокоэнантиоселективный в сочетании с карбонильным трехядерным кластером $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$ (рис. 18). Универсальность катализатора демонстрируется высокой эффективностью как в гидрировании кетонов молекулярным водородом, так и в АГПВ. Ряд ароматических и гетероароматических кетонов, а также β -кетозфиров гладко восстанавливаются с *у.э.* до 99 %. Величина TOF находится в диапазоне значений 660–1900 ч^{-1} , а отношение Sub/Fe составляет 2000–5000 [43].

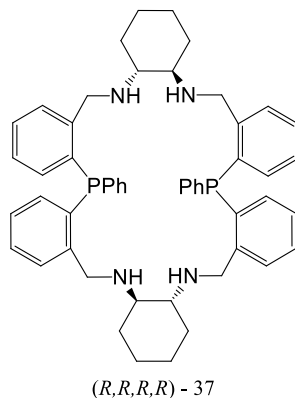


Рис. 18. Хиральный лиганд PNP-типа (R, R, R, R) -37

Fig. 18. PNP Type Chiral Ligand (R, R, R, R) -37

АГПВ кетонов, катализируемое карбонил-гидридом $\text{RhH}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3$ в присутствии макроциклического аминоксифина (R,R,R,R)-37, проходило на воздухе с высокой каталитической активностью. Молярное отношение субстрата к катализатору достигало 2000:1, выход – 92 % *у.э.* [44]

Та же группа исследователей [45] применила хиральные S, N, N, S-лиганды 38a, 39. S, N, N, S-лиганд (R,R-386) в сочетании с $[\text{Ir}(\text{cod})(\text{PPh}_3)\text{Cl}]$, в АГПВ АФ от 2-PrOH приводит к 83 % *у.э.* (S)-1-фенилэтанола, гидрирование пропиофенона дает *у.э.* 86 % S-продукта, за-

трудненные кетоны (циклогексилфенон, *i*-пропилфенон, *p*- и *m*-хлорацетофеноны) были восстановлены в АГПВ с *у.э.*, % (96 R, 95 S, 71 S и 58 S) (рис. 19).

Использование лиганда (S,S)- и (R,R)-39 со сдвоенными тионильными группами с комплексом $\text{IrCl}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2$ в АГПВ затрудненных кетонов вызывает некоторое ухудшение результатов (циклогексилфенон – 90 % *у.э.* R-продукта, *i*-пропилфенон – 90 % *у.э.* S-продукта) [45]. Диимин (R,R)-38a в сочетании с $\text{IrCl}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2$ малоэффективен в АГПВ АФ (27 % конверсии за 17 ч и 5 % *у.э.*).

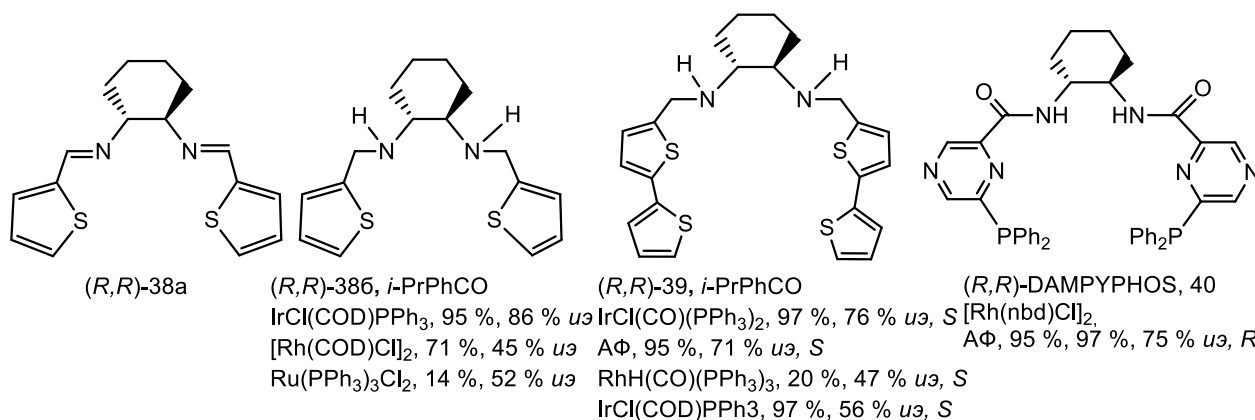


Рис. 19. Эффективность тетраденатных S, N, N, S- и P, N, N, P-донорных лигандов с комплексами родия (I) и иридия (I) в АГПВ АФ [46]

Fig. 19. Efficiency of tetradentate S, N, N, S and P, N, N, P donor ligands with complexes of rhodium (I) and iridium (I) in ATH APh [46]

О синтезе высоко устойчивого на воздухе и в водной фазе гидрофильного фосфина на основе пиразинового фрагмента, (R,R)-DAMPYPHOS, 40, для катализируемого комплексами рутения(II) и родия(I) АГПВ АФ сообщили Никишкин и др. [46]. Нейтральность выгодно отличает лиганд от распространенных сульфонирированных триарилфосфинов, пока-

завших ряд недостатков, среди которых их чувствительность к pH раствора [47], а также снижение стабильности комплекса из-за кулоновского межлигандного отталкивания в результате накопления заряда в координационной сфере металла [48]. Оптимизация условий реакции для системы $\{\text{Rh}_2(\text{nbd})_2\text{Cl}_2 - (\text{R,R})-40\}$ привела к количественному выходу продукта с

и.э. до 75 % (R)-энантиомера.

Хиральные макроциклические лиганды O, N, N, O-типа, синтезированные по реакции 1,3-бис-(2-формилфенокси)-2-пропанола с CYDN с гидридным комплексом $[\text{IrHCl}_2(\text{cod})]_2$ *in situ* в АГПВ ароматических кетонов, приводят к соответствующим оптически активным спиртам с

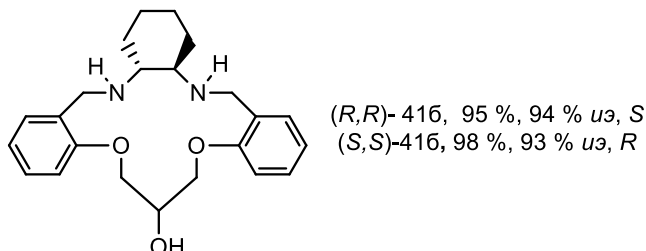
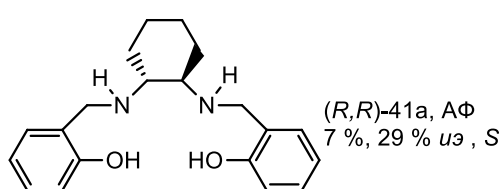


Рис. 20. Эффективность тетраденатных O, N, N, O- донорных лигандов с $[\text{IrHCl}_2(\text{cod})]_2$ в АГПВ АФ [49]

Fig. 20. Efficiency of tetradentate O, N, N, O donor ligands with $[\text{IrHCl}_2(\text{cod})]_2$ in ATH APh [49]

Таким образом, преимущества азотсодержащих лигандов перед фосфорными аналогами заключаются как в доступности, простоте получения и выделения, устойчивости к деструкции и окислению в координационной сфере переходного металла, так и в не уступающей фосфорсодержащим лигандам активности и селек-

тивности их металлокомплексов. Для замены известных своей эффективностью, но дорогих и менее стабильных моно- и дифосфиновых лигандов в комплексах переходных металлов хиральные N-донорные лиганды на основе природных хиральных соединений имеют особую привлекательность.

REFERENCES

1. Ito J-I, Nishiyama H. Recent topics of transfer hydrogenation. *Tetrahedron Lett.* 2014;55:3133–3146. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.03.140>
2. Wang D, Astruc D. The Golden Age of Transfer Hydrogenation. *Chemical Reviews.* 2015;115:6621–6686. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00203>
3. Václavík J, Šot P, Vilhanová B, Pecháček J, Kuzma M, Kačer P. Practical Aspects and Mechanism of Asymmetric Hydrogenation with Chiral Half-Sandwich Complexes. *Molecules.* 2013;18(6):6804–6828. <https://doi.org/10.3390/molecules18066804>
4. Foubelo F, Nájera C, Yus M. Catalytic asymmetric transfer hydrogenation of ketones: recent advances. *Tetrahedron: Asymmetry.* 2015;26(15-16):769–790. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2015.06.016>
5. Noyori R. Asymmetrische Katalyse: Kenntnisstand und Perspektiven (Nobel-Vortrag). *Angewandte Chemie.* 2002;114(12):2108–2123. [https://doi.org/10.1002/1521-3757\(20020617\)114:12<2108::AID-ANGE2108>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1521-3757(20020617)114:12<2108::AID-ANGE2108>3.0.CO;2-Z)
6. Knowles WS. Asymmetrische Hydrierungen (Nobel-Vortrag). *Angewandte Chemie.* 2002;114(12):2096–2107. [https://doi.org/10.1002/1521-3757\(20020617\)114:12<2096::AID-ANGE2096>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1521-3757(20020617)114:12<2096::AID-ANGE2096>3.0.CO;2-Z)
7. Mashima K, Abe T, Tani K. Asymmetric Transfer Hydrogenation of Ketonic Substrates Catalyzed by $(\eta^5\text{-C}_5\text{Me}_5)\text{MCl}$ Complexes (M = Rh and Ir) of (1S,2S)-N-(p-Toluenesulfonyl)-1,2-diphenylethylenediamine. *Chemistry Letters.* 1998;27(12):1199–1200. <https://doi.org/10.1246/cl.1998.1199>
8. Ikariya T, Murata K, Noyori R. Bifunctional transition metal-based molecular catalysts for asymmetric synthesis. *Organic and Biomolecular Chemistry.* 2006;4(3):393–406. <https://doi.org/10.1039/B513564H>
9. Ikariya T, Blacker AJ. Asymmetric Transfer Hydrogenation of Ketones with Bifunctional Transition Metal-Based Molecular Catalysts. *Accounts of Chemical Research.* 2007;40(12):1300–1308. <https://doi.org/10.1021/ar700134q>
10. Akutagawa S. Asymmetric synthesis by metal BINAP catalysts. *Applied Catalysis A: General.* 1995;128(2):171–207. [https://doi.org/10.1016/0926-860X\(95\)00097-6](https://doi.org/10.1016/0926-860X(95)00097-6)
11. Blaser H, Schmidt E. *Asymmetric Catalysis on Industrial Scale: Challenges, Approaches and Solutions.* Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, 2004, 454 p. <https://doi.org/10.1002/9783527630639>
12. Murphy SK, Dong VM. Enantioselective Ketone Hydroacylation Using Noyori's transfer Hydrogenation Catalyst. *Journal of the American Chemical Society.* 2013;135(15):5553–5556. <https://doi.org/10.1021/ja4021974>
13. Ito M, Hirakawa M, Murata K, Ikariya T. Hydrogenation of Aromatic Ketones Catalyzed by $(\eta^5\text{-C}_5(\text{CH}_3)_5)\text{Ru}$ Complexes Bearing Primary Amines. *Organometallics.* 2001;20(3):379–381. <https://doi.org/10.1021/om000912+>

14. Wang T, Zhuo L-G, Li Z, Chen F, Ding Z, He Y, et al. Highly Enantioselective Hydrogenation of Quinolines Using Phosphine-Free Chiral Cationic Ruthenium Catalysts: Scope, Mechanism, and Origin of Enantioselectivity. *Journal of the American Chemical Society*. 2011;133(25):9878–9891. <https://doi.org/10.1021/ja2023042>
15. Wu XF, Vinci D, Ikariya T, Xiao J. A remarkably effective catalyst for the asymmetric transfer hydrogenation of aromatic ketones in water and air. *Chemical Communication*. 2005;35:4447–4449. <http://doi.org/10.1039/B507276J>
16. Malacea R, Poli R, Manoury E. Asymmetric hydrosilylation, transfer hydrogenation and hydrogenation of ketones catalyzed by iridium complexes. *Coordination Chemistry Reviews*. 2010;254(5-6):729–752. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.09.033>
17. Takehara J, Hashiguchi S, Fujii A, Inoue S, Ikariya T, Noyori R. Amino alcohol effects on the ruthenium(II)-catalysed asymmetric transfer hydrogenation of ketones on propan-2-ol. *Chemical Communication*. 1996;2:233–234. <http://dx.doi.org/10.1039/CC9960000233>
18. Hamada T, Torii T, Onishi T, Izawa K, Ikariya T. A Practical Synthesis of Optically Active Aromatic Epoxides via Asymmetric Transfer Hydrogenation α -Chlorinated Ketones with Chiral Rhodium-Diamine Catalyst. *Tetrahedron*. 2004;60(34):7411–7417. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2004.06.076>
19. Liu Q, Wang C, Zhou H, Wang B, Lv J, Cao L, et al. Iridium-Catalyzed Highly Enantioselective Transfer Hydrogenation of Aryl *N*-Heteroaryl Ketones with *N*-Oxide as a Removable *ortho*-Substituent. *Organic Letters*. 2018;20(4):971–974; <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b03878>
20. Everaere K, Mortreux A, Carpentier J-F. Ruthenium(II)-Catalyzed Asymmetric Transfer Hydrogenation of Carbonyl Compounds with 2-Propanol and Ephedrine-Type Ligands. *Advanced Synthesis and Catalysis*. 2003;345(1-2):67–77. <https://doi.org/10.1002/adsc.200390030>
21. Palmer M, Walsgrove T, Wills M. (1R, 2S)-(+)-*cis*-1-amino-2-indanol: An effective ligand for asymmetric catalysis of transfer hydrogenation of ketones. *Journal of Organic Chemistry*. 1997;62(15):5226–5228. <https://doi.org/10.1021/jo970405a>
22. Huynh KD, Ibrahim H, Kolodziej E, Tofano M, Thanh GV. Synthesis of a new class of ligands derived from isosorbide and their application to asymmetric reduction of aromatic ketones by transfer hydrogenation. *New Journal of Chemistry*. 2011;35(11):2622–2631. <http://doi.org/10.1039/C1NJ20588A>
23. Larionov SV, Tkachev AV, Myachina LI, Savel'eva ZA, Glinskaya LA, Klevtsova RF, et al. Synthesis of binuclear complexes of PdCl_2 with chiral α, α' -diamino-*meta*-xylene dioximes H_2L^1 , H_2L^2 , and H_2L^3 , the derivatives of the terpenes (+)-3-carene, (*R*)-(+)-limonene, and (*S*)-(-)- α -pinene. Crystal structure of $[\text{Pd}_2(\text{H}_2\text{L}^1)\text{Cl}_4]$. *Russian Journal of Coordination Chemistry*. 2009;35(4):286–295. <https://doi.org/10.1134/S1070328409040095>
24. Binder CM, Bautista A, Zaidlewicz M, Krzeński MP, Olivier A, Singaram B. Dual Stereoselectivity in the Dialkylzinc Reaction Using (-)- β -Pinene Derived Amino Alcohol Chiral Auxiliaries. *Journal of Organic Chemistry*. 2009;74(6):2337–2343. <https://doi.org/10.1021/jo802371z>
25. Mookherjee BD, Wilson RA. Oils, Essential. In: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 4th ed.; Kroschwitz JI, Howe-Grant M. (eds.) John Wiley & Sons: New York. 1993;17:603–674. <https://doi.org/10.1002/0471238961.1509121913151511.a01>
26. Blacker J, Mellor B. *Transfer hydrogenation process and catalyst*. Patent of Great Britain, no. WO/1998/042643, 1998.
27. Ohkuma T, Ooka H, Hashiguchi S, Ikariya T, Noyori R. Practical enantioselective hydrogenation of aromatic ketones. *Journal of the American Chemical Society*. 1995;117(9):2675–2676. <https://doi.org/10.1021/ja00114a043>
28. Utepova IA, Serebrennikova PO, Streltsova MS, Musikhina AA, Fedorchenko TG, Chupakhin ON, et al. Antonchick A.P. Enantiomerically Enriched 1,2-P,N-Bidentate Ferrocenyl Ligands for 1,3-Dipolar Cycloaddition and Transfer Hydrogenation Reactions. *Molecules*. 2018;23(6):1311–1322. <https://doi.org/10.3390/molecules23061311>
29. Brunner H, Henning F, Weber M. Enantioselective catalysis. Part 143: Astonishingly high enantioselectivity in the transfer hydrogenation of acetophenone with 2-propanol using Ru complexes of the Schiff base derived from (*S*)-2-amino-2-hydroxy-1,1-binaphthyl (NOBIN) and 2-pyridinecarbaldehyde. *Tetrahedron Asymmetry*. 2002;13(1):37–42. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(02\)00029-0](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(02)00029-0)
30. Diaz-Valenzuela MB, Phillips SD, France MB, Gunn ME, Clarke M. Enantioselective Hydrogenation and Transfer Hydrogenation of Bulky Ketones Catalysed by a Ruthenium Complex of a Chiral Tridentate Ligand. *Chemistry – A European Journal*. 2009;15(5):1227–1232. <https://doi.org/10.1002/chem.200801929>
31. Fuentes Garcia JA, Carpenter I, Kann N, Clarke ML. Highly enantioselective hydrogenation and transfer hydrogenation of cycloalkyl and heterocyclic ketones catalysed by an iridium complex of a tridentate phosphine-diamine ligand. *Chemical Communications*. 2013;49(87):10245–10247. <https://doi.org/10.1039/C3CC45545A>
32. Zweifel T, Scheschewitz D, Ott T, Vogt M, Grutzmacher H. Chiral [Bis(olefin)amine]rhodium(I) Complexes – Transfer Hydrogenation in Ethanol. *European Journal of Inorganic Chemistry*. (Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft). 2009; 2009(36):5561–5576. <https://doi.org/10.1002/ejic.200900875>
33. Matharu DS, Martins JED, Wills M. Asymmetric Transfer Hydrogenation of C = O and C = N Bonds by Tethered Rh^{III} Catalysts. *Chemistry – An Asian Journal*. 2008;3(8-9):1374–1383. <https://doi.org/10.1002/asia.200800189>
34. Hayes AM, Morris DJ, Clarkson GJ, Wills M. A Class of Ruthenium(II) Catalyst for Asymmetric

Transfer Hydrogenations of Ketones. *Journal of the American Chemical Society*. 2005;127(20):7318–7319. <https://doi.org/10.1021/ja051486s>

35. Matharu DS, Morris DJ, Kawamoto AM, Clarkson GJ, Wills M. A Stereochemically Well-Defined Rhodium(III) Catalyst for Asymmetric Transfer Hydrogenation of Ketones. *Organic Letters*. 2005;7(24):5489–5491. <https://doi.org/10.1021/ol052559f>

36. Tanielyan SK, Martin N, Alvez G, Augustine RL. Two Efficient Enantioselective Syntheses of 2-Amino-1-phenylethanol. *Organic Process Research and Development*. 2006;10(5):893–898. <https://doi.org/10.1021/op060122x>

37. Coll M, Pàmies O, Adolfsson H, Diéguez M. Second-Generation Amino Acid Furanoside Based Ligands from D-Glucose for the Asymmetric Transfer Hydrogenation of Ketones. *ChemCatChem*. 2013;5(12):3821–3828. <https://doi.org/10.1002/cctc.201300456>

38. Dong Z-R, Li Y-Y, Chen J-S, Li B-Z, Xing Y, Gao J-X. Highly Efficient Iridium Catalyst for Asymmetric Transfer Hydrogenation of Aromatic Ketones under Base-Free Conditions. *Organic Letters*. 2005;7(6):1043–1045. <https://doi.org/10.1021/ol047412n>

39. Dong ZR, Li Y-Y, Yu S-L, Sun GS, Gao J-X. Asymmetric transfer hydrogenation of ketones catalyzed by nickel complex with new PNO-type ligands. *Chinese Chemical Letters*. 2012;23(5):533–536. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2012.02.005>

40. Li Y-Y, Yu S-L, Shen W-Y, Gao J-X. Iron-, Cobalt-, and Nickel-Catalyzed Asymmetric Transfer Hydrogenation and Asymmetric Hydrogenation of Ketones. *Accounts of Chemical Research*. 2015;48(9):2587–2598. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.5b00043>

41. Chen JS, Chen LL, Xing Y, Chen G, Shen WY, Dong ZR, et al. Asymmetric Transfer Hydrogenation of Ketones Catalyzed by Chiral Carbonyl Iron Systems. *Acta Chimica Sinica*. 2004;62(18):1745–1750.

42. Yu S, Shen W, Li Y, Dong Z, Xu Y, Li Q, et al. Iron-Catalyzed Highly Enantioselective Reduction of Aromatic Ketones with Chiral P₂N₄-Type Macrocy-

cles. *Advanced. Synthesis and Catalysis*. 2012;354(5):818–822. <https://doi.org/10.1002/adsc.201100733>

43. De Luca L, Passera A, Mezzetti A. Asymmetric Transfer Hydrogenation with a Bifunctional Iron(II) Hydride: Experiment Meets Computation. *Journal of the American Chemical Society*. 2019;141(6):2545–2556. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b12506>

44. Zhang W-J, Ruan S-H, Shen W-Y, Wang Z, An D-L, Li Y-Y, et al. Highly Enantioselective Reduction of Ketones in Air Catalyzed by Rh-Based Macrocycles. *Catalysis Communication*. 2019;119(10):153–158. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2018.10.030>

45. Zhang X-Q, Li Y-Y, Dong Z-R, Shen W-Y, Cheng Z-B, Gao J-X. Asymmetric transfer hydrogenation of aromatic ketones with chiral diaminothiophene/iridium catalyst systems. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 2009;307(1-2):149–153. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2009.03.019>

46. Nikishkin NI, Huskens J, Verboom W. Hydrophilic pyrazine-based phosphane ligands: synthesis and application in asymmetric hydride transfer and H₂-hydrogenation of acetophenone. *Tetrahedron letters*. 2013;54(14):1857–1861. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.01.108>

47. Horvath HH, Joo F. Stereoselective homogeneous catalytic hydrogenation of disubstituted alkynes in aqueous-organic biphasic media. *React. Reaction Kinetics and Catalysis Letters*. 2005;85(2):355–360. <https://doi.org/10.1007/s11144-005-0281-7>

48. Snelders DJM, Siegler MA, von Chrzanowski LS, Spek AL, van Koten G, Klein Gebbink RJM. Coulombic inter-ligand repulsion effects on the Pt(II) coordination chemistry of oligocationic, ammonium-functionalized triarylphosphines. *Dalton Transactions*. 2011;40(11):2588–2600. <https://doi.org/10.1039/C0DT01105c>

49. Chen G, Xing Y, Zhang H, Gao J-X. Synthesis of novel chiral macrocyclic ONNO-type ligands and use in asymmetric transfer hydrogenation. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 2007;273(1-2):284–288. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2007.04.017>

Критерии авторства

Бадырова Н.М., Ниндакова Л.О. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Бадырова Н.М., Ниндакова Л.О. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Contribution

Nataliya M. Badyrova, Lidiya O. Nindakova carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Nataliya M. Badyrova, Lidiya O. Nindakova have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бадырова Наталия Моисеевна,

к.х.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
✉e-mail: n.m.badyrova@ex.istu.edu

Ниндакова Лидия Очировна,

д.х.н., старший научный сотрудник, профессор,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: nindakova@istu.edu

AUTHORS' INDEX

Nataliya M. Badyrova,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
✉e-mail: n.m.badyrova@ex.istu.edu

Lidiya O. Nindakova,

Dr. Sci. (Chemistry), Senior Researcher, Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: nindakova@istu.edu

Original article / Оригинальная статья

УДК 663.18; 637.1; 579.66

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-635-642>

Biosynthetic activity study of *Lactobacillus acidophilus* lactic acid bacteria in the lactose fermentation of whey

© Elena A. Shipovskaya, Vera V. Eveleva, Tatyana M. Cherpalova

All-Russian Research Institute of Food Additives,
Federal Research Center of Food Systems named after V.M. Gorbатов, RAS,
St. Petersburg, Russian Federation

Abstract: According to numerous studies, lactic acid bacteria are characterised by the capability of reducing their initial activity given an insufficient quantity of growth factors supplied by a nutrient medium. Conversely, the introduction of additional sources of nutrient into the medium provides favourable conditions for the development of lactic acid-producing microorganisms. The present study was aimed at examining the effect of phosphorus-containing salts on the biosynthetic activity of a specially selected strain of lactic acid bacteria for the biotransformation of acid whey lactose into lactate-containing ingredients. For this purpose, lactic acid bacteria of the *Lactobacillus acidophilus* thermophilic bacilli subgroup applied in cheese and fermented dairy production were used as a producer of lactic acid. In the obtained fermented solutions, the mass fractions of lactose and calcium lactate were determined by the Bertrand method and complexometric techniques, respectively. The variables in the biosynthetic activity study of lactic acid bacteria included the type of phosphorus-containing salt (disodium phosphate dodecahydrate and disubstituted ammonium phosphate) and its mass fraction, which ranged from 1.0 to 3.0 % in increments of 0.5 %. The amount of inoculum introduced for maximum production of lactic acid comprised 2.5 % vol. of the nutrient medium. The titratable acidity of the inoculum ranged from 1.80 to 1.85 g/cm³. In order to produce calcium lactate, the lactic acid accumulating during biosynthesis was neutralised with chalk. The effect caused by the type of phosphorus-containing salt and its mass fraction on the coefficient of whey bioconversion to lactic acid by *L. acidophilus* AT-I lactic acid bacteria was evaluated along with the rate of formation and yield of calcium lactate. The 2.0 % additive of sodium phosphate disubstituted dodecahydrate was established to provide the highest values for the formation rate and yield of the target product, comprising 0.78 g/(dm³·h) and 79.96 %, respectively.

Keywords: lactic acid bacteria, biosynthetic activity, lactose, whey, lactate-containing ingredients

Information about the article: Received August 13, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Shipovskaya EA, Eveleva VV, Cherpalova TM. Biosynthetic activity study of *Lactobacillus acidophilus* lactic acid bacteria in the lactose fermentation of whey. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):635–642. (In English) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-635-642>

Исследование биосинтетической активности молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* при сбраживании лактозы молочной сыворотки

Е.А. Шиповская, В.В. Евелева, Т.М. Черпалова

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал ФГБНУ
«ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Резюме: Молочнокислые бактерии могут терять первоначальную активность при недостатке факторов роста в питательной среде. Введение в питательную среду дополнительных источников питания обеспечивает благоприятные условия для развития микроорганизмов, продуцирующих

молочную кислоту. Целью данной работы являлось изучение влияния фосфорсодержащих солей на биосинтетическую активность специально подобранного штамма молочнокислых бактерий для биотрансформации лактозы творожной сыворотки в лактатсодержащие ингредиенты. В качестве продуцента молочной кислоты использовали молочнокислые бактерии из подгруппы термофильных палочек *Lactobacillus acidophilus*, которые применяются в производстве кисломолочных продуктов и сыроделии. В полученных сброженных растворах определяли массовую долю лактозы методом Бертрана и лактата кальция комплексонометрическим методом. Исследовали изменение биосинтетической активности молочнокислых бактерий при варьировании вида фосфорсодержащей соли (натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный, аммоний фосфорнокислый двузамещенный) и массовой доли (от 1,0 до 3,0 % с шагом 0,5 %). Количество вносимого посевного материала для максимального накопления молочной кислоты составило 2,5 % к объему питательной среды. Титруемая кислотность посевного материала составляла от 1,80 до 1,85 г/см³. Накапливающуюся в процессе биосинтеза молочную кислоту нейтрализовали мелом с получением лактата кальция. Установлены зависимости коэффициента биоконверсии сыворотки в молочную кислоту молочнокислыми бактериями *L. acidophilus* AT-I, скорости образования и выхода лактата кальция от вида фосфорсодержащей соли и ее массовой доли. Выявлено, что наибольшие величины скорости образования и выхода целевого продукта (0,78 г/(дм³·ч)) и 79,96 % соответственно) достигаются при внесении 2,0 % двузамещенного 12-водного фосфорнокислого натрия.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, биосинтетическая активность, лактоза, молочная сыворотка, лактатсодержащие ингредиенты

Информация о статье: Дата поступления 13 августа 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября; дата онлайн-размещения 30 декабря.

Для цитирования: Шиповская Е.А., Евелева В.В., Черпалова Т.М. Исследование биосинтетической активности молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* при сбраживании лактозы молочной сыворотки. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 635–642. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-635-642>

INTRODUCTION

With an increase in the production of curd products, cheese and casein, the quantity of milk whey, representing a waste product of the dairy industry, significantly increases. A certain part of the whey is used as feed for livestock and for technical and food purposes, while the bulk is drained into the sewer causing environmental pollution [1–6]. For these reasons, whey processing appears to be a significant problem.

Among the known methods of whey processing, several main areas are distinguished. These include the preparation of concentrates in condensed and dry form, isolation of individual components (protein and lactose hydrolysates, fat, lactulose) and the biological conversion of lactose and whey proteins for production of lactic acid, lactates and probiotic products [5–7].

Whey possess a high biological value due to the presence of soluble proteins, lactose, as well as macro-, micro- and ultramicroelements [1, 8]. On average, 48–52 % of whey accounts for milk solids with the main components presented by milk sugar (70 %), nitrogenous substances (14.5 %), fat (7.5 %) and mineral salts (8 %) [6, 9].

The presence of carbon sources easily digestible by many types of microorganisms, as well as various growth factors, identifies whey to be the among of the most valuable nutrient media for the production of microbial synthesis products. Therefore, the most effective approach to whey pro-

cessing consists in its biotechnological treatment based on the application of microorganisms in a free or immobilised state [10].

For microbiological processing of whey, homofermentative lactic acid streptococci (*Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*) and lactobacillus (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*) are of a particular interest. *Streptococcus lactis* are considered to ferment lactose with the formation of L(+) lactic acid in amount of 0.8–1.0 %, and some strains of *Streptococcus cremoris* are believed to form, along with lactic acid, a nisin antibiotic inhibiting the development of other species of lactic acid bacteria, as well as bacilli and butyric acid bacteria. In lactose fermentation, *Lactobacillus bulgaricus* lactobacillus bacteria form up to 3% of lactic acid, mainly of D(-)-form, while *Lactobacillus acidophilus* accumulate the DL form of lactic acid, having the ability to inhibit the development of bacteria of the dysenteric, paratyphoid and E. coli group. *L. acidophilus* culture is resistant to adverse environmental influences such as alkaline reaction (pH = 8.0), as well as the presence of phenol, bile (20 %) and sodium chloride (2 %) in the medium.

At the same time, lactic acid bacteria cultures are observed to lose their initial activity in the insufficient amount of growth factors of the nutrient medium. By introducing additional sources of nutrition into the nutrient medium, favourable condi-

tions are provided for the development of starter microorganisms producing lactic acid [11]. According to the developers of a functional supplement with pro- and prebiotic properties based on lactic acid microflora cultivated on whey, the medium must be enriched with germinated wheat grain in an amount of 20 % of the total volume of [4]. In order to provide the normal growth and development of *Lactobacterium jurgurti* bacteria during the fermentation process of deproteinised acid whey, corn extract is applied as an additional food source in an amount ranging from 0.1 to 0.2 % [12]. It is possible to intensify the process of obtaining the combined β -galactosidase enzyme preparation from whey through the mutually stimulating effect of *Kluyveromyces marxianus* fungus, *Candida kefyr* yeast and *Streptococcus thermophilus* thermophilic lactic acid bacteria. In the work [13], *Streptococcus thermophilus* was demonstrated to acidify the medium, stimulating the growth of yeast and releasing, in turn, additional amounts of vitamins and amino acids into the nutrient medium during fermentation to create favourable conditions for the growth of lactic acid bacteria.

The introduction of phosphorus-containing substances into the nutrient medium demonstrates a positive effect on the biosynthetic activity of lactic acid bacteria. The most affordable sources of phosphorus include ammonium phosphate salts providing important nitrogen for the development of bacteria¹ [14]. According to the patent [15], food protein was obtained in the form of a whey concentrate or dry powder containing from 15 to 25 % of solids by *Propionibacterium freudenreichii* VSB-16 и *Lactobacillus casei* GSB-TB1B cultures with an additional introduction of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , MgSO_2 and ZnSO_2 .

In the present work, acid whey was fermented by a specially selected probiotic strain of *Lactobacillus acidophilus* lactic acid bacteria characterised by a fairly high productivity and the ability to release exopolysaccharides (EPS) into the environment. Among the advantages of using strains of lactic acid bacteria capable of producing EPS are included increased time of refrigerated storage, reduced syneresis, as well as the improved texture and consistency of products. The fermentation of whey by EPS-producing strains of *Lactobacillus acidophilus* increases the nutritional value of the target product, improving its organoleptic and rheological characteristics [16–19].

Thus, the current study was aimed at the effect of phosphorus-containing salts on the biosynthetic activity of a specially selected strain of lactic acid bacteria for biotransformation of acid whey lactose into lactate-containing ingredients.

¹ Kuznetsov A.E., Gradova N.B., Lushnikov S.V., Engelhart M., Weisser T. Applied Ecobiotechnology: Textbook; in 2 V. Moscow: BINOM. Laboratoriya Znaniya, 2010. Vol. 1 – 629 p.; Vol. 2 – 485 p.

EXPERIMENTAL PART

The objects of study were:

- “Letnyaya” acid whey produced by Losevo Dairy Plant LLC;
- *Lactobacillus acidophilus* AT-I lactic acid bacteria (*L. acidophilus* AT-I – producer of lactate-containing ingredients);
- sodium phosphate disubstituted dodecahydrate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) according to GOST 4172-76;
- disubstituted ammonium phosphate $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ according to GOST 3772-74.

Experimental studies were performed by the laboratory equipment of the All-Russian Scientific Research Institute of Food Additives (VNIIPD), a branch of the Gorbатов Research Centre for Food Systems RAS, using the methods adopted in research practice and according to the current technical documentation.

In the experimental samples, the mass fractions of both lactose and calcium lactate were determined along with titratable acidity.

Three methods were applied to the evaluation of the studied parameters including the Bertrand method [20], complexometric technique and acid-base titration for determination of mass fraction of lactose and calcium lactate, as well as titratable acidity, respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

A change in the biosynthetic activity of lactic acid bacteria was examined under varying type of phosphorus-containing salt ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ and $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) and its mass fraction (from 1.0 to 3.0 % in increments of 0.5 %).

The fermentation process of acid whey containing from 3.9 to 4.3 % of lactose was performed by *L. acidophilus* AT-I lactic acid bacteria in a thermostat at a temperature of $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

A pure culture of lactic acid bacteria was stored in freeze-dried form. The producer was activated at a temperature of $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 10–12 hours. Primary starter culture and inoculum was prepared with sterilised skimmed milk and acid whey, respectively.

The initial caseous whey was pasteurised in a water bath at a temperature range of $70\text{--}75^\circ\text{C}$ for 1 h. The amount of inoculum introduced for maximum accumulation of lactic acid comprised 2.5 % of the volume of the nutrient medium; further increases in the amount were observed to be technologically ineffective. The titratable acidity of the inoculum ranged from 1.80 to 1.85 g/cm^3 .

The lactic acid accumulating during biosynthesis was regularly neutralised with chalk to produce calcium lactate.

Figures 1 and 2 demonstrate the effect of the phosphorus-containing salt type and its mass fraction on the coefficient of whey bioconversion into lactic acid by *L. acidophilus* AT-I lactic acid bacteria after 24 hours. The maximum efficiency in

the biotransformation of lactose into lactic acid is observed when 1.5 to 2.0 % sodium phosphate and 2.0 % ammonium phosphate are added. An increase in the mass fraction of phosphorus-containing salts leads to a decrease in the biosynthetic activity of lactic acid bacteria.

Table 1 presents data on the change in the rate of formation and yield of calcium lactate depending on the type and mass fraction of phosphorus-containing salt, subsequently characterising the change in the biosynthetic activity of lactic acid

bacteria. With the addition of 1.0 and 3.0 % of sodium phosphate, the biosynthetic activity of bacteria was established to be equal to 0.64 g/(dm³·h), while, at introduced amount of 1.5–2.5 %, the value of about 0.78 g/(dm³·h) was obtained. Depending on the mass fraction of sodium phosphate equal to 1.0, 1.5 and 2.0 %, the fermentation rate of acid whey lactose was 0.43, 0.47 and 0.53 g/(dm³·h), respectively. With 2.0 % of phosphorus-containing salts added, the yield of calcium lactate reached the value of about 80 %.

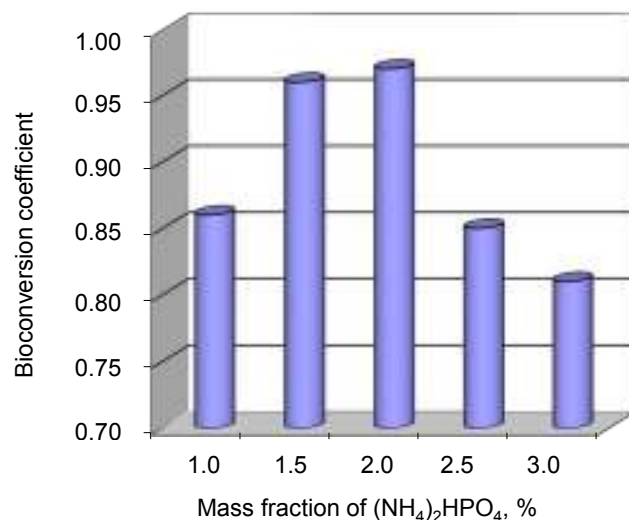


Fig. 1. Relationship between the bioconversion coefficient of whey to lactic acid by *L. acidophilus* AT-I and the mass concentration of Na₂HPO₄·12H₂O after 24 hours

Рис. 1. Зависимость коэффициента биоконверсии сыворотки в молочную кислоту молочнокислыми бактериями *L. acidophilus* AT-I от массовой доли соли Na₂HPO₄·12H₂O через 24 ч

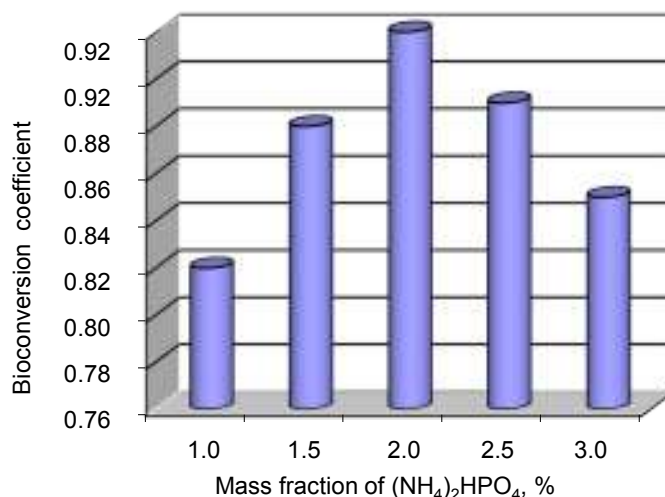


Fig. 2. Relationship between the bioconversion coefficient of whey to lactic acid by *L. acidophilus* AT-I and the mass concentration of (NH₄)₂HPO₄ after 24 hours

Рис. 2. Зависимость коэффициента биоконверсии сыворотки в молочную кислоту молочнокислыми бактериями *L. acidophilus* AT-I от массовой доли соли (NH₄)₂HPO₄ через 24 ч

Table 1

Indicators of biosynthetic activity of lactic acid bacteria *L. acidophilus* depending on the type of nutrient salt and its mass concentration

Таблица 1

Показатели биосинтетической активности молочнокислых бактерий *L. acidophilus* в зависимости от вида питательной соли и ее массовой доли

Mass fraction of phosphorus-containing salt, %	Formation rate of calcium lactate, g/(dm ³ ·h)				Calcium lactate yield, %			
	Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O		(NH ₄) ₂ HPO ₄		Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O		(NH ₄) ₂ HPO ₄	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
1.0	0.64±0.09	0.39±0.04	0.68±0.06	0.40±0.01	40.32±1.81	76.80±1.00	42.00±0.50	79.21±3.79
1.5	0.77±0.05	0.40±0.02	0.80±0.06	0.41±0.02	40.65±1.03	76.33±0.30	40.81±0.90	76.56±1.40
2.0	0.78±0.03	0.40±0.15	0.84±0.07	0.40±0.01	41.20±1.50	79.96±6.85	42.48±1.48	79.18±2.83
2.5	0.79±0.06	0.39±0.03	0.93±0.05	0.39±0.03	36.74±1.30	71.58±2.65	41.93±1.06	76.56±1.68
3.0	0.64±0.02	0.27±0.01	0.73±0.06	0.29±0.01	34.50±1.45	61.8±1.79	38.80±0.04	67.80±1.37

From the above, an increase in the mass fraction of the phosphorus-containing salt introduced up to 2.5 % contributes to an increase in the biosynthetic activity of lactic acid bacteria. A further increase in the dosage of salt acts on the growth of bacteria as an inhibitory factor.

Figure 3 presents the dynamics of the lac-

tose fermentation and the accumulation of calcium lactate with varying mass fraction of sodium phosphate and fermentation time. As can be seen from Fig. 3, the application of 2.0 % of Na₂HPO₄·12H₂O allows the highest values for the fermentation rate of whey lactose and the accumulation of calcium lactate to be achieved.

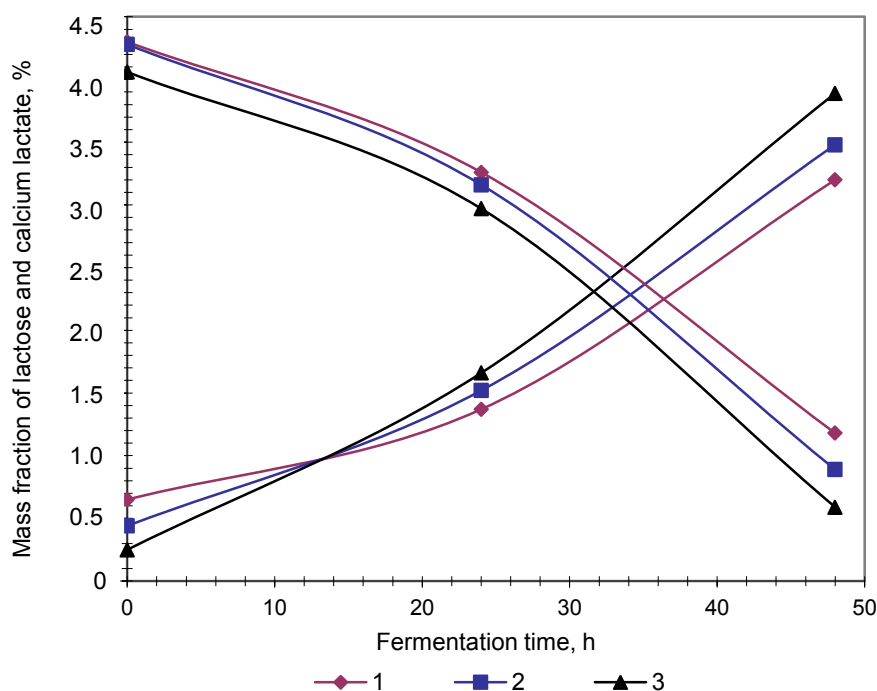


Fig. 3. Mass concentration of calcium lactate and lactose during whey fermentation by *L. acidophilus* AT-I when varying the mass concentration of sodium phosphate, %:
1 – 1.0; 2 – 1.5; 3 – 2.0

Рис. 3. Изменение массовой доли лактата кальция и лактозы в процессе сбраживания творожной сыворотки молочнокислыми бактериями *L. acidophilus* AT-I при варьировании массовой доли фосфорнокислого натрия, %:
1 – 1,0; 2 – 1,5; 3 – 2,0

CONCLUSION

According to the set of indicators characterising the biosynthetic activity of *L. acidophilus* AT-I lactic acid bacteria, the application of sodium phosphate disubstituted dodecahydrate in an amount of 2.0 % increases the efficiency of

obtaining calcium lactate from acid whey. The *Lactobacillus acidophilus* AT-I producer is specified by rather high formation rate for calcium lactate and fermentation rate for lactose whey equal to 0.78 g/(dm³·h) and 0.53 g/(dm³·h), respectively.

REFERENCES

1. Gorlov IF, Mosolova NI, Serova OP, Levina YaO, Lopaeva EA. Innovative Technology of Whey Processing Using Modified Starch. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyrya* = Storage and Processing of Farm Products. 2018;2:58–61. (In Russian)
2. Asnovin MA. Zarubezhnyi opyt povysheniya effektivnosti ispol'zovaniya syvorotki = Foreign experience of increase of dairy whey use efficiency. In: *Formirovanie organizatsionnoekonomicheskikh uslovii effektivnogo funktsionirovaniya APK: Sbornik nauchnykh statei 9-i Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii* = Formation of organizational and economic conditions for the effective functioning of agriculture: *Proceedings of the 9th International Scientific and Practical Conference*, 25–26 May 2017, Minsk: Belarusian State Agrarian Technical University, 2017, p. 85–89. (In Russian)
3. Volodin DN, Zolotareva MS, Topalov VK, Evdokimov IA, Chablin BV. Features of cheese whey processing. *Pererabotka moloka* = Milk processing. 2017;3:6–8. (In Russian)
4. Lysenko YuA, Khusid SB, Volkova SA, Nikolaenko SN, Luneva AV, Nosenko AV. Development of a functional feed additive. *Politematicheskii setevoi elektronnyi nauchnyi zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* = Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University. 2016;115:643–664. Available from: <http://ej.kubagro.ru/archive.asp?n=115> [Accessed 21th May 2019]. (In Russian)
5. Grigorash AI, Maklanov AI, Yurova EA. *Complex utilization of whey – new opportunities to improve the efficiency of milk processing*. Available from: https://rtpp.ru/old/news/2007/st07_007.htm 115 [Accessed 21th May 2019]. (In Russian)
6. Mel'nikova EI, Stanislavskaya EB. Whey ingredients: prospects of production and directions of use. *Molochnaya reka* = Milk river. 2019;2:52–56. (In Russian)
7. Gavrilov GB, Kravchenko EF. Ways of the efficient application of milk whey. *Syrodelie i maslovelie* = Cheesemaking and buttermaking. 2013;2:10–13. (In Russian)
8. Bologa MK, Vrabie EG, Stepurina TG. The peculiarities of mineralization of protein-mineral concentrates by electrophysical treatment of whey. *Elektronnaya obrabotka materialov* = Surface Engineering and Applied Electrochemistry. 2013;49:61–65. (In Russian)
9. Jelen P. Whey Processing: Utilization and Products. In: Fuquay JF., Fox PF., McSweeney PLH. (eds.) *Encyclopedia of Dairy Sciences*, vol. 4, 2nd ed. Academic, Oxford; p. 731–737. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00495-7>
10. Zipaev DV, Zimichev AV. Whey is a valuable raw material for recycling. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya* = News of institutes of higher education. Food technology. 2007;2:14–16. (In Russian)
11. Grunskaya VA, Gabrielyan DS. Microbiological Aspects of Enriched Fermented Milk Products Manufacture with Use of Whey. *Molochnokhozyaistvenny Vestnik*. 2018;3:91–103. (In Russian)
12. Polyanskii KK, Shuvaeva GP, Yakovlev VF, Demenko NA. Membrane Technology in Calcium Lactate Producing from Whey. *Biotekhnologiya* = Biotechnology. 2000;2:37–41. (In Russian)
13. Khramtsov AG, Abilov BT, Lodygin DN, Lodygin AD, Kryuchkov PG. *Method of producing combined feed concentrate*. Patent RF, no. 2352138, 2007. (In Russian)
14. Ryabtseva SA, Skripnyuk AA, Kotova AA, Khramtsov AG, Rodnaya AB, Lodygin AD, et al. Novyi sposob polucheniya fermentnogo preperata beta-galaktozidaz drozhzhei i molochnokislykh bakterii = A new method for producing the enzyme preparation of yeast beta-galactosidase and lactic acid bacteria. In: *Molekulyarno-geneticheskie i biotekhnologicheskie osnovy polucheniya i primeneniya sinteticheskikh i prirodnokh biologicheskikh aktivnykh veshchestv: Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii* = Molecular-genetic and biotechnological bases of production and application of synthetic and natural biologically active substances: *Proceedings of the International Scientific and Practical Conference*, 20–23 September 2017, Minsk – Stavropol', Stavropol: North-Caucasus Federal University, 2017, p. 257–261. (In Russian)
15. Zlotnikov KM, Zlotnikov AK, Kaparullina EV, Kazakov AV, Kazakova ML. Phosphate solubilization activity of lactic acid bacteria. *Vladimirskii zemledelets* = Vladimir agricolist. 2012;4(62):20–21. (In Russian)
16. Vinarov AYU, BelYakov Yul, Sidorenko TE, Karavatskii AI. *Method of whey processing*. Patent RF, no. 2154386, 2000. (In Russian)
17. Artyukhova SI, Motornaya EV. Actuality of the using lactic acid bacteria synthesizing exopolysaccharides in the production of bioproducts for functional nutrition. *Mezhdunarodnyi zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya* = International

Journal of Experimental Education. 2015;5-1:76. (In Russian)

18. Markelova VV, Krasnikova LV. Synthesis of exopolysaccharides by the strains of *L. acidophilus* in milk whey. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya* = News of institutes of higher education. Food technology. 2013;4:26–29. (In Russian)

19. Botina SG, Rozhkova IV, Semenikhina VF. Use of strains produced EPS in manufacture of the sour-milk products. *Khranenie i pererabotka sel'skokhozyr'ya* = Storage and Processing of Farm

Products. 2010;1:38–40. (In Russian)

20. Krasnikova LV, Markelova VV, Verbitskaya NB, Dobrolezh OV. Functional whey products using antagonistically active strains of acidophilic lactobacilli. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya* = News of institutes of higher education. Food technology. 2012;1:41–43. (In Russian)

21. Sinel'nikov BM, Khramtsov AG, Evdokimov IA, Ryabtsev SA, Serov VA. *Lactose and its derivatives*. St. Petersburg: Professiya, 2007. (In Russian)

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Горлов И.Ф., Мосолова Н.И., Серова О.П., Левина Я.О., Лопаева Е.А. Инновационная технология переработки молочной сыворотки с использованием модифицированного крахмала // Хранение и переработка сельхозсырья. 2018. N 2. С. 58–61.

2. Аснвин М.А. Зарубежный опыт повышения эффективности использования молочной сыворотки // Формирование организационно-экономических условий эффективного функционирования АПК: сб. науч. ст. 9-й Междунар. науч.-практ. конф. (Минск, 25–26 мая 2017 г.). Минск: Изд-во Белорусского государственного аграрного технического университета, 2017. С. 85–89.

3. Володин Д.Н., Золоторёва М.С., Топалов В.К., Евдокимов И.А., Чаблин Б.В. Особенности переработки творожной сыворотки // Переработка молока. 2017. N 3 (209). С. 6–9.

4. Лысенко Ю.А., Хусид С.Б., Волкова С.А., Николаенко С.Н., Лулева А.В., Носенко А.В. Разработка функциональной кормовой добавки // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2016. N 115. С. 643–664. URL: <http://ej.kubagro.ru/archive.asp?n=115> (21.05.2019).

5. Григораш А.И., Макланов А.И., Юрова Е.А. Комплексная утилизация молочной сыворотки – новые возможности повышения эффективности переработки молока [Электронный ресурс] // Реутовская торгово-промышленная палата. URL: https://rtpp.ru/old/news/2007/st07_007.htm (21.05.2019).

6. Мельникова Е.И., Станиславская Е.Б. Сывороточные ингредиенты: перспективы производства и направления использования // Молочная река. 2019. N 2 (74). С. 52–56.

7. Гаврилов Г.Б., Кравченко Э.Ф. Пути рационального использования молочной сыворотки // Сыроделие и маслоделие. 2013. N 2. С. 10–13.

8. Болога М.К., Врание Е.Г., Степурина Т.Г. Особенности минерализации белковых концентратов при электрофизической обработке молочной сыворотки // Электронная обработка материалов. 2013. N 49 (6). С. 61–65.

9. Jelen P. Whey Processing: Utilization and Products. In: Fuquay J.F., Fox P.F., McSweeney P.L.H. (eds) *Encyclopedia of Dairy Sciences*, vol 4, 2nd

edn. Academic, Oxford. P. 731–737. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00495-7>

10. Зипаев Д.В., Зимичев А.В. Молочная сыворотка – ценное сырье для вторичной переработки // Известия вузов. Пищевая технология. 2007. N 2 (297). С. 14–16.

11. Грунская В.А., Габриелян Д.С. Микробиологические аспекты производства обогащенных кисломолочных продуктов с использованием молочной сыворотки // Молочнохозяйственный вестник. 2018. N 3 (31). С. 91–103.

12. Полянский К.К., Шуваева Г.П., Яковлев В.Ф., Деменко Н.А. Мембранные методы в производстве лактата кальция из молочной сыворотки // Биотехнология. 2000. N 2. С. 37–41.

13. Рябцева С.А., Скрипнюк А.А., Котова А.А., Храмов А.Г., Родная А.Б., Лодыгин А.Д. [и др.]. Новый способ получения ферментного препарата бета-галактозидаз дрожжей и молочнокислых бактерий // Молекулярно-генетические и биотехнологические основы получения и применения синтетических и природных биологически активных веществ (Нарочанские чтения – 11): материалы Междунар. науч.-практ. конф. (Минск – Ставрополь, 20–23 сентября 2017 г.). Ставрополь: Изд-во Северо-Кавказского федерального университета, 2017. С. 257–261.

14. Злотников К.М., Злотников А.К., Капаруллина Е.В., Казаков А.В., Казакова М.Л. Фосфатсольюбилизирующая активность молочнокислых бактерий // Владимирский земледелец. 2012. N 4 (62). С. 20–21.

15. Пат. № 2154386, Российская Федерация, А23С 21/02. Способ переработки молочной сыворотки / А.Ю. Винаров, Ю.И. Беляков, Т.Е. Сидоренко, А.И. Каравацкий; № 99126250/13. Заявл. 14.12.1999; опубл. 20.08.2000.

16. Артюхова С.И., Моторная Е.В. Об актуальности использования при производстве биопродуктов для функционального питания молочнокислых бактерий, синтезирующих экзополисахариды // Международный журнал экспериментального образования. 2015. N 5–1. С. 76.

17. Маркелова В.В., Красникова Л.В. Синтез экзополисахаридов штаммами *L. acidophilus* в молочной сыворотке // Известия вузов. Пищевая технология. 2013. N 4 (334). С. 26–29.

18. Ботина С.Г., Рожкова И.В., Семенихина В.Ф. Использование штаммов молочнокислых бактерий, синтезирующих экзополисахариды, в производстве кисломолочных продуктов питания // Хранение и переработка сельскохозяйственного сырья. 2010. N 1. С. 38–40.

19. Красникова Л.В., Маркелова В.В., Вербицкая Н.Б., Добролеж О.В. Функциональные

продукты из молочной сыворотки с использованием антагонистически активных штаммов ацидофильных лактобактерий // Известия вузов. Пищевая технология. 2012. N 1 (325). С. 41–43.

20. Синельников Б.М., Храмцов А.Г., Евдокимов И.А., Рябцева С.А. Серов А.В. Лактоза и ее производные. СПб.: Профессия, 2007. 768 с.

Contribution

Elena A. Shipovskaya, Vera V. Eveleva, Tatyana M. Cherpalova carried out the experimental work, analyzed the experimental results and prepared the text of the manuscript. Elena A. Shipovskaya, Vera V. Eveleva, Tatyana M. Cherpalova have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Elena A. Shipovskaya,
Junior Researcher,
All-Russian Research Institute of Food Additives,
Federal Research Center of Food Systems named
after V.M. Gorbato, RAS,
55, Liteinyi Ave., St. Petersburg 191014,
Russian Federation,
✉e-mail: alena.shipovskaja@yandex.ru

Vera V. Eveleva,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Senior Researcher,
All-Russian Research Institute of Food Additives,
Federal Research Center of Food Systems
named after V.M. Gorbato, RAS,
55, Liteinyi Ave., St. Petersburg 191014,
Russian Federation,
e-mail: v.eveleva@yandex.ru

Tatyana M. Cherpalova,
Cand. Sci. (Engineering), Researcher,
All-Russian Research Institute of Food Additives,
Federal Research Center of Food Systems
named after V.M. Gorbato, RAS,
55, Liteinyi Ave., St. Petersburg 191014,
Russian Federation,
e-mail: t.cherpalova@mail.ru

Критерии авторства

Шиповская Е.А., Евелева В.В., Черпалова Т.М. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Шиповская Е.А., Евелева В.В., Черпалова Т.М. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

AUTHORS' INDEX

Шиповская Елена Алексеевна,
младший научный сотрудник,
ВНИИ пищевых добавок – филиал
ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем
им. В.М. Горбатова» РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр-т, 55,
Российская Федерация,
✉e-mail: alena.shipovskaja@yandex.ru

Евелева Вера Васильевна,
к.т.н., доцент, старший научный сотрудник,
ВНИИ пищевых добавок – филиал
ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем
им. В.М. Горбатова» РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр-т, 55,
Российская Федерация,
e-mail: v.eveleva@yandex.ru

Черпалова Татьяна Михайловна,
к.т.н., научный сотрудник,
ВНИИ пищевых добавок – филиал
ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем
им. В.М. Горбатова» РАН
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр-т, 55,
Российская Федерация,
e-mail: t.cherpalova@mail.ru

Original article / Оригинальная статья

УДК 577.152.54:661.746.5

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-643-653>

Cryopreservation potential of *Streptomyces lucensis* and *Streptomyces violaceus* actinomycete collection strains as producers of glycosidase inhibitors

© Tatyana V. Vybornova*, Natalya Yu. Sharova*, Anastasia A. Printseva*,**

* All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbатов

Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences,
St. Petersburg, Russian Federation

** St. Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics,
St. Petersburg, Russian Federation

Abstract: The article presents a study into the effect of long-term, low-temperature (-80 and -150 °C) storage on the properties of *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743 and *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 actinomycete collection strains acting as producers of glycosidase inhibitors. The titre (CFU in 1 cm³ of the initial inoculum) and the inhibitory activity of strains were determined with respect to pancreatic α -amylase in the solutions obtained by *Streptomyces* culture on a corn starch hydrolysate. For *Streptomyces*, a high survival rate (91–100 %) was established after storage at temperatures of -80 and -150 °C using a 15 % glycerol solution in terms of a cryoprotector. *Streptomyces violaceus* strain was identified to be the most resistant to long-term storage at low temperatures. Its inhibitory activity turns to be completely retained after storage at temperatures of -80 and -150 °C. In *Streptomyces violaceus* strain, the maximum activity level of 2250±200 IU/cm³ for an inhibitor of pancreatic α -amylase is observed on the 1st day of subculture, while *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743 demonstrates the highest activity value on the 3rd day to reach a value of 3660±200 IU/cm³ following storage at a temperature of -80 °C. The studied *Streptomyces* strains are chromogenic. The most intense chromogenesis is noted during the culture of *Streptomyces violaceus* strain stored at a temperature of -150 °C. The cryopreservation of *Streptomyces violaceus* and *Streptomyces lucensis* actinomycete strains was established to provide high (10⁷–10⁸) cell survival and preservation of their inhibitory activity at a high level when exposed to temperatures of -80 and -150 °C with a 15 % glycerol solution as a cryoprotector. Experimental data indicate the low-temperature storage method to be promising for *Streptomyces lucensis* and *Streptomyces violaceus* collection cultures.

Keywords: *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743 strains, *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1743 strains, low-temperature storage, viability, inhibitory activity, chromogenesis

Acknowledgments: The work was supported by the Program of fundamental scientific research for State Academies of Sciences 2019 (project no. 163).

Information about the article: Received July 12, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Vybornova TV, Sharova NYu, Printseva AA. Cryopreservation potential of *Streptomyces lucensis* and *Streptomyces violaceus* actinomycete collection strains as producers of glycosidase inhibitors. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):643–653. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-643-653>

Возможности криоконсервирования коллекционных штаммов актиномицетов *Streptomyces lucensis* и *Streptomyces violaceus* – продуцентов ингибиторов гликозидаз

Т.В. Выборнова*, Н.Ю. Шарова*,**, А.А. Принцева*,**

* Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

** Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Резюме: Исследовано влияние длительного низкотемпературного хранения (-80 и -150 °C) на свойства коллекционных штаммов актиномицетов *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 – продуцентов ингибиторов гликозидаз. Определен титр (КОЕ в 1 см^3 исходного инокулята) и ингибиторная активность штаммов по отношению к панкреатической α -амилазе в растворах, полученных при культивировании *Streptomyces* на гидролизате кукурузного крахмала. Установлен высокий (91–100 %) уровень выживаемости *Streptomyces* после хранения при температурах -80 и -150 °C с применением 15 %-го раствора глицерина в качестве криопротектора. Выявлено, что штамм *Streptomyces violaceus* наиболее устойчив к условиям длительного хранения при низких температурах. Он полностью сохранил ингибиторную активность после хранения при температурах -80 и -150 °C. Максимальный уровень активности ингибитора панкреатической α -амилазы у штамма *Streptomyces violaceus* отмечается на 1-е сутки рекультивирования и составляет (2250 ± 200) ИЕ/ см^3 , у *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 – на 3-и сутки рекультивирования и достигает значения 3660 ± 200 ИЕ/ см^3 после хранения при температуре -80 °C. Исследуемые штаммы *Streptomyces* являются пигменто-образующими. Наиболее интенсивное пигментообразование отмечено при культивировании штамма *Streptomyces violaceus*, хранившегося при -150 °C. Проведенные исследования показали, что криоконсервация штаммов актиномицетов *Streptomyces violaceus* и *Streptomyces lucensis* при температурах -80 и -150 °C с применением 15 %-го раствора глицерина в качестве криопротектора обеспечивает высокую (10^7 – 10^8) степень выживаемости клеток и сохранение их ингибиторной активности на высоком уровне. Экспериментальные данные свидетельствуют о перспективности метода низкотемпературного хранения для коллекционных культур *Streptomyces lucensis* и *Streptomyces violaceus*.

Ключевые слова: штаммы *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734, низкотемпературное хранение, жизнеспособность, ингибиторная активность, пигментообразование

Благодарности: Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2019 г. по проекту № 163.

Информация о статье: Дата поступления 12 июля 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Выборнова Т.В., Шарова Н.Ю., Принцева А.А. Возможности криоконсервирования коллекционных штаммов актиномицетов *Streptomyces lucensis* и *Streptomyces violaceus* – продуцентов ингибиторов гликозидаз. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 643–653. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-643-653>

INTRODUCTION

Actinobacteria of the *Streptomyces* genus manifest themselves as producers of more than half of the most common biologically active compounds applied in medicine, veterinary, agriculture and other industries. Thus, maintaining the viability of *Streptomyces* cultures during long-term storage constitutes an important research area and makes a significant theoretical and practical contribution to the problem of preserving an ever-increasing biological diversity.

For most microorganism collections, the preservation of strains in working condition with the retention of their valuable properties is carried out using periodic subculture methods, storage under a layer of mineral oil, in dry sterile soil or sand, in saline solutions, as well as in a lyophilised state or at low temperatures [1].

The primary method for long-term microorganism storage consists in cryopreservation. Among the advantages of cryogenic storage are the low probability of culture infection, preservation

of microorganism properties in a stable state, low time and material costs, the possibility of using frozen cultures as a direct inoculum and eliminating the risk of genetic changes in cultures during storage. In addition, according to the published studies, microorganism cultures stored at low temperatures in a frozen state appear to be less damaged and demonstrate a higher level of viability as opposed to dried and lyophilised cultures [1, 2].

The cryostability of microorganisms is determined by their taxonomic affiliation, physiological state, cell number, cryopreservation modes, the presence of a protective environment, as well as the temperature and heating rate. Different cryostability is observed in microbial organisms of not only different genera and species, but also strains. Gram-positive bacteria are known to be usually more resistant to freezing in contrast to gram-negative bacteria [3]. It is thought that microorganisms are most resistant to freezing at the end of the logarithmic growth stage or at the beginning of the stationary phase. According to a number of studies, increased cryoresistance is also characteristic of spore-forming microorganisms [4].

Protective substances – or cryoprotectors – can be applied in order to increase the resistance of cells to low temperatures. Two main cryoprotectant types can be distinguished. The first includes glycerin and dimethyl sulphoxide (DMSO) either easily to pass through the cell membrane and provide both intracellular and extracellular protection against freezing. The second type of cryoprotectors involves the following substances providing a protective effect on the outer surface of the cell membranes: sucrose, lactose, glucose, mannitol, sorbitol, dextran, polyvinylpyrrolidone and polyglycol. According to some studies, the first type of protectors (glycerin and DMSO) have been shown to be more effective and applicable for a wide range of bacteria [5]. In this case, the protective action of glycerin is explained by its prevention of excessive salt concentration levels causing a violation of biochemical processes in microorganism cells during freezing [3].

A distinctive feature of many *Streptomyces* consists in their chromogenetic ability by forming carotenoid pigments, black-brown melanins and blue-violet anthocyanins. Thus, the colour of the substrate and aerial mycelium is determined by a variety of pigments. Chromogenesis in microorganisms has a certain physiological significance through the protection of cells from natural ultraviolet radiation, participation in biochemical reactions and antibiotic effect [6]. Therefore, the study of stressful effects on *Streptomyces* bacteria appears to be of great practical importance.

The methods are known for long-term, low-temperature storage of *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433 *Nonomuraea* Sp antibiotic producers (-70 °C) [4], strains of *Streptomyces aureovorticillus*, *Streptomyces aureofaciens* and *Streptomyces*

griseus actinobacteria (-196 °C) [7], as well as collection cultures of *Rhodococcus* actinobacteria (-85 °C) [8].

Streptomyces lucensis RNCIM As-1743 and *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 collection cultures of the All-Russian Research Institute of Food Additives (VNIIPD) involves the producers of glycosidase inhibitors – biologically active substances and potential food micro-ingredients [9]. Currently, no studies on effectiveness evaluation of the long-term storage at extremely low temperatures in relation to these actinobacteria were conducted.

The present study is aimed at the effect of low temperatures (-80 and -150 °C) on the viability of *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743 and *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 actinomycetes and their preservation of inhibitory activity during storage.

EXPERIMENTAL PART

The object of the study involves *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743 and *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 actinomycete strains selected at VNIIPD and deposited in the All-Russian collection of industrial microorganisms of the Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms [10, 11].

The studied actinobacteria strains were cultured before freezing on the slant starch-containing Czapek medium at a temperature of 29 °C for 7 days.

Cell separation was carried out by flushing the culture from a slant agar starch-containing Czapek medium using 10 cm³ of nutrient fermentation medium. In order to increase the resistance of cells to the effects of low temperatures, a cryoprotector of 15 % glycerol solution was added to the nutrient medium for fermentation. In the study, bacterial suspensions were applied with a population density of 10⁷–10⁸ CFU/cm³.

Cryo- (Greiner Bio-One, Germany) and Eppendorf tubes were used for freezing spore suspensions at a temperature of -80 °C and -150 °C, respectively. All tubes were exposed to +4 °C for 2 h with subsequent placement in low-temperature freezers. Cells were frozen in stages: up to -30 °C at a controlled cooling rate of 1 °C/min followed by lowering the temperature to -150 °C at a rate of 15–30 °C/min.

The samples of *Streptomyces* actinomycete strains were frozen and stored in an MDF-1156ATN ULTRA-LOW temperature freezer (SANYO Electric Co. Ltd) at a temperature of -150 °C and in the "Station of low-temperature automated storage of biological samples at -80 °C" Unique Research Installation (LiCONiC Instruments, Liechtenstein) of the Departmental collection of beneficial microorganisms for agricultural purposes of the Research Institute of Agricultural Microbiology [12]. The storage duration comprises 9 months.

The recovery process for frozen cells was carried out by thawing at a temperature of 37 °C for

3 minutes. Then the cells were placed on Czapek agar medium in test tubes. After 7 days of incubation at a temperature of 29 °C, the viability of the cultures was determined and culturing was carried out.

The viable cell count (CFU/cm³) of *Streptomyces* actinomycetes was determined by serial dilutions of thawed spore suspensions, followed by inoculation on Petri dishes with agar Czapek starch-containing medium. After exposing the cultures for 3 days at a temperature of 29 °C, the number of cultured microcolonies was calculated. Percentage of survived CFU of actinobacteria was determined relative to the number of CFU counted before cryopreservation.

Streptomyces lucensis and *Streptomyces violaceus* culturing was carried out periodically in a 750 cm³ flask with a corn starch hydrolysate using a Multitron incubation shaker (INFORS, Switzerland) with a stirring speed of 160±20 rpm at a temperature of 29±1 °C for 96 h [10, 11]. The fermentation medium of pH = 7.0 was composed by corn starch hydrolysate with dextrose equivalent (DE = 25±5 %), soy flour, sodium chloride, disubstituted potassium phosphate and magnesium sulphate heptahydrate at concentrations of 20, 5.0, 3.0, 1.0 and 0.5 g/dm³, respectively [13]. For the hydrolysis of corn starch, an Amilosubtilin G3x enzyme preparation with an amylolytic activity of 850 u/g was used (GOST 23635-90).

The inhibitory activity of cells survived after storage was determined in the obtained solutions by culturing *Streptomyces lucensis* and *Streptomyces violaceus* using the colorimetric method in reference to pancreatic amylase (test enzyme). An amount of an inhibitor suppressing 1 unit of pancreatic α-amylase by 50 % at a temperature of 37 °C and pH = 7 was assigned as a unit of inhibitory activity [9]. Prior to determination, the intrinsic amylase of *Streptomyces* strains was inactivated in the solution by heat treatment at 98±1 °C. The inhibitory effect was studied in reference to pancreatic amylase (Sigma, USA, enzyme activity 34517 u/g) [14].

The chromogenesis property was evaluated using a UV-1800 spectrophotometer (Shimadzu, Japan) by determining the optical density of the solutions obtained by *Streptomyces* culturing on a starch hydrolysate at a wavelength of 560 nm.

Statistical processing data on inhibitory activity and viability was performed using the Microsoft Office Excel 2010.

RESULTS AND DISCUSSION

Previous studies have proved the low temperature storage of *Streptomyces* to cause no adverse effect on the viability and inhibitory activity of cultures. The studied strains of *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743 and *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 actinomycetes with a population density of 10⁷–10⁸ CFU preserved a high

viability and inhibitory activity with reference to pancreatic α-amylase after 4 months of storage in a 15% glycerol solution at a temperature of -12 and -18 °C [15].

As a result of these studies, the *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743 and *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 collection strains were established to tolerate the freezing process at extremely low temperatures (-80 and -150 °C).

According to our data, high viability is retained in the cells of the studied cultures stored in a 15 % glycerol solution at temperatures of -80 and -150 °C after 9-month storage. Thus, after 9 months of storage at temperatures of -80 and -150 °C, the survival rate of the studied actinobacteria cells stored at a population density of 10⁷ and 10⁸ CFU was preserved throughout the entire storage time and amounted to 91–100 %. For *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743, the number of viable cells in frozen suspensions ranged from 1.94·10⁸ to 1.97·10⁸ CFU/cm³, as opposed to *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 amounted from 5.24·10⁷ to 5.30·10⁷ CFU/cm³. On both accounts, the obtained indicators meet the requirements for low-temperature storage for bacterial cultures.

In a comparative aspect, by the end of the storage period, the number of viable cells in the studied strains of *Streptomyces* stored on Czapek dense agar medium in test tubes at a temperature of +4 °C without subculturing decreases by 73.8 and 64.5 % and comprises 1.40·10⁷ and 7.41·10⁷ CFU/cm³ for *Streptomyces violaceus* and *Streptomyces lucensis*, respectively (Table).

The viability study into *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743 and *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 collection cultures established these *Streptomyces* actinomycete strains to be highly resistant to cryopreservation and remain viable under high stress conditions. The long-term, low-temperature resistance of the studied strains is apparently due to the biological characteristics of *Streptomyces lucensis* and *Streptomyces violaceus*.

Collection and industrial strain microorganisms are acknowledged to demonstrate population variability in addition to loss of cell viability during storage. In this case, the dominant phenotype is replaced by another with altered properties and productive activity, resulting in the loss of strain priority properties [7].

The studied *Streptomyces* strains manifest themselves as producers of a pancreatic α-amylase inhibitor. For this reason, maintaining a high level of biosynthetic activity of strains acting as producers of biologically active substances during low-temperature storage turns to be a prerequisite. Therefore, in addition to studies on the effect of cryopreservation on the viability and inhibitory activity of actinomycete cultures during long-term storage was evalu-

ated. Throughout the storage period, inhibitory activity referenced to pancreatic α -amylase was monitored. Figures 1–3 demonstrate the data on

inhibitory activity of *Streptomyces* strains stored at ultra-low temperatures of -80 and -150 °C when culturing on a corn starch hydrolysate.

Viability of the studied *Streptomyces violaceus* and *Streptomyces lucensis* cultures exposed to cryopreservation at -80 and -150 °C

Жизнеспособность исследуемых культур *Streptomyces violaceus* и *Streptomyces lucensis* после криоконсервации при -80 и -150 °C

Streptomyces Strain	Storage temperature, °C	Number of viable cells, CFU / cm ³				Cell survival, %
		before storage deposition	3 months after	6 months after	9 months after	
<i>Streptomyces violaceus</i>	+4		$(4.16 \pm 0.48) \cdot 10^7$	$(3.32 \pm 0.38) \cdot 10^7$	$(1.40 \pm 0.18) \cdot 10^7$	26.2
	-80	$(5.35 \pm 0.48) \cdot 10^7$	$(5.39 \pm 0.50) \cdot 10^7$	$(5.22 \pm 0.52) \cdot 10^7$	$(5.30 \pm 0.50) \cdot 10^7$	99.1
	-150		$(5.42 \pm 0.55) \cdot 10^7$	$(5.38 \pm 0.61) \cdot 10^7$	$(5.24 \pm 0.48) \cdot 10^7$	97.9
<i>Streptomyces lucensis</i>	+4		$(9.24 \pm 0.98) \cdot 10^7$	$(8.05 \pm 0.88) \cdot 10^7$	$(7.41 \pm 0.72) \cdot 10^7$	35.5
	-80	$(2.09 \pm 0.25) \cdot 10^8$	$(2.06 \pm 0.25) \cdot 10^8$	$(1.98 \pm 0.22) \cdot 10^8$	$(1.91 \pm 0.21) \cdot 10^8$	91.4
	-150		$(1.92 \pm 0.17) \cdot 10^7$	$(1.87 \pm 0.22) \cdot 10^7$	$(1.99 \pm 0.22) \cdot 10^7$	95.2

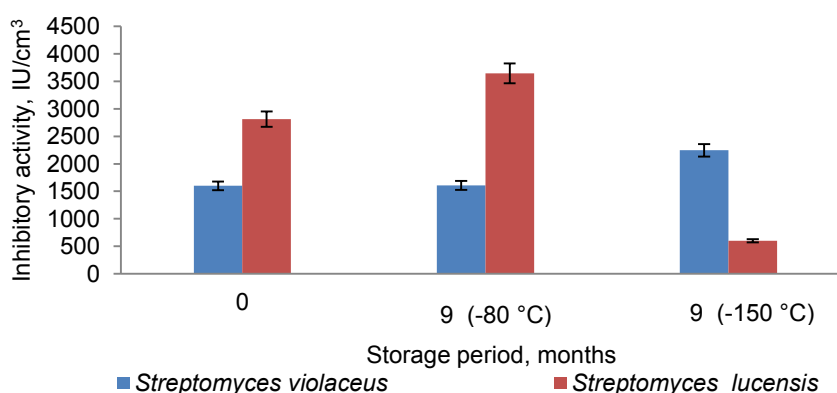


Fig. 1. Inhibitory activity of actinobacteria *Streptomyces violaceus* VKPM AC-1734 and *Streptomyces lucensis* VKPM AC-1743 before laying for storage (0 months) and after 9 months of storage at -80 and -150 °C

Рис. 1. Ингибиторная активность актинобактерий *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 и *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 до закладки на хранение (0 мес.) и после 9 мес. хранения при -80 и -150 °C

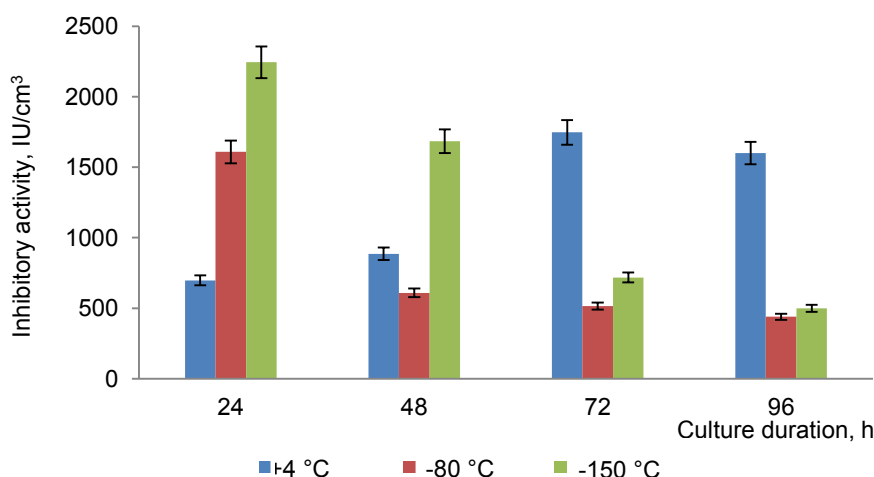


Fig. 2. Relationship between the cryogenic conservation temperature and the inhibitory activity of the strain *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734 in recultivation process

Рис. 2. Влияние температуры криогенного консервирования на динамику ингибиторной активности штамма *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 в процессе рекультивирования

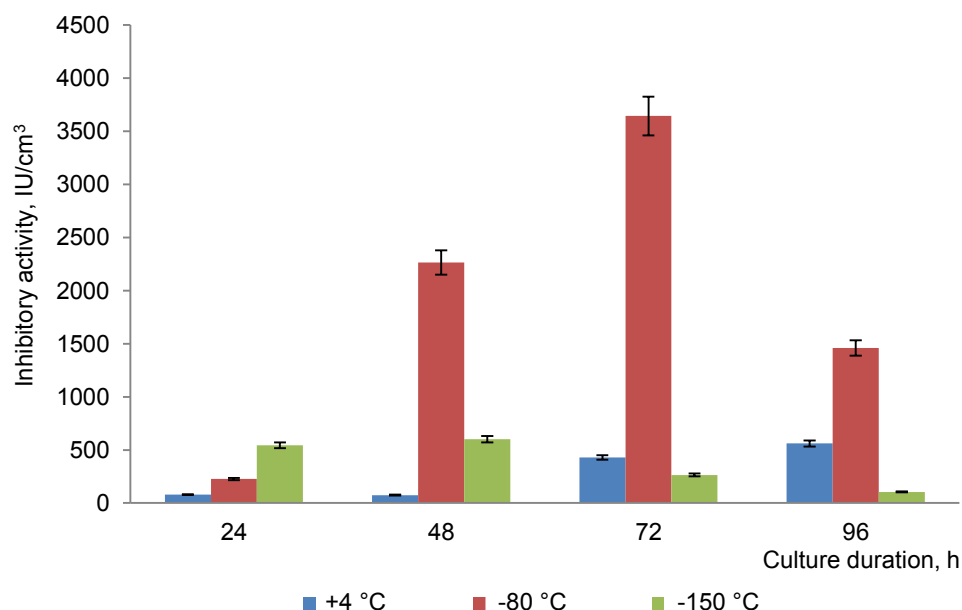


Fig. 3. Relationship between the cryogenic conservation temperature and the dynamics of the inhibitory activity of the strain *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 in recultivation process

Рис. 3. Влияние температуры криогенного консервирования на динамику ингибиторной активности штамма *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 в процессе рекультивирования

As a result of the studies, a high level of bio-synthetic activity is established to be preserved in both strains after 9-month storage at temperatures of -80 and -150 °C. *Streptomyces violaceus* strain was identified to be the most resistant to long-term storage at low temperatures, as opposed to *Streptomyces lucensis*. As referenced to pancreatic α -amylase, the inhibitory activity of *Streptomyces violaceus* is completely retained at temperatures of -80 and -150 °C; this contrasts with the *Streptomyces lucensis* strain, in which with the inhibitory activity decreased by 78 % by the end of the storage period at a temperature of -150 °C as compared to the value prior to cryopreservation.

At a storage temperature of -150 °C, the inhibitory activity of the *Streptomyces violaceus* strain remained at a higher level as compared to the temperature of -80 °C. In *Streptomyces violaceus* strain, the maximum activity level for an inhibitor of pancreatic α -amylase is observed on the 1st day of reculturing and comprises (2250±200) IU/cm³ after storage at -150 °C, while *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743 demonstrates the highest activity on the 3rd day of reculturing to reach a value of 3660±200 IU/cm³ following storage at a temperature of -80 °C. The *Streptomyces lucensis* cells reduced following cryopreservation at a temperature of -150 °C is characterised by low activity glycosidase inhibitor production on the 1st–2nd day of subculture equal to 600 ± 70 IU/cm³.

Unlike the strain of *Streptomyces violaceus* stored under similar conditions, the *Streptomyces lucensis* strain stored on a Czapek dense nutrient medium for a long time (9 months) at a temperature of +4 °C without subculture is also noted to almost completely lose the ability to synthesise a glycosidase inhibitor (see Fig. 2, 3).

According to the obtained data, the reaction of the *Streptomyces lucensis* strain to the low-temperature effect (-150 °C) is represented by the almost complete loss of the inhibitor synthesis ability.

A sharp increase in inhibitory activity of producers exposed to abiotic stress on the first day of subculture is apparently due to the fact that, when the temperature drops from negative to positive (from -80 and -150 to +37 °C compared to rise from +4 to +37 °C when thawing cultures after storage), the restoration of biochemical reactions in response to stress exposure is sharply activated. During the first days following anabiosis, the culture synthesises its own amylases to assimilate the carbon source (glucose, maltose and dextrans representing products of starch hydrolysis in starch hydrolysate) followed by a secondary metabolite, amylolytic enzyme inhibitor, is produced under conditions of carbon starvation. The inhibitor activity decreases with increasing duration of fermentation, possibly due to its structural modification. This is acknowledged for the studied glycosidase inhibitors synthesised by streptomycetes during the fermentation of carbohydrate-containing media

and being pseudo-oligosaccharides represented by the multiple forms in their chemical nature [16, 17].

The adaptation to culture conditions turns out to be slower, when subculturing the studied streptomycetes stored at a temperature of +4 °C.

The *Streptomyces* strains under study are recognised to be chromogenic. In relation to the presented experiments, the "chromogenic" indicator is possible to be used as a criterion for assessing the adaptation of *Streptomyces* culture to external conditions. In other words, when the temperature moves from negative to positive, the restoration of biochemical reactions in response to stressful effects is intensified. The synthesis of secondary metabolites is activated, including pigments and enzyme inhibitors.

In accordance to the results of the studies, following 7 days of streptomycetes culture incubation on Czapek dense agar medium in test tubes at a temperature of 29 °C, a clear difference is observed in the staining of aerial mycelium strains. For *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743, the aerial mycelium pigment is white with a greyish tint, while the staining of *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 is pink-violet (Fig. 4).

After the first culture on agar medium of cells was reduced following storage at low temperatures (-80 and -150 °C), a more intense chromogenesis was observed in *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 strain. The colour of the aerial mycelium of the strain takes on a dark purple hue (tubes 4–6 in Fig. 4). The effect of low temperatures probably results in a partial destruction of proteins, with the products composing a substrate for tyrosinase

catalysing the oxidation of phenols. More intense chromogenesis of the *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 culture is probably due to higher tyrosinase activity compared to *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743 strain [14]. The most intense pigment diffusion into the medium is noted after storage of the conidia of *Streptomyces violaceus* strain at a temperature of -150 °C.

In order to determine the pigment concentration varying, as proved by studies, in dependency with the storage temperature and the duration of streptomycete culturing after removal from the anabiosis, the optical density of solutions was measured as characterised by an increase at the maximum absorption of the synthesised pigment by the end of the culture process: after storage at a temperature of 80 °C, the optical density increased from 0.42 AU on the 1st day to 1.5 AU at the end of the process; after storage at a temperature of -150 °C, an increase from 0.85 to 1.9 AU, respectively, is detected. The data obtained indicate an increase in the concentration of chromogenic substances in the culture fluid. Apparently, the actinorhodin pigment is synthesised, inherent to the cultures of *Streptomyces coelicolor*, *S. violaceoruber* and *S. lividans*, with the absorption maximum ranging from 540 to 640 nm [18, 19]. This pigment changing colour from red to blue in dependence to the conditions of microorganism culturing is used by researchers as an indicator of changes in pH of the medium. The results of the studies demonstrated the pH to vary from 7 to 4.5 for the culture fluid where benzoisochromanquinone pigments are synthesised as characteristic for actinomycetes with a generic affiliation to *Streptomyces* [20, 21].



Fig. 4. Conidia development of *Streptomyces lucensis* (1, 2, 3) and *Streptomyces violaceus* (4, 5, 6) strains on the Czapek's medium with starch for 7 days of growth before freezing (1, 4) and after storage at -80 °C (2, 5) and -150 °C (3, 6)

Рис. 4. Развитие конидий штаммов *Streptomyces lucensis* (1, 2, 3) и *Streptomyces violaceus* (4, 5, 6) на среде Чапека с крахмалом в течение 7 суток роста до замораживания (1, 4) и после хранения культур при -80 °C (2, 5) и -150 °C (3, 6)

According to the study results, the intensely pigmented *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 strain is more resistant to temperature changes; this is additionally confirmed by the above results of studies on the effect of ultra-low temperatures on the strain inhibitory activity (see Fig. 1).

A study of the viability of *Streptomyces lucensis* RNCIM As-1743 and *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 collection cultures identified these strains of *Streptomyces* actinomycetes to be highly resistant to cryopreservation and remain viable and biosynthetic activity under high stress conditions. The resistance of the studied *Streptomyces* strains to low-temperature exposure for a long time is apparently due to the biological characteristics of these actinobacteria.

CONCLUSION

The cryopreservation study of *Streptomyces violaceus* and *Streptomyces lucensis* actinomycete strains showed that the process supports high (10^7 – 10^8) cell survival and preservation of inhibito-

ry activity at a high level under the exposure to temperatures of -80 and -150 °C using a 15 % glycerol solution as a cryoprotector.

The *Streptomyces violaceus* RNCIM As-1734 strain is identified to be the most resistant to storage at low temperatures, retaining both viability and complete inhibitory activity at the studied temperatures. A higher level of the inhibitory activity of the strain is determined to be preserved at a storage temperature of -150 °C, as opposed to -80 °C.

The most intense pigment diffusion into the medium is noted following storage of the *Streptomyces violaceus* strain at a temperature of -150 °C.

The obtained experimental data indicate that low-temperature storage of *Streptomyces* collection cultures supported by the Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms is a promising method.

The investigated modes of freezing and storage guarantee the preservation of the viability and functional activity of the studied cultures.

REFERENCES

1. Savkina OA, Ternovskoi GV, Lokachuk MN, Pavlovskaya EN, Safronova VI. Cryopreservation is a promising method for storing industrially valuable strains of lactic acid bacteria and yeast. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* = Agricultural Biology. 2014;4:112–119. (In Russian) <https://doi.org/10.15387/agrobiology.2014.4.112rus>
2. Chukparova AU. Otsenka sokhraneniya zhiznesposobnosti shtammov mikroorganizmov pri nizkotemperaturnoi konsekvatsii = Assessment of retention of the microorganism viability during low-temperature conservation. In: *Biologicheski aktivnye veshchestva mikroorganizmov: proshloe, nastoyashchee, budushchee: materialy Vserossiiskogo simpoziuma s mezhdunarodnym uchastiem* = Biologically active substances of microorganisms – past, present, future: Proceedings of the All-Russian Symposium with International Participation. 27-29 January 2011, Moscow. Moscow: MAKSPress, 2011, p. 131. (In Russian)
3. Filippova SN, Surgucheva NA, Gal'chenko VF. Long-term storage of collection cultures of actinobacteria. *Microbiology*. 2012;81(5):630–637. <https://doi.org/10.1134/S0026261712050062>
4. Sineva ON, Kulikova NG, Filippova SN, Terekhova LP. Storage of Actinobacteria of the Genera *Streptomyces* and *Nonomuraea* by Low Temperature Preservation. *Antibiotiki i khimioterapiya* = Antibiotics and chemotherapy. 2014;59(11-12):11–15. (In Russian)
5. Pokhilenko VD, Baranov AM, Detushev KV. Methods of long-term storage of collection cultures of microorganisms and development trends. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Povolzhskii region*. = University Proceedings. Volga region. Medical Sciences. 2009;4:99–121. (In Russian)
6. The formation of microorganisms pigments and aromatic substances. Glow Microbes. Available from: https://studopedia.su/6_31038_obrazovanie-mikroorganizmami-pigmentov-i-aromaticeskikh-veshchestv-svechenie-mikrobov.html/ [Accessed 05th Juli 2019]. (In Russian)
7. Tsutsaeva AA, Anan'ina AE, Balyberdina LM, Stepanyuk LV, Pavlenko NV. Long-term storage of industrial microbial strains. *Mikrobiologiya* = Microbiology. 2008;77(5):696–700. (In Russian)
8. Kamenskikh TN, Kalashnikova EA, Ivshina IB. Features of cryopreservation of alkanotrophic actinobacteria of the genus *Rhodococcus*. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya* = Bulletin of Perm University. Biology. 2010;1:15–20. (In Russian)
9. Sharova NYu. Amylase inhibitors from *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2015;51(1):58–63. <https://doi.org/10.1134/S0003683815010159>
10. Sharova NYu, Nikiforova TA, Pozdnyakova TA. Actinomycete strain *Streptomyces violaceus* – producer of glycosidase inhibitor. Patent RF, no. 2346042; 2006. (In Russian)
11. Sharova NYu, Pozdnyakova TA, Khodkevich OA. Actinomycete strain *Streptomyces lucensis* – producer of glycosidase inhibitor. Patent RF, no. 2355755; 2008. (In Russian)
12. Safronova VI, Tikhonovich IA. Organization of authorized long-term storage of useful agricultural microorganisms in the departmental collection of the Russian Agricultural Academy. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* = Agricultural Biology. 2012;47(3):32–36. (In Russian)
13. Printseva AA, Sharova NY, Vybornova TV, Manzhieva BS. Features of low-temperature storage of streptomyces strains – producers of glycosidase

inhibitors. *Food systems*. 2019;2(1):20–22. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-1-20-22>

14. Sharova N.Yu., Vybornova T.V., Printseva A.A., Manzhieva B.S. The properties of the conidia of strains of the actinomycete *Streptomyces lucensis* and *Streptomyces violaceus* during storage at low temperatures. *Food systems*. 2018;1(3):27–32. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2018-1-3-27-32>

15. Vybornova T.V., Sharova N.Yu., Printseva A.A. Low-temperature storage and the viability preservation of *Streptomyces*. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv* = Food Processing: Techniques and Technology. 2018;48(3):41–49. (In Russian) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-3-34-40>

16. Sharova N.Yu. Biosynthesis of amylase inhibitor by Streptomyces cultures. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2016;52(8):723–732. <https://doi.org/10.1134/S000368381608007X>

17. Sharova N.Yu., Khodkevich O.A., Pozdnyakova T.A. Cultural-morphological and physiological-biochemical properties of new strains in actinomycetes – producers of glycosidase inhibitors. *Vestnik*

Rossiiskoi akademii sel'skokhozyaystvennykh nauk = Proceedings of Russian Agricultural Academy. 2009;3:74–76. (In Russian)

18. Palanichamy V., Hundet A., Mitra B., Reddy N. Optimization of cultivation parameters for growth and pigment production by *Streptomyces* spp. isolated from marine sediment and rhizosphere soil. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*. 2011;1(3):158–170.

19. Danevčič T., Boric M., Stopar D. Microbial Ecophysiology of *Vibrio ruber*. *Food Technology and Biotechnology*. 2014;52(2):198–203.

20. Thakur R., Rai V. Isolation and Biochemical characterization of thermophilic *Streptomyces* from soil of Raipur District of Chhattisgarh, India. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2011;2(4):795–808.

21. Mohanasrinivasan V., Sriramkalyan P., Ipsita N., Devi C.S., Selvarajan E., Suganthi V. et al. Fermentative production of extracellular pigment from *Streptomyces coelicolor* MSIS1. *Research journal of biotechnology*. 2013;8(4):30–40.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Савкина О.А., Терновской Г.В., Локачук М.Н., Павловская Е.Н., Сафронова В.И. Криоконсервация – перспективный метод хранения промышленно ценных штаммов молочнокислых бактерий и дрожжей // *Сельскохозяйственная биология*. 2014. N 4. С. 112–119. <https://doi.org/10.15387/agrobiology.2014.4.112rus>

2. Чукпарова А.У. Оценка сохранения жизнеспособности штаммов микроорганизмов при низкотемпературной консервации // Биологически активные вещества микроорганизмов: прошлое, настоящее, будущее: материалы Всероссийского симпозиума с международным участием (Москва, 27–29 января 2011 г.). М.: МАКС Пресс, 2011. С. 131.

3. Filippova S.N., Surgucheva N.A., Gal'chenko V.F. Long-term storage of collection cultures of actinobacteria // *Microbiology*. 2012. Vol. 81. N 5. P. 630–637. <https://doi.org/10.1134/S0026261712050062>

4. Синева О.Н., Куликова Н.Г., Филиппова С.Н., Терехова Л.П. Хранение культур актинобактерий – представителей родов *Streptomyces* и *Nonomuraea* методом низкотемпературной консервации // *Антибиотики и химиотерапия*. 2014. Т. 59. N 11-12. С. 11–15.

5. Похиленко В.Д., Баранов А.М., Детушев К.В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития // *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион*. 2009. N 4 (12). С. 99–121.

6. Образование микроорганизмами пигментов и ароматических веществ. Свечение микробов // Студопедия [Электронный ресурс]. URL: https://studopedia.su/6_31038_obrazovanie-mikroorganizmami-pigmentov-i-aromaticheskikh-veshchestv-svechenie-mikrobov.html (05.07.2019).

7. Цуцаева А.А., Ананьина А.Е., Балыбердина Л.М., Степанюк Л.В., Павленко Н.В. Опыт долгосрочного хранения промышленных штаммов микроорганизмов // *Микробиология*. 2008. Т. 77. N 5. С. 696–700.

8. Каменских Т.Н., Калашникова Е.А., Ившина И.Б. Особенности криоконсервации алканотрофных актинобактерий рода *Rhodococcus* // *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*. 2010. Вып. 1 (1). С. 15–20.

9. Sharova N.Yu. Amylase inhibitors from *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734 // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2015. Vol. 51. Issue 1. P. 58–63. <https://doi.org/10.1134/S0003683815010159>

10. Пат. № 2346042, Российская Федерация, МПК C12N 9/24, C12N 1/20, C12R 1/465. Штамм актиномицета *Streptomyces violaceus* – продуцент ингибитора гликозидаз / Н.Ю. Шарова, Т.А. Никифорова, Т.А. Позднякова; заявитель и патентообладатель ГУ ВНИИПАКК. № 2006138251/13; заявл. 30.10.2006; опубл. 10.02.2009. Бюл. № 4.

11. Пат. № 2355755, Российская Федерация, МПК C12N 1/20, C12N 9/24, C12N 9/26. Штамм актиномицета *Streptomyces lucensis* – продуцент ингибитора гликозидаз / Н.Ю. Шарова, Т.А. Позднякова, О.А. Ходкевич; заявитель и патентообладатель ГУ ВНИИПАКК. № 2008101164/13; заявл. 09.01.2008; опубл. 20.05.2009, Бюл. N 14.

12. Сафронова В.И., Тихонович И.А. Организация авторизованного долгосрочного хранения полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения в ведомственной коллекции Россельхозакадемии // *Сельскохозяйственная биология*. 2012. Т. 47. N 3. С. 32–36. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2012.3.32rus>

13. Printseva A.A., Sharova N.Y., Vybornova T.V., Manzhieva B.S. Features of low-temperature storage of streptomyces strains – producers of glycosidaz inhibitors // Food systems. 2019. Vol. 2. N 1. P. 20–22. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-1-20-22>

14. Sharova N.Yu., Vybornova T.V., Printseva A.A., Manzhieva B.S. The properties of the conidia of strains of the actinomycete *Streptomyces lucensis* and *Streptomyces violaceus* during storage at low temperatures // Food systems. 2018. Vol. 1. N 3. P. 27–32. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2018-1-3-27-32>

15. Выборнова Т.В., Шарова Н.Ю., Принцева А.А. Исследование влияния низких температур на сохранение жизнеспособности штаммов *Streptomyces* в процессе хранения // Техника и технология пищевых производств. 2018. Т. 48. N 3. С. 41–49. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-3-34-40>

16. Sharova N.Y. Biosynthesis of amylase inhibitor by Streptomyces cultures // Applied Biochemistry and Microbiology. 2016. Vol. 52. Issue 8. P. 723–732. <https://doi.org/10.1134/S000368381608007X>

17. Шарова Н.Ю., Ходкевич О.А., Поздняков

ва Т.А. Культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства новых штаммов актиномицетов – продуцентов ингибиторов гликозидаз // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2009. N 3. С. 74–76.

18. V. Palanichamy, Aachari Hundet, Bhaskar Mitra, Narayana Reddy. Optimization of cultivation parameters for growth and pigment production by *Streptomyces* spp. isolated from marine sediment and rhizosphere soil // International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences. 2011. Vol. 1. Issue 3. P. 158–170.

19. Danevčič T., Boric M., Stopar D. Microbial Ecophysiology of *Vibrio ruber* // Food Technology and Biotechnology. 2014. Vol. 52. N 2. P. 198–203.

20. Rama Thakur, Vibhuti Rai. Isolation and Biochemical characterization of thermophilic *Streptomyces* from soil of Raipur District of Chhattisgarh, India // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2011. Vol. 2. Issue 4. P. 795–808.

21. Mohanasrinivasan V., Sriramkalyan P., Ipsita N., Devi C.S. Selvarajan E., Suganthi V., et al. Fermentative production of extracellular pigment from *Streptomyces coelicolor* MSIS1 // Research journal of biotechnology. 2013. Vol. 8. Issue 4. P. 30–40.

Contribution

Tatyana V. Vybornova, Natalya Yu. Sharova, Anastasia A. Printseva carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Tatyana V. Vybornova, Natalya Yu. Sharova, Anastasia A. Printseva have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

AUTHORS' INDEX

Tatyana V. Vybornova,
Researcher,
All-Russian Research Institute
for Food Additives – Branch of V.M. Gorbатов
Federal Research Center for Food Systems
of Russian Academy of Sciences,
55, Liteiny Ave., St. Petersburg 191014,
Russian Federation,
✉e-mail: vybornova.t@inbox.ru

Критерии авторства

Выборнова Т.В., Шарова Н.Ю., Принцева А.А. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Выборнова Т.В., Шарова Н.Ю., Принцева А.А. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Выборнова Татьяна Владимировна,
научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский
институт пищевых добавок – филиал
Федерального научного центра пищевых
систем им. В.М. Горбатова РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр-т, 55,
Российская Федерация,
✉e-mail: vybornova.t@inbox.ru

Natalya Yu. Sharova,

Dr. Sci. (Engineering), Professor of the Russian Academy of Sciences, Chief researcher, All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, 55, Liteiny Ave., St. Petersburg 191014, Russian Federation;
Professor,
St. Petersburg National Research University, of Information Technologies, Mechanics and Optics, 49, Kronverksky Ave., St. Petersburg 197101, Russian Federation,
e-mail: natalya_sharova1@mail.ru

Anastasia A. Printseva,

Junior Researcher,
All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, 55, Liteiny Ave., St. Petersburg 191014, Russian Federation;
Head of the Laboratory,
St. Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics, 49, Kronverksky Ave., St. Petersburg 197101, Russian Federation;
e-mail: djkr_yfcnz@mail.ru

Шарова Наталья Юрьевна,

д.т.н., профессор РАН,
главный научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр-т, 55, Российская Федерация;
профессор,
Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 197101, г. Санкт-Петербург, Кронверкский пр-т, 49, Российская Федерация,
e-mail: natalya_sharova1@mail.ru

Принцева Анастасия Андреевна,

младший научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр-т, 55, Российская Федерация;
заведующая лабораторией,
Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 197101, г. Санкт-Петербург, Кронверкский пр-т, 49, Российская Федерация,
e-mail: djkr_yfcnz@mail.ru

Original article / Оригинальная статья

УДК 664.162.036.4:577.15

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-654-664>

Bioconversion of oat hull and miscanthus cellulose to glucose solutions

© Ekaterina I. Kashcheyeva*, Galina F. Mironova*, Vera V. Budaeva*, Hina Khan**

* Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Biysk, Russian Federation

** Indian Institute of Technology Roorkee, Roorkee, India

Abstract: Cellulose-containing raw materials are currently considered to be among the most promising types of raw materials for the production of value-added bio-products. However, for the implementation of the developed process, the application of universal pre-processing methods is a prerequisite. In the present paper, a study into the bioconversion of oat hull and miscanthus cellulose samples by enzymatic hydrolysis into glucose solutions is presented. The substrates were obtained by two-stage processing of raw materials with dilute solutions of nitric acid and sodium hydroxide. Enzymatic hydrolysis was carried out using the Cellolux-A and Ultraflo Core enzyme preparations at an initial substrate concentration of 40 g/L. At the first stage, the reactivity of the substrates to enzymatic hydrolysis in an acetate buffer solution was studied over a period of 72 hours. Cellulose samples from both types of raw materials were established to possess equally high reactivity in terms of the reducing substances. Glucose obtained from the substrate yielded 94–95 % and 88–91 %, respectively. This indicates the universality of the pre-treatment method used for raw materials having a cellulose content of 35–45 %. At the second stage, hydrolysis of the substrates was carried out using a pilot fermenter in an aqueous medium with an excess of enzyme preparations. Over a period of 32 hours, aqueous hydrolysates were obtained with a concentration of reducing substances and glucose equal to 42 g/L (94 % yield from the substrate) and 33–35 g/L (74–78 % yield from the substrate), respectively. The glucose (79–83 %) and pentose (1–2 %) content of the reducing substances indicates glucose to predominate in the composition of the resulting solutions. The high bioconversion efficiency rate is additionally demonstrated by a comparative analysis of scanning electron spectroscopy results for substrates and residues following hydrolysis in a pilot fermenter. Glucose solutions obtained in an aqueous medium are emerging as promising materials for the preparation of culture media and the synthesis of valuable metabolites.

Keywords: bioconversion, oat hulls, miscanthus, cellulose, enzymatic hydrolysis, glucose solution, culture medium

Acknowledgements: The study was carried out according to the project within the framework of the State programme with the topical registration number AAAA-A17-117011910006-5.

Information about the article: Received March 19, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Kashcheyeva EI, Mironova GF, Budaeva VV, Khan H. Bioconversion of oat hull and miscanthus cellulose to glucose solutions. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):654–664. (In English) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-654-664>

Биоконверсия шелухи овса и мискантуса в глюкозные растворы

Е.И. Кашеева*, Г.Ф. Миронова*, В.В. Будаева*, Хина Хан**

* Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН,
г. Бийск, Российская Федерация

** Индийский технологический институт Рурки, г. Рурки, Индия

Резюме: Целлюлозосодержащее сырье в настоящее время считается наиболее перспективным видом сырья для получения биопродуктов с добавленной стоимостью. Применение универсальных способов предварительной обработки является необходимым условием для реализации разрабо-

тываемого процесса. В данной работе была исследована биоконверсия образцов целлюлозы шелухи овса и мискантуса в глюкозные растворы путем ферментативного гидролиза. Субстраты получены двухстадийной обработкой сырья разбавленными растворами азотной кислоты и гидроксида натрия. Ферментативный гидролиз проводился с помощью ферментных препаратов «Целлолюкс-А» и «Ультрафло Коре» при начальной концентрации субстрата 40 г/л. На первом этапе исследована реакционная способность субстратов к ферментативному гидролизу в среде ацетатного буферного раствора в течение 72 ч. Установлено, что образцы целлюлозы из обоих видов сырья имеют одинаково высокую реакционную способность: выход редуцирующих веществ и глюкозы от массы субстрата составил 94–95 % и 88–91 % соответственно. Это свидетельствует об универсальности способа предварительной обработки, используемого для сырья с содержанием целлюлозы от 35 до 45 %. На втором этапе проведен гидролиз субстратов в водной среде в пилотном ферментере при избытке ферментных препаратов. За 32 ч. получены водные гидролизаты с концентрацией редуцирующих веществ 42 г/л (выход от массы субстрата 94 %) и глюкозы 33–35 г/л (выход от массы субстрата 74–78 %). Содержание глюкозы (79–83 %) и пентоз (1–2 %) в редуцирующих веществах свидетельствует о преимущественно глюкозном составе полученных растворов. Сравнительный анализ результатов растровой электронной спектроскопии субстратов и остатков после гидролиза в пилотном ферментере также демонстрирует высокую эффективность биоконверсии. Полученные в водной среде глюкозные растворы рекомендуются для приготовления питательных сред и дальнейшего их использования для синтеза ценных метаболитов.

Ключевые слова: биоконверсия; шелуха овса; мискантус; целлюлоза; ферментативный гидролиз; глюкозный раствор; питательная среда

Благодарности: Исследование выполнено по проекту в рамках Государственной программы с регистрационным номером темы АААА-А17-117011910006-5.

Информация о статье: Дата поступления 19 марта 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Кащеева Е.И., Миронова Г.Ф., Будаева В.В., Хан Х. Биоконверсия шелухи овса и мискантуса в глюкозные растворы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. № 4. С. 654–664. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-654-664>

INTRODUCTION

Cellulose-containing raw materials (CCRM) comprised of wood, algae, as well as energy and agricultural crops, are currently considered as among the most promising types of raw materials for various value-added products [1–6]. Vegetable CCRM is characterised by widespread distribution, abundance, renewability and low cost, as well as additionally not being a competitor with the production of food and feed [7].

CCRM mainly consists of three biopolymers, namely cellulose (40–50 %), hemicelluloses (25–30 %) and lignin (15–20 %) [2]. Cellulose and hemicelluloses represent sources of simple sugars obtained by enzymatic hydrolysis of raw materials and subsequently used as carbon sources for the synthesis of valuable metabolites and bioproducts. Enzymatic hydrolysates of cellulose and hemicellulose are appropriate in the technology of alcohols, polymers, acids, amino acids, enzymes, as well as for the production of microorganism biomass [1, 5, 6, 8–12]. The bioconversion of cellulose and hemicelluloses includes the following main processes: grinding and preliminary processing of raw materials in order to increase the availability of polysaccharides for enzyme action; enzymatic hydrolysis of cellulose/hemicelluloses into monosaccharides; obtaining of bioproducts from monosaccharides (biosynthesis); isolation

and purification of bioproducts. In the CCRM bioconversion technology, the pre-treatment becomes a key stage, since it determines the efficiency of subsequent hydrolysis and biosynthesis processes [3, 8, 13]. Currently, various methods of pre-processing CCRM are available [2, 14–16]. In this study, a two-stage sequential processing of raw materials with dilute solutions of nitric acid and sodium hydroxide is proposed in terms of a pre-treatment method. Previously, this method was demonstrated to provide for the obtaining of high-quality cellulose characterised by a cellulose content of more than 90 % and a small amount of non-hydrolysable components (less than 5 % in total) [17, 18].

As CCRM, agricultural wastes, such as oat hulls (*Avena Sativa*) and the miscanthus energy culture (*Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.)) was used. Presenting a zero-cost by-product of the agro-industrial complex, oat hulls are a widespread and affordable raw material source in agricultural regions of the world [8]. In accordance to the Federal State Statistics Service, the gross oat harvest in Russia amounted to 4.72 million tonnes in 2018 [19]. The hull fraction comprises 25–30 % of the dry grain mass; the sugar content in the oat hulls reaches 70 % [20, 21]. Miscanthus is a fast-growing perennial herbaceous plant with outstandingly high productivity (10–15 t/ha of dry

biomass per year) over the period of the last 15–20 years and requiring no special growing conditions [22–24]. Thus, the availability and low cost of these raw materials determines their potential use as substrates for biotechnological processes in the production of high value-added products having a high cellulose content.

The study was aimed at the bioconversion of oat hull and miscanthus cellulose samples into glucose solutions by enzymatic hydrolysis.

The research objectives included studying the enzymatic hydrolysis reactivity of oat hull and miscanthus cellulose samples in an acetate buffer solution, obtaining glucose enzymatic hydrolysates of the same samples in an aqueous medium using a pilot fermenter, assessing the degree of substrate conversion by evaluating the separate accumulation of reducing substances (RS) and glucose, as well as by analysing changes in the morphology of the substrates.

EXPERIMENTAL PART

The substrates presented by oat hull or miscanthus cellulose samples were obtained at the pilot plant of the Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies SB RAS (IPCET SB RAS) in a 250-litre apparatus by sequential processing of raw materials with dilute solutions of nitric acid and sodium hydroxide. This method involves the processing of raw materials with a 3–6 % solution of nitric acid at a temperature of 90–95 °C for 10–12 h (diversion duty 1 : 15) and subsequent processing with a 1–3 % solution of sodium hydroxide at a temperature of 90–95 °C within 2–4 h (diversion duty 1:15) for obtaining the target cellulose [17]. One part of the obtained cellulose samples was air-dried for the further analysis of the chemical composition, while the other part was subjected to enzymatic hydrolysis in the wet state.

The moisture content of the oat hull and miscanthus cellulose samples was determined using an MB23 moisture content analyser (Ohaus, USA). An analysis of the chemical composition of the substrates was carried out according to generally accepted methods for the analysis of vegetable material. The content of α -cellulose was evaluated by quantitative determination of the substrate residue undissolved in the 17.5 % sodium hydroxide solution¹. The mass fraction of residual lignin was evaluated in accordance with the procedure described in [25]. The mass fraction of pentosans was determined by a UNICO UV-2804 spectrophotometer (United Products and Instruments, USA) using an orcin solution¹. Ash content was estimated by ashing the substrate at 600 °C for 3 h [26]. The degree of cellulose polymerisation in substrates was calculated by analysing the cadoxene viscosity of solutions in accordance with the procedure presented in [27].

At the first stage, the enzymatic hydrolysis re-

activity of wet substrates was evaluated in accordance with the procedure described in [28]. For hydrolysis, Cellolux-A (Sibbiopharm Ltd, Russia) and Ultraflo Core (Novozymes A/S, Denmark) enzyme preparations were applied. Characteristics of the preparations are presented in Table 1.

Table 1
Characteristics of the enzymes used
Таблица 1
Характеристики ферментных препаратов

Preparation	Producer	Passport Activity
Cellolux-A	<i>Trichoderma viride</i>	cellulase: 2000±200 CU/g xylanase: 8000 XU/g β -glucanase: up to 1500 BGU/g
Ultraflo Core	<i>Trichoderma reesei</i>	β -glucanase: 1930±97 BGU/mL cellulase: 700 CU/mL xylanase (optional)

For enzymatic hydrolysis, a 6 g sample of the substrate referred to an absolutely dry substance was placed in a 500 mL conical flask and filled with 0.1 M acetate buffer solution (pH = 4.6) containing dissolved enzyme preparations. Enzyme preparations were added in the following amount: Cellolux-A – 0.054 g/g of the substrate, Ultraflo Core – 0.165 mL/g of the substrate. The required volume of acetate buffer was calculated taking both the initial concentration of the substrate (40 g/L) and the mass fraction of water in the wet substrate into account. A total liquid phase volume of 150 mL was required. The flask with the suspension was placed on a PE-6410M mixing platform (Ekros, Russia) with an oscillation frequency of 150 min⁻¹. Hydrolysis was carried out at a temperature of 45±2 °C and pH = 4.6±0.1 providing the maximum yield of RS. An assessment of the degree of substrate hydrolysis was carried out by determining changes in the hydrolysate concentrations of RS and glucose. For this, 5 mL samples were taken followed by filtration. The concentration of RS in filtrate was determined by UNICO UV-2804 spectrophotometer using a reagent based on 3,5-dinitrosalicylic acid (Panreac, Spain) [29]. Glucose concentration was obtained using the spectrophotometric glucose oxidase-peroxidase method using reagents from the Photoglucose kit (Impact LLC, Russia) [30]. After 72 hours of hydrolysis, the

¹ Obolenskaya AV, El'nitskaya ZP, Leonovich AA. Laboratory work in the chemistry of wood and cellulose. Moscow: Ekologiya; 1991. / Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы: учеб. пособие для вузов. М.: Экология. 1991. 320 с.

suspension was vacuum filtered and the filtrate concentrations of RS and glucose were analysed. According to the results of the analysis, the final RS yield in relation to the mass of the substrate and hydrolysable components, along with the yield of glucose relative to the substrate and cellulose masses, was calculated according to the formulas:

$$\eta_S = [(C_{end} \cdot V) / m_s] \cdot 0.9 \cdot 100; \quad (1)$$

$$\eta_{HC} = \frac{C_{end} \cdot V}{m_s \cdot (100 - L - A)} \cdot 0.9 \cdot 100; \quad (2)$$

$$\eta_S = [(C_{end} \cdot V) / m_s \cdot C] \cdot 0.9 \cdot 100; \quad (3)$$

where η_S is the yield of RS (glucose) relative to the mass of the substrate, %;

η_{HC} is the yield of RS relative to the content of hydrolysable components in the substrate, %;

η_C is the glucose yield relative to the cellulose content in the substrate, %;

C_{end} is the final concentration of RS (glucose) in the hydrolysate, g/L;

V is the hydrolysate volume, L;

0.9 is the coefficient due to the addition of a water molecule to the anhydroglucose residues of the corresponding monomer units as a result of enzymatic hydrolysis;

m_s is the mass of the substrate for enzymatic hydrolysis, g;

L is the mass fraction of residual lignin in the substrate, %;

A is the mass fraction of ash in the substrate, %;

C is the mass fraction of α -cellulose in the substrate, %.

At the second stage, the hydrolysis of the substrates in an aqueous medium was carried out in a pilot fermenter. The 11 L fermenter (working volume of 7–9 L) is equipped with a mixing device, a heat exchange element, a device for supplying the necessary components to the process and a sampler [31]. The following hydrolysis conditions in the fermenter were used: substrate concentration of 40 g/L, temperature of 47 ± 1 °C and pH = 4.6 ± 0.1 . The mixing frequency was decreased from 500 to 250 rpm as the reaction mass with a volume of 8 L became liquefacted. Enzyme preparations were added in excess to increase the rate of hydrolysis, amounting to 0.1 g/g of the substrate and 0.3 mL/g of the substrate for Cellolux-A and Ultraflo Core, respectively. The volume of distilled

water for hydrolysis was calculated taking the moisture content of the substrate into account. 8 hours after the RS concentration stopped increasing, the process was terminated. In the process of hydrolysis, the pH level was measured every 2 hours and adjusted, if necessary by solutions of ammonia and phosphoric acid. At the end of the process, the reaction mass was separated in a TsLU-6-3 laboratory centrifuge (PJSC Dolgoprudny Scientific-Production Enterprise, Russia) at 3500 rpm for 10 minutes. The concentration of hydrolysate supernatant pentoses was determined in terms of the equivalent amount of xylose, using an orcin solution according to the procedure described in ¹. Based on the experimental results, the final yield of RS and glucose was calculated in accordance with formulas (1)–(3).

The morphology of substrates, as well as unreacted residues after their hydrolysis in a fermenter, was studied by JSM-840 scanning electron microscopy (SEM) instrument (Jeol, Japan) [32].

The studies were carried out using the equipment of the Biysk Regional Centre for Collective Use SB RAS (IPCET SB RAS, Biysk).

RESULTS AND DISCUSSION

The characteristics of the oat hull and miscanthus cellulose samples are presented in Table 2.

Cellulose samples obtained from oat hulls and miscanthus are characterised by a high content of α -cellulose (93–94 %), as well as pentosans (1–2 %), while the amount of non-hydrolysable components (lignin, ash) is not more than 5.3 %. The substrates have close degree of polymerisation (DP) values for cellulose.

Figure 1 presents the results of evaluating the enzymatic hydrolysis reactivity of cellulose samples, namely, the dependency of the RS and glucose concentration on the duration of hydrolysis in an acetate buffer solution (Stage 1).

As can be seen from the plots presented in Fig. 1, the cellulose samples of both raw material types clearly possess almost the same reactivity. In both cases, the accumulation of glucose in comparison with the accumulation of RS is slower. At the same time, the proportion of glucose in RS tends to grow constantly comprising 63, 80–81 and 93–95 % after 7, 32 and 72 hours of hydrolysis, respectively. The difference in the concentrations

Table 2

Characteristics of the substrates for enzymatic hydrolysis a

Таблица 2

Характеристики субстратов для ферментативного гидролиз

Substrate	Mass fraction, %				Cellulose degree of polymerisation (DP)
	α -cellulose	residual lignin	pentosans	ash	
Oat hull cellulose sample	93.6	3.7	2.1	1.0	1450
Miscanthus cellulose sample	92.8	4.0	1.0	1.3	1150

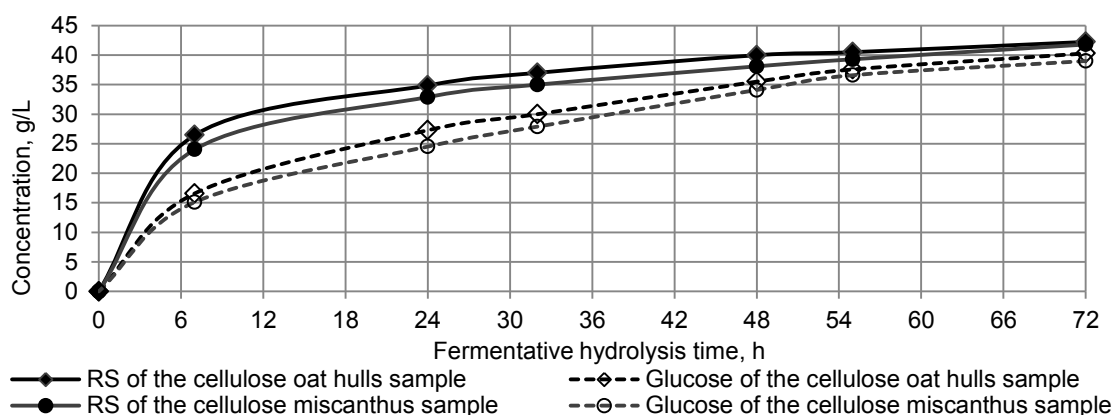


Fig. 1. Concentrations of reducing sugars (RS) and of glucose plotted against the time of enzymatic hydrolysis of the substrates of oat hulls and miscanthus in acetate buffer solution (Stage 1)

Рис. 1. Зависимость концентрации РВ и глюкозы от продолжительности ферментативного гидролиза субстратов из шелухи овса и мискантуса в среде ацетатного буферного раствора (этап 1)

of RS and glucose during the first 32 hours may be attributed to the presence in the reaction mass of cellobiose, a glucose dimer converting to glucose during hydrolysis and providing a glucose yield of 95–97 % relative to the cellulose content (Table 3). The close reactivity of the substrates indicates the versatility and high efficiency of the pre-treatment method used. Based on the presented data, the possible application of this method can be considered for pre-processing a number of sources of raw materials having an initial cellulose content in the range of 35–45 %.

At the second stage of the study, the enzymatic hydrolysis of substrates in an aqueous medium was studied in a pilot fermenter. Along with changing the buffer medium to water, the procedure of transferring to larger devices is acknowledged to decrease the hydrolysis efficiency due to sharp fluctuations in pH, insufficient mass transfer and circulation characteristics of the apparatus [33]. In this case, a reduction in the microbiological stability of the hydrolysis process is possible consi-

dering the biological purity of the enzymatic cellulose hydrolysates easily contaminated by extraneous microflora. Therefore, the high level of microbiological stability of enzymatic hydrolysis is retained by reduction of the process duration. In this connection, enzyme preparations were used in excess during hydrolysis in a fermenter holding an aqueous medium for the purpose of increasing the initial speed and reducing the duration of the process.

Figure 2 represents the dependency of the concentration of RS and glucose on the duration of hydrolysis of cellulose samples in an aqueous medium of a pilot fermenter (Stage 2).

Both substrates are converted at almost the same rate; their hydrolysis is characterised by a sharp increase in the concentration of RS (37 g/L) during the first 8 hours and a further slowdown of the process with a maximum concentration of 42 g/L. Due to the concentration of RS remaining constant between the 24th and 32nd hours of hydrolysis, the process was stopped. In contrast to

Table 3

Results of enzymatic hydrolysis of the substrates of oat hulls and miscanthus

Таблица 3

Результаты ферментативного гидролиза субстратов из шелухи овса и мискантуса

Hydrolysate characteristics	Stage 1				Stage 2	
	32 h		72 h		32 h	
	COH	CM	COH	CM	COH	CM
RS:						
concentration, g/L	37.0	35.0	42.2	41.8	41.8	41.7
yield relative to the substrate mass, %	83.3	78.8	95.0	94.1	94.1	93.8
yield relative to the content of hydrolysable components, %	87.0	84.0	99.6	99.3	98.7	99.1
Glucose:						
concentration, g/L	30.0	27.9	40.3	39.0	33.0	34.7
yield relative to substrate mass, %	67.5	62.8	90.7	87.8	74.3	78.1
yield relative to cellulose content, %	72.1	67.7	96.9	94.6	79.3	84.1
Pentose concentration, g/L	—	—	0.8	0.4	0.9	0.4

Note. COH denotes a cellulose sample of oat hulls; CM is a miscanthus cellulose sample.

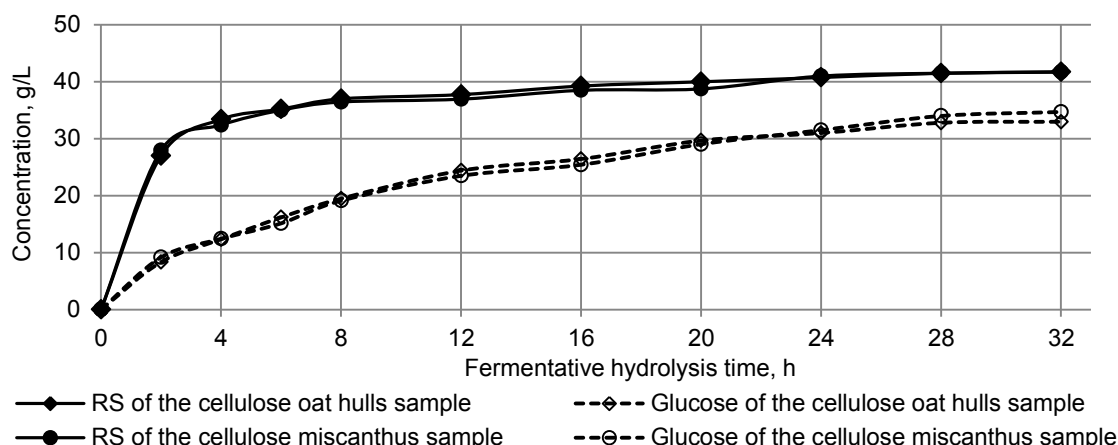


Fig. 2. Concentrations of reducing sugars (RS) and of glucose plotted against the time of enzymatic hydrolysis of the substrates of oat hulls and miscanthus in the fermenter (Stage 2)

Рис. 2. Зависимость концентрации РВ и глюкозы от продолжительности ферментативного гидролиза субстратов из шелухи овса и мискантуса в ферментере (этап 2)

the concentration of RS, the glucose concentration slowly increases throughout the process comprising 19 and 33–35 g/L after 8 and 32 hours for both substrates, respectively. An increase in the dosage of enzyme preparations led to a significant increase in the rate of RS formation compared to glucose. This is probably due to an insufficient cellobiase content in the enzyme preparations used.

The generalised results for the enzymatic hydrolysis of cellulose samples in an acetate buffer solution (Stage 1) and in an aqueous medium (Stage 2) presented in Table 3 include the intermediate results of Stage 1 after 32 hours. Comparison of the RS and glucose yield obtained in buffer and aqueous media after 32 h proves the predominant formation of RS in relation to glucose with 79–83 % and 94 % of RS and 63–68 % and 74–78 % of glucose contained in the buffer solution and in the aqueous medium, respectively. Thus, an increase in the dosage of enzyme preparations at Stage 2 contributed to an increase in the yield of RS and glucose from the substrate by 11–15 % and by 7–15 %, respectively.

At Stage 2, the RS yield relative to the content of hydrolysable components (99%) indicates the complete hydrolysis of the accessible part of the substrates into the RS. In this case, the glucose yield relative to the cellulose content (79–84 %) demonstrates the incomplete conversion of cellulose to glucose compared with the results of Stage 1 after 72 hours (95–97 %). The glucose (79–83 %) and pentose (1–2 %) content in RS characterises aqueous hydrolysates as predominantly glucose-based.

To visualise the results of enzymatic hydrolysis, the substrates were studied by SEM before and after hydrolysis in the same way as in works [34, 35]. Figure 3 contains SEM images of oat hull and mis-

canthus cellulose samples, as well as unreacted residues following hydrolysis in a pilot fermenter.

SEM results demonstrate the oat hull cellulose sample to consist of flat fibres having a hypertrophied surface of 2–5 µm thick, 20–0 µm wide and 300–800 µm long (Fig. 3, a, b). The lamellar shape of the fibres is due to the morphology of the raw materials, since the oat hulls are represented by multilayer flakes of lignocellulose coating the grain. The miscanthus cellulose sample (Fig. 3, c, d) is composed by heterogeneous fibres of different length and width, associated with using the different parts of the plant, i.e. stem and leaf. The unreacted residue after hydrolysis of an oat hull cellulose sample (Fig. 3, e) involves porous particles with pore sizes up to 10 µm, including single fibres. In contrast, a disordered mixture of fibres (up to 10 µm in diameter, up to 1000 µm in length) and irregularly shaped particles of 1–10 µm in size forms the residue after hydrolysis of a miscanthus cellulose sample (Fig. 3, f). According to the SEM results, small portions of the fibres remain at the end of the enzymatic hydrolysis, thereby confirming the effectiveness of the process with respect to the investigated substrates. Although the mass of unreacted residues following hydrolysis is very small due to the high degree of conversion of the substrates, further study of the composition and properties of the residues may be the subject of separate studies, as in the works of [35, 36].

As a result of hydrolysis of cellulose samples of oat hulls and miscanthus in a pilot fermenter, 8 L of aqueous glucose solutions having a concentration of 33 and 35 g/L, respectively, were obtained. Glucose solutions obtained in an aqueous medium are recommended for the preparation of culture media and the synthesis of valuable metabolites.

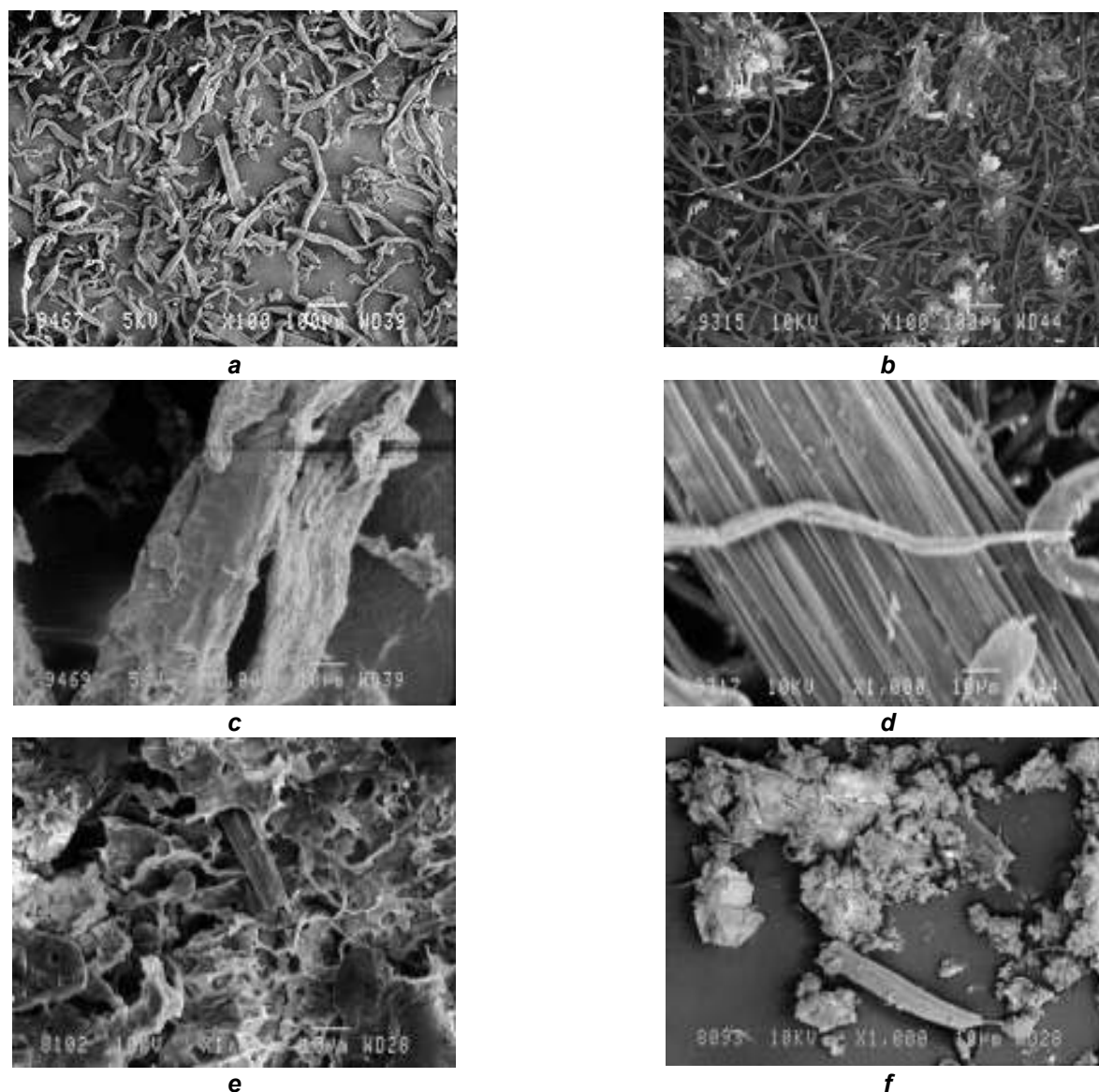


Fig. 3. SEM images of cellulose samples from oat hulls (a, b) at zooms $\times 100$ and miscanthus (c, d) at zooms $\times 1000$ and of the unreacted residues after hydrolysis of oat hulls (e) and miscanthus (f) celluloses at zooms $\times 1000$

Рис. 3. Микрофотографии РЭМ образцов целлюлозы шелухи овса (a, b) при 100-кратном увеличении и мискантуса (c, d) при 1000-кратном увеличении и непрореагировавших остатков после гидролиза целлюлозы шелухи овса (e) и мискантуса (f) при 1000-кратном увеличении

CONCLUSIONS

The substrates of the oat hulls and miscanthus obtained by sequential treatment with dilute solutions of nitric acid and sodium hydroxide were established to be promising for the production of glucose solutions. As a result of evaluating the enzymatic hydrolysis reactivity of the studied substrates, the equal reactivity for two types of raw materials was established with the yield relative to the substrate mass comprising 94–95 and 88–91 % after 72 hours of hydrolysis for RS and glucose, respectively. Hydrolysis of substrates in an 11 L pilot fermenter provides for obtaining

aqueous hydrolysates with RS and glucose concentration of 42 and 33–35 g/L, corresponding to the RS and glucose yield relative to the substrate mass equal to 94 and 74–78 %, respectively. The glucose content of 79–83 %, as well as the pentose amount of 1–2 % in RS, indicates the predominance of glucose in the composition of the obtained aqueous hydrolysates and appears to be essential for the synthesis of a number of metabolites. The high efficiency of enzymatic hydrolysis is also confirmed by the SEM results for unreacted residues of cellulose samples following hydrolysis in the fermenter as compared to substrates.

REFERENCES

1. Arevalo-Gallegos A, Ahmad Z, Asgher M, Parra-Saldivar R, Iqbal HMN. Lignocellulose: A sustainable material to produce value-added products with a zero waste approach – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;99:308–318. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.097>
2. Chen H, Liu J, Chang X, Chen D, Xue Y, Liu P, et al. A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. *Fuel Processing Technology*. 2017;160:196–206. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.12.007>
3. Diaz AB, Blandino A, Caro I. Value added products from fermentation of sugars derived from agro-food residues. *Trends in Food Science and Technology*. 2018;71:52–64. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.016>
4. Liu CG, Xiao Y, Xia XX, Zhao XQ, Peng L, Srinophakun P, et al. Cellulosic ethanol production: Progress, challenges and strategies for solutions. *Biotechnology Advances*. 2019;37(3):491–504. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.03.002>
5. Kumar A, Gautam A, Khan H, Dutt D. Chapter 9. Organic Acids: Microbial Sources, Production and Applications. In: *Microbial Enzymes and Additives for the Food Industry*. New York: Nova Science Publishers; 2019.
6. Ha DT, Kanarskaya ZA, Kanarsky AV, Shcherbakov AV, Shcherbakova EN. The effect of carbon source on the biomass and exopolysaccharide synthesis by *Paenibacillus mucilaginosus* bacteria. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(3):509–518. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-3-509-51>
7. Hu F, Ragauskas A. Pretreatment and lignocellulosic chemistry. *Bioenergy Research*. 2012;5:1043–1066. <https://doi.org/10.1007/s12155-012-9208-0>
8. Demirel F, Germec M, Coban HB, Turhan I. Optimization of dilute acid pretreatment of barley husk and oat husk and determination of their chemical composition. *Cellulose*. 2018;25(11):6377–6393. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-2022-x>
9. Gupta A, Verma JP. Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2015;41:550–567. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.08.032>
10. Cheng Z, Yang R, Liu X, Liu X, Chen H. Green synthesis of bacterial cellulose via acetic acid pre-hydrolysis liquor of agricultural corn stalk used as carbon source. *Bioresource Technology*. 2017;234:8–14. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.131>
11. Ong KL, Li C, Li X, Zhang Y, Xu J, Lin CSK. Co-fermentation of glucose and xylose from sugarcane bagasse into succinic acid by *Yarrowia lipolytica*. *Biochemical Engineering Journal*. 2019;148:108–115. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.05.004>
12. Cubas-Cano E, González-Fernández C, Ballesteros M, Tomás-Pejó E. Biotechnological advances in lactic acid production by lactic acid bacteria: lignocellulose as novel substrate. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 2018;12(2):290–303. <https://doi.org/10.1002/bbb.1852>
13. Kim JS, Lee YY, Kim TH. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 2016;199:42–48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.0850960-8524>
14. Makarova EI, Budaeva VV. Bioconversion of non-food cellulosic biomass. Part 1. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2016;6(2):43–50. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2016-6-2-43-50>
15. Bychkov A, Podgorbunskikh E, Lomovsky O, Bychkova E. Current achievement in the mechanically activated processing of plant raw materials. *Biotechnology and Bioengineering*. 2019;116(5):1231–1244. <https://doi.org/10.1002/bit.26925>
16. Baig KS, Wu J, Turcotte G. Future prospects of delignification pretreatments for the lignocellulosic materials to produce second generation bioethanol. *International Journal of Energy Research*. 2019;43(1):1411–1427. <https://doi.org/10.1002/er.4292>
17. Gismatulina YuA, Budaeva VV. Chemical composition of five *Miscanthus sinensis* harvests and nitric-acid cellulose therefrom. *Industrial Crops and Products*. 2017;109:227–232. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.026>
18. Kashcheyeva EI, Gismatulina YA, Budaeva VV. Pretreatments of Non-Woody Cellulosic Feedstocks for Bacterial Cellulose Synthesis. *Polymers*. 2019;11(10):1645. <https://doi.org/10.3390/polym11101645>
19. Bulletin of Agriculture of the Russian Federation. Available from: http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/publications/catalog/doc_1265196018516 [Accessed 15th October 2019]. (In Russian)
20. Chaud LCS, da Silva DDV, de Mattos RT, de Almeida Felipe M das G. Evaluation of oat hull hemicellulosic hydrolysate fermentability employing *Pichia stipites*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2012;55(5):771–777. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000500017>
21. Yadav MP, Hicks KB, Johnston DB, Hotchkiss AT, Chau HK, Hanah K. Production of bio-based fiber gums from the waste streams resulting from the commercial processing of corn bran and oat hulls. *Food Hydrocolloids*. 2016;53:125–133. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.017>
22. Jones MB, Walsh M. *Miscanthus for energy and fibre*. London: Earthscan. 2001. 192 p.
23. Dorogina OV, Vasilyeva OYu, Nuzhdina NS, Buglova LV, Gismatulina YuA, Zhmud EV, et al. Resource potential of some species of the genus *Miscanthus* Anderss. under conditions of continental climate of West Siberian foreststeppe. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(5):

553–559. <https://doi.org/10.18699/VJ18.394>

24. Da Costa RMF, Pattathil S, Avci U, Winters A, Hahn MG, Bosch M. Desirable plant cell wall traits for higher-quality miscanthus lignocellulosic biomass. *Biotechnology for Biofuels* volume. 2019;12(1):18 p. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1426-7>

25. TAPPI T222 om-02. *Acid-insoluble lignin in wood and pulp*. Atlanta: TAPPI Press. 2002.

26. TAPPI T211 om-85. *Ash in wood, pulp, paper, and paperboard*. Atlanta: TAPPI Press. 1985.

27. Hallac BB, Ragauskas AJ. Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 2011;5(2):215–225 <https://doi.org/10.1002/bbb.269>

28. Kashcheyeva EI, Budaeva VV. Determination of the reactivity of cellulosic substrates towards enzymatic hydrolysis. *Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov* = Industrial Laboratory. Diagnostics of materials. 2018;84(10):5–11. (In Russian) <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2018-84-10-5-11>

29. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 1959;31(3):426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>

30. Dotsenko A, Gusakov A, Rozhkova A, Sinitsyna O, Shashkov I, Sinitsyn A. Enzymatic hydrolysis of cellulosic materials using synthetic mixtures of purified cellulases bioengineered at N-glycosylation sites. *3 Biotech*. 2018;8(9):396. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1419-4>

31. Pavlov IN. A setup for studying the biocatalytic conversion of products from the processing of

Nonwood Raw Materials. *Catalysis in Industry*. 2014;6(4):350–360. <https://doi.org/10.1134/S2070-05041404014X>

32. Kashcheyeva EI, Gladysheva EK, Skiba EA, Budaeva VV. A study of properties and enzymatic hydrolysis of bacterial cellulose. *Cellulose*. 2019;26(4):2255–2265. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-02242-7>

33. Skiba EA, Baibakova OV, Budaeva VV, Pavlov IN, Makarova EI, Mironova GF., et al., Bioethanol from Oat Hulls Pretreated by Alkaline Delignification. II. Scaling of Alcoholic Fermentation up to Pilot Process. *Biotehnologiya* = Biotechnology. 2017;33(3):47–56. (In Russian) <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2017-33-3-47-56>

34. Schläfle S, Tervahartiala T, Senn T, Kölling-Paternoga R. Quantitative and visual analysis of enzymatic lignocellulose degradation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2017;11:42–49. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.06.002>

35. Liu L, Sun X, Zhang L, Qing Y, Yan N, Chen J, Wu Y. Obtaining nanofibers from lignocellulosic residues after bioethanol production. *Cellulose*. 2019;26(6):3725–3734. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02333-z>

36. De Oliveira JP, Bruni GP, el Halal SLM, Bertoldi FC, Dias ARG, da Rosa Zavareze E. Cellulose nanocrystals from rice and oat husks and their application in aerogels for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;124: 175–184. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.205>

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Arevalo-Gallegos A, Ahmad Z, Asgher M., Parra-Saldivar R., Iqbal H.M.N. Lignocellulose: A sustainable material to produce value-added products with a zero waste approach – A review // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017. Vol. 99. P. 308–318. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.097>

2. Chen H., Liu J., Chang X., Chen D., Xue Y., Liu P., et al. A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals // *Fuel Processing Technology*. 2017. Vol. 160. P. 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.12.007>

3. Diaz A.B., Blandino A., Caro I. Value added products from fermentation of sugars derived from agro-food residues // *Trends in Food Science and Technology*. 2018. Vol. 71. P. 52–64. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.016>

4. Liu C.G., Xiao Y., Xia X.X., Zhao X.Q., Peng L., Srinophakun P., et al. Cellulosic ethanol production: Progress, challenges and strategies for solutions // *Biotechnology Advances*. 2019. Vol. 37. N 3. P. 491–504. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.03.002>

5. Kumar A., Gautam A., Khan H., Dutt D. Chapter 9. Organic Acids: Microbial Sources, Production and Applications. In: *Microbial Enzymes*

and Additives for the Food Industry. New York: Nova Science Publishers. 2019.

6. Ха Т.З., Канарская З.А., Канарский А.В., Щербаков А.В., Щербакова Е.Н. Влияние источника углерода на синтез биомассы и экзополисахаридов бактериями *Paenibacillus mucilaginosus* // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2019. Т. 9. N 3. С. 509–518. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-3-509-518>

7. Hu F., Ragauskas A. Pretreatment and lignocellulosic chemistry // *Bioenergy Research*. 2012. N 5. P. 1043–1066. <https://doi.org/10.1007/s12155-012-9208-0>

8. Demirel F., Germec M., Coban H.B., Turhan I. Optimization of dilute acid pretreatment of barley husk and oat husk and determination of their chemical composition // *Cellulose*. 2018. Vol. 25, N 11. P. 6377–6393. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-0222-x>

9. Gupta A., Verma J.P. Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: A review // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2015. Vol. 41. P. 550–567. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.08.032>

10. Cheng Z., Yang R., Liu X., Liu X., Chen H. Green synthesis of bacterial cellulose via acetic acid pre-hydrolysis liquor of agricultural corn stalk used as carbon source // *Bioresource Technology*.

2017. Vol. 234. P. 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.131>

11. Ong K.L., Li C., Li X., Zhang Y., Xu J., Lin C.S.K. Co-fermentation of glucose and xylose from sugarcane bagasse into succinic acid by *Yarrowia lipolytica* // Biochemical Engineering Journal. 2019. Vol. 148. P. 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.05.004>

12. Cubas-Cano E., González-Fernández C., Ballesteros M., Tomás-Pejó E. Biotechnological advances in lactic acid production by lactic acid bacteria: lignocellulose as novel substrate // Biofuels, Bioproducts and Biorefining. 2018. Vol. 12. N 2. P. 290–303. <https://doi.org/10.1002/bbb.1852>

13. Kim J.S., Lee Y.Y., Kim T.H. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass // Bioresource Technology. 2016. Vol. 199. P. 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.0850960-8524>

14. Макарова Е.И., Будаева В.В. Биоконверсия непищевого целлюлозосодержащего сырья. Часть 1 // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. Т. 6. N 2. С. 43–50. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2016-6-2-43-50>

15. Bychkov A., Podgorbunskikh E., Lomovsky O., Bychkova E. Current achievement in the mechanically activated processing of plant raw materials // Biotechnology and Bioengineering. 2019. Vol. 116. N 5. P. 1231–1244. <https://doi.org/10.1002/bit.26925>

16. Baig K.S., Wu J., Turcotte G. Future prospects of delignification pretreatments for the lignocellulosic materials to produce second generation bioethanol // International Journal of Energy Research. 2019. Vol. 43. Issue 1. P. 1411–1427. <https://doi.org/10.1002/er.4292>

17. Gismatulina Yu.A., Budaeva V.V. Chemical composition of five *Miscanthus sinensis* harvests and nitric-acid cellulose therefrom // Industrial Crops and Products. 2017. Vol. 109. P. 227–232. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.026>

18. Kashcheyeva E.I., Gismatulina Y.A., Budaeva V.V. Pretreatments of Non-Woody Cellulosic Feedstocks for Bacterial Cellulose Synthesis // Polymers. 2019. N 11. Issue 10. P. 1645. <https://doi.org/10.3390/polym11101645>

19. Бюллетени о состоянии сельского хозяйства (электронные версии) [Электронный ресурс]. URL: http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/publications/catalog/doc_1265196018516 (29.08.2019).

20. Chaud L.C.S., da Silva D.D.V., de Mattos R.T., de Almeida Felipe M. das G. Evaluation of oat hull hemicellulosic hydrolysate fermentability employing *Pichia stipites* // Brazilian Archives of Biology and Technology. 2012. Vol. 55. N. 5. P. 771–777. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000500017>

21. Yadav M.P., Hicks K.B., Johnston D.B., Hotchkiss A.T., Chau H.K., Hanah K. Production of bio-based fiber gums from the waste streams re-

sulting from the commercial processing of corn bran and oat hulls // Food Hydrocolloids. 2016. Vol. 53. P. 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.017>

22. Jones M.B., Walsh M. *Miscanthus* for energy and fibre. London: Earthscan. 2001. 192 p.

23. Dorogina O.V., Vasilyeva O.Yu., Nuzhdina N.S., Buglova L.V., Gismatulina Yu.A., Zhmud E.V., et al. Resource potential of some species of the genus *Miscanthus* Anderss. under conditions of continental climate of West Siberian foreststeppe // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018. Vol. 22. N 5. P. 553–559. <https://doi.org/10.18699/VJ18.394>

24. Da Costa R.M.F., Pattathil S., Avci U., Winters A., Hahn M.G., Bosch M. Desirable plant cell wall traits for higher-quality miscanthus lignocellulosic biomass // Biotechnology for Biofuels volume. 2019. Vol. 12, N 1. 18 p. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1426-7>

25. TAPPI T222 om-02. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. Atlanta: TAPPI Press. 2002.

26. TAPPI T211 om-85. Ash in wood, pulp, paper, and paperboard. Atlanta: TAPPI Press. 1985.

27. Hallac B.B., Ragauskas A.J. Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol // Biofuels, Bioproducts and Biorefining. 2011. Vol. 5. Issue 2. P. 215–225. <https://doi.org/10.1002/bbb.269>

28. Кашеева Е.И., Будаева В.В. Определение реакционной способности к ферментативному гидролизу целлюлозосодержащих субстратов // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2018. Т. 84. N 10. С. 5–11. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2018-84-10-5-11>

29. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar // Analytical Chemistry. 1959. Vol. 31. N 3. P. 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>

30. Dotsenko A., Gusakov A., Rozhkova A., Sinitsyna O., Shashkov I., Sinitsyn A. Enzymatic hydrolysis of cellulosic materials using synthetic mixtures of purified cellulases bioengineered at N-glycosylation sites // 3 Biotech. 2018. Vol. 8. N 9. P. 396. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1419-4>

31. Pavlov I.N. A setup for studying the biocatalytic conversion of products from the processing of Nonwood Raw Materials // Catalysis in Industry. 2014. Vol. 6. Issue 4. P. 350–360. <https://doi.org/10.1134/S207005041404014X>

32. Kashcheyeva E.I., Gladysheva E.K., Skiba E.A., Budaeva V.V. A study of properties and enzymatic hydrolysis of bacterial cellulose // Cellulose. 2019. Vol. 26. Issue 4. P. 2255–2265. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-02242-7>

33. Скиба Е.А., Байбакова О.В., Будаева В.В., Павлов И.Н., Макарова Е.И., Миронова Г.Ф. [и др.]. Биоэтанол из плодовых оболочек овса, предварительно обработанных методом щелочной делигнификации. II. Масштабирование процесса получения биоэтанола в условиях опытного производства // Биотехнология. 2017.

T. 33. N 3. C. 47–56. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2017-33-3-47-56>

34. Schläfle S., Tervahartiala T., Senn T., Kölling-Paternoga R. Quantitative and visual analysis of enzymatic lignocellulose degradation // *Bio-catalysis and Agricultural Biotechnology*. 2017. Vol. 11. P. 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.06.002>

35. Liu L., Sun X., Zhang L., Qing Y., Yan N., Chen J., Wu Y. Obtaining nanofibers from lignocel-

lulosic residues after bioethanol production // *Cellulose*. 2019. Vol. 26. N 6. P. 3725–3734. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02333-z>

36. De Oliveira J.P., Bruni G.P., el Halal S.L.M., Bertoldi F.C., Dias A.R.G., da Rosa Zavareze E. Cellulose nanocrystals from rice and oat husks and their application in aerogels for food packaging // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018. Vol. 124. P. 175–184. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.205>

Критерии авторства

Ekaterina I. Kashcheyeva, Galina F. Mironova, Vera V. Budaeva, Hina Khan carried out the experimental work, analyzed the experimental results and prepared the text of the manuscript. Ekaterina I. Kashcheyeva, Galina F. Mironova, Vera V. Budaeva, Hina Khan have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ekaterina I. Kashcheyeva,
Cand. Sci. (Engineering), Senior researcher,
Laboratory of Bioconversion,
Institute for Problems of Chemical
and Energetic Technologies SB RAS,
1, Sotsialisticheskaya St., Biysk 1659322,
Russian Federation,
✉e-mail: massl@mail.ru

Galina F. Mironova,
Junior Researcher,
Laboratory of Bioconversion,
Institute for Problems of Chemical
and Energetic Technologies SB RAS,
1, Sotsialisticheskaya St., Biysk 1659322,
Russian Federation,
e-mail: yur_galina@mail.ru

Vera V. Budaeva,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Head of the Laboratory of Bioconversion,
Institute for Problems of Chemical
and Energetic Technologies SB RAS
1, Sotsialisticheskaya St., Biysk 1659322,
Russian Federation,
e-mail: budaeva@ipcet.ru

Hina Khan,
Master of Technology,
Research Scholar at the Division of Pulp
and Paper Technology
Indian Institute of Technology Roorkee,
Uttarakhand, Roorkee 247667, India

Contribution

Кашеева Е.И., Миронова Г.Ф., Будаева В.В., Хан Х. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Кашеева Е.И., Миронова Г.Ф., Будаева В.В., Хан Х. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

AUTHORS' INDEX

Кашеева Екатерина Ивановна,
к.т.н., старший научный сотрудник
лаборатории биоконверсии,
Институт проблем химико-энергетических
технологий СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая 1,
Российская Федерация,
✉e-mail: massl@mail.ru

Миронова Галина Федоровна,
младший научный сотрудник
лаборатории биоконверсии,
Институт проблем химико-энергетических
технологий СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая 1,
Российская Федерация,
e-mail: yur_galina@mail.ru

Будаева Вера Владимировна,
к.х.н., доцент, заведующая
лабораторией биоконверсии,
Институт проблем химико-энергетических
технологий СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая 1,
Российская Федерация,
e-mail: budaeva@ipcet.ru

Хина Хан,
дипломированный специалист,
научный сотрудник отдела
целлюлозно-бумажной технологии,
Индийский технологический институт Рурки,
247667, г. Рурки, Уттаракханд, Индия

Обзорная статья / Review article

УДК 579.61

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-665-678>

Анализ проблемы «супербактерий» и современные подходы к ее решению

© Ю.П. Джигоев*, В.И. Злобин*, В.П. Саловарова**,
Л.А. Степаненко*, О.Н. Рева***, А.Ю. Борисенко*,
Н.П. Перетолчина*, Ю.С. Букин****

* Иркутский государственный медицинский университет, г. Иркутск, Российская Федерация

** Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Российская Федерация

*** Центр биоинформатики и компьютерной биологии, Университет Претории, ЮАР

**** Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация

Резюме: Открытие антибактериальных препаратов (АБП) в форме антибиотиков имеет почти 100-летнюю историю. За это время были отмечены как расцвет их эффективности против многих патогенных бактерий, так и современный период возникновения к ним множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). В данной обзорной работе проанализированы результаты исследований многих международных лабораторий, занимающихся разработкой как новых антибиотиков, так и других форм противобактериальных препаратов. Представлены современные подходы в области геномных, постгеномных и нанотехнологий, использование которых способствует созданию новых АБП. Благодаря этим технологиям уже получены первые результаты по использованию молекулярных пептидов, наночастиц в качестве АБП, литически действующих на мембрану бактерий. В последние годы в качестве АБП для борьбы с супербактериями вновь стали активно использоваться бактериофаги и их комбинации, получены данные об их способности лизировать патогены. Также проведен анализ результатов метаболомных исследований бактерий, на основе которых стало возможным создание чиповой конструкции – iChip, обеспечивающей высокопроизводительное культивирование бактерий в их естественной среде обитания, предоставляя доступ к «некультивируемым» микроорганизмам. В ряде исследований также на основе методов метаболомики представлены результаты идентификации «некультивируемых» микроорганизмов прямо из метабеномов. Этот подход позволяет далее их клонировать и экспрессировать в геномы протипированных бактерий. По мнению авторов, это позволяет быстро отбирать новые молекулы для открытия антибиотиков. Основным выводом данного обзора является необходимость исследований механизмов формирования у «супербактерий» как факторов МЛУ, так и их взаимодействия с клетками организма человека. В целом, учитывая обширные научные изыскания по созданию новых АБП, будущее в борьбе с «супербактериями» выглядит не столь угрожающим для человечества.

Ключевые слова: множественная лекарственная устойчивость, класс «супербактерий», антибиототики, антибактериальные препараты на основе наночастиц, пептидов, фагов, методы геномики, биоинформатики, метаболомики

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Иркутской области в рамках научного проекта № 17-415-380005.

Информация о статье: Дата поступления 12 августа 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Джигоев Ю.П., Злобин В.И., Саловарова В.П., Степаненко Л.А., Рева О.Н., Борисенко А.Ю., Перетолчина Н.П., Букин Ю.С. Анализ проблемы «супербактерий» и современные подходы к ее решению // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 665–678. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-665-678>

Analysis of the "superbacteria" issue and contemporary approaches to its solution

Yuri P. Dzhioev*, Vladimir I. Zlobin*, Valentina P. Salovarova**,
Lilia A. Stepanenko*, Oleg N. Reva***, Andrey Yu. Borisenko*,
Nadezhda P. Peretolchina*, Yuri S. Bukin****,*****

* Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

** Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

*** Centre for Bioinformatics and Computational Biology, Department of Biochemistry,
Genetics and Microbiology, University of Pretoria, South Africa

**** Limnological Institute SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: The discovery of antibacterial preparations (ABP) in the form of antibiotics has an almost 100-year history. During this time, both the flourishing of their effectiveness against many pathogenic bacteria and the currently emergence of multidrug resistance (MDR) to them have been noted. This review analyses the results of studies conducted by many international laboratories involved in the development of both new antibiotics and other forms of antibacterial drugs. Contemporary approaches are presented in the field of nanotechnology, genomic and postgenomic technologies with their application contributing to the creation of new ABPs. By virtue of these technologies, the first results have been obtained on the application of molecular peptides and nanoparticles in terms of ABPs, acting lytically on the bacterial membrane. In recent years, bacteriophage viruses and their combinations have again been actively used as ABPs to fight superbacteria, while data on their ability to lyse pathogens have been obtained. In addition, an analysis was provided of the results for bacteria metabolic studies provided for the creation of the iChip chip design for high-performance culturing of bacteria in their natural habitat, while opening the access to "uncultured" microorganisms. In a number of studies also based on metabolic methods, the results are presented for the identification of "uncultured" microorganisms directly from the metagenomes. This approach allows them to be further cloned and expressed into the genomes of the prototyped bacteria. According to the authors, this allows for rapid selection of new molecules for use as antibiotics. The main conclusion of this review consists in the necessity of studying the "superbacteria" formation mechanisms for both MDR factors and their interaction with the cells of the human body. In general, given the extensive scientific research on the creation of new ABPs, the future does not look so threatening to humanity in the fight against "superbacteria".

Keywords: multidrug resistance, "superbacteria" class, antibiotics, nanoparticle based antibacterial drugs, peptide-based antibacterial drugs, phage based antibacterial drugs, methods of genomics, bioinformatics, metabolomics

Acknowledgments: This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research and Government of Irkutsk region, scientific project no. 17-415-380005.

Information about the article: Received August 12, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Dzhioev YuP, Zlobin VI, Salovarova VP, Stepanenko LA, Reva ON, Borisenko AYU, Peretolchina NP, Bukin YuS. Analysis of the "superbacteria" issue and contemporary approaches to its solution. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):665–678. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-665-678>

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы множественной лекарственной устойчивости бактерий к антибиотикам. В современном мире большую угрозу для здоровья людей несут инфекции, возбудителями которых являются бактерии с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Сегодня такие патогенные бактерии именуются «супербактериями» (в зарубежной научной литературе – «superbugs»). [1–3]. Их огромная численность, удивительная пластичность генетиче-

ского материала, а также способность обмениваться генетической информацией между совершенно разными видами открыли бактериям путь к бесконечной адаптации. Их количество и агрессивность возрастают, что становится глобальной проблемой не только здравоохранения, но практически всех государственных секторов, всего общества [4–6]. Считается, что появление и распространение высокорезистентных к антибиотикам бактерий спровоцировано интенсивным и длительным использованием и злоупотребле-

нием антибиотиками в человеческой, ветеринарной медицине и сельском хозяйстве. Прогнозное математическое моделирование это подтверждает: уровень использования антибиотиков бактериями существенно влияет на рост уровня их резистентности [7, 8].

В связи с этим многие страны приняли национальные планы действий по проблеме устойчивости к противомикробным препаратам (УПП), которые в большей мере направлены на сокращение потребления антибиотиков на душу населения. Также в 2015 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) приняла Глобальный план действий по устойчивости к противомикробным препаратам, который был утвержден в ходе 71-й сессии Генеральной Ассамблеи Организации Объединенных Наций в 2016 г.^{1, 2}

Весьма красноречивыми в оценке важности проблемы МЛУ являются результаты аналитического моделирования по критериям уровня потребления антибиотиков с течением времени и в разных странах. В этом исследовании были проанализированы тенденции и факторы потребления антибиотиков в период с 2000 по 2015 гг. в 76 странах, а также спрогнозировано общее глобальное потребление антибиотиков до 2030 г. [9]. В общем объеме потребления антибиотиков за этот период, выраженное в определенных суточных дозах (ОСД), увеличилось на 65 %. Наибольший вклад в увеличении ОСД внесли страны с низким и средним уровнем дохода, среди которых ведущими являются Индия (103 %), Китай (79 %) и Пакистан (65 %). Другая картина представлена в странах с высоким уровнем дохода (США, Франция, Италия), где при незначительном увеличении общего потребления антибиотиков ОСД снизился на 4 %. Особую обеспокоенность вызвало быстрое увеличение использования антибиотических соединений последней инстанции, таких как глицилциклины, оксазолидиноны, карбапенемы и полимиксины.

Другой, не менее важной проблемой в настоящее время в борьбе с супербактериями является резкое сокращение производства новых антибиотических препаратов. Большинство классов антибиотиков, используемых сегодня, были выявлены в период с 1940-го по конец

1960-х гг., который называли «золотым веком антибиотиков». Тогда же распространилось мнение, что инфекционные заболевания вскоре станут контролируемой проблемой общественного здравоохранения и будут сведены к минимуму [10]. Однако эта эйфория вскоре обернулась разочарованием, так как начиная с 1970-х гг. по настоящее время над человечеством нависла угроза вновь вернуться в эпоху до антибиотиков: за этот период появились бактерии, резистентные сразу к нескольким химически несхожим антибиотикам, что во много раз обострило ситуацию с лечением многих инфекционных заболеваний [11, 12]. Более того, за последние 30 лет не удалось открыть никаких новых классов антибиотиков, при этом спектр уже используемых антибиотиков сужается, что повышает шансы бактерий выработать к ним устойчивость. Об этом свидетельствуют как общий временной понижающий тренд интереса фармацевтических компаний производить новые формы антибиотиков, так и рост устойчивости бактерий к используемым антибиотическим препаратам. Уже почти 30 лет ничего не слышно о новых классах антибиотиков (рис. 1, а), а по мере увеличения количества бактерий с МЛУ падает интерес к поиску новых антибиотиков, число вводимых в клиническую практику препаратов стремится к нулю (рис. 1, б) [13].

Чтобы в еще большей степени осознать масштаб проблемы с супербактериями, стоит перечислить некоторые заболевания и статистику по ним за последние годы. В настоящее время более 2 млн жителей Северной Америки ежегодно заболевают инфекциями, связанными с устойчивостью к антибиотикам, что приводит к 23 000 смертей [14]. Эта цифра в странах Европы еще более значимая, где выявляется почти 700 тысяч случаев инфекций, связанных с МЛУ бактериальных патогенов, которые непосредственно приводят к более чем 33 000 смертельных случаев в год [15]. Несмотря на то что за период с 2000 по 2015 гг. использование антибиотиков человеком в среднем в мире увеличилось на 36 %, сегодня примерно 20 % смертей во всем мире связано именно с инфекционными заболеваниями. Эта ситуация еще более усугубляется, поскольку внутрибольничные инфекции стали основной причиной заболеваемости и смертности, из них более 15 % вызваны бактериальными патогенами с МЛУ [11]. По расчетам британских ученых, проводивших исследования по устойчивости к противомикробным препаратам, от антибиотикорезистентности будет умирать больше людей, чем от онкологических заболеваний и диабета вместе взятых [16]. В ряде масштабных исследований было показано, что при таком уровне развития МЛУ патогенных бактерий в мире ежегодная смертность к 2050 г. может достичь почти 10 млн человек (рис. 2).

¹ World Health Organization (2015). Global action plan on antimicrobial resistance. Available from: www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/en/ [Accessed 1th May 2017].

² United Nations (2016). Draft political declaration of the high-level meeting of the General Assembly on antimicrobial resistance. Available from: https://www.un.org/pga/71/wp-content/uploads/sites/40/2016/09/DGACM_GAEAD_ESCAB-AMR-Draft-Political-Declaration-1616108_E.pdf [Accessed 27th June 2017].

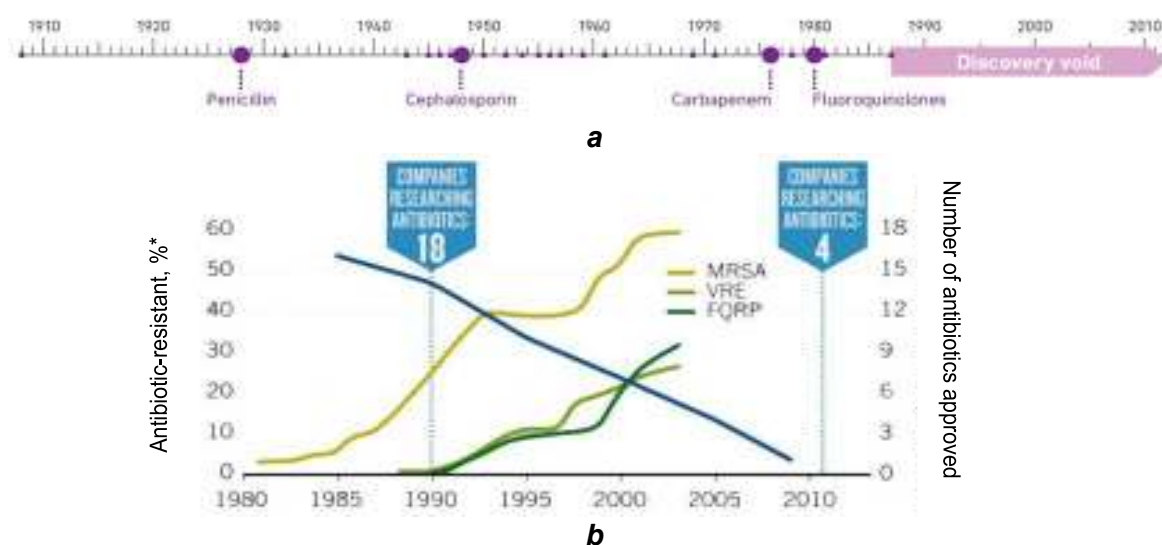


Рис. 1. Рост бактериальной антибиотикорезистентности [13]:
* – процент клинических изолятов, устойчивых к антибиотикам;
MRSA – метициллин-резистентные *Staphylococcus aureus*;
VRE – ванкомицин-резистентные *Enterococcus*;
FQRP – фторхинолон-резистентные *Pseudomonas aeruginosa*

Fig. 1. Development of bacterial antibiotic resistance [13]:
* – percentage of clinical isolates resistant to antibiotics;
MRSA – methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*;
VRE – vancomycin-resistant *Enterococcus*;
FQRP – Fluoroquinolone-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*

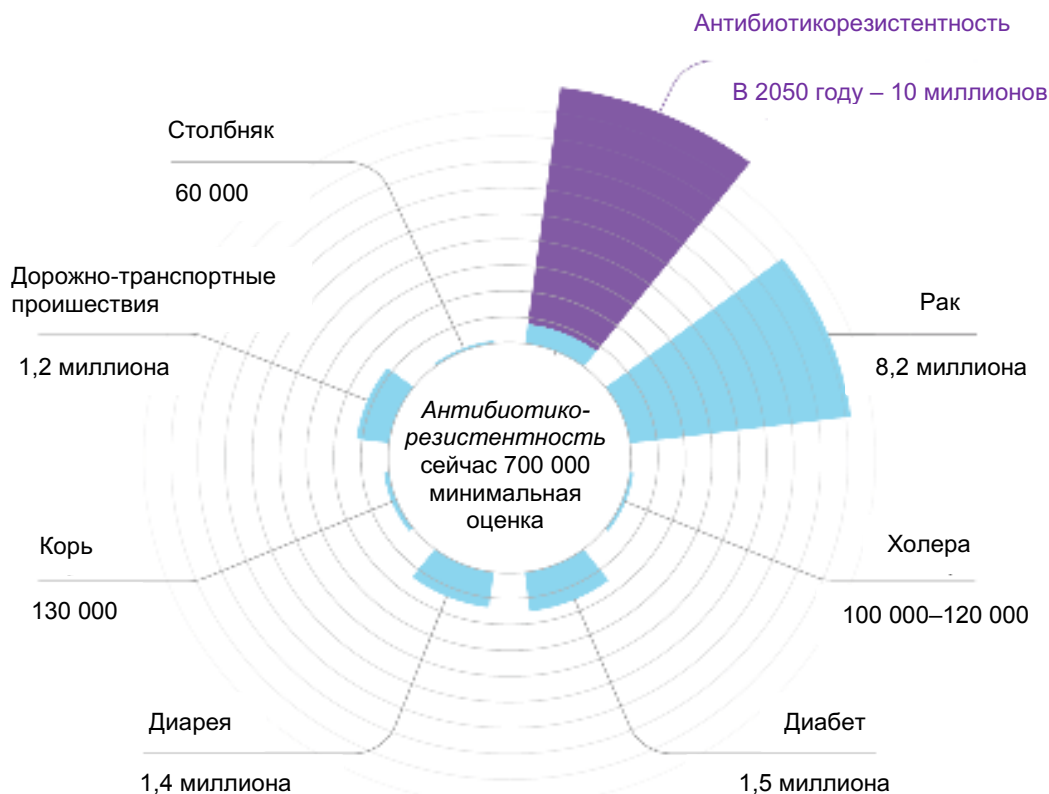


Рис. 2. Мировая смертность, прогнозируемая к 2050 г. [16]

Fig. 2. World mortality projected by 2050 [16]

Чтобы в еще большей степени осознать масштаб проблемы с супербактериями, стоит перечислить некоторые заболевания и статистику по ним за последние годы. В настоящее время более 2 млн жителей Северной Америки ежегодно заболевают инфекциями, связанными с устойчивостью к антибиотикам, что приводит к 23 000 смертей [14]. Эта цифра в странах Европы еще более значимая, где выявляется почти 700 тысяч случаев инфекций, связанных с МЛУ бактериальных патогенов, которые непосредственно приводят к более чем 33 000 смертельных случаев в год [15]. Несмотря на то что за период с 2000 по 2015 гг. использование антибиотиков человеком в среднем в мире увеличилось на 36 %, сегодня примерно 20 % смертей во всем мире связано именно с инфекционными заболеваниями. Эта ситуация еще более усугубляется, поскольку внутрибольничные инфекции стали основной причиной заболеваемости и смертности, из них более 15 % вызваны бактериальными патогенами с МЛУ [11]. По расчетам британских ученых, проводивших исследования по устойчивости к противомикробным препаратам, от антибиотикорезистентности будет умирать больше людей, чем от онкологических заболеваний и диабета вместе взятых [16]. В ряде масштабных исследований было показано, что при таком уровне развития МЛУ патогенных бактерий в мире ежегодная смертность к 2050 г. может достичь почти 10 млн человек (рис. 2).

Для оценки степени вовлеченности патогенных бактерий в процесс формирования МЛУ американскими учеными было проведено специальное масштабное исследование по определению самых устойчивых среди них к используемым антибиотикам. В результате была выделена группа, представленная следующими бактериальными патогенами: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp. – ESKAPE (по первым буквам их названий) [17]. Данные супербактерии способны образовывать биопленки, которые физически предотвращают действие клеток иммунного ответа «хозяина», а также антибиотиков [18].

В 2016 г. ВОЗ опубликовала список устойчивых к действию антибиотиков «приоритетных патогенов» – 12 видов бактерий, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека [19]. Включенные в список ВОЗ бактерии, куда вошли все патогены ESKAPE, разделены на три группы по степени устойчивости и уровню потребности в создании новых антибиотиков: крайне приоритетные, высокоприоритетные и среднеприоритетные (или иначе критический, высокий и средний уровень опасности соответственно). Например, такие патогены, как *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeru-*

ginosa, *Enterobacteriaceae*, имеющие устойчивость к действию широкого ряда антибиотиков, в том числе к карбапенемам и цефалоспорином третьего поколения (наиболее эффективные из имеющихся антибиотиков для лечения бактериальных инфекций), вошли в первую группу. В группу с высоким приоритетом включены патогены, устойчивые: к ванкомицину – *Enterococcus faecium* (VRE), *Staphylococcus aureus* (VRSA); метициллину – также *Staphylococcus aureus* (MRSA). Опасность среднего уровня (приоритет 3-го порядка) представляют собой *Streptococcus pneumoniae*, невосприимчивые к пенициллину, *Haemophilus influenzae*, устойчивые к ампициллину, и другие.

Таким образом, очевидно, что растущая устойчивость патогенов к антибиотикам оказывает масштабное влияние на жизнедеятельность человека: арсенал методов лечения большого числа инфекций стремительно истощается, что связано с высоким риском смертности населения. В то же время поиск альтернативных способов приводит к увеличению расходов на здравоохранение, в том числе разработку новых антибиотиков [20]. Однако полагаться в решении этого вопроса только на рыночные механизмы нельзя, иначе столь нужные сегодня новые антибиотики появятся слишком поздно. Эксперты ВОЗ подчеркивают, что необходимо наращивать темпы разработки новых лекарственных средств вне зависимости от требований рынка, иначе существующие антибиотики могут перестать справляться с заболеваниями, вызываемыми супербактериями. По их мнению, публикация списка подтолкнет правительства стран к принятию стратегий по стимулированию фундаментальных исследований и передовых разработок в области создания новых антибиотиков за счет инвестиций со стороны как организаций с государственным финансированием, так и частного сектора.

Современные биотехнологии, направленные на решение проблемы супербактерий. Угрожающая тенденция формирования новых вариантов супербактерий требует срочного поиска и создания новых антибактериальных препаратов с характеристиками, превосходящими предыдущие. И здесь выявляются две проблемы: с одной стороны, в большинстве исследований по-прежнему акцент делается на антибиотики, синтезируемые различными видами бактерий, с другой – крупные фармацевтические и биотехнологические компании сегодня с неохотой вкладывают средства в создание новых классов антибиотиков, потому что этот рынок стал рискованным и экономически относительно невыгодным. Эта ситуация сложилась, во-первых, из-за того, что ввиду высокой стоимости производство антибиотиков стало менее выгодным (чем лекарств других тера-

певтических категорий), поскольку национальные программы ограничивают их продажи из-за МЛУ супербактерий. Во-вторых, чтобы найти, разработать и выпустить на рынок новые антибиотики, особенно против грамотрицательных бактерий, требуются значительные капиталовложения и технические инновации. Кроме того, для проведения доклинических и клинических испытаний новых антибиотиков необходимы и большие временные затраты. В результате общее количество новых единиц ежегодно утверждаемых антибактериальных препаратов медленно снижается в течение последних двух десятилетий [21]. Как видим, с каждым годом эти две взаимосвязанные проблемы – расширение класса МЛУ бактерий и снижение разработки новых антибиотических препаратов, все более усугубляются. Поэтому крайне важно найти альтернативные способы лечения инфекций, особенно вызванных патогенами ESKAPE.

Синтетические аналоги антибиотиков – наноантибиотики. По названным выше причинам многие фармацевтические компании стали вкладывать больше финансовых средств в разработку противоинфекционных лекарств небактериальной природы, то есть других терапевтических категорий. Так, сегодня уже синтезируются различные варианты пептидомиметиков и полиаминовых соединений с клеточной селективностью и сильной антибактериальной активностью против MRSA. За счет использования геномных и пептидных библиотек бактерий был проведен анализ и скрининг гидрофобных пептидов с оценкой их антибактериального действия на патогены группы ESKAPE. Также стали проводиться исследования по созданию синтетических препаратов на основе наночастиц, и они рассматриваются как многообещающий способ преодоления терапевтических проблем инфекций, вызванных *S. aureus* [22]. В этом направлении значимыми являются разработки китайских ученых по созданию мультиантигенной нанотоксоидной вакцины на основе наночастиц, покрытых мембранами макрофагов, адаптированных для создания мощного иммунитета против патогенных *Pseudomonas aeruginosa* [23]. В качестве прямого и селективного ингибитора *S. aureus* предлагается использовать металлоорганическое соединение иридия(III), который по результатам экспериментальных исследований показал мощное бактерицидное действие [24]. Однако большинство разрабатываемых синтетических антибиотиков пока имеет ограниченное применение для неосложненных инфекций, или их используют в качестве экономической альтернативы в развивающихся странах. Но несмотря на эти ограничения, уже сформировался класс синтетических аналогов антибиотиков, которые стали входить в практику лечения амбулатор-

ных пациентов. Так, например, хинолоны в настоящее время являются третьим наиболее назначаемым антибиотиком для амбулаторных пациентов после макролидов и бета-лактамов, их антимикробный эффект прослеживается в образовании комплекса ДНК-гираза-хинолон-ДНК, который препятствует репликации и вызывает гибель как грамм-положительных, так и грамм-отрицательных бактерий [25]. Другой основной класс аналогов антибиотиков – макролиды, получают путем полусинтеза из эритромицина, который может включать как простые соединения (азитромицина), так и более сложные модификации (типа солитромицина). В перспективе можно разработать более 300 макролидов, что отражает важность этой синтетической платформы не только для облегчения синтеза, но и для увеличения разнообразия доступных антибиотиков [26].

Вклад геномики в создание новых антибактериальных препаратов.

Как уже было показано, после успеха золотого века антибиотиков наступил период, когда частота создания новых антибиотиков снизилась, но резко возросло количество бактерий с МЛУ. Потребность в стратегии создания новых классов антибиотических препаратов связана с эпохой геномики, когда была пересмотрена классическая парадигма поиска и разработки антибиотиков и сформированы новые высокотехнологичные платформы. Так, за период ранней геномики (1995–2004 гг.) и постгеномики (2004–2014 гг.) общее количество секвенированных микробных геномов увеличилось до 30 000 [27]. В этом контексте первая возникшая платформа была основана на сравнительной геномике, где новые мишени факторов антибиотикостойчивости были идентифицированы из компьютерных баз расшифрованных геномов. Эти мишени могут также участвовать в механизмах формирования патогенности бактерий. Кроме того, через сравнение этих геномов с геномами «хозяина» можно изначально отклонить мишени, которые не являются исключительными для патогена. Здесь также можно оценивать и прогнозировать механизмы взаимодействия между лекарством и «хозяином», что может приводить к меньшему количеству терапевтических побочных эффектов при лечении.

Но и в этой области сегодня есть ряд ограничений. Хотя скрининг на основе мишеней подходит для обнаружения сильных ингибиторов указанных мишеней в геномах бактерий, все же здесь возникают проблемы, связанные с неспособностью лекарств достичь своей мишени из-за низкой проницаемости ими бактериальных мембран. В физиологическом отношении бактериальная клеточная стенка является очень эффективным барьером против большинства низкомолекулярных лекарств. Данные подходы отбора пока также несовершенны, по-

тому что не все мишени можно клонировать, очищать и включать в анализы скрининга *in vitro*. Кроме того, мишени из одного гена склонны к одиночным точечным мутациям, придающим устойчивость бактериям, при этом с большей вероятностью отбираются устойчивые мутанты [28]. Однако генетическое разнообразие еще больше усложняет скрининг на уровне отбора модельных организмов. В конечном счете приходится считать, что открытие антибиотиков остается сложной задачей, которую невозможно решить с помощью исключительно целевого подхода методами геномики. Тем не менее использование методов и подходов геномики вызвало стремление на более фундаментальном уровне понять физиологическую и генетическую природу бактерий, что будет иметь несомненные положительные последствия в развитии антимикробной терапии [29].

Роль постгеномных технологий в разработке новых антибиотиков. Транскриптомные, протеомные и липидомные технологии. Сегодня постгеномные технологии позволяют извлекать, обрабатывать и интерпретировать генетическую информацию бактерий из гораздо более высокого уровня их конструкции, таких как транскрипты (т.е. транскриптомика), белки (протеомика), липиды (липидомика) и т.д. Эти постгеномные технологические направления сформировали общую парадигму исследований в области живой материи, которую назвали омикс-технологиями. Сегодня влияние омикс-технологий в области обнаружения антибиотиков неоспоримы при определении новых целей и предоставлении информации о метаболизме и физиологии бактерий. Учитывая важность скрининга на платформах обнаружения антибиотиков, которые обсуждались до сих пор, эта парадигма должна стать основой будущих платформ. Однако сегодня ни транскриптомика, ни протеомика, ни липидомика еще не достигли высокопропускной способности скрининговых анализов на клеточном уровне, но они уже позволяют лучше понять механизм функционирования биомолекул при действии лекарственных средств на бактерию. Пока технологии оценки экспрессии генома распространяются на уровне транскрипта белков на биологические события в клетках популяции бактерий. Важно отметить, что применение омикс-технологии дает новую информацию о функциях различных генов как по отдельности, так и в комбинациях. Это приводит к обновлению существующих аннотаций и улучшению понимания метаболизма и физиологии бактерий на действие внешних факторов среды их обитания. Поскольку белки взаимодействуют с различными биомолекулами, включая ДНК и липиды, то уже разрабатываются специальные методы для исследования указанных взаимодействий на уровне метаболических процессов [30].

От метаболомики к разработке новых биотехнологий для антибиотикотерапии. Успехи в области метаболомики также дали новые и более глубокие знания о биологической реальности в процессах регуляции микробного метаболизма на основе использования аналитических методов, таких как хроматографические и ЯМР-методы. Поскольку реакция бактерий на антибиотики начинается быстро и охватывает множество путей, метаболомика хорошо подходит для выяснения их особого режима действия. Кроме того, можно сконструировать метаболические сети, которые агрегируют каталитическую активность (то есть ферменты) наряду с их кодированием и экспрессией (то есть генами и их транскрипционным и трансляционным контролем). На сегодняшний день описано уже более 50 метаболических сетей различных организмов, что привело к появлению новых подходов к обнаружению антимикробных мишеней [31]. На их основе стало возможным создание чиповой конструкции – iChip, которая позволяет обеспечивать высокопроизводительное культивирование видов бактерий в их естественной среде обитания, тем самым предоставляя доступ к «некультивируемым» микроорганизмам. Так, например, iChip использовался для сбора экстрактов из 10000 изолятов, из которых было показано, что новый вид бета-протеобактерий из нового рода, родственного *Aquabacteria*, продуцирует антибиотик, называемый тейксобактин, являющийся ингибитором синтеза пептидогликана. Тейксобактин в основном активен в отношении грамположительных патогенов, а его бактерицидная активность даже превосходит активность ванкомицина, при этом признаки механизмов устойчивости к нему пока отсутствуют [32]. Также методы метаболомики позволяют использовать другой подход, идентифицируя «некультивируемые» микроорганизмы прямо из метабеномов, которые затем могут быть клонированы и экспрессированы в геномы протипированных бактерий. Это позволяет избежать как этапа культивирования *in situ* и идентификации на iChip, так и задач по расшифровке условий, необходимых для роста бактерий, что позволяет быстро отбирать новые молекулы для открытия антибиотиков [33].

Еще одна сфера получения новой информации за счет метаболомных технологий сегодня развивается активно – исследование механизмов взаимодействия антибиотиков с человеческим микробиомом позволило выявить генные кластеры с антибиотическим потенциалом. Это хорошо иллюстрируется на примере, где колонизация *Staphylococcus lugdunensis* ингибирует присутствие штаммов *S. aureus*, предотвращая тем самым оппортунистические инфекции этого патогена. Этот эффект был связан с продукцией антибиотика lugdunin, ко-

торый относится к новому классу макроциклических тиазолидиновых пептидов. Он продуцируется *S. lugdunensis* и обладает бактерицидной активностью в отношении основных ESKAPE патогенов и, что важно, представляет сниженный риск развития у них резистентности [34].

Как видим, технологии, внедренные в эпоху постгеномики и метаболомики, внесли свой значимый вклад в исследования по поиску и разработке новых типов антибиотиков. Они в значительной степени основывались на новых постгеномных технологиях, позволивших создать такие инновационные конструкции, как iChip. Хотя большинство новых антибиотиков в поздней клинической разработке все-таки относятся к существующим классам, однако, парадигма сочетания скрининга на основе генных мишеней и клеток дает новые возможности для разработки усовершенствованных антибиотиков. Дополнительные возможности могут также возникнуть при пересмотре антибиотических соединений, разработка которых была прекращена на ранних стадиях. Примером тому является создание базы данных антибактериальных соединений – AntibioticDB (AntibioticDB.com), где представлены результаты исследований антибактериальных препаратов на всех этапах разработки, включая те, разработка которых была прекращена из-за проблем, возникших при клинических испытаниях. В этом случае исследование даптомицина, проявляющего бактерицидную активность против грамположительных микроорганизмов, является хорошим примером того, как соединение можно восстановить спустя почти 20 лет после отказа от него. Сегодня этот антибиотик стал «финансово более успешным» на внутреннем рынке антибиотических препаратов [35].

Фаготерапия и ее возможности против superbактерий. Как выше было показано, альтернативные методы лечения, которые в настоящее время используются в медицинской практике или находятся на стадии испытаний, включают использование новых модификаций антибиотиков, их комбинации или сочетания с адъювантами, а также разные варианты антимикробных пептидов, антибактериальных антител и наночастиц, которые применяются в качестве новых антибактериальных агентов. Однако бактерии группы ESKAPE имеют тенденцию становиться устойчивыми ко всем приведенным вариантам антибиотических препаратов благодаря не только естественному отбору МЛУ бактерий, но и горизонтальному переносу генов в другие чувствительные штаммы. Это требует постоянного мониторингового тестирования все новых комбинаций, результатом которого является бесконечный цикл этих исследований. Таким образом, можно сделать вывод, что антибиотики в комбинации или в новых структурно-функциональных модифика-

циях не всегда могут быть эффективными, поэтому существует необходимость в обширных исследованиях альтернативных стратегий. Так, новой альтернативной стратегией в борьбе с бактериями с МЛУ вновь могут стать давно забытые бактериофаги (фаги – терапевтические агенты, ранее широко использовавшиеся для лечения бактериальных инфекций). В эпоху золотого века антибиотиков фаготерапия уступила им первенство. Но сегодня, после того, как резко возросла устойчивость к противомикробным препаратам, интерес к фаговой терапии вновь возрождается. Бактериофаги, используемые для терапии, имеют много преимуществ: высокая специфичность к «хозяину», низкие дозы для лечения, быстрое размножение внутри «бактерий-хозяев». В отличие от антибиотиков преимущество использования фагов состоит в том, что они развивают новую инфекционность в бактериальных клетках и могут приобретать превосходство над ними, поскольку скорость мутации у них намного выше, чем у «хозяев», и в то же время они мутируют вместе со своими хозяевами [36]. Ряд исследований последних лет по применению технологии фаготипирования, проведенных *in vitro*, доказал эффективность использования бактериофагов в качестве антибактериальных агентов против биопленочных и планктонных клеток ESKAPE [37].

Комбинации фагов, действующих против различных видов бактерий или штаммов, являются достаточно действенным способом их подавления [38]. Сегодня в медицинской практике активно используются фаговые коктейли. Международные эксперты считают, что идеальный фаговый коктейль должен быть приготовлен с использованием фагов, принадлежащих к разным семействам или группам, имеющим широкий спектр «хозяев», большую адсорбционную способность к высоко-консервативным структурам клеточной стенки у бактерий. Использование таких фаговых смесей может уменьшить появление бактериальной популяции, устойчивой к отдельным фагам [39].

Важную лепту в эту сферу вносит геномная характеристика фагов, которая позволяет предсказать их «безопасность» при терапевтическом применении. Недавно в этой области предложен рабочий алгоритм отбора фагов-кандидатов, в котором основные контрольные точки геномного анализа детализированы для получения высококачественных фагов, исключая нежелательных кандидатов и тщательно оценивая геном фага на безопасность и загрязнение его последовательностей. Этот алгоритм разработан в соответствии со стандартами высокопроизводительного и качественного секвенирования вирусных геномов и апробирован на двух новых фагах, отвечающих всем критериям безопасности, которые и были представлены

для рассмотрения в качестве новых кандидатов антибактериальных препаратов [40]. Для дальнейшего преодоления существующих ограничений в использовании фагов для терапии также было предложено комбинировать их с антибиотиками. При данной комбинации синергетическое действие либо фага, либо антибиотика, или обоих вместе, проявляется более эффективно. Такое сочетание было апробировано на разрушении бактериальных биопленок, образуемых штаммами супербактерий *S. aureus* и *P. aeruginosa*, был показан эффект их действия, во много раз снижающий проявление факторов устойчивости. Так, сочетание фага PEV20 и антибиотика ципрофлоксацина проявило синергетический эффект *in vitro* против *P. Aeruginosa* [41]. В другом исследовании с использованием фага ОМКО1 на штаммы *P. aeruginosa* было показано изменение механизма устойчивости к нему бактерий, что в конечном итоге повысило их чувствительность к антибиотикам. Точно так же было исследовано синергетическое действие фагов и антибиотиков на поверхностные рецепторы ряда супербактерий, которое показало снижение уровня их вирулентности. Показательным является сочетанное действие фага ОМКО1 с цефтазидимом на успешное лечение вызванных *P. aeruginosa* осложнений у пациента, перенесшего операцию по замене дуги аорты [42]. Как видим, комбинирование создает достаточно беспроблемную ситуацию, при которой уничтожение бактерий происходит либо при воздействии на них фагов, либо антибиотиков. Но здесь еще многое надо исследовать, так как предлагаемый подход комбинированной терапии еще находится в состоянии незрелости, поскольку механизмы, участвующие в синергизме, до конца не изучены, а данные, полученные на моделях *in vivo*, недостаточны. Чтобы результаты были более убедительными, необходимы дальнейшие широкие исследования.

Антимикробные пептиды в терапии инфекционных заболеваний. Для борьбы с патогенами группы ESKAPE активно разрабатывается еще один перспективный подход – применение антимикробных пептидов (АМП), представляющих собой короткие положительно заряженные защитные олигопептиды «хозяина», продуцируемые всеми живыми организмами. Они проявляют широкий спектр активности против многих патогенных микроорганизмов с МЛУ, взаимодействуя с бактериальной клеточной мембраной и тем самым вызывая лизис бактериальных клеток. Кроме того, в отличие от обычных антибиотиков, АМП физически повреждают бактериальную клетку посредством электростатических взаимодействий, что затрудняет развитие у бактерий устойчивости к антибиотикам [43]. Учитывая критический статус патогенов группы ESKAPE, было предпринято

несколько попыток найти эффективные терапевтические препараты на основе АМП. На сегодня существует множество природных, а также биоинженерных АМП, которые проявляют *in vitro* антимикробные, антибиопленочные, противовоспалительные и ранозаживляющие способности с минимальной цитотоксичностью для организма хозяев [44]. Так, например, гистатин 5, природный катионный пептид слюны человека, проявляет сильную антибиопленочную активность *in vitro*, а также мощную бактерицидную активность ($\geq 70\%$) против бактерий группы ESKAPE [45]. Аналогичным образом катионный пептид WLBU-2 и естественный АМП LL-37 продемонстрировали 90 %-ое ингибирование биопленки по сравнению с такими антибиотиками, как тобрамицин, ципрофлоксацин, цефтазидин и ванкомицин [46]. В 2017 г. было проведено исследование с человеческими рекомбинантными пептидами, полученными из AroB, оба пептида продемонстрировали эффективное в экспериментах *in vitro* заживление ран, противовоспалительные, антимикробные и антибиопленочные свойства против штаммов *S. aureus* и *P. aeruginosa* [47]. Еще один пептид – HLR1r, производное белка человеческого молока лактоферрина, в очень низкой концентрации (5 мг/кг) проявляет антиинфекционную активность в отношении модели иссечения раны, инфицированной MRSA, у крыс. Пептид PT-13, полученный из семян и листьев неочищенного экстракта *Populus trichocarpa*, также продемонстрировал эффективную антибактериальную активность *in vivo* у зараженных *S. aureus* личинок *G. Mellonella* [48]. В другом случае синтетический аналог Feleucin-K3 показал, что он подавляет вызванную *P. Aeruginosa* бактериемию на мышинной модели с хорошей стабильностью и очень низкой цитотоксичностью [49]. Кроме того, эффективность пептидов может быть повышена путем объединения их с антибиотиками. Так был показан синергетический эффект при сочетании пептида A3-APO и антибиотика колистина при исследовании на модели мышей с бактериемией, инфицированных *K. pneumonia* [50]. Повышенная *in vitro* бактерицидная активность против *S. aureus* была обнаружена в случае, когда LL-37 (человеческий пептид кателицидин) находился в соединении с наночастицами золота. В этом случае наночастицы золота увеличивали локальную плотность положительных зарядов и массу пептида и тем самым усиливали бактерицидные свойства LL-37 [51]. К сожалению, несмотря на успешную антибактериальную эффективность *in vitro* и *in vivo*, многие АМП еще не прошли стадию клинических испытаний. Среди проблем, которые препятствуют эффективному использованию АМП *in vivo* – их цитотоксичность для клеток млекопитающих, склонность к деградации тканевыми протеаза-

ми, потеря активности при низких концентрациях соли или в присутствии белков плазмы и более высокие производственные затраты при получении. Для преодоления трудностей в разработке безопасного, стабильного и эффективного коммерческого продукта АМП необходимо более глубокое понимание их структуры и взаимодействия с бактериями и клетками организма человека. В целом, учитывая обширные исследования, проводимые на различных АМП против разных инфекционных агентов, будущее коммерческих рецептур на основе пептидов выглядит обнадеживающим.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антибиотикотерапия, когда-то считавшаяся решенной проблемой здравоохранения при лечении инфекционных заболеваний, вновь стала глобальной проблемой, требующей неотложных действий. Период разработки и использования в медицинской практике антибиотиков охватывает почти 100-лет с момента открытия их первых аналогов в начале XX в. до современных антибактериальных препаратов. В этот промежуток времени вписались как эпоха триумфа антибиотиков, так и последующая эра угрожающего роста бактерий с МЛУ. Возникновение класса супербактерий стало мощным стимулом для поиска новых направлений и подходов в борьбе с патогенами с МЛУ. Сформировались научные платформы, которые сегодня вносят существенный вклад в открытие новых классов антибиотиков. Особенно значимыми стали исследования по использованию геномных и постгеномных технологий, на базе которых сформировались омикс-технологии. Хотя некоторые авторы и считают, что платформы эпохи геномики и постгеномики не дали ожидаемых результатов в создании новых антибиотиков, важность извлеченных уроков все-таки не следует преуменьшать. Значительные технологические достижения с использованием постгеномных и омикс-технологий предоставили исследователям беспрецедентный доступ к биологическим процессам как в клетках, так и фагах и изменили парадигму исследования антибиотиков в контексте системной биологии и медицины. Несмотря на то что омические технологии не лежат в основе каких-либо антибактериальных препаратов, они доказали свою бесспорную ценность в качестве вспомогательного инструмента для обнаружения антибиотиков. Учитывая новизну различ-

ных омикс-технологий, нам еще предстоит полностью раскрыть их потенциал, представляется, что эти технологии имеют большую перспективу.

Важным является то, что многие ученые и медики вновь увидели в фагах альтернативу антибиотикам. Если на сегодняшний день мы имеем целый класс бактерий с МЛУ, то фаги благодаря механизмам коэволюции с бактериями никогда не утратят своей актуальности. За 100 лет они были детально изучены, признаны безопасными и стали незаменимым инструментом в генетике и биоинженерии, санитарной микробиологии и эпидемиологии, промышленности, медицине и даже в космической сфере (бактерии с профагом используют для оценки защиты обшивки космических кораблей от радиации). Большие исследовательские усилия были предприняты и предпринимаются для повышения эффективности использования как комбинаций антибиотиков с адъювантами, фагами, наночастицами, антимикробными пептидами, так и их поливариантных форм. Однако при разработке новых медицинских препаратов остаются достаточно серьезные ограничения в использовании их в качестве лекарств. Понимание же природы этих ограничений в сфере создания антибиотиков дает импульс к дальнейшей разработке, модификации новых терапевтических агентов или методов лечения для преодоления барьеров бактериальной резистентности. Создание единой методологии исследований для проверки эффективности тех или иных терапевтических противомикробных агентов в соответствии с четко определенными стандартами позволят надежно сравнивать полученные данные, представленные различными исследовательскими группами. Проведенные на этой базе клинические испытания позволяют раскрыть реальный потенциал их терапевтических эффектов при использовании в клинической практике. В любом случае растущая потребность в противобактериальных препаратах требует неустанных и непрерывных исследований по поиску и открытию новых биологических и химических соединений, а также их высокоспецифичных сочетаний, адаптированных для борьбы с супербактериями. Это расширит наши знания о биологических событиях, лежащих в основе инфекционных заболеваний, и, можно надеяться, приведет к созданию более эффективных терапевтических средств.

REFERENCES

1. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AK, Wertheim HF, Sumpradit N, et al. Antibiotic resistance – the need for global solutions. *The Lancet Infectious Diseases*. 2013;13(12):1057–1098. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70318-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70318-9)
2. Ayukekbong JA, Ntemgwa M, Atabe AN. The threat of antimicrobial resistance in developing countries: causes and control strategies. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017;15(6):47. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0208-x>
3. Bloom DE, Cadarette D. Infectious Disease Threats in the Twenty-First Century: Strengthening

the Global Response. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:549. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00549>

4. Collignon PJ, Conly JM, Andremont A, McEwen SA, Aidara-Kane A, et al. World Health Organization Ranking of Antimicrobials According to Their Importance in Human Medicine: A Critical Step for Developing Risk Management Strategies to Control Antimicrobial Resistance from Food Animal Production. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;63(8): 1087–1093. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw475>

5. Adeniji F. Global analysis of strategies to tackle antimicrobial resistance. *International Journal Pharmacy Practice*. 2018;26(1):85–89. <https://doi.org/10.1111/ijpp.12365>

6. Veeraraghavan B, Walia K. Antimicrobial susceptibility profile & resistance mechanisms of Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) priority pathogens from India. *Indian Journal of Medical Research*. 2019;149(2):87–96. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_214_18

7. Davies J, Davies D.. Origins and evolution of antibiotic resistance Microbiol. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2010;74(3):417–433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>

8. Arepyeva MA, Kolbin AS, Sidorenko SV, Lawson R, Kurylev AA, Balykina YE, et al. A mathematical model for predicting the development of bacterial resistance based on the relationship between the level of antimicrobial resistance and the volume of antibiotic consumption. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2017;8:148–156. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.11.010>

9. Klein EY, Van Boeckel TP, Martinez EM, Pant S, Gandra S, Levin SA, et al. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018;115(15):E3463–E3470. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717295115>

10. Mohr KI. History of Antibiotics Research. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2016;398:237–272. https://doi.org/10.1007/82_2016_499

11. Rather IA, Kim B-C, Bajpai VK, Park Y-H. Self-medication and antibiotic resistance: Crisis, current challenges, and prevention. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2017; 24(4):808–812. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.01.004>

12. Ribeiro da Cunha B, Fonseca LP, Calado CRC. Antibiotic Discovery: Where Have We Come from, Where Do We Go? *Antibiotics (Basel)*. 2019;8(2). pii: E45. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8020045>

13. *Antimicrobial resistance*. Global Report on surveillance 2014. Available from: https://www.who.int/drugresistance/publications/infographic-antimicrobial-resistance-2014_0430.pdf [Accessed 10th October 2019].

14. Centers for Disease Control and Prevention. *Antibiotic Use in the United States, 2017: Progress and Opportunities*. US Department of Health

and Human Service; Atlanta, GA, USA : 2017. P. 1–40. Available from: <https://www.cdc.gov/antibiotic-use/stewardship-report/pdf/stewardship-report.pdf> [Accessed 10th October 2019].

15. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2019;19(1):56–66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30605-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30605-4)

16. *Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations*. The Review on Antimicrobial Resistance. Available from: https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20review%20Paper%20%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf [Accessed 10th October 2019].

17. Mulani MS, Kamble EE, Kumkar SN, Tawre MS, Pardesi KR. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10:539. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>

18. Santajit S, Indrawattana N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *BioMed Research International*. 2016;2016(2):1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>

19. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2018;18(3):318–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)

20. Founou RC, Founou LL, Essack SY. Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. 2017;12(12):e0189621. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189621>

21. Outtersson K. New Business Models for Sustainable Antibiotics, Chatham House. 2014. Available from: <https://ssrn.com/abstract=2397957> [Accessed 10th October 2019].

22. Muzammil S, Hayat S, Fakhar-E-Alam M, Aslam B, Siddique MH, Nisar MA, et al. Nanoantibiotics: Future nanotechnologies to combat antibiotic resistance. *Frontiers in Bioscience (Elite Ed)*. 2018;10:352–374.

23. Wei X, Ran D, Campeau A, Xiao C, Zhou J, Dehaini D, et al. Multiantigenic Nanotoxoids for Antivirulence Vaccination against Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacteria. *Nano Letters*. 2019; 19(7):4760–4769. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.9b01844>

24. Lu L, Liu LJ, Chao WC, Zhong HJ, Wang M, Chen XP, et al. Identification of an iridium (III) complex with anti-bacterial and anti-cancer activity. *Scientific Reports*. 2015;5:14544. <https://doi.org/10.1038/srep14544>

25. Bisacchi GS. Origins of the quinolone class

of antibacterials: An expanded "discovery story". *Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;58(12): 4874–4882. <https://doi.org/10.1021/jm501881c>

26. Seiple IB, Zhang Z, Jakubec P, Langlois-Mercier A, Wright PM, Hog DT, et al. A platform for the discovery of new macrolide antibiotics. *Nature*. 2016; 533:338–345. <https://doi.org/10.1038/nature17967>

27. Land M, Hauser L, Jun SR, Nookaew I, Leuze MR, Ahn TH, et al. Insights from 20 years of bacterial genome sequencing. *Functional and Integrative Genomics*. 2015;15(2):141–161. <https://doi.org/10.1007/s10142-015-0433-4>

28. Brinster S, Lamberet G, Staels B, Trieu-Cuot P, Gruss A, Poyart C. Type II fatty acid synthesis is not a suitable antibiotic target for Gram-positive pathogens. *Nature*. 2009;458(7234):83–86. <https://doi.org/10.1038/nature07772>

29. Fields FR, Lee SW, McConnell MJ. Using bacterial genomes and essential genes for the development of new antibiotics. *Biochemical Pharmacology*. 2017;134:74–86. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.12.002>

30. Carneiro DG, Clarke T, Davies CC, Bailey D. Identifying novel protein interactions: Proteomic methods, optimisation approaches and data analysis pipelines. *Methods*. 2016;95:46–54. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.08.022>

31. Hoerr V, Duggan GE, Zbytnuik L, Poon KKH, Große C, Neugebauer U, et al. Characterization and prediction of the mechanism of action of antibiotics through NMR metabolomics. *BMC Microbiology*. 2016;16:82. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0696-5>

32. Nichols D, Cahoon N, Trakhtenberg EM, Pham L, Mehta A, Belanger A, et al. Use of ichip for high-throughput in situ cultivation of "uncultivable" microbial species. *Applied and Environmental Microbiology*. 2010;76(8):2445–2450. <https://doi.org/10.1128/AEM.01754-09>

33. Kolter R, van Wezel GP. Goodbye to brute force in antibiotic discovery? *Nature Microbiology*. 2016;1:15020. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2015.20>

34. Zipperer A, Konnerth MC, Laux C, Berscheid A, Janek D, Weidenmaier C, et al. Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. *Nature*. 2016; 535(7613): 511–516. <https://doi.org/10.1038/nature18634>

35. Farrell LJ, Lo R, Wanford JJ, Jenkins A, Maxwell A, Piddock LJ.V. Revitalizing the drug pipeline: AntibioticDB, an open access database to aid antibacterial research and development. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018; 73(9): 2284–2297. <https://doi.org/10.1093/jac/dky208>

36. Domingo-Calap P, Delgado-Martínez J. Bacteriophages: protagonists of a post-antibiotic era. *Antibiotics (Basel)*. 2018;7(3):E66. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7030066>

37. Jamal M, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, Hussain T, et al. Isolation, characterization and efficacy of phage MJ2 against biofilm

forming multi-drug resistant *Enterobacter cloacae*. *Folia Microbiologica (Praha)* 2019;64(1):101–111. <https://doi.org/10.1007/s12223-018-0636-x>

38. Chan BK, Abedon ST, Loc-Carrillo C. Phage cocktails and the future of phage therapy. *Future Microbiology*. 2013;8(6):769–783. <https://doi.org/10.2217/fmb.13.47>

39. Villarroel J, Larsen MV, Kilstrup M, Nielsen M. Metagenomic Analysis of Therapeutic PYO Phage Cocktails from 1997 to 2014. *Viruses*. 2017;9(11):E328. <https://doi.org/10.3390/v9110328>

40. Philipson CW, Voegtly LJ, Lueder MR, Long KA, Rice GK, Frey KG, et al. Characterizing phage genomes for therapeutic applications. *Viruses*. 2018;10(4):188. <https://doi.org/10.3390/v10040188>

41. Chang RYK, Das T, Manos J, Kutter E, Morales S, Chan HK. Bacteriophage PEV20 and Ciprofloxacin Combination Treatment Enhances Removal of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Isolated from Cystic Fibrosis and Wound Patients. *AAPS Journal*. 2019;21(3):49. <https://doi.org/10.1208/s12248-019-0315-0>

42. Chan BK, Turner PE, Kim S, Mojibian HR, Elefteriades JA, Narayan D. Phage treatment of an aortic graft infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Evol Med Public Health*. 2018;2018(1): 60–66. <https://doi.org/10.1093/emph/eoy005>

43. Parai D, Dey P, Mukherjee SK. Antimicrobial Peptides: An Approach to Combat Resilient Infections. *Current Drug Discovery Technologies*. 2019. <https://doi.org/10.2174/1570163816666190620114338>

44. Pfalzgraff A, Brandenburg K, Weindl G. Antimicrobial peptides and their therapeutic potential for bacterial skin infections and wounds. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9:281. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00281>

45. Du H, Puri S, McCall A, Norris HL, Russo T, Edgerton M. Human salivary protein histatin 5 has potent bactericidal activity against ESKAPE pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2017;7:41. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00041>

46. Paranjape SM, Lauer TW, Montelaro RC, Mietzner TA, Vij N. Modulation of proinflammatory activity by the engineered cationic antimicrobial peptide WLBU-2. *F1000Res*. 2013;8(2):36. <https://doi.org/10.12688/f1000research.2-36.v1>

47. Gaglione R, Dell'Olmo E, Bosso A, Chino M, Pane K, Ascione F, et al. Novel human bioactive peptides identified in Apolipoprotein B: evaluation of their therapeutic potential. *Biochemical Pharmacology*. 2017;130:34–50. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.01.009>

48. Al Akeel R, Mateen A, Syed R, Al-Qahatani MS, Alqahtani AS. Alanine rich peptide from *Populus trichocarpa* inhibit growth of *Staphylococcus aureus* via targeting its extracellular domain of Sensor Histidine Kinase YycGex protein. *Microbial Pathogenesis*. 2018;121:115–122. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.010>

49. Xie J, Li Y, Li J, Yan Z, Wang D, Guo X, et al. Potent effects of amino acid scanned antimicrobial peptide Feleucin-K3 analogs against both multidrug-resistant strains and biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Amino Acids*. 2018;50(10): 1471–1483. <https://doi.org/10.1007/s00726-018-2625-4>

50. Otvos L, Ostorhazy E, Szabo D, Zumbur SD, Miller LL, Halasohoris SA, [et al.]. Synergy between proline-rich antimicrobial peptides and small molecule antibiotics against selected gram-

negative pathogens *in vitro* and *in vivo*. *Frontiers in Chemistry*. 2018;6:309. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00309>

51. Wang S, Yan C, Zhang X, Shi D, Chi L, Luo G, et al. Antimicrobial peptide modification enhances the gene delivery and bactericidal efficiency of gold nanoparticles for accelerating diabetic wound healing. *Biomaterials Science*. 2018;6(10): 2757–2772. <https://doi.org/10.1039/C8BM00807H>

Критерии авторства

Джиоев Ю.П., Злобин В.И., Саловарова В.П., Степаненко Л.А., Рева О.Н., Борисенко А.Ю., Перетолчина Н.П., Букин Ю.С. проанализировали литературные источники, обобщили имеющийся по данной теме материал и написали рукопись. Джиоев Ю.П., Злобин В.И., Саловарова В.П., Степаненко Л.А., Рева О.Н., Борисенко А.Ю., Перетолчина Н.П., Букин Ю.С. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Джиоев Юрий Павлович,
к.б.н., заведующий лабораторией
молекулярной вирусологии и биотехнологий,
НИИ биомедицинских технологий,
Иркутский государственный
медицинский университет,
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1,
Российская Федерация,
✉e-mail: alanir07@mail.ru

Злобин Владимир Игоревич,
д.м.н., академик РАН,
директор НИИ биомедицинских технологий,
заведующий кафедрой микробиологии,
вирусологии и иммунологии,
Иркутский государственный
медицинский университет,
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1,
Российская Федерация,
e-mail: vizlobin@mail.ru

Саловарова Валентина Петровна,
д.б.н., профессор, заведующая кафедрой
физико-химической биологии,
Иркутский государственный университет,
664011, г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 5,
Российская Федерация,
e-mail: vsalovarova@gmail.com

Contribution

Yuri P. Dzhioev, Vladimir I. Zlobin, Valentina P. Salovarova, Lilia A. Stepanenko, Oleg N. Reva, Andrey Yu. Borisenko, Nadezhda P. Peretolchina, Yuri S. Bukin analyzed the data, summarized the material and wrote the manuscript. Yuri P. Dzhioev, Vladimir I. Zlobin, Valentina P. Salovarova, Lilia A. Stepanenko, Oleg N. Reva, Andrey Yu. Borisenko, Nadezhda P. Peretolchina, Yuri S. Bukin have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

AUTHORS' INDEX

Yuri P. Dzhioev,
Cand. Sci. (Biology), Head of the Laboratory
of Molecular Virology and Biotechnology,
Research Institute of Biomedical Technologies,
Irkutsk State Medical University,
1, Krasnogo vosstaniya St., Irkutsk 664003,
Russian Federation
✉e-mail: alanir07@mail.ru

Vladimir I. Zlobin,
Dr. Sci. (Medicine), Academician of RAS,
Director of the Research Institute
of Biomedical Technologies,
Head of the Department of Microbiology,
Virology and Immunology,
Irkutsk State Medical University,
1, Krasnogo vosstaniya St., Irkutsk 664003,
Russian Federation
e-mail: vizlobin@mail.ru

Valentina P. Salovarova,
Dr. Sci. (Biology), Professor,
Head of the Department of Physical
and Chemical Biology,
Irkutsk State University
5, Sukhe-Bator St., Irkutsk 664011,
Russian Federation
e-mail: vsalovarova@gmail.com

Степаненко Лилия Александровна,
к.м.н., старший научный сотрудник
лаборатории молекулярной вирусологии
и биотехнологии,
НИИ биомедицинских технологий,
Иркутский государственный
медицинский университет,
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1,
Российская Федерация,
e-mail: steplia@mail.ru

Рева Олег Николаевич,
к.б.н., доцент кафедры биохимии,
генетики и микробиологии,
Центр биоинформатики и
компьютерной биологии,
Университет Претории (ЮАР),
Претория 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028,
Южно-Африканская Республика,
e-mail: reva@mail.ru

Борисенко Андрей Юрьевич,
ассистент кафедры микробиологии,
вирусологии и иммунологии,
Иркутский государственный
медицинский университет,
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1,
e-mail: 89500720225@mail.ru

Перетолчина Надежда Павловна,
ассистент кафедры микробиологии,
вирусологии и иммунологии,
Иркутский государственный
медицинский университет,
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1,
Российская Федерация,
e-mail: nadine1lenz@gmail.com

Букин Юрий Сергеевич,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Лимнологический институт СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3,
Российская Федерация,
e-mail: bukinyura@mail.ru

Lilia A. Stepanenko,
Cand. Sci. (Medicine),
Senior Researcher,
Laboratory of Molecular Virology
and Biotechnology,
Research Institute of Biomedical Technologies,
Irkutsk State Medical University,
1, Krasnogo vosstaniya St., Irkutsk 664003,
Russian Federation
e-mail: steplia@mail.ru

Oleg N. Reva,
PhD (Biology), Associate Professor,
Department of Biochemistry,
Genetics and Microbiology,
Centre for Bioinformatics
and Computational Biology,
University of Pretoria
Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield 0028,
South Africa,
e-mail: reva@mail.ru

Andrey Yu. Borisenko,
Postgraduate, Teaching Assistant,
Department of Microbiology,
Virology and Immunology,
Irkutsk State Medical University,
1, Krasnogo vosstaniya St., Irkutsk 664003,
Russian Federation
e-mail: 89500720225@mail.ru

Nadezhda P. Peretolchina,
Teaching Assistant,
Department of Microbiology,
Virology and Immunology,
Irkutsk State Medical University,
1, Krasnogo vosstaniya St., Irkutsk 664003,
Russian Federation
e-mail: nadine1lenz@gmail.com

Yuri S. Bukin,
Cand. Sci. (Biology),
Senior Researcher,
Limnological Institute SB RAS,
3, Ulan-Batorskaya St., Irkutsk 664033,
Russian Federation
e-mail: bukinyura@mail.ru.

Обзорная статья / Review article

УДК 579.66

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-679-693>

Проблемы и перспективы использования микроорганизмов для утилизации отходов лигноцеллюлозы

© О.И. Болотникова*, Н.П. Михайлова**, Ю.Г. Базарнова***,
Е.Б. Аронова***, Т.А. Болотникова***,
Ю.Н. Акинина**

* Петрозаводский государственный университет,

г. Петрозаводск, Республика Карелия, Российская Федерация

** Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»,

г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

*** Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,

г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Резюме: Конверсия бытовых и производственных отходов, содержащих лигноцеллюлозу, в разнообразные целевые продукты (источники биоэнергии, органические кислоты, сахарозаменители и т.д.) является одним из приоритетных направлений государственной экологической политики Российской Федерации. Однако рентабельность переработки субстратов, полученных в ходе гидролиза таких вторичных источников сырья, определяется возможностью микробиологической утилизации не только гексоз (*D*-глюкоза, *D*-манноза, *D*-галактоза), но и пентоз (*D*-ксилоза, *L*-арабиноза). Цель настоящего обзора – обсуждение перспектив использования микроорганизмов для утилизации пентоз лигноцеллюлозы, а также проблем, возникающих на пути технологической реализации этого процесса. В обзоре приведены современные данные о спектре про- и эукариотических микроорганизмов, обеспечивающих деструкцию лигноцеллюлозы и утилизацию ее структурных компонентов в природных экосистемах. Представлена краткая характеристика механизма действия ферментов лигниназного, целлюлазного и гемицеллюлазного комплексов. Выделены основные проблемы, сдерживающие применение энзиматического гидролиза многокомпонентных бытовых и промышленных отходов лигноцеллюлозы. Рассмотрены факторы, определяющие селективность катаболизма пентоз у мицелиальных грибов, бактерий и дрожжей. Определен спектр целевых продуктов биоконверсии пентоз лигноцеллюлозы, имеющих народно-хозяйственную значимость. Обсуждаются способы комплексной микробиологической утилизации разнообразных бытовых и сельскохозяйственных отходов, а также возможность вовлечения в данный процесс побочных продуктов промышленной деструкции древесины (кислотных гидролизатов и сульфитных щелоков).

Ключевые слова: отходы лигноцеллюлозы, *D*-ксилоза, *L*-арабиноза, биоконверсия, грибы, бактерии

Благодарности: Научный обзор подготовлен при поддержке гранта РФФИ № 18-44-100001.

Информация о статье: Дата поступления 25 февраля 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Болотникова О.И., Михайлова Н.П., Базарнова Ю.Г., Аронова Е.Б., Болотникова Т.А., Акинина Ю.Н. Проблемы и перспективы использования микроорганизмов для утилизации отходов лигноцеллюлозы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 679–693. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-679-693>.

Problems and prospects for the application of microorganisms in the disposal of lignocellulose waste

Olga I. Bolotnikova*, Natalia P. Mikhailova**, Julia G. Bazarnova***,
Ekaterina B. Aronova***, Tatyana A. Bolotnikova***, Julia N. Akinina**

* Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Republic of Karelia, Russian Federation

** St. Petersburg State Institute of Technology, St. Petersburg, Russian Federation

*** Peter the Great Saint-Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract: The conversion of household and industrial wastes containing lignocellulose into a variety of target products (bioenergy sources, organic acids, sweeteners, etc.) involves one of the priority directions for the state environmental policy of the Russian Federation. However, the profitability of processing the substrates obtained by hydrolysis of such secondary sources of raw materials is determined by the possibility of microbiological utilisation for not only hexoses (D-glucose, D-mannose, D-galactose), but also pentose (D-xylose, L-arabinose). The aim of this review consists in a discussion of the prospects for using microorganisms in the disposal of lignocellulose pentoses, along with problems arising in the course of the technological implementation of this process. The review provides contemporary data on the spectrum of pro- and eukaryotic microorganisms ensuring the destruction of lignocellulose and the utilisation of its structural components in natural ecosystems. A brief description of action mechanism inherited to the enzymes of ligninase, cellulase and hemicellulase complexes is presented. The main problems hindering the enzymatic hydrolysis application to multicomponent household and industrial lignocellulose wastes are identified. The factors determining the selectivity of pentosis catabolism in mycelial fungi, bacteria and yeast are examined. The spectrum of target products in bioconversion of lignocellulose pentoses, is determined with regard of their economic importance. The methods of complex microbiological utilisation of various household and agricultural wastes, as well as the possibility of involving by-products from industrial destruction of wood (acid hydrolysates and sulphite liquors) in this process, are discussed.

Keywords: lignocellulose waste, D-xylose, L-arabinose, bioconversion, fungi, bacteria

Acknowledgments: The scientific review was supported by grant 18-44-100001 from Russian Foundation for Basic Research.

Information about the article: Received February 25, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Bolotnikova OI, Mikhailova NP, Bazarnova JG, Aronova EB, Bolotnikova TA, Akinina JN. Problems and prospects for the application of microorganisms in the disposal of lignocellulose waste. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):679–693. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-679-693>

ВВЕДЕНИЕ

Проблема утилизации бытовых и промышленных отходов в России год от года обостряется [1]. Значительная часть отходов (бытовых, сельскохозяйственных, предприятий лесоперерабатывающего комплекса) содержит лигноцеллюлозу – сложную смесь углеводородных полимеров (целлюлозы, гемицеллюлозы), а также лигнина, экстрактивных веществ и зольных элементов, чрезвычайно устойчивую к биodeградации [1–4]. Их традиционное сжигание чревато негативными экологическими последствиями из-за «парникового эффекта», обусловленного загрязнением биосферы CO₂ и выделением дополнительного количества тепла [5]. Благодаря Федеральному закону РФ от 24.06.1998 N 89-ФЗ

(ред. от 29.07.2018) «Об отходах производства и потребления» отдельный сбор мусора стал одним из приоритетных направлений государственной экологической политики России, что открывает широкие перспективы для вовлечения разнообразных лигноцеллюлозосодержащих отходов в промышленный оборот.

Одним из хорошо известных способов переработки данного сырья считают микробиологическую утилизацию, наглядным примером которой является технология получения биогаза [6]. Наряду с этим предлагаются новые методы конверсии отходов лигноцеллюлозы до гексозо-пентозных субстратов, пригодных для выращивания микроорганизмов-продуцентов не только возобновляемых источников энергии, а

также других, не менее ценных народно-хозяйственных продуктов [7–9]. Пентозы (D-ксилоза, L-арабиноза) в составе таких субстратов могут составлять до 92 % от общего количества сахаров [4]. Поэтому эффективная биоконверсия пентоз становится главным фактором, определяющим возможность комплексной микробиологической утилизации разнообразных бытовых и промышленных отходов растительного происхождения.

Цель настоящего обзора заключалась в обсуждении перспектив использования микроорганизмов для утилизации пентоз лигноцеллюлозы, а также проблем, возникающих на пути технологической реализации этого процесса.

Микроорганизмы, участвующие в утилизации лигноцеллюлозы. В природных условиях лигноцеллюлоза разрушается длительный период времени с помощью гетерогенных ассоциаций микроорганизмов, каждый участник которых выполняет строго определенную роль. Сначала комплекс гидролитических ферментов расщепляет макромолекулы лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы до мономеров, составляющих основу гексозо-пентозных субстратов – ферментализатов [10, 11]. Продуцентами лигниназ, целлюлаз и гемицеллюлаз являются различные представители актиномицетов, аскомицетов, базидиальных грибов, несовершенных грибов, некоторых бактерий, обитающих в почве, листовом опаде, донных отложениях содовых озер, а также других экологических нишах (табл.1). Известно, что наиболее мощным потенциалом действия обладают внеклеточные лигнолитические ферменты грибов белой и бурой гнили [10, 12, 14]. Процесс делигнификации стимулирует работу высокоспецифических целлюлаз – главных индукторов ферментативного гидролиза разветвленных макромолекул гемицеллюлозы [2, 3, 15]. Состав компонентов гемицеллюлазного комплекса до конца не установ-

лен. Полагают, что центральное место в такой гетерогенной системе занимают индуцибельные ксиланазы, разрывающие гликозидные связи, образованные при участии D-ксилозы, основного структурного компонента гемицеллюлозы однолетних и многолетних растений [4,16]. Однако полная фрагментация макромолекул гемицеллюлозы возможна лишь при синергичном действии целлюлаз и целого комплекса высокоспецифичных эндо-1,4-β-D-ксилаказы, экзо-1,4-β-D-ксилозидазы, эндо-1,4-β-D-маннаназы, β-маннозидазы, ацетилксилаэстеразы, α-глюкуронидазы, α-L-арабинофуразидазы, α-галактозидазы, а также некоторых других, спектр которых зависит от источника выделения [2, 3, 9, 17].

Гексозо-пентозные субстраты на основе лигноцеллюлозы утилизируются микроорганизмами различных таксономических групп. Гексозы (D-глюкоза, D-манноза, D-галактоза) как наиболее энергетически выгодные источники углерода любая микробная клетка ассимилирует в первую очередь [8, 9, 11, 18]. Пути катаболизма этих сахаров хорошо исследованы и положены в основу технологий производства биотоплива, органических кислот, растворителей, кормовых витаминных добавок для сельскохозяйственных животных и т.д. [4, 6, 7, 9, 10, 19]. Ассимиляция пентоз является результатом активирования специфических реакций, трансформирующих D-ксилозу и L-арабинозу в интермедиаты общих путей катаболизма (гликолиза, пентозофосфатного либо трикарбонового циклов) [20–23] (рис. 1, 2). Однако степень их функционирования у про- и эукариотических микроорганизмов варьирует, что объясняется различной интенсивностью процессов общего обмена веществ, а также условиями внешней среды. Так, большинство мицелиальных грибов утилизирует лишь L-арабинозу, наиболее сложно метаболизируемую пентозу лигноцеллюлозы [3, 4, 9, 21, 24] (см. табл. 1).

Таблица 1

Участие различных микроорганизмов в биоконверсии лигноцеллюлозы

Table 1

Participation of different microorganisms in the bioconversion of lignocellulose

Утилизация лигноцеллюлозы		Количество родов микроорганизмов			Литературный источник
Фаза	Этап	Мицелиальные грибы	Бактерии	Дрожжи	
Деградация полимеров лигноцеллюлозы	Разрушение макромолекул лигнина	11	7	0	[4, 8–14]
	Разрушение макромолекул целлюлозы и гемицеллюлозы	11	6	0	[2, 3, 9, 15–17]
Утилизация сахаров лигноцеллюлозы	Ассимиляция гексоз	25	36	12	[3, 4, 6–11, 14, 18, 19]
	Ассимиляция пентоз:				
	L-арабиноза	5	13	0	[3, 4, 9, 10, 20–22, 24–30]
	D-ксилоза	1	23	12	[3, 18, 20, 22, 23, 27–33]

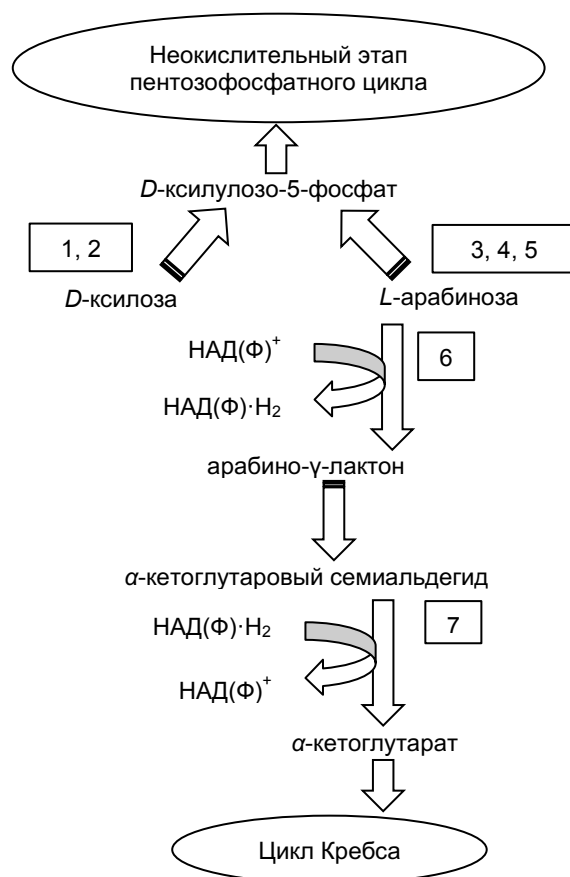


Рис. 1. Начальные этапы метаболизма пентоз у бактерий
(1 – ксилоизомераза (EC 5.3.1.5); 2 – ксилулокиназа (EC 2.7.1.17);
3 – L-арабиноизомераза (EC 5.3.1.4); 4 – L-рибулокиназа (EC 2.7.1.16);
5 – L-рибулозо-5-фосфат-4-эпимераза (EC 5.1.3.4); 6 – L-арабинозо-1-дегидрогеназа (EC 1.1.1.46);
7 – дегидрогеназа α-кетоглутарового семиальдегида (EC 1.2.1.26))

Fig. 1. Initial steps of pentoses metabolism in bacterial cells
(1 – xylose isomerase (EC 5.3.1.5); 2 – xylulokinase (EC 2.7.1.17);
3 – L-arabinose isomerase (EC 5.3.1.4); 4 – L-ribulokinase (EC 2.7.1.16);
5 – L-ribulose-5-phosphate-4-epimerase (EC 5.1.3.4); 6 – L-arabinose-1-dehydrogenase (EC 1.1.1.46);
α-ketoglutarate semialdehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.26))

Многообразие и лабильность химических реакций бактериальной клетки не только расширяют спектр утилизируемых пентоз, но также делают возможным катаболизм таких источников углерода при незначительной концентрации или даже полном отсутствии кислорода. Среди факультативных анаэробов, обладающих способностью ассимилировать L-арабинозу и D-ксилозу, – бактерии-азотификсаторы *Azospirillum brasiliense*, *Herbaspirillum sp.* [25, 26], алкалифильные археи содовых озер *Alkalitalea saponilacus gen. nov., sp. nov.* [27], *Clostridium alkalicellum sp. nov.* [28], *Amphibacillus cookii sp. nov.* [29], *Alkalibacter saccharofermentans gen. nov., sp. nov.* и *Halonatronum saccharophilum gen. nov., sp. nov.* [20], почвенные штаммы *Amphibacillus xylanus* [29], *Escherichia coli* [22] и *Aerobacter aerogenes* [30], а также *Thermoanaerobacter ethanolicus* [31]. Другие бактерии, подобно мицелиальным грибам, выборочно ассимилируют

L-арабинозу или D-ксилозу [30, 31] (см. табл. 1).

Метаболические пути дрожжей функционируют по принципу максимальной экономии, то есть при дефиците гексоз в среде клетки начинают продуцировать ферменты для утилизации наиболее легко метаболизируемого пятиатомного источника углерода [4, 32, 33]. Поэтому у дрожжей, адаптированных к обитанию на коре деревьев и кустарников, в листовом опаде, а также на иных растительных субстратах, широко распространена способность ассимилировать D-ксилозу [18]. Известно, что транспорт и внутриклеточный катаболизм D-ксилозы активируются кислородом даже при его незначительной концентрации (так называемые условия микроаэробии) [20, 32, 33]. Исследовано более 30 видов ксилозоассимилирующих дрожжей, в основном представителей *Candida sp.* и *Pichia sp.*, а также *Debaryomyces hansenii*, *Pachysolen tannophilus* и некоторых других [18] (см. табл. 1).

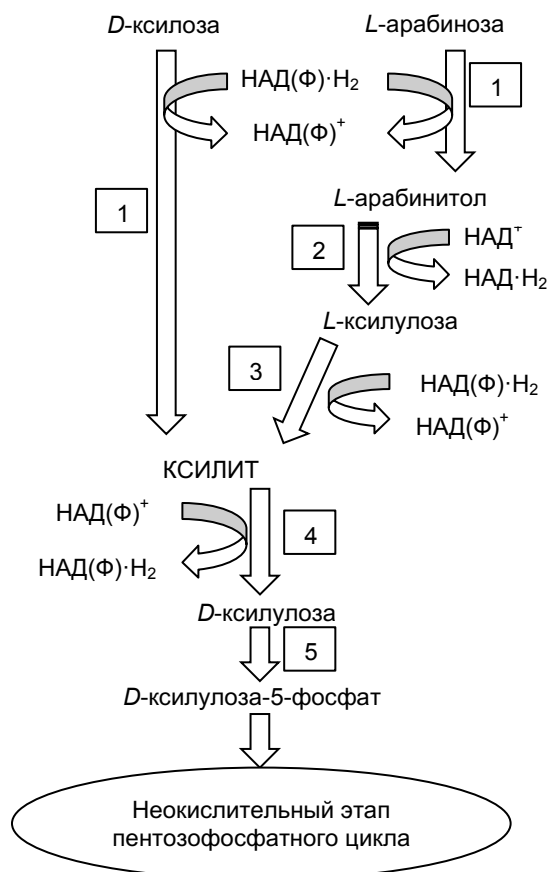


Рис. 2. Начальные этапы метаболизма пентоз у грибов
(1 – ксилоредуктаза (альдоредуктаза) или НАД(Ф)×Н-зависимая D-ксилоредуктаза (EC 1.1.1.21); 2 – L-арабитол-4-дегидрогеназа (EC 1.1.1.12); 3 – L-ксилулозоредуктаза (EC 1.1.1.10); 4 – ксилитдегидрогеназа (D-ксилулозоредуктаза) или ДНФ-ксилитол (D-ксилулозо)-дегидрогеназа (EC 1.1.1.9); 5 – D-ксилулокиназа (EC 2.7.1.17))

Fig. 2. Initial steps of pentoses metabolism in fungal cells
(1 – xylose reductase (aldose reductase) or NAD(P)H-dependent xylose reductase (EC 1.1.1.307); 2 – L-arabinose-4-dehydrogenase (EC 1.1.1.12); 3 – L-xylulose reductase (EC 1.1.1.10); 4 – xylitol dehydrogenase (D-xylulose reductase) or NAD⁺-linked xylitol dehydrogenase (xylitol-2-dehydrogenase) (EC 1.1.1.9); 5 – xylulokinase (EC 2.7.1.17))

Таким образом, в природных экосистемах микробиологическая утилизация лигноцеллюлозы однолетних и многолетних растений состоит из двух этапов. Сначала макромолекулы лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы разрушаются до субстратов, содержащих индивидуальные сахара – гексозы и пентозы. Первостепенную роль в данном процессе играют гидролазы мицелиальных грибов *Trichoderma sp.*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.* и некоторых других [2–4, 9, 12]. Затем гексозо-пентозные субстраты подвергаются биоконверсии различными штаммами бактерий и дрожжей. Именно такая модель позволяет осуществлять эффективную переработку бытовых и промышленных отходов лигноцеллюлозы, сопряженную с получением различных народнохозяйственных продуктов. Основы биodeградации лигноцеллюлозы так же, как пути распада гексоз, сегодня достаточно хорошо освещены в научной литературе [9, 10, 13, 14, 34–36]. Поэто-

му наше внимание было сконцентрировано на особенностях распада пентоз у микроорганизмов различных таксономических групп.

Особенности утилизации пентоз про- и эукариотическими микроорганизмами. Известно, что энергетический обмен любой биологической системы, независимо от степени ее сложности, обеспечивают реакции общих путей катаболизма сахаров. Их функционирование в микробной клетке определяется условиями окружающей среды [3, 4, 7, 9, 20, 22]. При недостатке либо полном отсутствии кислорода D-ксилоза и L-арабиноза окисляются до органических кислот, спиртов, кетонов и т.д. Бактерии продуцируют такие вещества из ацетилфосфата, пирувата и ацетил-КоА. Однако спектр, а также количественное соотношение целевых продуктов неполного окисления пентоз зависят от таксономического положения вида и значения pH среды [29, 37, 38, 39] (рис. 3).

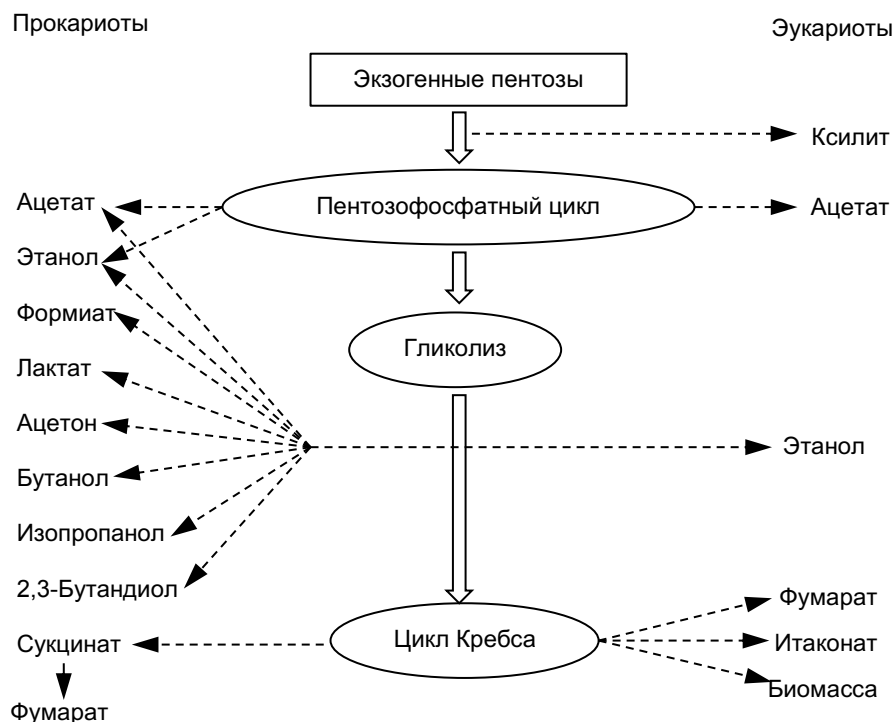


Рис. 3. Различные продукты биоконверсии пентоз

Fig. 3. Different products of pentoses bioconversion

При щелочных величинах pH в ходе смешанного гетероферментативного брожения штаммы, относящиеся к энтерогруппе, а также представители *Aerobacter sp.*, *Bacillus sp.*, *Clostridium sp.*, *Klebsiella sp.* образуют смесь органических кислот (формиат, ацетат, лактат, пропионат, сукцинат и фумарат), а закисление среды индуцирует образование этанола, либо 2,3-бутандиола [22, 27, 31, 40]. Основными продуктами ацетоно-бутилового брожения у штаммов *Clostridium acetobutylicum* является смесь ацетона,

бутанола и этанола [37, 38]. Ацетоно-этанольное брожение, характерное для *Bacillus maceraus* (*B. acetoethylicum*), заканчивается образованием смеси уксусной, муравьиной и молочной кислот, а также этанола и ацетона [41]. В то же время спектр продуктов неполного окисления пентоз у бактерий реликтовых микробных сообществ остается мало изученным [27, 39, 42]. Эффективность биоконверсии пентоз лигноцеллюлозы некоторыми прокаротическими микроорганизмами иллюстрирует табл. 2.

Таблица 2

Выход различных продуктов микробиологической конверсии пентоз

Table 2

Yield of products of pentoses microbial conversion

Целевой продукт	Выход, г/г ассимилируемых пентоз	Вид микроорганизма	Литературный источник
Ацетат	0,58–0,76	<i>Clostridium thermoaceticum</i>	[43]
Фумарат	0,16	<i>Rhizopus arrhizus</i>	[44]
Этанол	0,28–0,50	<i>Aspergillus terreus</i> <i>Fusarium oxysporum</i>	[45, 46]
	0,29–0,42	<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i>	[31]
	0,36–0,42	<i>Candida shehatae</i> <i>Pichia stipitis</i>	[47, 48]
2,3-Бутандиол	0,29–0,46	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	[40]
Бутанол	0,26–0,29	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	[37, 38]
Ксилит	0,68–0,90	<i>Debaryomyces hansenii</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Pichia guilliermondii</i>	[23, 49, 50]
Итаконат	0,23–0,45	<i>Aspergillus terreus</i>	[24]

Грибы не способны утилизировать D-ксилозу и L-арабинозу без кислорода, активирующего образование пятиатомного спирта ксилита, а также D-ксилозу-5-фосфата, интермедиата пентозо-фосфатного цикла [21, 24, 32, 33]. Продукты неполного окисления пентоз в эукариотической клетке образуются в основном из-за уменьшения степени аэрации среды, причем их спектр по сравнению с бактериями заметно уже (см. рис. 3). Так, микроаэробноз частично либо полностью блокирует катаболизм D-ксилозы у дрожжей на этапе образования ксилита [20, 23]. Другим продуктом неполного окисления D-ксилозы является этанол [9, 11, 20, 32, 33]. Мицелиальные грибы помимо этанола продуцируют из L-арабинозы ацетат, фумарат, либо итаконат [10, 11, 14, 21, 24, 44]. Эффективность образования указанных продуктов некоторыми видами грибов отражена в таб. 2. Полное насыщение среды кислородом (аэробноз) стимулирует окисление пентоз до конечных продуктов – H_2O и CO_2 . Энергия АТФ, аккумулируемая в ходе данного процесса,

активирует рост и размножение грибов, биомасса которых представляет народно-хозяйственную значимость в качестве белковой и витаминной кормовой добавки для сельскохозяйственных животных [3, 4, 8, 9, 19]. Таким образом, литературные данные указывают на принципиальную возможность использования D-ксилозы и L-арабинозы для решения различных народно-хозяйственных задач.

Способы микробиологической утилизации отходов растительного происхождения. О целесообразности микробиологической конверсии отходов, содержащих лигноцеллюлозу, наглядно свидетельствует экологическая обстановка большинства регионов России [1]. В то же время раздельный сбор и сортировка не обеспечивают абсолютной однородности бытового и промышленного мусора [3, 5]. Поэтому утилизация таких источников сырья после общего этапа предварительной обработки [2, 4, 8, 9, 11, 13] должна осуществляться различными способами (рис. 4).



Рис. 4. Способы биоконверсии лигноцеллюлозосодержащих отходов различного происхождения

Fig. 4. Bioconversion methods of the different lignocellulose-containing wastes

Согласно первому из них (I), макромолекулы лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы разрушаются гидролазами мицелиальных грибов до ферментолитов. Этот способ имеет ряд неоспоримых преимуществ: мягкий температурный режим, экологическая безопасность, пригодность гексозо-пентозных субстратов для культивирования микроорганизмов различных таксономиче-

ских групп [10, 13, 31, 34, 39]. Однако потребность огромного количества лигниназ, целлюлаз и специфических к каждому типу отходов гемицеллюлаз, а также их иммобилизация в составе сложного комплекса требует специальных технологических решений, отличающихся от известных способов ферментативного гидролиза гомополисахаридов (крахмала, целлюлозы) [9, 14, 51].

Поэтому наиболее перспективным сырьем для получения ферментализатов являются бытовые, сельскохозяйственные и промышленные отходы, содержащие незначительное количество «нецеллюлозных» примесей [2–4, 52].

Другой способ (II) существенно расширяет спектр источников вторичного сырья для получения гексозо-пентозных субстратов за счет побочных продуктов целлюлозно-бумажных комбинатов, гидролизных заводов, иных предприятий деревообрабатывающего комплекса. Гидролиз таких отходов, содержащих значительное количество лигнина и гемицеллюлозы, целесообразно проводить минеральными кислотами. Кислотный гидролиз широко применяли в СССР. Уже тогда были разработаны и успешно внедрены в производство так называемые «мягкие» способы кислотной деструкции древесины, позволяющие снизить токсический эффект на окружающую среду [2, 53]. Их главные достоинства: простота и относительно низкая стоимость, незначительный временной интервал обработки растительного сырья, достаточно высокий процент высвобождения гексозных и пентозных сахаров [2, 54]. Однако в составе кислотных гидролизатов лигноцеллюлозы присутствует целый ряд компонентов (летучие органические кислоты, фурфурол, 5-гидроксиметилфурфурол, вещества лигнофуранового комплекса), оказывающих неспецифический ингибирующий эффект на реакции общего обмена микробной клетки [55]. Поэтому возможность микробиологической утилизации гексозо-пентозных субстратов, полученных кислотным гидролизом, зависит от глубины предварительной детоксикации [2, 11, 56].

Наконец, при выборе продуцента для конверсии субстратов на основе лигноцеллюлозы необходимо учитывать совокупность таких технологических характеристик микробного штамма-продуцента, как активность метаболизма, физиологическую пластичность, способ регуляции образования целевого продукта, трудоемкость его выделения. Ферментализаты, представленные в основном D-глюкозой, пригодны для получения широкого спектра народно-хозяйственных продуктов (см. рис. 4).

Тем не менее бактерии, имеющие уникальную физиологическую пластичность, являются по сути гетероферментерами, образующими целый набор веществ, соотношение которых определяет pH и уровень аэрации среды [22, 27, 31]. Дрожжи выгодно отличает ацидофильность, способность к образованию монопродукта из гексоз и узкого спектра продуктов из пентоз (см. рис. 3). Их экономический выход регулируется концентрацией растворенного в среде кислорода [18, 20, 23, 47–50]. Биотехнологическая значимость этих микроорганизмов для конверсии субстратов, полученных кислотным способом, определяется возможностью конструирования штаммов, сохраняющих метаболическую актив-

ность в присутствии летучих органических кислот, фурфурола, 5-гидроксиметилфурфурола и веществ лигнофуранового комплекса [2, 11, 55–57].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Принципиальная возможность для комплексной микробиологической конверсии разнообразных лигноцеллюлозосодержащих отходов существует. Мировым научным сообществом уже накоплен значительный экспериментальный материал о способах деструкции растительных гомо- и гетерополисахаридов, а также спектре микроорганизмов, утилизирующих различные компоненты полученных таким образом гексозо-пентозных смесей. Вместе с тем достаточно много факторов, тормозящих разработку и внедрение микробиологических способов конверсии данных субстратов в ценные для народного хозяйства продукты. Так, длительность технологического цикла, необходимость индивидуального подбора микробных целлюлаз и гемицеллюлаз с учетом происхождения вторичного непищевого источника растительного сырья снижают коммерческую привлекательность энзиматического гидролиза многокомпонентных бытовых и промышленных отходов лигноцеллюлозы. Несмотря на идентификацию значительного количества микроорганизмов различных таксономических групп, до сих пор не сформировано целостное представление о скоординированной регуляции их метаболизма, позволяющее использовать живую клетку в качестве промышленного биокатализатора для получения того или иного монопродукта из пентоз лигноцеллюлозосодержащих отходов.

Тем не менее возможности для преодоления указанных трудностей существуют. Они заключаются в модернизации стандартных приемов кислотной деструкции растительных полисахаридов, способной значительно уменьшить негативный эффект ингибиторов гексозо-пентозных субстратов на про- и эукариотические микроорганизмы. Благодаря широко развитой сети предприятий ЦБК наша страна имеет хорошие технологические предпосылки для вовлечения указанным способом в промышленный оборот не только многокомпонентных бытовых и сельскохозяйственных отходов, но также побочных продуктов промышленной деструкции древесины. Однако успешное решение этой задачи невозможно без создания хорошей методической базы для конструирования штаммов-продуцентов органических кислот, растворителей, источников биоэнергии, сахарозаменителей и др. на основе пентоз лигноцеллюлозы. Алгоритм практического воплощения таких проектов в каждом конкретном случае будет определяться экономической целесообразностью получения того или иного целевого продукта, а также особенностями народно-хозяйственной деятельности субъекта Российской Федерации.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кальнер В.Д. Экологически ориентированная среда обитания - интегральный критерий качества жизни // *Экология и промышленность России*. 2019. Т. 23. N 10. С. 50–55.
2. Болотникова О.И., Михайлова Н.П., Гинак А.И. Кислотный и энзиматический гидролиз непищевых источников растительной биомассы: перспективы промышленной реализации (обзор) // *Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета)*. 2017. N 39 (65). С. 89–95.
3. Cheng H., Wang L. Lignocelluloses feedstock biorefinery as petrorefinery substitutes. Open access peer-reviewed chapter. 2013. Available from: <https://www.intechopen.com/books/biomass-now-sustainable-growth-and-use/lignocelluloses-feedstock-biorefinery-as-petrorefinery-substitutes> [Accessed 26th January 2019].
4. Chen H. *Biotechnology of lignocellulose, theory and practice*. Chemical Industry Press, Beijing and Springer, 2014. 510 p.
5. Гунич С.В., Янчуковская Е.В., Днепровская Н.И. Анализ современных методов переработки твердых бытовых отходов // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2015. N 2 (13). С. 110–115.
6. Щукина Т.В. Биогаз – перспективы и возможности производства // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2012. N 1 (2). С. 113–118.
7. Чхенкели В.А., Глушенкова Т.В., Горяева Н.А., Чхенкели Л.Г., Калинович А.Е. Оптимизация получения биологически активной субстанции на основе гриба-ксилотрофа *Trametes pubescens* shumach.: Fr.)Pilat // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2011. N 1 (1). С. 84–89.
8. Maitan-Alfenas G.P., Visser E.M., Guimarães V.M. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: converting food waste in valuable products // *Current Opinion in Food Science*. 2015. Vol. 1. P. 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.10.001>
9. Ferreira J.A., Mahboubi A., Lennartsson P.R., Taherzadeh M.J. Waste biorefineries using filamentous ascomycetes fungi: present status and future prospects // *Bioresource Technology*. 2016. Vol. 215. P. 334–345. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.018>
10. Kulikova N.A., Kleina O.I., Stepanova E.V., Koroleva O.V. Use of Basidiomycetes in Industrial Waste Processing and Utilization Technologies: Fundamental and Applied Aspects (Review) // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2011. T. 47. N 6. С. 619–634.
11. Jönsson L.J., Alriksson B., Nilvebrant N.-O. Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification // *Biotechnology for Biofuels*. 2013. Vol. 6. Issue 1. P. 16–26. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-16>
12. Górka E.B., Jankiewicz U., Dobrzyński J., Gałazka A., Sitarek M., Gozdowski D., et al. Production of ligninolytic enzymes by cultures of white rot fungi // *Polish journal of microbiology / Polskie Towarzystwo Mikrobiologów = The Polish Society of Microbiologists*. 2014. Vol. 63. Issue 4. P. 461–465. <https://doi.org/10.33073/pjm-2014-062>
13. Plácido J., Capareda S. Ligninolytic enzymes: a biotechnological alternative for bioethanol production // *Bioresources and Bioprocessing*. 2015. Vol. 2. 12 p. <https://doi.org/10.1186/s40643-015-0049-5>
14. Sokan-Adeaga A.A., Ana Godson R.E.E., Sokan-Adeaga M.A., Sokan-Adeaga E.D. Lignocelluloses: An economical and ecological resource for bio-ethanol production. A Review // *International Journal of Natural Resource Ecology and Management*. 2016. Vol. 1. Issue 3. p. 128–144. <https://doi.org/10.11648/j.ijnrem.20160103.18>
15. Приставка А.А., Попова И.В. Влияние фтора на ферментативную активность грибных целлюлаз // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2015. N 1 (12). С. 36–46.
16. Gavrillov S.N., Stracke C., Jensen K., Menzel P., Kallnik V., Slesarev A., et al. Isolation and characterization of the first xylanolytic hyperthermophilic euryarchaeon *Thermococcus* sp. strain 2319×1 and its unusual multidomain glycosidase // *Frontiers in Microbiology*. 2016. Vol. 7. Issue 75. P. 552–569. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00552>
17. Peng X., Qiao W., Mi S., Jia X., Su H., Han Y. Characterization of hemicellulase and cellulase from the extremely thermophilic bacterium *Caldicellulosiruptor owensensis* and their potential application for bioconversion of lignocellulosic biomass without pretreatment // *Biotechnology for Biofuels*. 2015. Vol. 8. Issue 1. P. 131–145. <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0313-0>
18. Kurtzman C.P., Fell J.W., Boekhout T. (eds.). *The Yeasts A Taxonomic Study*, 5th Edition. Elsevier, Amsterdam, Netherlands. 2011. 2354 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00007-0>
19. Mahboubi A., Ferreira J.A., Taherzadeh M.J., Lennartsson P.R. Production of fungal biomass for feed, fatty acids, and glycerol by *Aspergillus oryzae* from fat-rich dairy substrates // *Fermentation*. 2017. Vol. 3. Issue 4. P. 48–58. <https://doi.org/10.3390/fermentation3040048>
20. Bolotnikova O.I., Trushnikova E.P., Mikhailova N.P., Ginak A.I. Production of xylitol and ethanol and activity of the key enzymes of D-xylose consumption in *Pachysolen tannophilus* mutant strains // *Microbiology*. 2015. Vol. 84. N 4. P. 479–484. <https://doi.org/10.1134/S0026261715040049>
21. De Groot M.J., Prathumpai W., Visser J., Ruijter G.J. Metabolic control analysis of *Aspergillus niger* L-arabinose catabolism // *Biotechnology Progress*. 2005. Vol. 21. Issue 6. P. 1610–1616. <https://doi.org/10.1021/bp050189o>
22. Koirala S., Wang X., Rao C.V. Reciprocal regulation of L-arabinose and D-xylose metabolism

in *Escherichia coli* // Journal of Bacteriology. 2016. Vol. 198. Issue 3. P. 386–393. <https://doi.org/10.1128/JB.00709-15>

23. Chen X., Jiang Z.-H., Chen S., Qin W. Microbial and bioconversion production of D-xylitol and its detection and application // International Journal of Biological Sciences. 2010. Vol. 6. Issue 7. P. 834–844. <https://doi.org/10.7150/ijbs.6.834>

24. Saha B.C., Kennedy G.J., Qureshi N., Bowman M.J. Production of itaconic acid from pentose sugars by *Aspergillus terreus* // Biotechnology Progress. 2017. Vol. 33. Issue 4. P. 1059–1067. <https://doi.org/10.1002/btpr.2485>

25. Watanabe S., Kodaki T., Makino K. L-Arabinose 1-dehydrogenase: A novel enzyme involving in bacterial L-arabinose metabolism // Nucleic Acids Symposium Series. 2005. Vol. 49. Issue 1. P. 309–310. <https://doi.org/10.1093/nass/49.1.309>

26. Bajerski F., Ganzert L., Mangelsdorf K., Lipski A., Busse H.-J., Padur L., et al. *Herbaspirillum psychrotolerans* sp. nov., a member of the family Oxalobacteraceae from a glacier forefield // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2013. Vol. 63. Issue 9. P. 3197–3203. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.046920-0>

27. Zhao B., Chen S. *Alkalitalea saponilacus* gen. nov., sp. nov., an obligately anaerobic, alkaliphilic, xylanolytic bacterium from a meromictic soda lake // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2012. Vol. 62. Issue 11. P. 2618–2623. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.038315-0>

28. Zhilina T.N., Kevbrin V.V., Tourova T., Lysenko A.M., Kostrikina N.A., Zavarzin G.A. *Clostridium alkalicellum* sp. nov., an obligately alkaliphilic cellulolytic bacterium from a soda lake in the baikal region // Microbiology. 2005. Vol. 74. Issue 5. P. 557–566. <https://doi.org/10.1007/s11021-005-0103-y>

29. Pugin B., Blamey J.M., Baxter B.K., Wiegand J. *Amphibacillus cookii* sp. nov., a facultatively aerobic, spore-forming, moderately halophilic, alkalithermotolerant bacterium // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2012. Vol. 62. Issue 9. P. 2090–2096. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.034629-0>

30. Choudhury D., Gayen K., Saini S. Dynamic control of arabinose and xylose utilization in *E. coli* // The Canadian Journal of Chemical Engineering. 2018. Vol. 96. Issue 9. P. 1881–1887. <https://doi.org/10.1002/cjce.23197>

31. Luo H., Wu Y., Kole C. Compendium of Bioenergy Plants: Switchgrass. CRC Press. 2014. 464 p.

32. Zimmermann F.K., Entian K.-D. Yeast Sugar Metabolism. Biochemistry, Genetics, Biotechnology and Application. CRC Press, 1997. 567 p.

33. Gupta R., Mehta G., Kuhad R.C. Fermentation of pentose and hexose sugars from corncob, a low cost feedstock into ethanol // Biomass and Bioenergy. 2012. Vol. 47. P. 334–341. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.09.027>

34. Скиба Е.А., Миронова Г.Ф. Преимущества совмещения биокаталических стадий в син-

тезе биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. Т. 6. N 4. С. 53–60. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2016-6-4-53-60>

35. Козлов И.А., Гарипов Р.М. Катализ и его роль в процессах глубокой переработки растительной биомассы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7. N 1. С. 188–191. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-1-188-191>

36. Макарова Е.И., Будаева В.В. Оценка эффективности ферментативного гидролиза плодовых оболочек овса с подпиткой при высоких начальных концентрациях субстрата // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7. N 4. С. 51–57. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-4-51-57>

37. Молокова К.В., Привалова Е.А., Гиль Т.А. Культивирование *Clostridium acetobutylicum* ВКМ 1787 – продуцента бутанола, ацетона и этанола. // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2013. N 1 (4). С. 87–91.

38. Raganati F., Olivieri G., Russo M.E., Marzocchella A. Butanol production by *Clostridium acetobutylicum* in a continuous packed bed reactor fed with cheese whey // Chemical Engineering Transactions. 2013. Vol. 32. P. 937–942. <https://doi.org/10.3303/CET1332157>

39. Sousa J.A.B., Sorokin D.Y., Bijmans M.F.M., Plugge C.M., Stams A.J.M. Ecology and application of haloalkaliphilic anaerobic microbial communities // Applied Microbiology and Biotechnology. 2015. Vol. 99. Issue 22. P. 9331–9336. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6937-y>

40. Jung M.-Y., Mazumdar S., Shin S.H., Yang K.-S., Lee J., Oh M.-K. Improvement of 2,3-butanediol yield in *Klebsiella pneumoniae* by deletion of the pyruvate formate-lyase gene // Applied and Environmental Microbiology. 2014. Vol. 80. Issue 19. P. 6195–6203. <https://doi.org/10.1128/AEM.02069-14>

41. Gupta A., Murarka A., Campbell P., Gonzalez R. Anaerobic fermentation of glycerol in *paenibacillus macerans*: Metabolic pathways and environmental determinants // Applied and Environmental Microbiology. 2009. Vol. 75. Issue 18. P. 5871–5883. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01246-09>

42. Sravanthi T., Tushar L., Sasikala Ch., Ramana Ch.V. *Alkalispirochaeta cellulovorans* gen. nov., sp. nov., a cellulose-hydrolysing, alkaliphilic, halotolerant bacterium isolated from the gut of a wood-eating cockroach (*Cryptocercus punctulatus*), and reclassification of four species of *Spirochaeta* as new combinations within *Alkalispirochaeta* gen. nov. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2016. Vol. 66. Issue 4. P. 1612–1619. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000865>

43. Balasubramanian N., Kim J.S., Lee Y.Y. Fermentation of xylose into acetic acid by *Clostridium thermoaceticum* // Applied Biochemistry and Biotechnology. 2001. Vol. 91. Issue 1-9. P. 367–376. <https://doi.org/10.1385/abab:91-93:1-9:367>

44. Liu H., Wang W., Deng L., Wang F., Tan T. High production of fumaric acid from xylose by newly selected strain *Rhizopus arrhizus* RH 7-13-9# // *Bioresource Technology*. 2015. Vol. 186. P. 348–350. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.109>
45. Anasontzis G.E., Christakopoulos P. Challenges in ethanol production with *Fusarium oxysporum* through consolidated bioprocessing // *Bioengineered*. 2014. Vol. 5. Issue 6. P. 393–395. <https://doi.org/10.4161/bioe.36328>
46. Assis L.F., Kagohara E., Omori Á.T., Comasseto J.V., Andrade L.H., Porto A.L.M. Deracemization of (RS)-1-[(4-methylselanyl)phenyl]ethanol and (rs)-1-[(4-ethylselanyl)phenyl]ethanol by strains of *Aspergillus terreus* // *Food Technology and Biotechnology*. 2007. Vol. 45. Issue 4. P. 415–419.
47. Chandel A.K., Kapoor R.K., Singh A., Khandel R.C. Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by *Candida shehatae* NCIM 3501 // *Bioresource Technology*. 2007. Vol. 98. Issue 10. P. 1947–1950. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.07.047>
48. Agbogbo F.K., Coward-Kelly G. Cellulosic ethanol production using the naturally occurring xylose-fermenting yeast, *Pichia stipitis* // *Biotechnology Letters*. 2008. Vol. 30. Issue 9. P. 1515–1524. <https://doi.org/10.1007/s10529-008-9728-z>
49. Prakash G., Varma A.J., Prabhune A., Shouche Y., Rao M. Microbial production of xylitol from D-xylose and sugarcane bagasse hemicellulose using newly isolated thermotolerant yeast *Debaryomyces hansenii* // *Bioresource Technology*. 2011. Vol. 102. Issue 3. P. 3304–3308. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.074>
50. Zou Y.Z., Qi K., Chen X., Miao X.L., Zhong J.J. Favorable effect of very low initial KLa value on xylitol production from xylose by a self-isolated strain of

Pichia guilliermondii // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2010. Vol. 109. Issue 2. P. 149–152. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.07.013>

51. Dashtban M., Schraft H., Qin W. Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; Opportunities & Perspectives // *International Journal of Biological Sciences*. 2009. Vol. 5. Issue 6. P. 578–595. <https://doi.org/10.7150/ijbs.5.578>

52. Вазетдинова А.А., Харина М.В., Логинова И.В., Клещевников Л.И. Ферментация целлюлозосодержащих остатков производства фурфурола из отходов растительного сырья // *Башкирский химический журнал*. 2017. Т. 24. N 1. С. 27–31.

53. Харина М.В., Григорьева О.Н. Особенности конструкции реакторов для кислотного гидролиза лигноцеллюлозосодержащего сырья // *Вестник Технологического университета*. 2017. Т. 20. N 13. С. 143–150.

54. Фазлиев И.И., Минзанова С.Т., Ахмадулина Ф.Ю., Мухачев С.Г. Влияние кислот различной природы на гидролиз пивной дробины // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2012. N 2 (3). С. 50–53.

55. Григорьева О.Н., Харина М.В. Кислотный гидролиз лигноцеллюлозосодержащего сырья в технологии получения биоэтанола // *Вестник Технологического университета*. 2016. Т. 19. N 10. С. 128–132.

56. Логинова И.В., Харина М.В. Исследование высокотемпературного автогидролиза лигноцеллюлозного сырья // *Вестник Технологического университета*. 2017. Т. 20. N 6. С. 143–145.

57. Болотникова О.И., Михайлова Н.П., Гинак А.И. Сравнительный анализ физиологии роста ксилитроассимилирующих дрожжей *Candida shehatae* и *Pachysolen tannophilus* // *Микология и фитопатология*. 2013. Т. 47. N 5. С. 329–332.

REFERENCES

1. Kal'ner V.D. An ecologically oriented human environment is an integral criterion for the quality of life. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii* = Ecology and Industry of Russia. 2019;23(10):50–55. (In Russian)
2. Bolotnikova OI, Mikhailova NP, Ginak AI. Acid and enzymatic hydrolysis of non- food-based biomass sources: prospects for industrial implementation. *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo instituta (tekhnicheskogo universiteta)*. = Bulletin of the Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University). 2017;39:89–95. (In Russian)
3. Cheng H, Wang L. *Lignocelluloses feedstock biorefinery as petrorefinery substitutes*. Open access peer-reviewed chapter. 2013. Available from: <https://www.intechopen.com/books/biomass-now-sustainable-growth-and-use/lignocelluloses-feedstock-biorefinery-as-petrorefinery-substitutes> [Accessed 26th January 2019].
4. Chen H. *Biotechnology of lignocellulose, theory and practice*. Chemical Industry Press, Beijing and Springer; 2014. 510 p.
5. Gunich SV, Yanchukovskaya EV, Dneprovskaya NI. Analysis of modern methods of hard domestic wastes processing. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2015;2:110–115. (In Russian)
6. Shchukina TV. Biogas – prospects and manufacture possibilities. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2012;1: 113–118. (In Russian)
7. Chkhenkeli VA, Glushenkova TV, Goryaeva NA, Chkhenkeli LG, Kalinovich AE. Optimization of production of biologically active substance on the basis of the fungus-xylophagous *Trametes pubescens* Shumacher: Fr.) Pilat. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2011;1:84–89. (In Russian)
8. Maitan-Alfenas GP, Visser EM, Guimarães VM. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic bio-

mass: converting food waste in valuable products. *Current Opinion in Food Science*. 2015;1:44–49. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.10.001>

9. Ferreira JA, Mahboubi A, Lennartsson PR, Taherzadeh MJ. Waste biorefineries using filamentous ascomycetes fungi: present status and future prospects. *Bioresource Technology*. 2016;215:334–345. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.018>

10. Kulikova NA, Kleina OI, Stepanova EV, Korableva OV. Use of Basidiomycetes in Industrial Waste Processing and Utilization Technologies: Fundamental and Applied Aspects (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2011;47(6): 619–634.

11. Jönsson LJ, Alriksson B, Nilvebrant N-O. Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification. *Biotechnology for Biofuels*. 2013;6(1): 16–26. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-16>

12. Górka EB, Jankiewicz U, Dobrzyński J, Gałazka A, Sitarek M, Gozdowski D, et al. Production of ligninolytic enzymes by cultures of white rot fungi. *Polish journal of microbiology*. 2014;63(4): 461–465. <https://doi.org/10.33073/pjm-2014-062>

13. Plácido J, Capareda S. Ligninolytic enzymes: a biotechnological alternative for bioethanol production. *Bioresources and Bioprocessing*. 2015;2: 12 p. <https://doi.org/10.1186/s40643-015-0049-5>

14. Sokan-Adeaga AA, Ana Godson REE, Sokan-Adeaga MA, Sokan-Adeaga ED. Lignocelluloses: An economical and ecological resource for bioethanol production. A Review. *International Journal of Natural Resource Ecology and Management*. 2016;1(3):128–144. <https://doi.org/10.11648/j.ijnrem.20160103.18>

15. Pristavka AA, Popova IV. Influence of sodium fluoride on enzymatic activity of fungal cellulases. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biokhimiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2015;1:36–46. (In Russian)

16. Gavrilov SN, Stracke C, Jensen K, Menzel P, Kallnik V, Slesarev A, et al. Isolation and characterization of the first xylanolytic hyperthermophilic euryarchaeon *Thermococcus* sp. strain 2319×1 and its unusual multidomain glycosidase. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7(75):552–569. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00552>

17. Peng X, Qiao W, Mi S, Jia X, Su H, Han Y. Characterization of hemicellulase and cellulase from the extremely thermophilic bacterium *Caldicellulosiruptor owensensis* and their potential application for bioconversion of lignocellulosic biomass without pretreatment. *Biotechnology for Biofuels*. 2015;8(1): 131–145. <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0313-0>

18. Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. (eds.). *The Yeasts A Taxonomic Study*. 5th ed. Elsevier, Amsterdam, Netherlands; 2011. 2354 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00007-0>

19. Mahboubi A, Ferreira JA, Taherzadeh MJ, Lennartsson PR. Production of fungal biomass for feed, fatty acids, and glycerol by *Aspergillus oryzae*

from fat-rich dairy substrates. *Fermentation*. 2017;3(4): 48–58. <https://doi.org/10.3390/fermentation3040048>

20. Bolotnikova OI, Trushnikova EP, Mikhailova NP, Ginak AI. Production of xylitol and ethanol and activity of the key enzymes of D-xylose consumption in *Pachysolen tannophilus* mutant strains. *Microbiology*. 2015;84(4):479–484. <https://doi.org/10.1134/S0026261715040049>

21. De Groot MJ, Prathumpai W, Visser J, Ruijter GJ. Metabolic control analysis of *Aspergillus niger* L-arabinose catabolism. *Biotechnology Progress*. 2005; 21(6):1610–1616. <https://doi.org/10.1021/bp050189o>

22. Koirala S, Wang X, Rao CV. Reciprocal regulation of L-arabinose and D-xylose metabolism in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*. 2016; 198(3):386–393. <https://doi.org/10.1128/JB.00709-15>

23. Chen X, Jiang Z-H, Chen S, Qin W. Microbial and bioconversion production of D-xylitol and its detection and application. *International Journal of Biological Sciences*. 2010;6(7):834–844. <https://doi.org/10.7150/ijbs.6.834>

24. Saha BC, Kennedy GJ, Qureshi N, Bowman MJ. Production of itaconic acid from pentose sugars by *Aspergillus terreus*. *Biotechnology Progress*. 2017;33(4):1059–1067. <https://doi.org/10.1021/btpr.2485>

25. Watanabe S, Kodaki T, Makino K. L-Arabinose 1-dehydrogenase: A novel enzyme involving in bacterial L-arabinose metabolism. *Nucleic Acids Symposium Series*. 2005;49(1):309–310. <https://doi.org/10.1093/nass/49.1.309>

26. Bajerski F, Ganzert L, Mangelsdorf K, Lipski A, Busse H-J, Padur L, et al. *Herbaspirillum psychrotolerans* sp. nov., a member of the family Oxalobacteraceae from a glacier forefield. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2013;63(9):3197–3203. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.046920-0>

27. Zhao B, Chen S. *Alkalitalea saponilacus* gen. nov., sp. nov., an obligately anaerobic, alkaliphilic, xylanolytic bacterium from a meromictic soda lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2012;62(11):2618–2623. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.038315-0>

28. Zhilina TN, Kevbrin VV, Tourova T, Lysenko AM, Kostrikina NA, Zavarzin GA. *Clostridium alkalicellum* sp. nov., an obligately alkaliphilic cellulolytic bacterium from a soda lake in the baikal region. *Microbiology*. 2005;74(5):557–566. <https://doi.org/10.1007/s11021-005-0103-y>

29. Pugin B, Blamey JM, Baxter BK, Wiegel J. *Amphibacillus cookii* sp. nov., a facultatively aerobic, spore-forming, moderately halophilic, alkalithermotolerant bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2012;62(9): 2090–2096. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.034629-0>

31. Luo H, Wu Y, Kole C. Compendium of Bioenergy Plants: Switchgrass. CRC Press; 2014. 464 p.

32. Zimmermann FK, Entian K-D. *Yeast Sugar Metabolism. Biochemistry, Genetics, Biotechnology and Application*. CRC Press; 1997. 567 p.

- 33.** Gupta R, Mehta G, Kuhad RC. Fermentation of pentose and hexose sugars from corncob, a low cost feedstock into ethanol. *Biomass and Bioenergy*. 2012;47:334–341. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.09.027>
- 34.** Skiba EA, Mironova GF. Advantages of combining biocatalytic stages in bioethanol synthesis from cellulosic biomasses. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Higher School. Applied Chemistry and Biotechnology. 2016;6(4):53–60. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2016-6-4-53-60>
- 35.** Kozlov IA, Garipov RM. Catalysis and its impact in the processes of deep processing of plant biomass. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Higher School. Applied Chemistry and Biotechnology. 2017;7(1):188–191. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-1-188-191>
- 36.** Makarova E.I., Budaeva V.V. Estimation of the efficiency of the oat bran enzymatic hydrolysis with feeding at high initial substrate concentrations. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Higher School. Applied Chemistry and Biotechnology. 2017;7(4):51–57. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-4-51-57>
- 37.** Molokova KV, Privalova EA, Gil TA. Cultivation of clostridium acetobutylicum vkm 1787 – producer of butanol, acetone and ethanol. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Higher School. Applied Chemistry and Biotechnology. 2013;1(4):87–91. (In Russian)
- 38.** Raganati F, Olivieri G, Russo ME, Marzochella A. Butanol production by Clostridium acetobutylicum in a continuous packed bed reactor fed with cheese whey. *Chemical Engineering Transactions*. 2013;32:937–642. <https://doi.org/10.3303/CET1332157>
- 39.** Sousa JAB, Sorokin DY, Bijmans MFM, Plugge CM, Stams AJM. Ecology and application of haloalkaliphilic anaerobic microbial communities. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015;99(22): 9331–9336. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6937-y>
- 40.** Jung M-Y, Mazumdar S, Shin SH, Yang K-S, Lee J, Oh M-K. Improvement of 2,3-butanediol yield in Klebsiella pneumoniae by deletion of the pyruvate formate-lyase gene. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014;80(19):6195–6203. <https://doi.org/10.1128/AEM.02069-14>
- 41.** Gupta A, Murarka A, Campbell P, Gonzalez R. Anaerobic fermentation of glycerol in paenibacillus macerans: Metabolic pathways and environmental determinants. *Applied and Environmental Microbiology*. 2009;75(18):5871–5883. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01246-09>
- 42.** Sravanthi T, Tushar L, Sasikala Ch, Ramana ChV. Alkalispichoeta cellulovorans gen. nov., sp. nov., a cellulose-hydrolysing, alkaliphilic, halotolerant bacterium isolated from the gut of a wood-eating cockroach (Cryptocercus punctulatus), and reclassification of four species of Spirochaeta as new combinations within *Alkalispichoeta* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016;66(4):1612–1619. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000865>
- 43.** Balasubramanian N, Kim JS, Lee YY. Fermentation of xylose into acetic acid by Clostridium thermoaceticum. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2001;91(1-9):367–376. <https://doi.org/10.1385/abab:91-93:1-9:367>
- 44.** Liu H, Wang W, Deng L, Wang F, Tan T. High production of fumaric acid from xylose by newly selected strain Rhizopus arrhizus RH 7-13-9#. *Bioresource Technology*. 2015;186:348–350. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.109>
- 45.** Anasontzis GE, Christakopoulos P. Challenges in ethanol production with Fusarium oxysporum through consolidated bioprocessing. *Bioengineered*. 2014;5(6):393–395. <https://doi.org/10.4161/bioe.36328>
- 46.** Assis LF, Kagohara E, Omori AT, Comassetto JV, Andrade LH, Porto ALM. Deracemization of (RS)-1-[(4-methylselanyl)phenyl]ethanol and (rs)-1-[(4-ethylselanyl)phenyl]ethanol by strains of *Aspergillus terreus*. *Food Technology and Biotechnology*. 2007;45(4):415–419.
- 47.** Chandel AK, Kapoor RK, Singh A, Kuhad RC. Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by Candida shehatae NCIM 3501. *Bioresource Technology*. 2007;98(10): 1947–1950. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.07.047>
- 48.** Agbogbo FK, Coward-Kelly G. Cellulosic ethanol production using the naturally occurring xylose-fermenting yeast, Pichia stipites. *Biotechnology Letters*. 2008;30(9):1515–1524. <https://doi.org/10.1007/s10529-008-9728-z>
- 49.** Prakash G, Varma AJ, Prabhune A, Shouche Y, Rao M. Microbial production of xylitol from D-xylose and sugarcane bagasse hemicellulose using newly isolated thermotolerant yeast Debaryomyces hansenii. *Bioresource Technology*. 2011;102(3): 3304–3308. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.074>
- 50.** Zou YZ, Qi K, Chen X, Miao XL, Zhong JJ. Favorable effect of very low initial KLa value on xylitol production from xylose by a self-isolated strain of Pichia guilliermondii. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2010;109(2):149–152. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.07.013>
- 51.** Dashtban M, Schraft H, Qin W. Fungal bio-conversion of lignocellulosic residues; Opportunities & Perspectives. *International Journal of Biological Sciences*. 2009;5(6):578–595. <https://doi.org/10.7150/ijbs.5.578>
- 52.** Vazetdinova AA, Kharina MV, Loginova IV, Kleschevnikov LI. Enzymatic hydrolysis of cellulosic residuals of furfural production from vegetable raw materials. *Bashkirskii khimicheskii zhurnal* = Bashkir Chemical Journal. 2017;24(1):27–31. (In Russian)
- 53.** Kharina MV, Grigor'eva ON. Design features of reactors for acid hydrolysis of lignocellulose-containing raw materials. *Vestnik Tekhnologicheskogo universiteta* = Bulletin of the Technological University. 2017;20(13):143–150. (In Russian)

54. Fazliev II, Minzanova ST, Akhmadullina F Yu, Mukhachev SG. The effect of different acids on grain hydrolysis. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya* = Proceedings of Higher School. Applied Chemistry and Biotechnology. 2012;2:50–53. (In Russian)

55. Grigor'eva ON, Kharina MV. Acid hydrolysis of lignocellulose-containing raw materials in bioethanol production technology. *Vestnik Tekhnologicheskogo universiteta* = Bulletin of the Technological University. 2016;19(10):128–132. (In Russian)

Критерии авторства

Болотникова О.И., Михайлова Н.П., Болотникова Т.А., Акинина Ю.Н. проанализировали литературные источники, обобщили имеющийся по данной теме материал и написали рукопись. Болотникова О.И., Михайлова Н.П., Болотникова Т.А., Акинина Ю.Н. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Болотникова Ольга Ивановна,
к.б.н., доцент кафедры биомедицинской химии, иммунологии и лабораторной диагностики медицинского института, Петрозаводский государственный университет, 185910, г. Петрозаводск, пр-т Ленина, 33, Республика Карелия, Российская Федерация, ✉e-mail: olga-bolotnikova@rambler.ru

Михайлова Наталья Павловна,
д.б.н., старший научный сотрудник кафедры молекулярной биотехнологии факультета химической и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), 190013, г. Санкт-Петербург, Московский пр-т, 26, Российская Федерация, e-mail: m_natalia2@rambler.ru

Базарнова Юлия Генриховна,
д.т.н., профессор Высшей школы биотехнологии и пищевых технологий, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, г. Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29, Российская Федерация, e-mail: j.bazarnowa2012@yandex.ru

56. Loginova IV, Kharina MV. Study of high-temperature autohydrolysis of lignocellulosic raw materials. *Vestnik Tekhnologicheskogo universiteta* = Bulletin of the Technological University. 2017;20(6): 143–145. (In Russian)

57. Bolotnikova OI, Mikhailova NP, Ginak AI. Comparative analysis of the growth physiology of xylose-assimilating yeasts *candida shehtae* and *pachysolen tannophilus*. *Mikologiya i fitopatologiya* = Mycology and Phytopathology. 2013;47(5):329–332. (In Russian)

Contribution

Olga I. Bolotnikova, Natalia P. Mikhailova, Julia G. Bazarnova, Ekaterina B. Aronova, Tatyana A. Bolotnikova, Julia N. Akinina analyzed the data, summarized the material and wrote the manuscript. Olga I. Bolotnikova, Natalia P. Mikhailova, Julia G. Bazarnova, Ekaterina B. Aronova, Tatyana A. Bolotnikova, Julia N. Akinina have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

AUTHORS' INDEX

Olga I. Bolotnikova,
Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Department of Biomedical Chemistry, Immunology and Laboratory Diagnostics, Institute of Medicine, Petrozavodsk State University, 33, Lenin Ave., Petrozavodsk 185910, Republic of Karelia, Russian Federation, ✉e-mail: olga-bolotnikova@rambler.ru

Natalia P. Mikhailova,
Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Sub-Department of Molecular Biotechnology, Department Chemical and Biotechnology St. Petersburg State Institute of Technology, 26, Moskovskii Ave., St. Petersburg 190013, Russian Federation, e-mail: m_natalia2@rambler.ru

Julia G. Bazarnova,
Dr. Sci. (Engineering), Professor, Graduate School of Biotechnology and Food Science, Peter the Great Saint-Petersburg Polytechnic University, 29, Politehnicheskaya St., St. Petersburg 195251, Russian Federation, e-mail: j.bazarnowa2012@yandex.ru

Аронова Екатерина Борисовна,

к.т.н., доцент Высшей школы
биотехнологии и пищевых технологий,
Санкт-Петербургский политехнический
университет Петра Великого,
195251, г. Санкт-Петербург,
ул. Политехническая, 29,
Российская Федерация,
e-mail: aronovae@inbox.ru

Болотникова Татьяна Алексеевна,

магистрант Высшей школы
биотехнологии и пищевых технологий,
Санкт-Петербургский политехнический универ-
ситет Петра Великого,
195251, г. Санкт-Петербург,
ул. Политехническая, 29,
Российская Федерация,
e-mail: bolotnikova@ro.ru

Акинина Юлия Николаевна,

магистрант кафедры физической химии
факультета химии веществ и материалов,
Санкт-Петербургский государственный
технологический институт
(технический университет),
190013, г. Санкт-Петербург,
Московский пр-т, 26, Российская Федерация,
e-mail: akinina.ju@gmail.com

Ekaterina B. Aronova,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Graduate School of Biotechnology
and Food Science
Peter the Great Saint-Petersburg
Polytechnic University,
29, Politehnicheskaya St., St. Petersburg 195251,
Russian Federation,
e-mail: aronovae@inbox.ru

Tatyana A. Bolotnikova,

Master Student,
Graduate School of Biotechnology
and Food Science,
Peter the Great Saint-Petersburg
Polytechnic University,
29, Politehnicheskaya St., St. Petersburg 195251,
Russian Federation,
e-mail: bolotnikova@ro.ru

Julia N. Akinina,

Master Student,
Sub-Department of Physical Chemistry,
Department of Substances
and Materials Chemistry,
Saint-Petersburg State Institute of Technology
26, Moskovskiy Ave., St. Petersburg 190013,
Russian Federation,
e-mail: akinina.ju@gmail.com

Обзорная статья / Review article

УДК 579.6:632.937

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-694-702>

Значение работ Е.В. Талалаева для формирования стратегии развития биотехнологических методов защиты растений от вредителей

© А.Г. Еникеев, Л.Ю. Еникеева

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация

Резюме: Разработка методов биологической защиты растений оставалась одним из основных направлений развития биотехнологии на всем протяжении XX столетия. В нашей стране развитие этого направления исследований неразрывно связано с именем профессора Иркутского государственного университета Евгения Васильевича Талалаева, являющегося основоположником биологических методов защиты лесов. Им разработаны теоретические основы применения микробиометода, создан первый отечественный бактериальный препарат для борьбы с сибирским шелкопрядом – дендробациллин. Проведены широкомасштабные испытания препарата и продемонстрирована его безопасность для здоровья человека. При его непосредственном участии в СССР было организовано промышленное производство биопрепаратов. Продукция этих предприятий пользовалась большим спросом как на отечественном, так и зарубежном рынках. В статье приведена краткая история изучения энтомопатогенных свойств *Bacillus thuringiensis* и разработки на ее основе биотехнологических методов защиты растений от насекомых-вредителей. Дан краткий сравнительный анализ современного уровня развития микробиометода защиты растений в России и за рубежом. Рассмотрены итоги первых десятилетий широкомасштабного применения в сельскохозяйственном производстве созданных на основе *B. thuringiensis* генно-инженерных Bt-технологий, позиционируемых как более эффективная и экономичная альтернатива микробиометоду. Представлены основные, описанные в научной литературе, причины низкой эффективности данного направления генетической инженерии растений. Также показано, что при создании трансгенных Bt-растений не были учтены закономерности развития природных паразитарных систем, положенных в основу микробиометода. Дана оценка значения научного наследия Е.В. Талалаева для развития методов защиты растений на основе *B. Thuringiensis* и представлен ряд новых направлений развития растительных биотехнологий на их основе. Обсуждены дальнейшие перспективы использования микробиометода защиты растений в Российской Федерации.

Ключевые слова: Е.В. Талалаев, защита растений, *Bacillus thuringiensis*, Bt-технологии, перспективы развития

Информация о статье: Дата поступления 4 февраля 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Еникеев А.Г., Еникеева Л.Ю. Значение работ Е.В. Талалаева для формирования стратегии развития биотехнологических методов защиты растений от вредителей // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 694–702. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-694-702>

Significance of the works of E.V. Talalaev in the formulation of a development strategy for biotechnological pest management methods

A.G. Enikeev, L.Yu. Enikeeva

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: The development of methods for pest management continued to be one of the main directions in development of biotechnology throughout the twentieth century. In Russia, the development of this research area is inextricably linked with the name of Evgeny V. Talalayev, professor of Irkutsk State University and the

founder of the biological forest protection approach. Though his enterprise, theoretical foundations for the use of the microbiomethod were developed, along with the first domestic bacterial preparation against the Siberian silkworm, dendrobacillin. Large-scale tests of the preparation were carried out to demonstrate its safety in terms of human health. With his direct participation, industrial production of biological products was organised in the USSR. These products were in great demand in both domestic and foreign markets. The article gives a brief history of the study of the entomopathogenic properties of *Bacillus Thuringiensis* and the development of biotechnological methods for pest management on its basis. A brief comparative analysis is provided for the current state of microbiomethods for the protection of plant species in Russia and abroad. The results of the first decades of large-scale application in agricultural production based on *B. thuringiensis* genetic engineering Bt-technologies, positioned as a more effective and economical alternative to the microbiome, are considered. The main reasons for the low efficiency of this area of plant genetic engineering as described in the scientific literature are presented. Additionally, the problem of discounting the development patterns of natural parasitic systems underlying the microbiomethod during the creation of transgenic BT plants is considered. An assessment for the value of the scientific heritage of E.V. Talalaev for the development of plant protection methods based on *B. Thuringiensis* is made along with the presentation of a number of new directions for the development of plant biotechnologies on their basis. Further prospects for the use of the microbiomethod plant protection approach in the Russian Federation are discussed.

Keywords: E.V. Talalaev, plant protection, *Bacillus thuringiensis*, BT-technologies, development prospects

Information about the article: Received February 4, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Enikeev AG, Enikeeva LYu. Significance of the works of E.V. Talalaev in the formulation of a development strategy for biotechnological pest management methods. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):694–702. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-694-702>

ВВЕДЕНИЕ

Одним из основных направлений развития биотехнологии в XX в., вплоть до появления генно-инженерных технологий, являлась разработка биологических методов защиты растений [1] Значительный рост интереса к энтомопатогенным биопрепаратам пришелся на 40–50-е гг. прошлого столетия. В СССР развитие этого направления исследований неразрывно связано с именем профессора Иркутского государственного университета Евгения Васильевича Талалаева (1902–1980). Опыт участия авторов настоящей статьи в ряде отечественных конференций и симпозиумов в последние 15 лет свидетельствует о том, что многим молодым исследователям, работающим в области создания биологических методов защиты растений, имя этого ученого неизменно. Между тем значительная часть современных биотехнологий на основе *Bacillus thuringiensis* в той или иной степени базируются на работах Евгения Васильевича. Заложенные им принципы биологических методов защиты растений стали фундаментом новых направлений исследований.

Краткая история исследований *Bacillus thuringiensis*. Исходной точкой в изучении *Bacillus thuringiensis* принято считать исследования японского микробиолога Шигетане Ишивата, выделившего в 1901 г. из мертвых личинок тутового шелкопряда энтомопатогенную бактерию, названную ученым *Bacillus sotto* [2] (цит. по [5]). Повторно бактерия была открыта десять лет спустя в Германии микробиологом Эрстом Берлинером, который выделил из мертвой мучной

моли, собранной им на одной из мельниц в земле Тюрингия, бактерию, получившую видовой эпитет *Bacillus thuringiensis* [3] (цит. по [5]), [4].

Первые попытки использовать *B. thuringiensis* для борьбы с насекомыми вредителями имели место в 20-е гг. прошлого века. В 1938 г. во Франции был произведен первый коммерческий препарат – «Sporéne», для борьбы с мучной молью. Однако после появления в 1939 г. химических инсектицидов (ДДТ) интерес к биопрепаратам значительно сократился. Возрождение интереса к этому направлению исследований произошло в 1950-е гг. С небольшим интервалом препараты на основе *B. thuringiensis* были запатентованы в СССР, США, Германии и Франции [5]. В 1960–80-е гг. эти препараты активно использовались в практике. Долгое время было принято считать, что *B. thuringiensis* являлся специфическим патогеном чешуекрылых, пока в 1977 г. не было опубликовано первое сообщение об обнаружении подвида *B. thuringiensis*, патогенного для двукрылых [6]. В последующие годы были найдены другие подвиды *B. thuringiensis*, патогенные для широкого круга насекомых и других беспозвоночных животных [7]. В настоящее время описано несколько тысяч природных штаммов *B. thuringiensis*, выделенных из различных источников в разных регионах мира [5].

Расширение сферы биотехнологического применения *B. thuringiensis* в значительной степени стимулировало интерес к изучению данного микроорганизма. В середине 1950-х был описан первый кристаллообразующий белковый

эндотоксин (Сгу-белок) [8–10], а 30 лет спустя был клонирован кодирующий его ген [11]. На сегодняшний день описаны десятки различных Сгу-белков, а также другие эндотоксины как белковой, так и небелковой природы, установлены механизмы их действия [7, 12]. Результаты исследований по различным аспектам биологии *B. thuringiensis* обобщены в большом количестве обзоров и монографий (например, [13–15]).

Принципиально новый этап развития Bt-технологий начался с развитием методов генетической инженерии и созданием в 1995 г. первых коммерческих трансгенных растений с генами, кодирующими Сгу-белки (Bt-растения) [5]. В настоящее время Bt-растения – одно из основных направлений использования трансгенных растений в сельском хозяйстве [16]. Однако опыт первых десятилетий коммерческого использования Bt-растений дал неоднозначные результаты как в вопросах эффективности защиты растений, так и в вопросах безопасности этих технологий [17, 18].

Работы Е.В. Талалаева по созданию биологических методов защиты растений. Разработка микробиологического метода защиты лесов была начата Евгением Васильевичем Талалаевым весной 1949 г. при содействии Центрального НИИ лесного хозяйства (Ленинград). В результате исследований, проведенных в Больше-Глубоковском очаге массового размножения сибирского шелкопряда, была выделена энтомопатогенная бактерия, первоначально описанная как новый вид *Bacillus dendrolimus* n. sp. [19]. В дальнейшем систематическое положение вида было уточнено как *Bacillus thuringiensis* subsp. *dendrolimus*. В ходе дальнейших исследований Е.В. Талалаевым был разработан биопрепарат для борьбы с сибирским шелкопрядом – дендробациллин [20].

Опытные партии дендробациллина были получены уже в 1953 г. Метод был зарегистрирован в Комитете по делам изобретений и открытий при Совете Министров СССР за № 7795 с приоритетом 12 августа 1957 г. В том же году технология производства препарата передана Московскому заводу бактериальных препаратов, где она была доработана для заводских условий. В 1958 г. для полевых испытаний завод изготовил опытную партию дендробациллина в количестве 3 т, а в 1961 г., для дальнейших испытаний, – 18 т¹. В марте 1974 г. производство дендробациллина началось на Бердском химическом заводе (с 1991 г. – Бердский завод биопрепаратов). Продукция завода пользовалась большим спросом на отечественном рынке, а также шла на экспорт. Однако к концу 1990-х гг. заказы резко сократились, и выпуск препарата был прекращен [21].

Наследие Е.В. Талалаева не ограничивается исследованиями прикладного характера. Заложены теоретические основы микробиоме-

тода защиты лесов, сделан подробный анализ условий, обеспечивающих его успешное применение [22]. Десятилетия спустя принципы, сформулированные в работах Евгения Васильевича, получили подтверждение в исследованиях других авторов по теории паразитарных систем [23–25].

Характеристика Евгения Васильевича Талалаева как ученого была бы неполной без упоминания истории проверки им безопасности *B. thuringiensis* для человека. По свидетельству учеников Е.В. Талалаева, он выпил суспензию бактерий, продемонстрировав тем самым ее безопасность. К сожалению, этот факт не отражен ни в одном официальном документе. Косвенно о дате этого события можно судить только по некоторым публикациям (утверждение о безопасности *B. thuringiensis* приводится Е.В. Талалаевым со ссылкой на исследования 1951 г. [20, 26]). За рубежом возрождение интереса к *B. thuringiensis* связывают главным образом с именем Эдуарда Стейнхауса (США, 1914–1969). По утверждению одного из его учеников И. Танада, именно его учитель первым выпил суспензию *B. thuringiensis*, чтобы показать ее безвредность для человека [27]. Этот факт также не отражен в официальных источниках, включая академическую биографию Стейнхауса [28]. Работы Стейнхауса по *B. thuringiensis* датируются тем же периодом, что и работы Евгения Васильевича [29, 30]. Достоверно установить первенство того или другого ученого сегодня не представляется возможным. Очевидно, отдавая дань заслугам каждого из них, следует считать, что Е.В. Талалаев и Э.А. Стейнхаус независимо друг от друга первыми проверили на себе безопасность *B. thuringiensis* для человека.

Сопоставление эффективности защиты растений с помощью бактериальных препаратов и генно-инженерных технологий. Создание методов генетической инженерии несомненно является одним из величайших достижений биологической науки последней четверти XX в. Наибольшее практическое применение получили трансгенные или генно-модифицированные растения (ГМР). По данным за 2018 г. площадь посевов под такими культурами составила 191,7 млн га [16]. Одна из приоритетных задач трансгеноза – создание форм растений, устойчивых к насекомым-вредителям. Основу этих

¹ Талалаева Г.Б., Завезенова Т.В., Огарков Б.Н., Буковская Н.Е., Макарова А.П. Е.В. Талалаев – ученый и педагог // Оценка современного состояния микробиологических исследований в Восточно-Сибирском регионе: материалы Российской научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения проф. Е.В. Талалаева (Иркутск, 1–13 марта 2002 г.). Иркутск: Изд-во Иркутского университета, 2002. С. 3–10.

технологий составляют так называемые *Bt*-растения, в геном которых встроены гены, кодирующие δ -эндотоксины (*Cry*-белки) *B. thuringiensis*. Оценка научным сообществом перспектив и последствий их использования в сельском хозяйстве весьма неоднозначна [31, 32].

Оставляя за рамками данной статьи вопрос о потенциальных рисках использования ГМР (оценку рисков использования *Bt*-культур в производстве сельскохозяйственной продукции см. в [18]), приведем краткий анализ литературных данных перспектив использования *Bt*-технологий в защите растений.

Трансгенные растения, продуцирующие *Cry*-белки, задумывались как более эффективная и экономичная альтернатива микробиометоду. Опыт двух десятилетий использования *Bt*-культур в промышленных масштабах выявил существенные недостатки этих технологий. Во-первых, невозможно создать трансгенное растение, во всех тканях которого на протяжении всего жизненного цикла экспрессия *Cry*-белков находится на летальном для вредителя уровне; во-вторых, вопреки теоретическим предположениям, основанным на малой вероятности события, возникают доминантные мутации резистентности и рецессивные, не имеющие цены приспособленности; в-третьих, также вопреки теоретическим предположениям, возникает перекрестная резистентность между *Cry*-белками разных семейств [17, с. 17]. Еще одна причина неэффективности *Bt*-культур – это их повышенная привлекательность для вторичных вредителей из отряда Hemiptera. Наличие у них более эволюционно продвинутого колюще-сосущего ротового аппарата, в отличие от грызущего у основных вредителей из отрядов Lepidoptera и Coleoptera, не вызывает у растений состояния индуцированной защиты. Более привлекательными для представителей отряда полужесткокрылые *Bt*-культуры становятся вследствие изменения их химического состава по сравнению с консервативными сортами (пониженное содержание терпенов) [33]. По заключению А.Г. Викторова, создание *Bt*-растений, обеспечивающих эффективную защиту от энтомопатогенов, на уровне современных технологий не представляется возможным [17].

Е.В. Талалаев, анализируя условия, обеспечивающие успешное применение микробиометода защиты растений, отмечал: «Медикам и ветеринарам давно известно, что эпидемии и эпизоотии возникают только при определенных условиях. Чтобы искусственно вызвать эпидемию или эпизоотию, необходимо создать соответствующие условия. <...> К факторам, способствующим искусственной эпизоотии среди гусениц сибирского шелкопряда, можно отнести патогенность возбудителя, его вирулентность и заразительность, устойчивость возбудителя к неблагоприятным условиям среды, резистент-

ность гусениц, носительство заразы, миграцию гусениц, передачу инфекции, биологические и физиологические особенности гусениц, способствующие распространению заразы, а также определенные внешние условия» [19, с. 5]. «Для искусственного заражения насекомых [следовало бы] употреблять не монокультуру возбудителя, принимаемого за основной патогенный вид, а весь тот микробиологический комплекс, который обнаруживается при выборе инфекции в исходном больном насекомом. <...> Одновременное нахождение двух и более видов бактерий в больных насекомых, несомненно, явление не случайное. Между этими видами имеется определенная взаимосвязь, которая и выражается в тяжелом заболевании насекомого с летальным исходом» [23, с. 13].

Успех применения разработанного Е.В. Талалаевым микробиологического метода борьбы с насекомыми-вредителями в значительной степени обусловлен тщательным (детальным) анализом закономерностей развития природных паразитарных систем. Сформулированные в работах Е.В. Талалаева положения в дальнейшем нашли свое подтверждение в многочисленных работах по теоретической паразитологии [34–37]. В отличие от природных паразитарных систем *Bt*-растения – это искусственно созданные надвидовые системы [38]. Экспрессия встроженных в их геном *cry*-генов регулируется механизмами, отличными от естественных (бактериальный геном), вследствие чего утрачивается обратная связь с насекомым-вредителем, а коэволюция становится невозможной. Таким образом нарушаются основные законы развития симбиотических систем [39], что и обуславливает неэффективность современных генно-инженерных *Bt*-технологий.

Перспективы дальнейшего использования Bacillus thuringiensis в биотехнологии. За десятилетия, прошедшие с момента начала широкомасштабного применения препаратов на основе *B. thuringiensis* для защиты лесов от сибирского шелкопряда, область биотехнологического применения данного микроорганизма многократно увеличилась. Найдены новые подвиды *B. thuringiensis*, вызывающие заболевания и гибель представителей различных отрядов насекомых и других беспозвоночных животных [5, 7]. Бактериальные препараты для защиты растений от насекомых-вредителей широко используются за рубежом. Основными потребителями микробиологических препаратов защиты растений являются США, Канада, страны Западной Европы. Интенсивно развивается это направление в странах Латинской Америки и Азии [40]. Лидером мирового производства микробиологических препаратов является компания Valent BioSciences (США), выпускающая целую линейку препаратов на основе *B. thuringiensis* (DiPel, Xen Tari, Novodor, LEAP, DiTera) [41].

После распада СССР в России микробиологический метод защиты растений длительное время практически не применялся. Возрождение интереса к этому направлению биотехнологии началось с конца первого десятилетия нынешнего века. После модернизации в 2006–2010 гг. производственных мощностей бывшего Бердского завода биопрепаратов (в настоящее время Производственное объединение «Сиббиофарм») налажен выпуск новых препаратов на основе *B. thuringiensis*. «Битоксибациллин» – биологический препарат, успешно используемый для защиты сельскохозяйственных, цветочных, лесных и лекарственных культур от различных видов насекомых-вредителей, в том числе таких, как паутинный клещ, тля, личинки колорадского жука и листогрызущих гусениц. Препарат «Лепидоцид» предназначен для защиты лесов и сельскохозяйственных культур от гусениц чешуекрылых насекомых. В конце 2016 г. принят и с 1 мая 2017 г. вступил в силу ГОСТ на препарат «Дендробациллин»². Кроме того, российскими учеными разработан и успешно прошел испытания ряд новых высокоэффективных препаратов широкого спектра действия [42]. Вместе с тем остаются нереализованными многие перспективные направления развития микробиометода. Так, например, еще

в 2001 г. в частной беседе с авторами статьи одной из учениц Евгения Васильевича Талалаева Т.В. Завезеновой высказывалась идея о целесообразности поиска штаммов *B. thuringiensis*, патогенных для иксодовых клещей, переносчиков ряда опасных заболеваний.

В исследованиях последних десятилетий помимо инсектицидного действия у *B. thuringiensis* описан большой ряд новых свойств, представляющих интерес для биотехнологии. Показаны антифунгальная и антибактериальная активность [43]. Метаболиты *B. thuringiensis* оказывают ростстимулирующее действие и влияют на биохимический состав растений [44–46]. Отмечено селективное ингибирующее действие Сру-белков на развитие опухолевых клеток человека и других млекопитающих [47, 48]. В большинстве случаев эти направления пока не вышли за рамки научных разработок, и основным направлением биотехнологического использования *B. thuringiensis* остается защита растений от насекомых-вредителей.

² ГОСТ Р 57246-2016 Препарат Дендробациллин. Инсектицид. Технические условия; утв. и введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 09.11.2016 г. № 1636-ст.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Штерншис М.В. Тенденции развития микробных средств защиты растений в России // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2012. N 2 (18). С. 92–100.
2. Ishiwata S. On a kind of severe flacherie (sotto disease) // Dainihon Sanshi Kaiho. 1901. Vol. 114. P. 1–5.
3. Berliner E. Über die Schlafsucht der Mehlmotenraupe // Zeitschrift für das gesamte Getreidewesen. 1911. Vol. 3. P. 63–70.
4. Berliner E. Über die Schlafsucht der Mehlmotenraupe (*Ephestia kühniella* Zell.) und ihren Erreger *Bacillus thuringiensis* n. sp. // Zeitschrift für Angewandte Entomologie. 1915. Vol. 2. Issue 1. P. 29–56. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1915.tb00334.x>
5. Sanchis V. From microbial sprays to insect-resistant transgenic plants: history of the biopesticide *Bacillus thuringiensis*. A review // Agronomy for Sustainable Development. 2011. Vol. 31. Issue 1. P. 217–231.
6. Goldberg L.J., Margalit J. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles gambiae*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens* // Mosquito News. 1977. Vol. 37. Issue 3. P. 355–358.
7. Palma L., Muñoz M.D., Berry C., Murillo J., Caballero P. *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity // Toxins. 2014. Vol. 6. Issue 12. P. 3296–3325. <https://doi.org/10.3390/toxins6123296>
8. Angus T.A. A bacterial toxin paralyzing silkworm larvae // Nature. 1954. Vol. 173. Issue 4403. P. 545–546. <https://doi.org/10.1038/173545a0>
9. Hannay C.L. Crystalline inclusions in aerobic sporeforming bacteria // Nature. 1953. Vol. 172. Issue 4387. P. 1004. <https://doi.org/10.1038/1721004a0>
10. Hannay C.L., Fitz-James P. The protein crystals of *Bacillus thuringiensis* Berliner // Canadian Journal of Microbiology. 1955. Vol. 1. Issue 8. P. 694–710. <https://doi.org/10.1139/m55-083>
11. Schnepf H.E., Whiteley H.R. Cloning and expression of the *Bacillus thuringiensis* crystal protein gene in *Escherichia coli* // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 1981. Vol. 78. Issue 5. P. 2893–2897. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.5.2893>
12. Bravo A., Gomez I., Garcia-Gomez B., Jnofre J., Soberon M. Insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and their mechanism of action. In: Fiuza L.M., Polanczyk R.A., Crickmore N. (eds.). *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*. Springer International Publishing AG, 2017. P. 53–66. https://doi.org/10.1007/978-3-319-56678-8_4
13. Ibrahim M.A., Griko N., Junker M., Bulla L.A. *Bacillus thuringiensis*: A genomics and proteomics perspective // Bioengineered Bugs. 2010. Vol. 1. Issue 1. P. 31–50. <https://doi.org/10.4161/bbug.1.1.10519>
14. Sanahuja G., Banakar R., Twyman R.M., Capell T., Christou B. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications // Plant Biotechnology Journal. 2011. Vol. 9. Issue 3. P. 283–300. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2011.00595.x>

15. *Bacillus thuringiensis* Biotechnology E. Saninene (ed.). Springer Science and Business Media, 2012. 392 p.
16. ISAAA Brief 54: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2018. Biotech Crops Continue to Help Meet the Challenges of Increased Population and Climate Change. Available from: <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/54/executivesummary/pdf/B54-ExecSum-English.pdf> [Accessed 20th October 2019].
17. Viktorov A.G. Can efficient insecticidal plants be created or the evolution of phytophage resistance to commercial transgenic Bt-Plants // Russian Journal of Plant Physiology. 2015. Vol. 62. Issue 1. P. 14–22. <https://doi.org/10.1134/S102144371501015X>
18. Viktorov A.G. Current trends in the global market of transgenic plants and environmental safety issues // Russian Journal of Plant Physiology. 2016. Vol. 63. Issue 1. P. 38–45. <https://doi.org/10.1134/S1021443716010179>
19. Талалаев Е.В. Бактериологический метод борьбы с сибирским шелкопрядом. Иркутск: Иркутское книжное издательство, 1961. 49 с.
20. Талалаев Е.В. К вопросу о разработке микробиологического метода борьбы с сибирским шелкопрядом (предварительное сообщение 1951 года) // Известия Биолого-географического научно-исследовательского института при Иркутском университете. 1956. Т. 16. Вып. 1–4. С. 62–71.
21. Бирюков А.Д. Полезные микробы. В кн.: История промышленности Новосибирска: в 5 т. Т. 5. Новый отсчет (1986–2005). Новосибирск: ИД «Историческое наследие Сибири», 2005. С. 435–482.
22. Талалаев Е.В. Очерки по разработке микробиологического метода борьбы с сибирским шелкопрядом. Иркутск: Изд-во Иркутского университета, 1991. 128 с.
23. Беляков В.Д. Общие закономерности функционирования паразитарных систем (механизмы саморегуляции) // Паразитология. 1986. Т. 20. N 4. С. 249–255.
24. Чайка С.Ю. Паразитизм – существование организмов в составе паразитарных систем // Паразитология. 1998. Т. 2. N 1. С. 3–10.
25. Чайка С.Ю. Паразитизм и паразитарные системы // Ветеринарная патология. 2004. N 3. С. 19–27.
26. Талалаев Е.В. Септицемия гусениц сибирского шелкопряда // Микробиология. 1956. Т. 25. Вып. 1. С. 99–102.
27. Tanada Y. *Bacillus thuringiensis*: integrated control – past, present and future. In: Cheng T.C. (eds.) Pathogens of Invertebrates. Comparative Pathobiology Springer, Boston: 1984. Vol. 7. P. 59–90.
28. Knipling E.F. Edward Arthur Steinhaus (1914–1969). In: Biographical Memoirs. Washington: National Academy of Sciences. 1974. Vol. 44. P. 321–327.
29. Steinhaus E.A. Possible use of *Bacillus thuringiensis* Berliner as an aid in the biological control of the alfalfa caterpillar // Hilgardia. 1951. Vol. 20. Issue 8. P. 359–381. <https://doi.org/10.3733/hilg.v20n18p359>
30. Steinhaus E.A. On the Improbability of *Bacillus thuringiensis* Berliner Mutating to Forms Pathogenic for Vertebrates // Journal of Economic Entomology. 1959. Vol. 52. Issue 3. P. 506–508. <https://doi.org/10.1093/jee/52.3.506>
31. Кузнецов В.В., Куликов А.М., Цыдендамбаев В.Д. Генетически модифицированные сельскохозяйственные культуры и полученные из них продукты: пищевые, экологические и агротехнические риски // Известия аграрной науки. 2010. Т. 8. N 3. С. 10–31.
32. Чемерис А.В., Бикбулатова С.М., Чемерис Д.А., Баймиев Ал.Х., Князев А.В., Кулуев Б.Р. [и др.]. Надо ли опасаться ГМО? Взгляд несторонних наблюдателей на истерию вокруг // Биомика. 2014. Т. 6. N 2. С. 77–138.
33. Viktorov A.G. Ecological and physiological features of Bt-plants causing outbreaks of secondary pests // Russian Journal of Plant Physiology. 2017. Vol. 64. Issue 4. P. 457–463. <https://doi.org/10.1134/S1021443717040185>
34. Burdon J.J., Thrall P.H. Coevolution of plants and their pathogens in natural habitats // Science. 2009. Vol. 324. Issue 5928. P. 755–756. <https://doi.org/10.1126/science.1171663>
35. Thrall P.H., Hochberg M.E., Burdon J.J., Bever J.D. Coevolution of symbiotic mutualists and parasites in a community context // Trends in Ecology and Evolution. 2007. Vol. 22. Issue 3. P. 120–126.
36. Gandon S., Buckling A., Decaestecker E., Day T. Host–parasite coevolution and patterns of adaptation across time and space // Journal of evolutionary biology. 2008. Vol. 21. Issue 6. P. 1861–1866. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01598.x>
37. Wolinska J., King K.C. Environment can alter selection in host–parasite interactions // Trends in parasitology. 2009. Vol. 25. Issue 5. P. 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.02.004>
38. Enikeev A.G. Transgenic Plants: New Biological System or New Properties of Plant-Agrobacterium Symbiosis? // Russian Journal of Plant Physiology. 2018. Vol. 65. Issue 5. P. 621–627. <https://doi.org/10.1134/S1021443718050060>
39. Provorov N.A., Vorobyov N.I., Andronov E.E. Macro- and microevolution of bacteria in symbiotic systems // Russian Journal of Genetics. 2008. Vol. 44. Issue 1. P. 6–20. <https://doi.org/10.1134/S102279540801002X>
40. Бизюкова О.В. Обзор мирового рынка микробиопрепаратов // Защита и карантин растений. 2012. N 3. С. 9–12.
41. Valent Bio Sciences. Available from: <https://www.valentbiosciences.com> [Accessed 20th December 2018].
42. Штерншис М.В., Беляев А.А., Цветкова В.П., Шпатов Т.В., Леляк А.А., Бахвалов С.А. Биопрепараты на основе бактерий рода *Bacillus* для управления здоровьем растений: монография. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2016. 233 с.

43. Каменёк Л.К., Терехина Л.Д., Каменёк В.М., Андреева И.В., Терехин Д.А., Воронцов В.В. Изучение ростостимулирующего действия дельта-эндотоксина на примере растений огурца // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. 2010. N 4 (16). С. 13–17.

44. Басырова Л.Ф., Каменёк Д.М., Каменёк Л.К., Терехина Л.Д. Влияние дельта-эндотоксина на биохимический состав плодов огурца посевого // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2014. N 10 (120). С. 14–19.

45. Коробов Я.А., Каменёк Д.В., Каменёк Л.К. Ростстимулирующий эффект дельта эндотоксина *Bacillus thuringiensis* в отношении ювинильных растений перца стручкового // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2014. N 11 (121). С. 14–19.

46. Коробов Я.А., Каменёк Л.К., Каменёк Д.В., Усеева Л.Ф. Ростстимулирующее действие дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* на ювинильные растения пшеницы // Ульяновский медико-биологический журнал. 2017. N 2. С. 152–158. <https://doi.org/10.23648/UMBJ.2017.26.6230>

47. Ito A., Sasaguri Y., Kitada S., Kusaka Y., Kuwano K., Masutomi K., et al. A *Bacillus thuringiensis* Crystal Protein with Selective Cytocidal Action to Human Cell // Journal of Biological Chemistry. 2004. Vol. 279. Issue 20. P. 21282–21286. <https://doi.org/10.1074/jbc.M401881200>

48. Kitada S., Abe Y., Shimada H., Kusaka Y., Matsuo Y., Katayama H., et al. Cytocidal actions of parasporin-2, an anti-tumor crystal toxin from *Bacillus thuringiensis* // Journal of Biological Chemistry. 2006. Vol. 281. Issue 36. P. 26350–26360. <https://doi.org/10.1074/jbc.M602589200>

REFERENCES

1. Shternshis MV. Trends of microbial pesticides biotechnology developed for plant protection in Russia. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = Tomsk State University Journal of Biology. 2012;2(18):92–100. (In Russian)

2. Ishiwata S. On a kind of severe flacherie (sot-to disease). *Dainihon Sanshi Kaiho*. 1901; 114:(1–5).

3. Berliner E. Über die Schlaffsucht der Mehl-mottenraupe. *Zeitschrift für das gesamte Getreidewesen*. 1911;3:63–70. (In German)

4. Berliner E. Über die Schlaffsucht der Mehl-mottenraupe (*Ephestia kühniella* Zell.) und ihren Erreger *Bacillus thuringiensis* n. sp. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*. 1915;2(1):29–56. (In German). <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1915.tb00334.x>

5. Sanchis V. From microbial sprays to insect-resistant transgenic plants: history of the biopesticide *Bacillus thuringiensis*. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 2011;31(1):217–231.

6. Goldberg LJ, Margalit J. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *Mosquito News*. 1977;37(3):355–358.

7. Palma L, Muñoz MD, Berry C, Murillo J, Caballero P. *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. *Toxins*. 2014;6(12):3296–3325. <https://doi.org/10.3390/toxins6123296>

8. Angus TA. A bacterial toxin paralyzing silk-worm larvae. *Nature*. 1954;173(4403):545–546. <https://doi.org/10.1038/173545a0>

9. Hannay CL. Crystalline inclusions in aerobic sporeforming bacteria. *Nature*. 1953;172(4387):1004. <https://doi.org/10.1038/1721004a0>

10. Hannay CL, Fitz-James P. The protein crystals of *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Canadian Journal of Microbiology*. 1955;1(8):694–710. <https://doi.org/10.1139/m55-083>

11. Schnepf HE, Whiteley HR. Cloning and expression of the *Bacillus thuringiensis* crystal protein gene in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences USA. 1981;78(5):2893–2897. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.5.2893>

12. Bravo A, Gomez I, Garcia-Gomez B, Jnofre J, Soberon M. Insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and their mechanism of action. In: Fiuza LM, Polanczyk RA, Crickmore N. (eds.) *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*. Springer International Publishing AG, 2017. P. 53–66. https://doi.org/10.1007/978-3-319-56678-8_4

13. Ibrahim MA, Griko N, Junker M, Bulla LA. *Bacillus thuringiensis*: A genomics and proteomics perspective. *Bioengineered Bugs*. 2010;1(1):31–50. <https://doi.org/10.4161/bbug.1.1.10519>

14. Sanahuja G, Banakar R, Twyman RM, Capell T, Christou B. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. *Plant Biotechnology Journal*. 2011;9(3):283–300. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2011.00595.x>

15. *Bacillus thuringiensis Biotechnology*. Saninenea E. (ed.) Springer Science and Business Media; 2012. 392 p.

16. ISAAA Brief 54: *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2018. Biotech Crops Continue to Help Meet the Challenges of Increased Population and Climate Change*. Available from: <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/54/executivesummary/pdf/B54-ExecSum-English.pdf> [Accessed 20th October 2019].

17. Viktorov AG. Can efficient insecticidal plants be created or the evolution of phytophage resistance to commercial transgenic Bt-Plants. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2015;62(1):14–22. <https://doi.org/10.1134/S102144371501015X>

18. Viktorov AG. Current trends in the global market of transgenic plants and environmental safety issues. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2016; 63(1):38–45. <https://doi.org/10.1134/S1021443716010179>

19. Talalaev EV. *Bacteriological method of combating the Siberian silkworm*. Irkutsk: Irkutskoe knizhnoe izdatel'stvo; 1961. 49 p. (In Russian)

20. Talalaev EV. To the question of the deve-

lopment of a microbiological method of controlling the Siberian silkworm (preliminary communication of 1951). *Izvestiya Biologo-geograficheskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta pri Irkutskom universitete*. 1956;16(1-4):62–71. (In Russian)

21. Biryukov AD. Beneficial microbes. In: *The history of industry in Novosibirsk*. Vol. 5. New countdown (1986–2005). Novosibirsk: Izdatel'skii dom "Istoricheskoe nasledie Sibiri"; 2005. P. 435–482. (In Russian)

22. Talalaev EV. Essays on the development of a microbiological method to combat the siberian silkworm. Irkutsk: Irkutsk State University; 1991. 128 p. (In Russian)

23. Beliakov VD. General regularities of functioning of parasitic systems (mechanisms of selfregulation). *Parazitologiya*. 1986;20(4):249–255. (In Russian)

24. Chaika SYu. Parasitism – an existence of organisms in a structure of parasitic systems. *Parazitologiya*. 1998;2(1):3–10. (In Russian)

25. Chaika SYu. Parasitism and parasitic systems. *Veterinarnaya patologiya* = Veterinary pathology. 2004;3:19–27. (In Russian)

26. Talalaev EV. Septicemia of caterpillars of the Siberian silkworm. *Mikrobiologiya*. 1956;25(1):99–102. (In Russian)

27. Tanada Y. *Bacillus thuringiensis*: integrated control – past, present and future. In: Cheng TC. (ed.) *Pathogens of Invertebrates. Comparative Pathobiology*. Springer, Boston: 1984;7:59–90.

28. Knipling EF. Edward Arthur Steinhaus (1914–1969). In: *Biographical Memoirs*. Washington: National Academy of Sciences. 1974;44:321–327.

29. Steinhaus EA. Possible use of *Bacillus thuringiensis* Berliner as an aid in the biological control of the alfalfa caterpillar. *Hilgardia*. 1951;20(8):359–381. <https://doi.org/10.3733/hilg.v20n18p359>

30. Steinhaus EA. On the Improbability of *Bacillus thuringiensis* Berliner Mutating to Forms Pathogenic for Vertebrates. *Journal of Economic Entomology*. 1959;52(3):506–508. <https://doi.org/10.1093/jee/52.3.506>

31. Kuznetsov VV, Kulikov AM, Tsydendambaev VD. Genetically modified crops and products derived from them: food, environmental and agro-technical risks. *Izvestiya agrarnoi nauki*. = Proceedings of agricultural sciences. 2010;8(3):10–31. (In Russian)

32. Chemeris AV, Bikbulatova SM, Chemeris DA, Baymiev AIK, Knyazev AV, Kuluev BR, et al. Should beware of the gmos? on-site observers view on the hysteria around. *Biomika*. = Biomics. 2014;6(2):77–138. (In Russian)

33. Viktorov AG. Ecological and physiological features of Bt-plants causing outbreaks of secondary pests. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2017;64(4):457–463. <https://doi.org/10.1134/S1021443717040185>

34. Burdon JJ, Thrall PH. Coevolution of plants and their pathogens in natural habitats. *Science*. 2009;324(5928):755–756. <https://doi.org/10.1126/science.1171663>

35. Thrall PH, Hochberg ME, Burdon JJ, Bever JD. Coevolution of symbiotic mutualists and parasites in a community context. *Trends in Ecology and*

Evolution. 2007;22(3):120–126.

36. Gandon S, Buckling A, Decaestecker E, Day T. Host–parasite coevolution and patterns of adaptation across time and space. *Journal of evolutionary biology*. 2008;21(6):1861–1866. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01598.x>

37. Wolinska J, King K.C. Environment can alter selection in host–parasite interactions. *Trends in parasitology*. 2009;25(5):236–244. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.02.004>

38. Enikeev AG. Transgenic Plants: New Biological System or New Properties of Plant-Agrobacterium Symbiosis? *Russian Journal of Plant Physiology*. 2018;65(5):621–627. <https://doi.org/10.1134/S1021443718050060>

39. Provorov NA, Vorobyov NI, Andronov EE. Macro- and microevolution of bacteria in symbiotic systems. *Russian Journal of Genetics*. 2008;44(1):6–20. <https://doi.org/10.1134/S102279540801002X>

40. Bizyukova OV. World microbiological preparations market survey. *Zashchita i karantin rastenii* = Protection and quarantine of plants. 2012;3:9–12. (In Russian)

41. Valent Bio Sciences. Available from: <https://www.valentbiosciences.com> [Accessed 20th December 2018].

42. Shternshis MV, Belyaev AA, Cvetkova VP, Shpatova TV, Lelyak AA, Bahvalov SA. Biological products based on bacteria of the bacillus genus for plant health management. Novosibirsk: Publishing House of the SB RAS; 2016. 233 p. (In Russian)

43. Kamenek LK, Terekhina LD, Kamenek VM, Andreeva IV, Terekhin DA, Vorontsov VV. Study of the growth-promoting effect of delta-endotoxin on the example of cucumber plants. *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* = Bulletin of Novosibirsk State Agrarian University. 2010;4:13–17. (In Russian)

44. Basyrova LF, Kamenek DV, Kamenek LK, Terekhina LD. The effect of bacillus thuringiensis delta endotoxin on the biochemical composition of cucumber (*cucumis sativus*) fruits. *Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* = Bulletin of Altai State Agricultural University. 2014;10:14–19. (In Russian)

45. Korobov YaA, Kamenek DV, Kamenek LK. Growth-promoting effect of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin on juvenile plants *salsicum annuum*. *Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* = Bulletin of Altai State Agricultural University. 2014;11:14–19.

46. Korobov YaA, Kamenek DV, Kamenek LK, Useeva LF. Growth-stimulating effect of delta-endotoxin *Bacillus thuringiensis* on wheat during juvenile phase. *Ulyanovskii mediko-biologicheskii zhurnal*. = Ulyanovsk Medico-Biological Journal. 2017;2:152–158. <https://doi.org/10.23648/UMBJ.2017.26.6230>

47. Ito A, Sasaguri Y, Kitada S, Kusaka Y, Kuwano K, Masutomi K, et al. A *Bacillus thuringiensis* Crystal Protein with Selective Cytocidal Action to Human Cell. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;

279(20):21282–21286. <https://doi.org/10.1074/jbc.M401881200>

48. Kitada S, Abe Y, Shimada H, Kusaka Y, Matsuo Y, Katayama H, et al. Cytocidal actions of para-

sporin-2, an anti-tumor crystal toxin from *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Biological Chemistry*. 2006; 281(36): 26350–26360. <https://doi.org/10.1074/jbc.M602589200>

Критерии авторства

Еникеев А.Г. и Еникеева Л.Ю. проанализировали литературные источники, обобщили имеющийся по данной теме материал и написали рукопись. Еникеев А.Г. и Еникеева Л.Ю. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Еникеев Андрей Густавович,
к.б.н., ведущий научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
✉e-mail: enikeev@sifibr.irk.ru

Еникеева Любовь Юрьевна,
ведущий инженер,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
e-mail: lyubovenikeeva@mail.ru

Contribution

Andrey G. Enikeev and Lyubov Yu. Enikeeva analyzed literary sources, summarized the material and prepared the text of the manuscript. Andrey G. Enikeev and Lyubov Yu. Enikeeva have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

AUTHORS' INDEX

Andrey G. Enikeev,
Cand. Sci. (Biology), Leading Research Scientist,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, Irkutsk 664033,
Russian Federation,
✉e-mail: enikeev@sifibr.irk.ru

Lyubov Yu. Enikeeva,
Lead Engineer,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, Irkutsk 664033,
Russian Federation,
e-mail: lyubovenikeeva@mail.ru

Оригинальная статья / Original article
УДК 602.4 : (621.798 + 664)
DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-703-711>

Изучение свойств биоразлагаемых пленок из природных полисахаридов

© Л.С. Дышлюк, А.Ю. Просеков, Л.К. Асякина

Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Российская Федерация

Резюме: Проблемы, связанные с утилизацией отходов, во всем мире, в том числе и в России, определяют необходимость использования в упаковке экологических материалов – биополимеров. Актуальной является разработка технологий и рецептур биоразлагаемых пленок из отечественных ингредиентов для использования в упаковке пищевых и/или фармацевтических продуктов. Биоразлагаемые полимеры на основе природных полисахаридов имеют определенные преимущества по сравнению с пластиками. Основное из них – полная и быстрая разлагаемость при естественных и/или специально созданных условиях. При разработке технологии получения упаковочных материалов, в том числе и для пищевых продуктов, особое внимание уделяется характеристикам полученной упаковки, отвечающим за сохранность исходных качеств как самой упаковки, так и продукта определенное время, по крайней мере, до доставки потребителю. Поэтому низкая пропускная способность по отношению к кислороду и водяному пару – это особое свойство биоразлагаемых пленок, столь важное для пищевых упаковок. Предложены рецептуры образцов биоразлагаемых пленок из композиций природных полисахаридов (гидроксипропилметилцеллюлозы, каррагинана и агар-агара) и проведены исследования их основных свойств (степень биоразложения, газопроницаемость, водопоглощение, химическая стойкость, деградация и токсикологические свойства). По результатам исследования выбраны композиции, пригодные для использования в качестве основы экологических упаковочных материалов пищевых и фармацевтических продуктов. Определена максимальная устойчивость изучаемых пленок (т.е. период их полного растворения) в концентрированных соляной, серной и уксусной кислотах. Отмечено, что рассмотренные образцы биоразлагаемых пленок не оказывают токсического воздействия на природные экосистемы.

Ключевые слова: биополимеры, биоразлагаемые пленки, водопоглощение, газопроницаемость, биодеградация, токсикологичность, экологичность

Информация о статье: Дата поступления 8 апреля 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Дышлюк Л.С., Просеков А.Ю., Асякина Л.К. Изучение свойств биоразлагаемых пленок из природных полисахаридов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 703–711. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-703-711>

Property study of natural polysaccharide biodegradable films

Lyubov S. Dyshlyuk, Alexander Yu. Prosekov, Lyudmila K. Asyakina

Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

Abstract: Issues associated with waste disposal all over the world, including in Russia, determine the urgency in applying biopolymers as environmentally-friendly packaging materials. Nowadays, the development of technologies and formulations of biodegradable films based on domestic ingredients for application in the packaging of food and/or pharmaceutical products is of a great relevance. Biodegradable polymers based on natural polysaccharides possess certain advantages over plastics, especially in terms of their complete and rapid degradability under natural and/or specially-created conditions. When developing the technology for producing packaging materials, including food production, special attention is paid to the characteristics of the resulting packaging, which is responsible for preserving the initial qualities of both the packaging and the product for a certain time, at least until delivered to the consumer. Therefore, low oxygen and water vapour

permeability manifests itself as a special property of biodegradable films, having particular importance for food packaging applications. Formulations of biodegradable film samples obtained from compositions of natural polysaccharides (hydroxypropyl methylcellulose, carrageenan and agar-agar) are proposed and studies on their main properties (degree of biodegradation, gas permeability, water absorption, chemical resistance, degradation and toxicological properties) carried out. Based on the results of the study, compositions appropriate for application as the basis for environmentally friendly packaging materials for food and pharmaceutical products were selected. The maximum stability of the studied films (i.e., the period of their complete dissolution) in concentrated hydrochloric, sulphuric and acetic acids was determined. The considered samples of biodegradable films were proved to cause no toxic effects on natural ecosystems.

Keywords: biopolymers, biodegradable films, water absorption, gas permeability, biodegradation, toxicity, environmental friendliness

Information about the article: Received April, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Dyshlyuk LS, Prosekov AYu, Asyakina LK. Property study of natural polysaccharide biodegradable films. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):703–711. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-703-711>

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время спрос на биополимеры постоянно растет в связи с повышением требований общества к материалам, являющимся экологически безопасными [1].

Ученые уделяют особое внимание принципиально новым способам производства экологически безопасных нетоксичных упаковочных материалов, которые способны обеспечить качественную защиту продуктов от микробных поражений и воздействия кислорода, а также предотвратить их усушку в процессе производства и хранения. При этом важной характеристикой новых упаковочных материалов является возможность их легкой утилизации. Поэтому во всем мире большое внимание уделяется производству и расширению ассортимента биоразлагаемых упаковочных материалов, не засоряющих окружающую среду [2–6].

Важным преимуществом биоразлагаемых полимеров является возможность использования для их производства традиционных технологий и оборудования, что не требует значительных дополнительных затрат. Особое преимущество биоразлагаемых полимеров заключается в их низкой пропускной способности по отношению к кислороду и водяному пару, что очень важно для пищевых упаковок. Стойкость упаковки к разложению в стандартных условиях и вместе с тем быстрая и полная утилизация при естественных или специально созданных условиях помогает решать проблему накопления отходов. Независимость от нефтехимического сырья однозначно относится к преимуществам таких упаковочных материалов [7–9].

Перспективным сырьем для производства биоразлагаемых упаковочных материалов являются природные полисахариды – каррагинан, агар-агар и гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ), а также композиции на их основе [10, 11].

Целью работы являлось изучение основных свойств (газопроницаемости; химической устойчивости по отношению к этиловому спирту, щелочам и кислотам; токсической безопасности) биоразлагаемых пленок на основе природных полисахаридов и их композитов для производства экологичных упаковочных материалов пищевых продуктов [12–16].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.

Объектами исследования являлись каппа-каррагинан (Woc Sciences, США); агар-агар (Helicon, США); гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ) (Ashland Aqualon Functional Ingredients, США), а также биопленки из них [17–19]. Молекулярная масса полисахаридов: агар-агара 306n, ГПМЦ-748n, каппа-каррагинана-385n.

Средние значения термодинамических параметров биополимеров определяли по трем измерениям.

Исследовали зависимость вязкости растворов от pH и от концентрации соли (NaCl). Вязкость растворов измеряли на вискозиметре ротационного типа Brookfield LVF. Для термостатирования использовали криотермостат LOIP FT-211-25 (Россия). Все измерения проводили в прилагающихся к вискозиметру термостатируемых стаканах.

Расчет энтальпии перехода проводили на грамм сухого вещества. Экспериментальная ошибка определения температуры фазового перехода T_m составляла $\pm 0,1$ °C, для теплоты фазового перехода ΔH_m и теплоемкости фазового перехода ΔC_p экспериментальная ошибка составляла $\pm 5,0$ % от определяемой величины.

Для получения изотерм сорбции паров воды предложенными образцами пленок, полученных на основе композиций природных полисахаридов, использовали метод изопиестических серий. Образцы пленок взвешивали на

электронных весах (с погрешностью 0,001 г). Постоянство относительных давлений обеспечивалось применением насыщенных растворов солей. На всех изотермах отмечался резкий рост величины сорбции в области при p/p_0 0,4–0,6, свойственный плотно упакованным и растворимым в сорбате полимерам.

Изучали энергию Гиббса смешения природных полисахаридов в общем растворителе (воде). Энергия Гиббса смешения полисахаридов Δg_x лежала в области как отрицательных, так и положительных значений. Значения $\Delta g_x < 0$ свидетельствовали о термодинамической стабильности образующихся растворов. При смене знака энергии Гиббса, то есть при $\Delta g_x > 0$, система теряла устойчивость и расслаивалась. Анализ зависимости термодинамических функций от состава композиций природных полисахаридов представлен в табл. 1.

Изучение термодинамических свойств биополимеров (энергия Гиббса смешения природных полисахаридов в общем растворителе (воде) и энтальпия смешения полимеров) позволили получить информацию о термодинамической устойчивости и совместимости бинарной системы полимер – полимер. Из 33 различных рецептур на основе полисахаридов были ото-

браны 13, пригодных для использования в биоразлагаемых упаковочных материалах. Рецептуры предлагаемых образцов исследуемых биопленок представлены в табл. 2.

Степень биоразложения определяли методом, основанным на оценке воздействия обитающих в естественных биоценозах микроорганизмов (*Penicillium funiculosum*, *Aspergillus niger*, *Paecilomyces variotii*, *Aureobasidium pullulans*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium ochrochloron*) на исследуемые образцы пленок, инкубируя в термостате в течение 6 месяцев образцы исследуемых пленок при относительной влажности не менее 90 % и температуре 29 °C (ISO 846:1997).

Измерение водопоглощения пленок изучали в соответствии с требованиями ГОСТ 4650-2014.

Массовую долю поглощенной образцом воды определяли по формуле:

$$c = 13 \cdot [(m_2 - m_1) / m_1] \cdot 100,$$

где m_1 – масса испытуемого образца после первоначального просушивания и перед погружением в воду, мг; m_2 – масса испытуемого образца после выдержки в воде, мг.

Таблица 1

Энергия Гиббса смешения природных полисахаридов

Table 1

Gibbs mixing energy of natural polysaccharides

Состав композиции	Диапазон соотношений концентраций полисахаридов	
	при $\Delta g_x < 0$	при $\Delta g_x > 0$
Каррагинан и ГПМЦ	от 2,1 до 10,0	2,0 и менее
Каррагинан и агар-агар	от 2,5 до 10,0	2,5 и менее
ГПМЦ и агар-агар	от 1,1 до 6,0	1,0 и менее
Каррагинан, ГПМЦ и агар-агар	от 0,26 до 4,0	0,25 и менее

Таблица 2

Состав исследуемых композиций

Table 2

Studied compositions

Номер образца	Количество ингредиента, % масс.				
	Каррагинан	ГПМЦ	Агар-агар	Глицерин	Вода
2	10,0	2,5	–	10,0	77,5
3	20,0	2,5	–	10,0	67,5
6	20,0	5,0	–	10,0	65,0
11	10,0	–	2,5	10,0	77,5
12	20,0	–	2,5	10,0	67,5
15	20,0	–	5,0	10,0	65,0
20	–	5,0	2,5	10,0	82,5
21	–	10,0	2,5	10,0	77,5
24	–	10,0	5,0	10,0	75,0
28	5,0	2,5	2,5	10,0	80,0
29	10,0	2,5	2,5	10,0	75,0
30	20,0	2,5	2,5	10,0	65,0
33	20,0	5,0	5,0	10,0	60,0

Исследование газопроницаемости пленок по кислороду проводили по методу дифференциального давления, используя вакуумный тестер для определения проницаемости пленочной упаковки VAC-V1 (Labthink Instruments Co., Ltd, P.R. China). Для исследований использовали кислород технический I сорта (чистота газа 99,7 %).

Для определения химической стойкости пленок в химически активную среду, предварительно подготовленную в стеклянной посуде, опускали часть каждого образца и с помощью секундомера определяли время его разложения.

Деградацию пленок в модельных биологических средах определяли следующим образом: образцы пленок инкубировали в течение 30 суток в модельных биологических средах – растворах, моделирующих желудочный и кишечный сок, и регистрировали характер изменений свойств пленок. Раствор, моделирующий желудочный сок, готовили следующим образом: pH 0,9 %-го раствора NaCl доводили до 2 концентрированной соляной кислотой, стерилизовали в автоклаве 20 мин при 1 атм., добавляли в раствор 0,3 г/л пепсина, растворенного в небольшом количестве воды. Раствор, моделирующий кишечный сок, готовили в стерильном фосфатном буфере с pH = 7,4, куда вносили 1 г/л панкреатина, растворяя его в небольшом количестве воды. Для предотвращения биодегradации бактериями во все растворы был добавлен 1 г/л азида натрия.

Оценку токсикологических свойств пленок проводили, изучая их влияние на фито- и зоопланктон. При работе с фитопланктоном использовали альгологически чистую суточную культуру водорослей *Chlorella vulgaris* Beijer оптической плотностью 0,625 в соответствии с ФР.1.39.2011.10993. Нарастивание культуры водоросли хлорелла определяли после 22 ч культивирования. Оценку токсичности проводили по

достижении величины оптической плотности в контрольных флаконах 0,120 и более, измеряя оптическую плотность культуры тест-объекта и сравнивая суточный прирост численности клеток водорослей в контрольном и опытном вариантах.

При работе с зоопланктоном использовали низших ракообразных по методике, представленной в ФР.1.39.2010.09102 с модификацией СТО ТГУ 137-2015. Длительность проведения эксперимент – 72 ч. Смертность дафний в контрольном и опытном вариантах учитывали каждые 24 ч. Опыт прекращали, если в течение 24 ч во всех опытных пробирках наблюдали гибель более 50 % рачков.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В табл. 3 представлены данные о степени биоразложения выбранных образцов пленок.

Установлено, что все тестируемые образцы пленок являются биоразлагаемыми (см. табл. 2). В течение 6 месяцев (в рамках изучаемого периода) максимальная степень биодегradации (92,0; 94,0 и 95,0 %) была характерна для образцов № 6, 15 и 30 соответственно, а минимальная (65,0 и 68,0 %) – для образцов № 24 и 2.

Результаты тестирования водопоглощения образцов пленок на основе природных полисахаридов приведены на рис. 1.

Минимальным водопоглощением характеризуются образцы пленок № 8 (3 %), 12 (4 %), 3 (5 %), 2 (7 %) и 6 (8 %), максимальным – № 7 (180 %), 5 (156 %) и 10 (120 %). На основании полученных данных сделан вывод о предпочтительном использовании в упаковочной отрасли пленок следующих образцов: № 8 (по 10,0 % масс. каррагинана и ГПМЦ), № 12 (20,0 % масс. каррагинана и 2,5 % масс. агар-агара), № 3 (20,0 % масс. Каррагинана и 2,5 % масс. ГПМЦ), № 2 (10,0 % масс. каррагинана и 2,5 % масс. ГПМЦ) и № 6 (20,0 % масс. каррагинана и 5,0 % масс. ГПМЦ).

Таблица 3
Степень биоразложения пленок, полученных на основе природных полисахаридов

Table 3

Biodegradation degree of natural polysaccharides based films

Номер образца	Доля потери массы, %, через					
	1 месяц	2 месяца	3 месяца	4 месяца	5 месяцев	6 месяцев
2	27,0	34,0	40,0	52,0	60,0	68,0
3	40,0	47,0	53,0	60,0	68,0	75,0
6	58,0	65,0	72,0	79,0	86,0	92,0
11	46,0	57,0	64,0	70,0	75,0	83,0
12	39,0	46,0	53,0	60,0	68,0	79,0
15	57,0	65,0	73,0	82,0	90,0	94,0
20	37,0	44,0	52,0	60,0	67,0	73,0
21	35,0	48,0	56,0	64,0	72,0	81,0
24	30,0	35,0	44,0	51,0	60,0	65,0
28	40,0	46,0	53,0	62,0	70,0	77,0
29	35,0	42,0	49,0	57,0	64,0	70,0
30	54,0	63,0	70,0	76,0	83,0	90,0
33	38,0	45,0	51,0	58,0	64,0	72,0

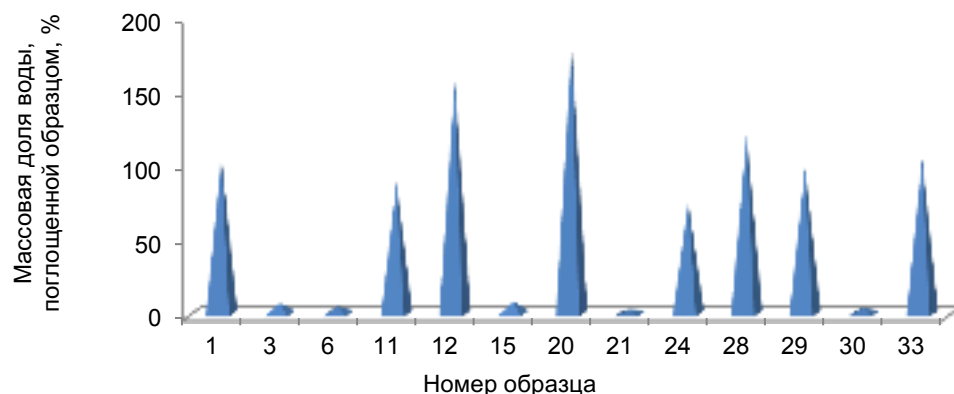


Рис. 1. Водопоглощение образцов пленок на основе природных полисахаридов

Fig. 1. Water absorption of natural polysaccharides based films

Результаты исследования газопроницаемости предлагаемых образцов пленок по отношению к кислороду приведены в табл. 4.

Данные, представленные в табл. 4, свидетельствуют о том, что минимальная газопроницаемость по кислороду характерна для образцов пленок № 21 и 24, максимальная – для образцов № 20, 30 и 12.

Химическую устойчивость пленок анализировали по отношению к щелочам (гидроксид натрия, гидроксид калия), к этиловому спирту, сильным (соляная и серная) и слабым кислотам (уксусная). Полученные результаты представлены в табл. 5.

Как видно из представленных в табл. 5 данных, минимальная устойчивость для всех пленок наблюдается в 6,0 М соляной кислоте, период полного растворения составил от 0,4 до 2,0 ч. В концентрированной серной кислоте все пленки оказались немного устойчивее по сравнению с соляной кислотой, период полного растворения составил 5,0–24,0 ч. Концентрированная уксусная кислота имела менее агрессивное действие на тестируемые пленки – период полного рас-

творения составил от 15,0 до 30,0 ч.

Таблица 4
Газопроницаемость биоразлагаемых пленок на основе природных полисахаридов по кислороду

Table 4
Oxygen gas permeability of natural polysaccharides based biodegradable films

Номер образца	Газопроницаемость, $\text{см}^3/\text{м}^2 \cdot 24 \text{ ч} \cdot \text{атм}$
2	36,859±1,843
3	356,423±17,821
6	185,120±9,256
11	87,324±4,366
12	440,569±22,028
15	18,585±0,929
20	621,230±31,062
21	2,335±0,117
24	8,909±0,445
28	69,284±3,464
29	287,325±14,366
30	505,019±25,251
33	77,764±3,888

Химическая устойчивость пленок, полученных на основе растительных полисахаридов

Chemical stability of natural polysaccharides based films

Растворитель	Продолжительность растворения образца, ч												
	Образец												
	2	3	6	11	12	15	20	21	24	28	29	30	33
C ₂ H ₅ OH, 96%	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
NaOH, 0,1 М	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
NaOH, 2,0 М	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
KOH, 0,1 М	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
KOH, 2,0 М	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
H ₂ SO ₄ , 0,1 М	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
H ₂ SO ₄ , 6,0 М	10,0	8,5	12,0	7,5	5,0	15,0	18,0	6,0	24,0	9,0	12,5	5,0	11,0
HCl, 0,1 М	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
HCl, 6,0 М	1,2	0,8	1,0	0,5	1,5	1,1	0,6	1,3	0,4	1,8	1,3	2,0	0,7
CH ₃ COOH, 0,1 М	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
CH ₃ COOH, 8,75 М	18,5	21,0	24,0	25,0	20,0	19,0	27,0	26,5	15,0	30,0	22,0	24,5	23,0

Примечание. «–» – образцы не растворились; «±» – образцы набухли, но не растворились.

Результаты изучения деградации пленок в модельных биологических средах, приближенных по составу к биологическим жидкостям организма – желудочному и кишечному соку, приведены в табл. 6.

Данные, представленные в табл. 6, свидетельствуют о том, что в буферном (рН = 7,4) и физиологическом растворах все тестируемые образцы пленок растворяются с низкой скоростью. Максимальная скорость биodeградации в буферном растворе отмечена для образцов № 11 (180 ч) и 33 (195 ч), в физиологическом

растворе – для образцов № 3 (95 ч) и 15 (100 ч).

Быстрая биodeградация в модельном желудочном соке характерна для образцов № 2 (15 ч), 20 (17 ч) и 33 (17 ч), в модельном кишечном соке – для образцов № 3 (5 ч), 33 (6 ч) и 15 (7 ч).

В табл. 7 представлены результаты изучения токсикологических показателей биоразлагаемых упаковочных материалов (токсичность для фитопланктона (одноклеточных зеленых водорослей) и зоопланктона (низших ракообразных)).

Таблица 6

Деградация пленок, полученных на основе растительных полисахаридов, в модельных биологических средах

Table 6

Degradation of natural polysaccharides based films in simulated biological media

Модельные биологические среды	Продолжительность деградации образца, ч												
	Номер образца												
	2	3	6	11	12	15	20	21	24	28	29	30	33
Буферный раствор, рН = 7,4	255	315	200	180	205	310	300	280	260	275	305	212	195
Физиологический раствор	175	95	150	165	125	100	130	150	170	110	105	160	180
Кишечный сок	12	5	15	24	20	7	11	22	8	12	25	9	6
Желудочный сок	15	20	25	18	24	20	17	16	22	21	26	19	17

Таблица 7

Токсикологические показатели пленок, полученных на основе растительных полисахаридов

Table 7

Toxicological parameters of natural polysaccharides based films

Номер образца	Тест-организм*	Тест-реакция**	Кратность разведения до безопасного уровня	Класс опасности	Общий класс опасности
2	1	A	0,75	V	IV
	2	B	5,14	IV	
3	1	A	1,04	V	V
	2	B	0,90	V	
6	1	A	0,78	V	V
	2	B	0,94	V	
11	1	A	0,85	V	V
	2	B	1,00	V	
12	1	A	0,70	V	IV
	2	B	2,13	IV	
15	1	A	6,76	IV	IV
	2	B	15,34	IV	
20	1	A	0,72	V	V
	2	B	1,03	V	
21	1	A	12,11	IV	IV
	2	B	0,79	V	
24	1	A	7,18	IV	IV
	2	B	10,00	IV	
28	1	A	1,11	V	IV
	2	B	4,52	IV	
29	1	A	0,90	V	V
	2	B	0,71	V	
30	1	A	8,15	IV	IV
	2	B	12,06	IV	
33	1	A	14,38	IV	IV
	2	B	1,04	V	

* Тест-организм: 1 – *Chlorella vulgaris* Beijer; 2 – *Daphnia magna*;

** Тест-реакция: A – ингибирование роста тест-культуры, B – смертность.

Из табл. 7 следует, что по степени токсического воздействия на природные экосистемы образцы упаковочных материалов № 2, 12, 15, 21, 24, 28, 30 и 33 относятся к IV классу опасности (малоопасные), а образцы № 3, 5, 11, 20 и 29 – к V классу опасности (практически неопасные).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучены свойства биопленок тринадцати рецептур на основе комбинаций природных полисахаридов (агар-агар, гидроксипропилметилцеллюлоза и каррагинан). Установлено, что все тестируемые пленки являются биоразлагаемыми.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Тасекеев М.С., Еремеева Л.М. Производство биополимеров как один из путей решения проблем экологии и АПК: аналитический обзор. Алматы: Изд-во Национального центра научно-технической информации, 2009. 200 с.
2. Балов А., Ашпина О. Мировой рынок биополимеров // *The Chemical Journal*. 2012. N 3. С. 48–53.
3. Kolybaba M., Tabil L.G., Panighari S., Crear W.J., Powell T., Wang B. Биоразлагаемые полимеры: прошлое, настоящее и будущее // *Проблемы окружающей среды и природных ресурсов*. 2010. N 1. С. 17–33.
4. Rudin A., Choi P. *The Elements of Polymer Science & Engineering* (Third Edition). UK, London: Elsevier Inc., Academic Press, 2013. 584 p. <https://doi.org/10.1016/C2009-1-64286-6>
5. Wool R.P., Sun X.S. *Bio-Based Polymers and Composites*. USA, Boston: Elsevier Inc., Academic Press, 2005. 640 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-763952-9.X5000-X>
6. Reddy M.M., Vivekanandhan S., Misra M. Biobased plastics and bionanocomposites: Current status and future opportunities // *Progress in polymer science*. 2013. Vol. 38. Issue 10–11. P. 1653–1689. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.006>
7. Асякина Л.К., Просеков А.Ю., Дышлюк Л.С. Технологии биоразлагаемых упаковочных материалов: монография. Кемерово: Изд-во Кемеровского технологического института пищевой промышленности (университета), 2017. 118 с.
8. Чернобаева М.В., Салим Хусам, Скатов С.А., Демина Н.Б. Пленочные покрытия пероральных лекарственных форм // *Фармация*. 2010. N 8. С. 45–51.
9. De Camargo Andrade-Molina T.P., Shirai M.A., Grossmann M.V., Yamashita F. Active biodegradable packaging for fresh pasta // *LWT-Food Science and Technology*. 2013. Vol. 54. Issue 1. P. 25–29. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.011>
10. Полимерные пленки / под ред. Е.М. Абдельм-Бари; пер. с англ. под ред. Г.Е. Заикова. СПб.: Профессия. 2005. 350 с.
11. Андрианова Г.П. Физико-химические основы создания и модификации многослойных композиционных пористых и волокнисто-пористых полимерных материалов // *Дизайн и технологии*. 2010. N 17. С. 70–81.
12. Белик Е.С., Рудакова Л.В. Оценка эффективности деструкции биоразлагаемых полимерных материалов // *Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Урбанистика*. 2012. N 1 (5). С. 78–88.
13. Зуев Ю.С. Разрушение полимеров под действием агрессивных сред; 2-е изд., перераб. и доп. М: Химия, 1972. 232 с.
14. Цой Б., Карташов Э.М., Шевелев В.В. Прочность и разрушение полимерных пленок и волокон. М.: Химия, 1999. 496 с.
15. Трофимов Н.Н., Канович М.З. Основы создания полимерных композитов. М.: Наука, 2000. 538 с.
16. Mudhoo A., Mohee R., Unmar G.D., Sharma S.K. Degradation of Biodegradable and Green Polymers in the Composting Environment. In: S.K. Sharma, A. Mudhoo (eds.) *A Handbook of Applied Biopolymer Technology: Synthesis, Degradation and Applications*. UK: Royal Society of Chemistry, 2011. P. 332–364. <https://doi.org/10.1039/9781849733458>
17. Дышлюк Л.С., Просеков А.Ю. Разработка технологии получения биоразлагаемых пленок на основе природных полисахаридов методом экструзии через щелевую фильеру // *Известия Коми научного центра УрО РАН*. 2019. № 2 (38). С. 89–97. <https://doi.org/10.19110/1994-5655-2019-2-89-97>
18. Дышлюк Л.С., Просеков А.Ю. Оптимизация с использованием регрессионного анализа технологических параметров процесса экструзии с раздувом // *Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета)*. 2018. N 45 (71). С. 123–126.
19. Дышлюк Л.С., Просеков А.Ю. Изучение термодинамическими методами потенциала природных композитов как основы биоразлагаемых пленок // *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки*. 2018. № 2 (22). С. 29–41. <https://doi.org/10.21685/2307-9150-2018-2-3>

REFERENCES

1. Tasekeev MS, Eremeeva LM. *The production of biopolymers as one of the ways to solve the problems of ecology and agriculture: an analytical review*. Almaty: National Center for Scientific and Technical Information; 2009. 200 p. (In Russian)
2. Balov A, Ashpina O. World Biopolymer Market. *Khimicheskii zhurnal* = The Chemical Journal. 2012;3:48–53. (In Russian)
3. Kolybaba M, Tabil LG, Panighari S, Crear WJ, Powell T, Wang B. Biodegradable Polymers: Past, Present and Future. *Problemy okruzhayushchei sredy i prirodnikh resursov*. 2010;1:17–33. (In Russian)
4. Rudin A, Choi P. *The Elements of Polymer Science & Engineering*. 3rd ed. UK, London: Elsevier Inc., Academic Press; 2013. 584 p. <https://doi.org/10.1016/C2009-1-64286-6>
5. Wool RP, Sun XS. *Bio-Based Polymers and Composites*. USA, Boston: Elsevier Inc., Academic Press; 2005. 640 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-763952-9.X5000-X>
6. Reddy MM, Vivekanandhan S, Misra M. Biobased plastics and bionanocomposites: Current status and future opportunities. *Progress in polymer science*. 2013;38(10-11):1653–1689. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.006>
7. Asyakina LK, Prosekov AYU, Dyshlyuk LS. *Biodegradable Packaging Technology*. Kemerovo: Kemerovo Technological Institute of Food Industry; 2017. 118 p. (In Russian)
8. Chernobayeva MV, Salim Husam, Skatkov SA, Demina NB. Film coatings for oral dosage forms. *Farmatsiya* = Pharmacy. 2010;8:45–51. (In Russian)
9. De Camargo Andrade-Molina TP, Shirai MA, Grossmann MV, Yamashita F. Active biodegradable packaging for fresh pasta. *LWT-Food Science and Technology*. 2013;54(1):25–29. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.011>
10. *Polymer films*. E.M. Abdel-Bari EM. (ed.) St. Petersburg: Professiya; 2005. 350 p. (In Russian)
11. Andrianova GP. Physicochemical principles for the creation and modification of multilayer composite porous and fibrous-porous polymeric materials. *Dizain i tekhnologii*. = Design and technologies. 2010;17:70–81. (In Russian)
12. Belik E, Rudakova L. Investigation of destruction biodegradable polymeric materials. *Vestnik Permskogo natsional'nogo issledovatel'skogo politekhnicheskogo universiteta*. Urbanistika = Bulletin of Perm National Research Polytechnic University. Applied ecology. Urban development. 2012;1:78–88. (In Russian)
13. Zuev YuS. *Destruction of polymers under the influence of aggressive environments*. Moscow: Khimiya; 1972. 232 p. (In Russian)
14. Tsoi B, Kartashov EM, Shevelev VV. *Strength and fracture of polymer films and fibers*. Moscow: Khimiya, 1999; 496 p. (In Russian)
15. Trofimov NN, Kanovich MZ. *Fundamentals of creating polymer composites*. Moscow: Nauka; 2000. 538 p. (In Russian)
16. Mudhoo A, Mohee R, Unmar GD, Sharma SK. Degradation of Biodegradable and Green Polymers in the Composting Environment. In: Sharma SK, Mudhoo A. (eds.) *A Handbook of Applied Biopolymer Technology: Synthesis, Degradation and Applications*. UK: Royal Society of Chemistry; 2011. P. 332–364. <https://doi.org/10.1039/9781849733458>
17. Dyshlyuk LS, Prosekov AYU. Development of technology for the production of biodegradable films on the basis of natural polysaccharides by extrusion through the slit die. *Izvestiya Komi nauchnogo tsentra UrO RAN*. = Proceedings of the Komi Science Centre of the Ural Division of the Russian Academy of Sciences. 2019;2:89–97. (In Russian) <https://doi.org/10.19110/1994-5655-2019-2-89-97>
18. Dushlyuk L.S., Prosekov A.Yu. Optimization using regression analysis of technological parameters of extrusion process. *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo instituta (tekhnicheskogo universiteta)* = Bulletin of the Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University). 2018;45:123–126. (In Russian)
19. Dyshlyuk LS, Prosekov AYU. Thermodynamic methods of capacity of natural composites as the basis of bio-dependable membranes. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Povolzhskii region. Estestvennye nauki*. = University proceedings. Volga region. Natural sciences. 2018;2:29–41. (In Russian) <https://doi.org/10.21685/2307-9150-2018-2-3>

Критерии авторства

Дышлюк Л.С., Просеков А.Ю., Асякина Л.К. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Дышлюк Л.С., Просеков А.Ю. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

Lubov S. Dushlyuk, Alexander Yu. Prosekov, Lyudmila K. Asyakina carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Lubov S. Dushlyuk, Alexander Yu. Prosekov, Lyudmila K. Asyakina have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Дышлюк Любовь Сергеевна,
к.т.н., научный руководитель,
Научно-образовательного центра,
Кемеровский государственный университет,
650000, г. Кемерово, Красная ул., 6,
Российская Федерация,
✉e-mail: dyshlyuk85@bk.ru

Просеков Александр Юрьевич,
д.т.н., член-корр. РАН,
ректор университета,
Кемеровский государственный университет,
650000, г. Кемерово, Красная ул., 6,
Российская Федерация,
e-mail: olich.43@mail.ru

Асякина Людмила Константиновна,
к.т.н., старший преподаватель кафедры
бионанотехнологии,
Кемеровский государственный университет,
650000, г. Кемерово, Красная ул., 6,
Российская Федерация,
e-mail: alk_kem@mail.ru

AUTHORS' INDEX

Lubov S. Dushlyuk,
Cand. Sci. (Engineering), Head of the Center
for Research and Education,
Kemerovo State University,
6, Krasnaya St., Kemerovo 650000,
Russian Federation,
✉e-mail: dyshlyuk85@bk.ru

Alexander Yu. Prosekov,
Dr. Sci. (Engineering), Corresponding Member
of RAS, Rector,
Kemerovo State University,
6, Krasnaya St., Kemerovo 650000,
Russian Federation,
e-mail: olich.43@mail.ru

Lyudmila K. Asyakina,
Cand. Sci. (Engineering), Senior Lecturer,
Department of Bionanotechnology,
Kemerovo State University,
6, Krasnaya St., Kemerovo 650000,
Russian Federation,
e-mail: alk_kem@mail.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 634:45:57.085.2

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-712-721>

Клональное микроразмножение и сохранение в условиях *in vitro* двух сортов хурмы восточной (*Diospyros kaki* thunb.)

© И.В. Митрофанова, Н.Н. Иванова, Т.Н. Кузьмина, С.Ю. Хохлов

Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад –
Национальный научный центр РАН, г. Ялта, Республика Крым, Российская Федерация

Резюме: Цель исследования – усовершенствование способа регенерации микропобегов хурмы восточной сортов Сувенир Осени и Южная Красавица селекции Никитского ботанического сада и оптимизация условий для беспересадочного 12-месячного депонирования хурмы восточной в условиях *in vitro* с целью дальнейшего создания генобанка ценных субтропических сельскохозяйственных культур. Исследования по введению эксплантов в культуру *in vitro* и регенерации микропобегов хурмы проводили в лаборатории биотехнологии и вирусологии растений ФГБУН Ордена Трудового Красного Знамени «Никитский ботанический сад» – Национальный научный центр РАН. Для регенерации микропобегов использовали среду Мурасиге и Скуга (МС) с регуляторами роста – 6-бензилапинопурин (БАП) и 3-(1,2,3-тиадиазолин-5)-1-фенилмочевина (ТДЗ). Для сохранения *in vitro* сегменты микропобегов помещали на питательную среду ¼ нормы МС, дополненную сахарозой и хлорхолинхлоридом (ССС). Культуральные сосуды помещали в холодильные камеры с низкой положительной температурой (4–14 °С). В ходе экспериментов установлена индуцирующая роль БАП (2–4 мг/л) в питательной среде МС на этапе индукции побегообразования, что обеспечивало стабильную прямую регенерацию микропобегов из вегетативных почек хурмы восточной. Максимальное число нормальных микропобегов без видимых изменений получено на среде МС, дополненной 4 мг/л БАП: 2,0±0,4 шт. – у сорта Сувенир Осени, 2,7±0,4 шт. – у сорта Южная Красавица. Средняя длина микропобегов достигала 1,90±0,04 см для сорта Сувенир Осени и 3,1±0,07 см – для сорта Южная Красавица. Наличие в среде МС ТДЗ способствовало формированию микропобегов путем непрямого органогенеза в культуре высечек листа исследуемых сортов. Частота побегообразования из высечек листа достигала 65–79 % через 6 недель культивирования на средах с 1,1 и 1,7 мг/л ТДЗ. Различия морфогенетического потенциала эксплантов прослеживались на протяжении всех этапов развития. Данные гистологических исследований каллуса подтверждают наличие пролиферативно активных клеток, которые дают начало меристемам микропобегов. Показана стабилизирующая роль 60,0 г/л сахарозы и 0,2–0,4 г/л СССР в среде ¼ МС при температуре сохранения 8–10 °С на жизнеспособность эксплантов хурмы в течение 12 месяцев.

Ключевые слова: *Diospyros kaki*, микроразмножение, *in vitro*, органогенез, депонирование

Благодарности: Работа была выполнена в рамках Госзадания № 0829-2019-0038 ФГБУН «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН».

Информация о статье: Дата поступления 11 апреля 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Митрофанова И.В., Иванова Н.Н., Кузьмина Т.Н., Хохлов С.Ю. Клональное микроразмножение и сохранение в условиях *in vitro* двух сортов хурмы восточной (*Diospyros kaki* thunb.) // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N. 4. С. 712–721. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-712-721>

In vitro cloned micropropagation and conservation for two cultivars of *Diospyros kaki* (*Diospyros kaki* Thunb.)

© Irina V. Mitrofanova, Natalya N. Ivanova,
Tatyana N. Kuzmina, Sergey Yu. Khokhlov

The Labor Red Banner Order Nikitsky Botanical Gardens –
National Scientific Center of the RAS, Yalta, the Republic of the Crimea, Russian Federation

Abstract: The study is aimed at improving the microsprout regeneration method for the 'Suvenir Oseni' and 'Yuzhnaya Krasavitsa' *Diospyros kaki* (persimmon) cultivars of the Nikitsky Botanical Gardens. The breeding of and optimising the conditions for non-stop 12-month in vitro deposition of kaki persimmon was carried out for the purpose of creating a gene bank of valuable subtropical crops. The explanting of in vitro culture and the regeneration of persimmon microsprouts was carried out in the laboratory of plant biotechnology and virology of the "Nikitsky Botanical Gardens" National Scientific Centre RAS. For regeneration of microsprouts, Murashige and Skoog medium (MSO) containing 6-benzylapinopurin (BAP) and 3-(1,2,3-Thiadiazolin-5)-1-phenylurea (TDZ) growth regulators was used. In order to ensure in vitro preservation, microsprout segments were placed in a nutrient medium composed by ¼ of normal MS, sucrose and chlorocholinchloride (CCC). The culture vessels were placed in refrigerators to maintain a low positive temperature (4–14 °C). In the course of the experiments, the inducing role of BAP (2–4 mg/L) in the MS nutrient medium at the induction stage of spout formation was established to ensure stable direct regeneration of microsprouts from the vegetative burgeons of kaki persimmon. The maximum number of normal microsprouts having no visible changes was obtained in MS medium having a BAP concentration of 4 mg/L and equal to 2.0 ± 0.4 and 2.7 ± 0.4 pcs. for the 'Suvenir Oseni' and 'Yuzhnaya Krasavitsa' cultivars, respectively. The average length of microsprouts reached 1.90 ± 0.04 cm for the 'Suvenir Oseni' cultivar, while, for 'Yuzhnaya Krasavitsa', this value was equal to 3.1 ± 0.07 cm. The presence of TDZ in the MS medium facilitated the formation of microsprouts through indirect organogenesis in the leaf cutting culture of the studied cultivars. The frequency of spout formation from leaf cuttings reached 65–79 % following 6 weeks of cultivation on media with 1.1 and 1.7 mg/L concentration of TDZ. Differences in the morphogenetic potential of explants were traced throughout all stages of development. Data from histological callus studies confirm the presence of proliferatively active cells giving rise to microsprout meristems. The concentration of 60.0 g/L and 0.2–0.4 g/L for sucrose and CCC, respectively, contained in ¼ MS medium was shown to stabilise the viability of persimmon explants at a storage temperature of 8–10 °C for 12 months.

Keywords: *Diospyros kaki*, micropropagation, in vitro, organogenesis, deposition

Acknowledgments: The study was carried out as a part of the State assignment no. 0829-2019-0038 for Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS.

Information about the article: Received April 11, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Mitrofanova IV., Ivanova NN., Kuzmina TN, Khokhlov SYu. In-vitro cloned micropropagation and conservation for two cultivars of *Diospyros kaki* (*Diospyros kaki* Thunb.). *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):000–000. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-712-721>

ВВЕДЕНИЕ

Никитский ботанический сад – одно из старейших научных учреждений, широко известное за пределами современной России. Его сотрудниками за многие годы была собрана уникальная коллекция хурмы восточной (*Diospyros kaki* Thunb.), состоящая из 120 сортов и перспективных форм [1]. Почвенно-климатические условия южного берега Крыма оказались вполне пригодными для успешной акклиматизации этой субтропической культуры.

Плоды хурмы полезны, питательны, пригодны для употребления в свежем виде или после технологической переработки. Мякоть зрелых плодов содержит целый ряд витаминов, каротиноидов, микро- и макроэлементов, а также органические соединения йода, кальция и железа [2].

Традиционные методы вегетативного размножения плодовых культур довольно трудоемки и в недостаточной степени эффективны. Современные биотехнологии растений

позволяют получить необходимое количество генетически стабильных оздоровленных регенерантов [3]. Разработаны способы регенерации отдельных сортов хурмы из вегетативных почек, высечек листьев и культивируемого каллуса в условиях *in vitro* [4–6]. В исследованиях установлена зависимость регенерационной способности эксплантов отдельных сортов хурмы восточной от сроков изоляции, способа стерилизации, наличия регуляторов роста в питательной среде [7, 8].

Использование методов культуры ткани и органов позволяет решать такие задачи, как массовое размножение видов, сортов и форм и последующее создание медленно растущих коллекций [9, 10]. Создание коллекций растений *in vitro* является одной из составляющих частей стратегии охраны биологического разнообразия растений¹ [11–13].

Целью данной работы было усовершенствование способа регенерации микропобегов хурмы восточной сортов Сувенир Осени и Южная Красавица селекции Никитского ботанического сада, последующая оптимизация условий для беспересадочного 12-месячного депонирования хурмы восточной в условиях *in vitro* в рамках создания генобанка ценных субтропических плодовых культур.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалом для биотехнологических исследований послужили 2 сорта хурмы восточной – Сувенир Осени и Южная Красавица, произрастающие в коллекции Никитского ботанического сада. В условия *in vitro* были введены вегетативные почки изучаемых сортов хурмы.

Исследования по введению эксплантов в культуру *in vitro* и регенерации микропобегов хурмы восточной проводили в лаборатории биотехнологии и вирусологии растений ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН» с применением различных биотехнологических методов² [14–16]. Вегетативные почки хурмы стерилизовали 1 мин в 70 %-м этаноле, 15 мин в растворе, содержащем 0,3–0,4 % Cl_2 (Дез ТАБ, Китай), затем в 1 %-м растворе Thimerosal (Sigma, США) с добавлением 2–3 капель детергента Tween 20 (Sigma, США). После каждого реагента экспланты промывали 3 раза стерильной дистиллирован-

ной водой. Все операции выполняли с помощью пинцетов, скальпелей и одноразовых стерильных лезвий (Medec Instrument Group Co., Германия). Для стерилизации инструментов использовали стерилизатор Tau Quartz 500 (Италия).

Изолированные вегетативные почки помещали на среду МС (Murashige, Skoog, 1962) [17], дополненную 30 г/л сахарозы и 10 г/л агар-агара (Panreac, Испания), а также регуляторами роста: 1,0–5,0 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), 0,7–2 мг/л зеатина и 0,1–0,3 мг/л β -индолил-3-масляной кислоты (ИМК) (Sigma, США). pH питательной среды до значения 5,7 доводили 1 н. раствором NaOH (pH/Ion meter S220 Mettler Toledo AG, Швейцария). Питательные среды автоклавировали при 120 °С в течение 5 мин в автоклаве/стерилизаторе LAC 5060S (Daihan Labtech, Южная Корея). Регуляторы роста вводили в среды после автоклавирования в стерильных условиях бокса биологической безопасности SC2 («ESCO», Сингапур) с помощью стерильных фильтров Millex-GP (Германия).

Для оздоровления от вирусной инфекции применяли вироцид рибавирин (виразол, 1-бета-D-рибофуранозил-1Н-1,2,4-триазол-3-карбоксамид) (Sigma, США), введенный непосредственно в питательную среду в концентрации 10 мг/л. Экспланты культивировали на стеллажах при температуре 24 ± 1 °С в 16-часовом фотопериоде и интенсивности освещения $37,5 \text{ мкМ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$.

Высечки листьев размером 1×1 см помещали на среду МС с добавлением 0,2; 0,6; 1,1; 1,7 и 2,2 мг/л 3-(1,2,3-тиадиазолин-5)-1-фенилмочевин – ТДЗ (Duchefa Biochemie, Голландия). Контрольной была среда МС без ТДЗ. Экспланты культивировали на стеллаже в стандартных условиях и в отсутствие освещения при 25 ± 1 °С в термостате MIR 254 (SANYO, Япония).

Для депонирования в качестве исходных эксплантов использовали сегменты микропобегов исходных растений размером 1,0–1,5 см. В экспериментах применяли модифицированную питательную среду $\frac{1}{4}$ нормы МС. В состав среды были включены макро- и микроэлементы (Sigma, США), витамины (Sigma, США), 0,2–0,4 г/л хлорхолинхлорида ССС (BASF, Германия), 60 г/л сахарозы и 10 г/л агар-агара. Контролем служила среда $\frac{1}{4}$ МС без ингибиторов роста. Стаканчики закрывали стерильной пищевой фольгой толщиной 14 мкм («Саянская», Россия), сверху изолировали герметизирующей пленкой Parafilm M (Bemis, США). Экспланты помещали в холодильные камеры марки Liebcherr FKvsl 4113 (Австрия) с интенсивностью освещения $1,25\text{--}3,75 \text{ мкМ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ при температуре 4, 6, 8, 10, 12 и 14 °С. При введении эксплантов на депонирование записывали основные показатели: генотип, дату закладки на депонирование, размер экспланта (длину,

¹ Международная программа ботанических садов по охране растений / под ред. И. Смирнова, В.Л. Тихоновой; пер. на рус. яз. Ю. Лисиной. М.: Междунар. совет ботан. садов по охране растений. Botanic Gardens Conservation International. 2000. 57 с.

² Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учеб. пособие. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.

количество междоузлий), температуру депонирования, питательную среду, концентрацию ингибиторов роста. Растительный материал фиксировали через 6 месяцев культивирования. Проводили оценку сохраняемого растительного материала по таким показателям, как длина микропобега, окраска экспланта, количество адвентивных микропобегов, количество листьев на микропобеге, количество корней на микропобеге, длина корня, жизнеспособность. Эти показатели определяли кинетику роста растений.

Для проведения гистологического анализа каллусные структуры фиксировали в растворе F.A.A. (formalin : acetic acid : alcohol 70 % – 7 : 7 : 100). Для обезвоживания материала использовали водные растворы этилового спирта и изопропиловый спирт. В качестве промежуточной среды при заливке объектов в парафин применяли ксилол. Период инфильтрации парафином составлял 5–7 суток [18]. Серийные парафиновые срезы толщиной 10 μ m делали на ротационном полуавтоматическом микротоме RMD-3000 (ООО «МедТехникаПоинт», Россия). Постоянные препараты окрашивали гематоксилином и алциановым синим [19]. Анализ препаратов проводили с помощью микроскопа AxioScope A.1 (Zeiss, Германия) со встроенной системой анализа изображений AxioCamERc5s (Zeiss, Германия) и программного приложения AxioVision Rel. 4.8.2. (Zeiss, Германия).

Всю обработку данных осуществляли с помощью программы Statistica for Windows, 6.0

(StatSoft, Inc. 1984–2001).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Максимальное количество эксплантов, регенерировавших микропобеги, получали в декабре–феврале. На питательной среде МС с уменьшенной вдвое концентрацией азота через 6 недель культивирования наблюдали формирование розетки листьев, затем – микропобега. Установлено, что изолированные вегетативные почки хурмы изучаемых сортов имели различный морфогенетический потенциал. На 4-й неделе культивирования наблюдали выдвижение 1–3 листьев у эксплантов сорта Южная Красавица, в то время как у эксплантов сорта Сувенир Осени – 1 листа. Различие морфогенетического потенциала эксплантов прослеживалось на протяжении всех этапов развития.

В ходе экспериментов было изучено влияние БАП на индукцию побегообразования изучаемых сортов хурмы восточной из закрытых вегетативных почек в условиях *in vitro*. Известно, что наиболее эффективным для клонального микроразмножения хурмы является применение зеатина на этапе индукции побегообразования и массового размножения [5, 14]. Часто на этапе введения эксплантов используют БАП, а зеатин применяют для удлинения и формирования адвентивных микропобегов [7].

В вариантах среды МС с 1,0–2,0 мг/л БАП для двух сортов среднее количество микропобегов на эксплант составляло $1,4 \pm 0,3$ шт. для сорта Сувенир Осени и $1,7 \pm 0,3$ – для сорта Южная Красавица (рис. 1).

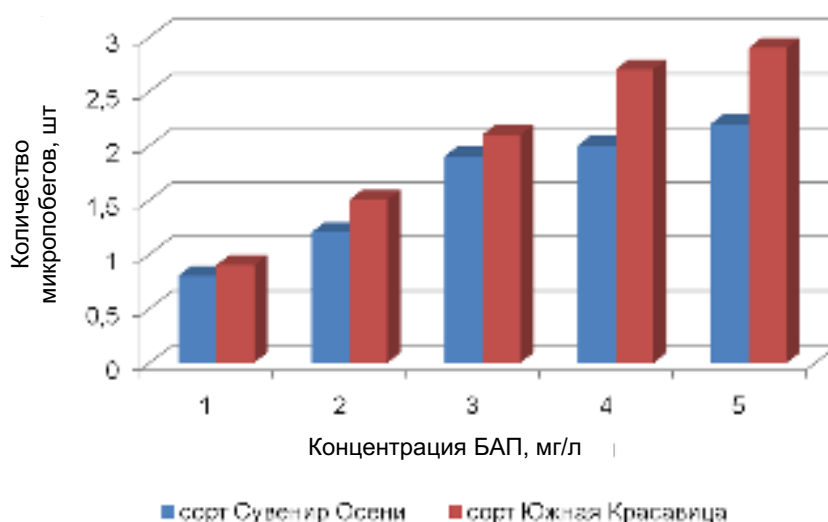


Рис. 1. Влияние концентраций БАП в среде МС на количество микропобегов / эксплант у двух сортов хурмы в условиях *in vitro* на этапе индукции побегообразования

Fig. 1. Effect of BAP concentrations in MS medium on the number of microshoots / explant in two persimmon cultivars at the stage of the shoot formation induction under *in vitro* conditions

Максимальное число нормально развитых микропобегов получено на среде МС, дополненной 4 мг/л БАП: $2,0 \pm 0,4$ шт. – у сорта Сувенир Осени, $2,7 \pm 0,4$ шт. – у сорта Южная Красавица. Средняя длина микропобегов достигала $1,90 \pm 0,04$ см для сорта Сувенир Осени и $3,1 \pm 0,07$ см – для сорта Южная Красавица. Увеличение концентрации БАП до 5 мг/л незначительно увеличивало количество микропобегов, однако большая часть из них была оводненной.

Для удлинения побеги субкультивировали на среду МС, дополненную 0,8–1 мг/л зеатина. Средняя длина микропобегов через 4 недели культивирования достигала 2,5–3,0 см. Дальнейшее микрочеренкование в условиях *in vitro* позволило увеличить количество микропобегов.

Для определения основных факторов, спо-

собствующих непрямой регенерации микропобегов в культуре листовых эксплантов 2-х сортов хурмы восточной в условиях *in vitro*, было изучено влияние ТДЗ в питательной среде. Выявлено, что каллусообразование на среде МС, дополненной 1,1 и 1,7 мг/л ТДЗ, активнее происходило в термостате. Дальнейшее культивирование при температуре 24 ± 1 °С, 16-ти часовом фотопериоде и интенсивности освещения $37,5 \text{ мкМ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ приводило к формированию на его поверхности шарообразных структур, из которых в последствии развивались микропобеги. Представленные результаты согласуются с данными, полученными для сортов хурмы Никитская Бордовая и Золотистая [4, 20]. Частота побегообразования из высечек листа достигала 65–79 % через 6 недель культивирования на средах с 1,1 и 1,7 мг/л ТДЗ (рис. 2).

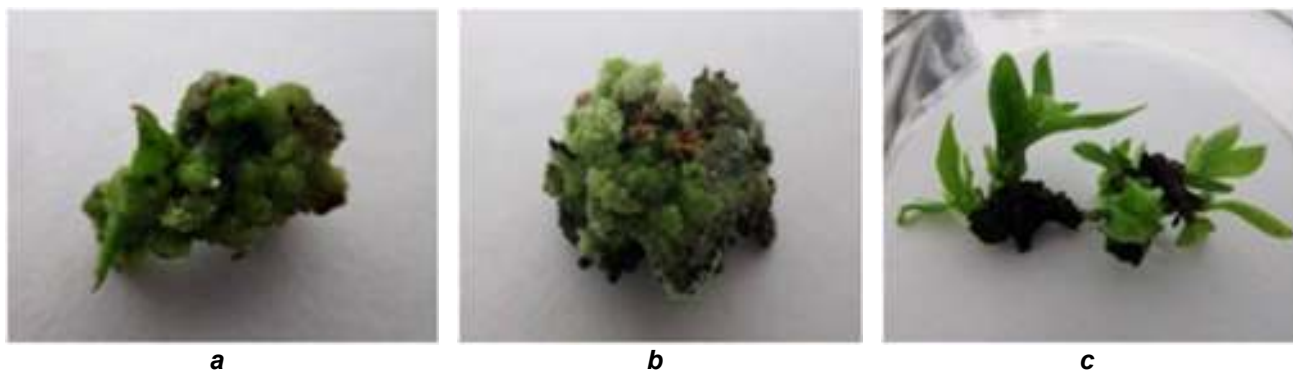


Рис. 2. Морфогенный каллус хурмы восточной:
a – сорт Сувенир Осени; b – сорт Южная Красавица, c – регенерация
микропобегов из каллуса у сорта Сувенир Осени (масштаб 1 см)

Fig. 2. Persimmon morphogenic callus: a – cultivar Suvenir Oseni;
b – cultivar Yuzhnaya Krasavitsa, c – microshoot regeneration
in the cultivar Suvenir Oseni (scale 1 cm)

Гистологический анализ каллусов сортов хурмы Южная Красавица и Сувенир Осени показал, что они представлены плотными скоплениями паренхимных клеток со слабо выраженными цитоплазмой и ядерными структурами. Клетки с более плотной цитоплазмой и отчетливо выраженными ядрами наблюдали на периферии структур, при этом во внешних слоях каллусных структур также располагались клетки с утолщенными стенками и цитоплазмой, насыщенной включениями вторичных метаболитов. Зоны пролиферативных клеток отмечены как на периферических слоях каллусов, так и в толще паренхимных клеток. В то же время меристематически активные клетки, расположенные на внешних слоях каллусной структуры, как правило, дают начало микропобегам, что наиболее характерно для сорта Южная Красавица. Кроме того, у исследуемых сортов выявлены случаи образования глобулярных структур, типичных для ранних стадий эмбриогенеза (рис. 3).

Другим путем реализации морфогенеза, отмеченным для данных сортов, является гистогенез проводящих элементов, сопровождающийся поляризацией клеток, утолщением клеточных стенок и последующей их перфорацией.

В первом пассаже получено 4 микропобега / эксплант у сорта Сувенир Осени, 5 – у сорта Южная Красавица. Микропобеги отделяли и субкультивировали на среде МС, дополненной 0,8–1 мг/л зеатина. Присутствие в среде МС 0,2 мг/л, 0,6 мг/л и 2,2 мг/л ТДЗ способствовало формированию неморфогенного каллуса. На среде без цитокинина не наблюдали признаков морфогенеза.

Возможности создания генобанка культур *in vitro* для длительного хранения ценных плодовых растений является одной из основных задач биотехнологии. Большое значение в культуре тканей и органов имеет разработка условий длительного сохранения пробирочных растений *in vitro* как резервного банка ценных видов, сортов и форм различных культур¹ [11, 12, 15, 21, 22].

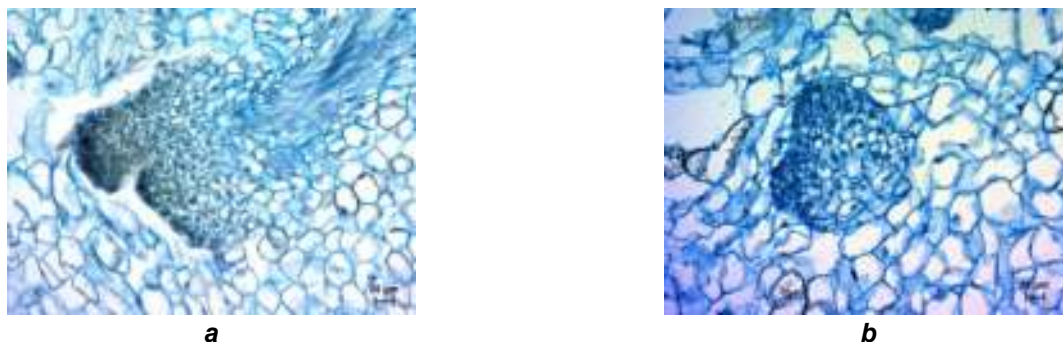


Рис. 3. Фрагменты поперечных срезов каллусов хурмы сортов Южная Красавица (а) и Сувенир Осени (б) с морфогенными структурами

Fig. 3. Fragments of persimmon calluses cross sections with the morphogenic structures of the cultivars Yuzhnaya Krasavitsa (a) and Suvenir Oseni (b)

Серьезным препятствием для сохранения растений при нормальной температуре (20–26 °C) является старение эксплантов или потеря жизнеспособности, что происходит в результате многократных субкультивирований. При длительном депонировании большое значение имеет определение оптимального уровня температуры, при котором замедляются метаболические процессы растений *in vitro* и ограничивается скорость их роста [9, 10, 23, 24].

На эффективность сохранения растительного материала в условиях *in vitro* влияет ряд факторов. Различные методические приемы не должны вызывать необратимых изменений или повреждения материала, необходимо обеспечивать возможность последующего культивирования растительного материала в стандартных условиях с высокими количественными показателями.

Для изменения кинетики роста в наших исследованиях было использовано комплексное влияние низкой положительной температуры и наличия в питательной среде осмоти-

ков и ретардантов. Предварительные исследования позволили установить оптимальные концентрации ССС в питательной среде $\frac{1}{4}$ нормы МС – 0,2–0,4 г/л, способствующие минимализации роста растений при сохранении их жизнеспособности [14]. Проведенный скрининг депонируемых в течение 6 месяцев культур показал, что при концентрации ССС 0,2–0,4 г/л, сахарозы 60 г/л и температуре 4–6 °C жизнеспособность эксплантов у растений хурмы находилась в пределах 30–68 %. Сегменты побегов имели зелено-коричневую или коричневую окраску, было отмечено отсутствие их роста. При температуре 8–14 °C наблюдали замедление роста эксплантов в 1,5 раза по сравнению с контролем, при этом они оставались зелеными и образовывали 1–2 листочка.

Увеличение времени сохранения *in vitro* эксплантов хурмы восточной сортов Южная Красавица и Сувенир Осени до 12 месяцев позволило установить значения температуры (8–10 °C), при которых жизнеспособность эксплантов оставалась на уровне 80 % (рис. 4).

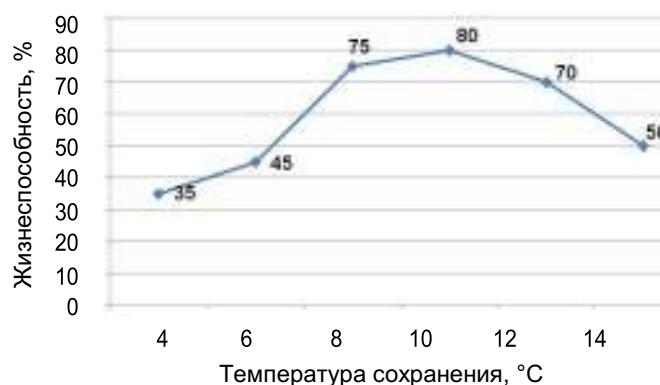


Рис. 4. Жизнеспособность эксплантов хурмы восточной после 12 месяцев сохранения на питательной среде $\frac{1}{4}$ МС, дополненной 0,2 г/л ССС и 60 г/л сахарозы в генобанке *in vitro* при различной температуре

Fig. 4. Viability of persimmon explants after 12 months of preservation on $\frac{1}{4}$ MS culture medium, supplemented with 0,2 g/L CCC and 60 g/L sucrose in the *in vitro* genebank at different temperatures

Отмечено снижение кинетики роста в 2 раза по сравнению с контролем. Наряду с этим наблюдали появление бурой окраски и выделение продуктов окисления полифенолов в питательную среду (окрашивание среды в светло-коричневый цвет). Увеличение температуры до 12 и 14 °С способствовало резкому снижению жизнеспособности эксплантов вследствие интенсивного выделения продуктов окисления полифенолов, некрозу ткани и дальнейшей гибели эксплантов. Низкие положительные температуры (4 и 6 °С) также оказались неэффективными для 12-месячного сохранения эксплантов изучаемых сортов хурмы восточной в условиях генобанка *in vitro*.

Проведенное тестирование депонируемых эксплантов по морфо-биологическим признакам на питательной среде для индукции регенерационных процессов указывало на сохранение морфогенетического потенциала и способности к регенерации микропоголов у 80 % эксплантов после 12 месяцев сохранения при температуре 8–10 °С.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований

выявлены два основных пути регенерации микропоголов хурмы восточной сортов Су-венир Осени и Южная Красавица в условиях *in vitro*. Показано, что наличие в питательной среде МС 4 мг/л БАП обеспечивало стабильную прямую регенерацию в культуре вегетативных почек. Выявлены сортовые различия морфогенетического потенциала исходных эксплантов. Присутствие в среде МС 1,1 и 1,7 мг/л ТДЗ способствовало непрямоу органогенезу в культуре высечек листьев. Гистологический анализ подтвердил наличие меристематически активных клеток, расположенных на внешних слоях каллусной структуры, как правило, дающих начало микропоговам.

Разработаны методические подходы сохранения растительного материала *in vitro* в условиях замедленного роста с целью создания генобанка ценных субтропических плодовых культур. Показана стабилизирующая роль сахарозы и ССС в среде ¼ нормы МС, а также оптимальной температуры сохранения (8–10 °С) на жизнеспособность эксплантов двух сортов хурмы восточной в течение 12 месяцев депонирования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Хохлов С.Ю. Оценка сортов хурмы в коллекции Никитского сада // Сборник научных трудов ГНБС. 2015. Т. 140. С. 206–221.
2. Yonemori K., Sugiura A., Yamada M. Persimmon genetics and breeding // Plant breeding reviews. 2000. Vol. 19. P. 191–225.
3. Bhojwani S.S., Dantu P.K. Plant Tissue Culture: An Introductory Text. (New Delhi, Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer), 2013, 309 p. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-1026-9>.
4. Иванова Н.Н., Митрофанова И.В., Браилко В.А., Кузьмина Т.Н., Хохлов С.Ю. Биотехнологические приемы размножения хурмы восточной // Экосистемы. 2017. Вып. 11 (41). С. 60–67.
5. Kochanova Z., Onus N., Brindsa J. Adventitious shoot regeneration from dormant buds of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) cv. Hachiya // Journal of Agrobiology. 2011. Vol. 28. N 2. P. 113–118. <https://doi.org/10.2478/v10146-011-0012-9>
6. Liu Y., Ma J., Tang X., Song C. Study on the adventitious shoot regeneration of persimmon leaves // Hubei Agri Sciences. 2006. Vol. 45. P. 618–621.
7. Иванова Н.Н., Митрофанова И.В., Хохлов С.Ю. Особенности введения эксплантов хурмы восточной в условия *in vitro* // Бюллетень ГНБС. 2016. N 119. С. 45–51.
8. Иванова Н.Н., Митрофанова И.В., Хохлов С.Ю. Различные пути регенерации растений *Diospyros kaki* Thunb. сорта Золотистая в условиях *in vitro* // Бюллетень ГНБС. 2016. Вып. 120. С. 24–30.
9. Плаксина Т.В., Пищева Г.Н. Биотехнология в селекции, размножении и сохранении растений // Бюллетень Ботанического сада-института ДВО РАН. 2014. Вып. 12. С. 22–30.
10. Molkanova O., Egorova D., Mitrofanova I. Preservation Characteristics of Valuable Plant Species in *In Vitro* Genebanks at Russian Botanical Gardens // In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant. 2018. Vol. 58. Suppl. 1. P. 46. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-9927-9>
11. Новикова Т.И., Набиева А.Ю., Полубоярова Т.В. Сохранение редких и полезных растений в коллекции Центрального сибирского ботанического сада // Вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. N 4. С. 564–572.
12. Molkanova O., Shirnina I., Mitrofanova I. Conservation and micropropagation of rare and endemic species in genpool collection of the Russian Federation // Journal of Biotechnology. 2018. Vol. 280. P. S83–S84. <https://doi.org/10.1016/j.biotech.2018.06.274>
13. Sarasan W., Cripps G., Ramsay M., Atherton C., McMichen M., Prendergast G., et al. Conservation *in vitro* of threatened plants – progress in the past decade // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2006. Vol. 42. N 3. P. 206–214. <https://doi.org/10.1079/IVP2006769>
14. Митрофанова И.В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур: монография. Киев: Аграрна наука, 2011. 344 с.
15. Engelmann F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity // In Vitro Cellular and Development Biology – Plant. 2011.

Vol. 47. N 1. P. 5–16 <https://doi.org/10.1007/s11627-010-9327-2>

16. Kyte L., Kleyn J., Scoggins H., Bridgen M. Plants from test tubes: An introduction of micropropagation. 4th ed. Portland, Oregon: Timber Press, 2013. 274 p.

17. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15. Issue 3. P. 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

18. Кузьмина Т.Н. Генезис микроспорангия *Jasminum officinale* L. (Oleaceae) // Бюллетень ГНБС. 2017. N 124. С. 103–109.

19. Жинкина Н.А., Воронова О.Н. К методике окраски эмбриологических препаратов // Ботанический журнал. 2000. Т. 85. N 6. С. 168–171.

20. Иванова Н.Н., Митрофанова И.В., Кузьмина Т.В., Хохлов С.Ю. Регенерация микропобегов в культуре высечек листьев хурмы восточной // Роль ботанических садов и дендрариев в сохранении, изучении и устойчивом использовании разнообразия растительного мира: материалы Международной научной конферен-

ции, посвящ. 85-летию Центрального ботанического сада НАН Беларуси (г. Минск, 6–8 июня 2017 г.). В 2 ч. Ч. 2. Минск: Медисонт, 2017. С. 209–212.

21. Молканова О.И., Коновалова Л.Н., Стахеева Т.С. Формирование генетического банка *in vitro* плодовых и ягодных культур в ГБС РАН // Плодоводство и ягодоводство в России. 2016. Т. XXXIV. С. 197–200.

22. Conservation of plant genetic resources in vitro: General aspects / Razdan M.K., Cocking E.C. (eds.). Enfield, NH: Science Publishers, Inc.; 1997. 314 p.

23. Тевфик А.Ш., Митрофанова И.В. Особенности получения и сохранения *Canna × hybrida* hort. ex Backer в условиях *in vitro* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7. N 3. С. 99–109. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-3-99-109>

24. Watt M.P., Thokoane N.L., Mycock D., Blakeway F. *In vitro* storage of *Eucalyptus grandis* germplasm under minimal growth conditions // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2000. Vol. 61. Issue 2. P. 161–164.

REFERENCES

1. Khokhlov SYu. Assessment of persimmon varieties in the Nikitsky Garden collection. *Sbornik nauchnykh trudov GNBS*. 2015;140:206–221. (In Russian)

2. Yonemori K, Sugiura A, Yamada M. Persimmon genetics and breeding. *Plant breeding reviews*. 2000;19:191–225.

3. Bhojwani SS, Dantu PK. *Plant Tissue Culture: An Introductory Text*. New Delhi, Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer; 2013, 309 p. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-1026-9>

4. Ivanova NN, Mitrofanova IV, Brailko VA, Kuzmina TN, Khokhlov SYu. Biotechnological methods of the Persimmon propagation. *Ekosistemy = Ecosystem*. 2017;11:60–67. (In Russian)

5. Kochanova Z, Onus N, Brindsa J. Adventitious shoot regeneration from dormant buds of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) cv. Hachiya. *Journal of Agrobiology*. 2011;28(2):113–118. <https://doi.org/10.2478/v10146-011-0012-9>

6. Liu Y, Ma J, Tang X, Song C. Study on the adventitious shoot regeneration of persimmon leaves. *Hubei Agri Sciences*. 2006;45:618–621.

7. Ivanova NN, Mitrofanova IV, Khokhlov SYu. Features of the introduction of east persimmon explants *in vitro*. *Byulleten' GNBS*. = Bulletin of State Nikitsky Botanical Garden. 2016;119:45–51. (In Russian)

8. Ivanova NN, Mitrofanova IV, Khokhlov SYu. Various regeneration ways of *Diospyros kaki* Thunb. cultivar “Zolotystaya” *in vitro*. *Byulleten' GNBS*. = Bulletin of State Nikitsky Botanical Garden. 2016;120:24–30. (In Russian)

9. Plaksina TV, Pishcheva GN. Biotechnology in plant breeding, reproduction and conservation.

Byulleten' Botanicheskogo cada-instituta DVO RAN. = Bulletin of Botanical Garden-Institute FEB RAS. 2014;12:22–30. (In Russian)

10. Molkanova O, Egorova D, Mitrofanova I. Preservation Characteristics of Valuable Plant Species in *In Vitro* Genebanks at Russian Botanical Gardens. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2018;58(1):46. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-9927-9>

11. Novikova TI, Nabieva AYU, Poluboyarova TV. Preservation of rare and useful plants in the collection of the Central Siberian Botanical Garden. *Informatsionnyi Vestnik VOGIS*. = Information Bulletin of Vavilov State Institute of Genetics and Breeding. 2008;12(4):564–572. (In Russian)

12. Molkanova O, Shirnina I, Mitrofanova I. Conservation and micropropagation of rare and endemic species in genpool collection of the Russian Federation. *Journal of Biotechnology*. 2018;280: S83–S84. <https://doi.org/10.1016/j.biotech.2018.06.274>

13. Sarasan W, Cripps G, Ramsay M, Atherton C, McMichen M, Prendergast G, et al. Conservation *in vitro* of threatened plants – progress in the past decade. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2006;42(3):206–214. <https://doi.org/10.1079/IVP2006769>

14. Mitrofanova IV. *Somatic embryogenesis and organogenesis as the basis of biotechnology for obtaining and preserving perennial garden crops*. Kiev: Agrarna nauka; 2011. 344 p. (In Russian)

15. Engelmann F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In Vitro Cellular and Development Biology – Plant*. 2011;47(1):5–16. <https://doi.org/10.1007/s11627-010-9327-2>

16. Kyte L, Kleyn J, Scoggins H, Bridgen M.

Plants from test tubes: An introduction of micropropagation. 4th ed. Portland, Oregon: Timber Press; 2013. 274 p.

17. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3): 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

18. Kuzmina TN. Genesis of microsporangium of *Jasminum officinale* L. (Oleaceae). *Byulleten' GNBS*. = Bulletin of State Nikitsky Botanical Garden. 2017;124;103–109. (In Russian)

19. Zhinkina NA, Voronova ON. To the technique of staining embryological preparations. *Botanicheskii zhurnal*. = Botanical journal. 2000;85(6): 168–171. (In Russian)

20. Ivanova NN, Mitrofanova IV, Kuz'mina TV, Khokhlov SYu. Regeneratsiya mikropobegov v kul'ture vysechek list'ev khurmy vostochnoi = Regeneration of microtuning in the culture of carvings of east persimmon leaves. In: *Rol' botanicheskikh sadov i dendrariy v sokhranении, izuchenii i ustoychivom ispol'zovanii raznoobraziya rastitel'nogo mira: materialy Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 85-letiyu Tsentral'nogo botanicheskogo sada NAN Belarusi* = The role of botanical gardens and arboreturns in

the conservation, study and sustainable use of plant diversity: Proceedings of the International Scientific Conference dedicated to the 85th anniversary of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus. Part 2. 6–8 June 2017, Minsk. Minsk: Medisont; 2017. P. 209–212. (In Russian)

21. Molkanova OI, Konovalova LN, Stakheeva TS. Formation of an in vitro genetic bank for fruit and berry crops at the GBS RAS. *Plodovodstvo i yagodovodstvo v Rossii*. = Pomiculture and small fruits culture in Russia. 2016;44:197–200. (In Russian)

22. *Conservation of plant genetic resources in vitro: General aspects*. Razdan MK, Cocking EC. (eds.) Enfield, NH: Science Publishers, Inc.; 1997. 314 p.

23. Tefik ASH, Mitrofanova IV. In vitro derivation and storage characteristics of Canna × hybrida hort. ex Backer. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2017;7(3):99–109. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-3-99-109>

24. Watt MP, Thokoane NL, Mycock D, Blakey F. In vitro storage of *Eucalyptus grandis* germplasm under minimal growth conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2000;61(2):161–164.

Критерии авторства

Митрофанова И.В., Иванова Н.Н., Кузьмина Т.Н., Хохлов С.Ю. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Митрофанова И.В., Иванова Н.Н., Кузьмина Т.Н., Хохлов С.Ю. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Митрофанова Ирина Вячеславовна, д.б.н., главный научный сотрудник, заведующая отделом биологии развития растений, биотехнологии и биобезопасности, Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, 298648, г. Ялта, ул. Никитский спуск, 52, Республика Крым, Российская Федерация, ✉e-mail: irimitrofanova@yandex.ru

Contribution

Irina V. Mitrofanova, Natalya N. Ivanova, Tatyana N. Kuzmina, Sergey Yu. Khokhlov carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Irina V. Mitrofanova, Natalya N. Ivanova, Tatyana N. Kuzmina, Sergey Yu. Khokhlov have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

AUTHORS' INDEX

Irina V. Mitrofanova, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Head of Plant Developmental Biology, Biotechnology and Biosafety Department, The Labor Red Banner Order Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS, 52, Nikitskiy spusk, Yalta 298648, The Republic of the Crimea, Russian Federation, ✉e-mail: irimitrofanova@yandex.ru

Иванова Наталия Николаевна,
к.б.н., старший научный сотрудник
лаборатории биотехнологии
и вирусологии растений,
Ордена Трудового Красного Знамени
Никитский ботанический сад –
Национальный научный центр РАН,
298648, г. Ялта, ул. Никитский спуск, 52,
Республика Крым, Российская Федерация,
e-mail: nnivanova2017@yandex.ru

Кузьмина Татьяна Николаевна,
к.б.н., старший научный сотрудник
лаборатории биохимии, физиологии
и репродуктивной биологии растений,
Ордена Трудового Красного Знамени
Никитский ботанический сад –
Национальный научный центр РАН,
298648, г. Ялта, ул. Никитский спуск, 52,
Республика Крым, Российская Федерация,
e-mail: tnkuzmina@rambler.ru

Хохлов Сергей Юрьевич,
к.с.-х.н., заведующий лабораторией
южных плодовых
и орехоплодных культур,
Ордена Трудового Красного Знамени
Никитский ботанический сад –
Национальный научный центр РАН,
298648, г. Ялта, ул. Никитский спуск, 52,
Республика Крым, Российская Федерация,
e-mail: ocean-10@mail.ru

Natalya N. Ivanova,
Cand. Sci. (Biology),
Senior Researcher,
Plant Biotechnology and Virology Laboratory,
The Labor Red Banner Order Nikita Botanical
Gardens – National Scientific Center of the RAS,
52, Nikitskiy spusk, Yalta 298648,
The Republic of the Crimea,
Russian Federation,
e-mail: nnivanova2017@yandex.ru

Tatyana N. Kuzmina,
Cand. Sci. (Biology),
Senior Researcher,
Plant Biochemistry, Physiology
and Reproductive Biology Laboratory,
The Labor Red Banner Order Nikita Botanical
Gardens – National Scientific Center of the RAS,
52, Nikitskiy spusk, Yalta 298648,
The Republic of the Crimea,
Russian Federation,
e-mail: tnkuzmina@rambler.ru

Sergey Yu. Khokhlov,
Cand. Sci. (Agriculture),
Head of South Fruit and Nut Cultures,
The Labor Red Banner Order Nikita Botanical
Gardens – National Scientific Center of the RAS,
52, Nikitskiy spusk, Yalta 298648,
The Republic of the Crimea,
Russian Federation,
e-mail: ocean-10@mail.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 663.8

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-722-736>

Исследование биохимического состава плодов яблони Южного Прибайкалья и продуктов виноделия, сброженных на древесной щепе

© Г.С. Гусакова*, Н.П. Супрун*, М.А. Раченко**,
А.Н. Чеснокова*, Е.В. Чупарина***, А.И. Немчинова*,
С.С. Макаров*

* Иркутский национальный исследовательский технический университет,
г. Иркутск, Российская федерация

** Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,
г. Иркутск, Российская федерация

*** Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, г. Иркутск, Российская федерация

Резюме: Целью данной работы являлось исследование биохимического состава плодов яблонь, произрастающих в Южном Прибайкалье, и определение качественных характеристик яблочного вина, полученного брожением на древесной щепе в условиях сверхвысокой концентрации дрожжей. Определены основные физико-химические показатели и суммарное содержание фенольных соединений соков шести сортов яблони. Методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии в плодах яблок сорта Красноярский снежирек определено содержание макро- и микроэлементов (Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, Zr, Pb и Ba). Из макроэлементов в наибольшем количестве найден K (0,762 %), в меньшем количестве содержится Fe (0,006 %). Показано повышение качественных характеристик яблочного виноматериала при брожении на щепе в условиях сверхвысокой концентрации дрожжей. Окислительно-восстановительный потенциал стал ниже на 80 мВ. Дегустационная оценка возросла на 0,7 балла. Интенсивность окраски снизилась на 0,392 нм, оттенок изменился на 0,3 нм. Методом ВЭЖХ-УФ-МС исследовано изменение состава фенольных соединений в процессе брожения сока. В соках и виноматериале идентифицированы фенольные соединения, относящиеся к фенолкарбоновым кислотам (производным ароматических углеводов), производным дигидрохалконов, флаван-3-олов и флавонолов. Показано снижение содержания общего количества фенольных соединений при брожении на щепе по отношению к контролю более чем в 3 раза. Подтверждено увеличение скорости брожения сусла на 72 ч. Доказана возможность получения соков с повышенной физиологической ценностью и белых малоокисленных вин из зимостойких сортов яблонь Южного Прибайкалья.

Ключевые слова: зимостойкие сорта яблок, яблочный сок, сусло, виноматериал, насадки из яблочной древесины, компонентный состав, фенольные соединения, сахарокислотный индекс, макро- и микроэлементный состав сырья

Благодарности: Авторы благодарят научного сотрудника Лимнологического института СО РАН, к.х.н. А.В. Кузьмина за помощь в записи ВЭЖХ-МС-спектров.

Информация о статье: Дата поступления 4 марта 2018 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Гусакова Г.С., Супрун Н.П., Раченко М.А., Чеснокова А.Н., Чупарина Е.В. Немчинова А.И., Макаров С.С. Исследование биохимического состава плодов яблони Южного Прибайкалья и продуктов виноделия, сброженных на древесной щепе // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 722–736. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-722-736>

Study of the biochemical composition of fruits of the Southern Baikal apple tree and its wine products fermented on wood chips

Galina S. Gusakova*, Natalia P. Suprun*, Maxim A. Rachenko**,
Alexandra N. Chesnokova*, Elena V. Chuparina***,
Alena I. Nemchinova*, Sviatoslav S. Makarov*

* Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

** Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

*** Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: The present work is aimed at studying the biochemical composition of apple fruits growing in the Southern Baikal region, as well as the determining the qualitative characteristics of apple wine obtained by fermentation on wood chips under ultrahigh yeast concentration. The main physicochemical parameters and the total content of phenolic compounds in juices of six apple breeds are determined. For the fruits of 'Krasnoyarskiy Snegirek' variety, the content of macro- and microelements (Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, Zr, Pb and Ba) was analysed by X-ray fluorescence spectrometry. Among the macronutrients, K was established to be presented in the largest amount (0.762 %), while the quantity of Fe (0.006 %) appears to be significantly lower. An increase is detected in the qualitative characteristics of apple wine material during fermentation on wood chips under ultrahigh yeast concentration. The redox potential was shown to have decreased by 80 mV. The tasting score increased by 0.7 points. Additionally, the colour intensity decreased by 0.392 nm and the hue changed by 0.3 nm. The HPLC-UV-MS method was applied to study the change in the composition of phenolic compounds during juice fermentation. Phenolic compounds related to phenolcarboxylic acids (derivatives of aromatic hydrocarbons), derivatives of dihydrochalcones, flavan-3-ols and flavonols were identified in juices and wine materials. As compared to the control, a threefold decrease in the total amount of phenolic compounds during fermentation on wood chips was obtained. The must fermentation rate was confirmed to increase by 72 hours. The possibility of obtaining juices with increased nutritional value and low-oxidised white wines from winter-hardy apple breeds of the Southern Baikal region was demonstrated.

Keywords: winter-hardy apple breeds, apple juice, must, wine material, apple wood nozzles, component composition, phenolic compounds, sugar-acid index, macro- and microelement composition of raw materials

Acknowledgments: The authors are grateful to A.V. Kuzmin, Cand. Sci. (Chemistry), researcher of the Limnological Institute SB RAS, for the help in recording HPLC-MS spectra.

Information about the article: Received March 4, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Gusakova GS, Suprun NP, Rachenko MA, Chesnokova AN, Chuparina EV, Nemchinova AI, Makarov SS. Study of the biochemical composition of fruits of the Southern Baikal apple tree and its wine products fermented on wood chips. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):722–736. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-722-736>

ВВЕДЕНИЕ

Современное развитие отрасли виноделия и расширение ее ассортимента предполагает обеспечение постоянного и гарантированного качества выпускаемой продукции, что является основой политики добросовестного и уважающего себя винодельческого предприятия. В работах отечественных ученых Н.К. Могилянско, А.С. Вечера, А.Н. Юрченко, Е.П. Франчука и других показано, что высококачественные плодово-ягодные вина в ряде случаев не уступают виноградным. Это связано с тем, что исходное

сырье содержит гораздо больше функциональных компонентов (витаминов, ароматообразующих веществ, фенольных, азотистых, пектиновых и других соединений), которые определяют повышенную физиологическую ценность получаемых продуктов и позволяют в широких пределах менять органолептические характеристики [1].

В условиях Южного Прибайкалья основной семечковой культурой для производства натуральных белых малоокисленных вин является яблоня. Местные сорта яблони отличаются вы-

сокой экстрактивностью, кислотностью и терпким вкусом. В сравнении с привозными, местные плоды накапливают в своем составе больше пектиновых веществ, полифенольных соединений (катехины, флавонолы, антоцианидины и другие соединения ряда $C_6-C_3-C_6$), позволяющих легче зимовать в суровых климатических условиях.

Традиционно малоокисленные белые яблочные вина отличаются от остальных типов вина хорошо развитым сортовым ароматом, гармоничным, тонким и легким вкусом. Для этих вин недопустимы тона окисленности и даже незначительной мадеризации, которые резко снижают их качество.

Увеличение сроков хранения вин и их стабильность – предмет пристального внимания ученых и технологов-виноделов. При производстве вин необходимо предотвратить нежелательные изменения органолептических и физико-химических свойств в течение гарантийного срока годности [2, 3]. Имеющиеся данные исследований отечественных и зарубежных ученых в области стабилизации вин свидетельствуют об изменениях основных теоретических представлений о характере формирования помутнений физико-химической природы. В основном проблемы связаны с образованием сложных комплексных соединений высокомолекулярных веществ, катализаторами реакции образования которых часто являются катионы металла (железо, кальций, алюминий и др.)¹ [2–7].

К наиболее распространенным необратимым помутнениям белых столовых вин относят коллоидные, которые обусловлены наличием комплекса биополимеров в виноматериале, состоящего из полисахаридов, белковых и фенольных соединений². Фенольные соединения вина к тому же являются агентами окисления, могут быть инициаторами свободно-радикальных реакций и вовлекать в этот процесс значительное количество компонентов вина. Как правило, результатом этих процессов становятся нежелательные органолептические трансформации (изменения цветовых и ароматических характеристик, появление тонов окисленности во вкусе) и образование осадка [8].

Однако нужно заметить, что наличие фенольных соединений в продукте питания определяет и его положительные качества, поскольку они проявляют антиоксидантные³ [9–11], противовоспалительные, антиканцерогенные, проти-

вовирусные, антипаразитарные и бактерицидные [12–14] свойства. Синтез полифенолов в клетках человека невозможен [15]. Таким образом, важной задачей виноделов становится разработка технологии производства белых вин, сбалансированных по своему фенольному составу, что позволит не допустить процессов окисления в них, гарантируя стабильность готовой продукции.

Поэтому исследование изменения химического состава бродящего яблочного сусла на разных этапах технологического процесса является актуальной задачей. В работе проведены опыты по сбраживанию яблочного сусла в условиях сверхвысокой концентрации дрожжей на древесной щепе [16–18].

Цель данного эксперимента – исследование биохимического состава плодов яблонь, выращенных в Южном Прибайкалье, и определение качественных характеристик яблочного вина, полученного брожением на древесной щепе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Результаты ранних исследований [19–23] показывают, что мелкоплодные сорта яблок, выращенных в Иркутской области, в частности на территории Южного Прибайкалья, отличаются от привозных сортов более высоким (в 3–4 раза) содержанием витамина С и фенольных соединений. Плоды этих яблок имеют оригинальный вкус, уникальный химический состав, а также хорошие технологические показатели переработки при производстве качественной соковой и винной продукции [22, 24]. Поэтому объектами исследования были выбраны плоды мелкоплодных зимостойких сортов яблок: Ранетка Каменно-ангарская, Ранетка Ермолаева, Ранетка пурпуровая, Веселовка, Красная гроздь и Красноярский снегирек. Отбор проб проводили на участках крестьянско-фермерского хозяйства «Иркутский садовод» в районе ТСЖ «Молодежный» Иркутской области в первой половине сентября 2016 г. Плоды собирали в фазе потребительской зрелости, без повреждений вредителями и болезнями с целой или сломанной плодоножкой [22].

Для получения сока яблоки измельчали на ножевой дробилке (размер частиц не превышал 5 мм) и отжимали на гидравлическом прессе (максимальное давление на мезгу – 5 атм, скорость увеличения давления – 0,15 атм/мин).

Для брожения сусла использовали сухие винные дрожжи *Saccharomyc bayanus*. Предварительно проводили процесс гидратации дрожжевых клеток, которые затем вносили в виде дрожжевой разводки в сусло (70 % жизнеспособных клеток в количестве 0,1 г. на литр). Бро-

¹ Христева О.П. Совершенствование технологии стабилизации белых сухих вин: автореф. дис. ... д-ра техн. наук: 253.03. Кишинев, 2019. 33 с. (20.05.2019).

² Толстенко Д.П. Разработка методики определения оптимальной схемы обработки белых столовых виноматериалов: дис. ... канд. техн. наук: 05.18.07. Ялта, 2002. 148 с.

³ Чурсина О.А. Развитие научных основ технологии коллоидной стабилизации вин: дис. ... д-ра техн. наук: 05.18.01. Ялта, 2012. 297 с.

жение проводили периодическим методом. Бродильную смесь подавали в ёмкость для брожения, заполненную щепой из древесины яблони в несколько приемов для достижения требуемой концентрации дрожжевых клеток (3–5 млн клеток в 1 мл бродильной смеси). Таким способом получали виноматериал (образец 1). Контролем служило сусло, сброженное в тех же условиях, но в емкости без щепы (образец 2). Температура брожения поддерживалась в интервале 18–20 °C [22].

Способ брожения тихих и игристых вин на насадках активно используется на производстве. Известно, что применение насадки способствует увеличению поверхности контакта фаз. Это приводит к быстрому увеличению концентрации дрожжевых клеток в среде. Как следствие, ускоряются процессы формирования качественных характеристик готовых вин. В качестве насадок для иммобилизации дрожжей применяют различные материалы с достаточно развитой поверхностью: полиэтиленовые и керамические кольца, кольца Рашига, буковую стружку (буковые ролики), прошедшие предварительную обработку.

В данной работе проведено исследование применения древесной щепы в качестве насадки для брожения. В качестве материала для насадок использовали яблочную древесину в возрасте 10 лет, размер которой варьировал в диапазоне, мм: длина – 3–20; ширина – 3–12; толщина – 1–3. Перед использованием щепу подвергали четырехстадийной обработке. Сортирование щепы осуществляли вручную, визуально. Щепу нужного размера кипятили в 0,8 %-м растворе карбоната натрия (Na_2CO_3), в течение 30 мин с кратностью кипячения 5–6 раз. Затем щепу отмывали от экстрагента проточной водой до нейтральной реакции и отправляли на сушку при температуре 96–100 °C, до влажности 15–20 % [24]. Обработанной насадкой заполняли емкость для брожения на 2/3 объема бродильного резервуара.

Определение механических показателей сырья (размер, форма и др.), микробиологические анализы сусла (определение общего количества, а также мертвых и живых клеток; оценка физиологического состояния дрожжей и др.)⁴ и физико-химических показателей сока и виноматериала проводили по общепринятым стандартным методикам:

- относительную плотность сусла, г/см^3 – ареометрическим методом по ГОСТ Р 51619;
- содержание растворимых сухих веществ, %
- рефрактометрическим методом по ГОСТ Р 51433;

⁴ Лозовая Т.С. Микробиология: лабораторный практикум для студентов по направлению подготовки «Продукты питания из растительного сырья». Иркутск: Изд-во ИРНИТУ, 2017. 70 с.

– массовую концентрацию титруемых кислот в пересчете на яблочную кислоту, г/дм^3 – потенциометрическим титрованием по ГОСТ Р 51434;

– массовую долю редуцирующих сахаров в соках, % – фотоколориметрическим методом по ГОСТ 8756,13–87;

– содержание витамина С, % – методом визуального титрования по ГОСТ 24556;

– массовую концентрацию летучих кислот, г/дм^3 – по ГОСТ 32001;

– объемную долю этанола – по ГОСТ Р 51653;

– кислотность E_h и pH – потенциометрическим методом по ГОСТ 6687.4;

– содержание железа с железистосинеродистым калием, мг/дм^3 – по ГОСТ 13195;

– оптические характеристики вин – по методике, представленной в работе [25];

– общее количество сахара в виноматериалах – методом Дюбуа [26].

Содержание химических элементов в яблоках определяли методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии (РФА). Метод основан на зависимости интенсивности характеристической флуоресценции элемента от его массовой доли в анализируемой пробе. Интенсивность рентгеновской флуоресценции определяемых элементов пересчитывается в единицы концентраций по математическим моделям, полученным в результате градуировки спектрометра.

Для определения Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, Zr, Pb и Ba анализируемую пробу готовили в виде таблетки. Для этого растительный материал вначале измельчали в агатовой ступке до порошка менее 100 мкм, затем отбирали навеску 0,5 г, которую далее прессовали в виде таблетки-излучателя на подложке из борной кислоты. Измерения интенсивности аналитических линий выполняли на волнодисперсионном рентгеновском спектрометре S4 Pioneer (Bruker, Германия). Для расчета концентраций строили линейные градуировочные зависимости, используя программное обеспечение спектрометра Spectra^{Plus} и стандартные образцы состава: клубней картофеля СБМК-02, зерен пшеницы СБМП-02⁵, листа березы ЛБ-1 (ГСО 8923-2007), луговой травосмеси Тр-1 (ГСО 8922-2007), китайский образец листьев чая (GBW 07605)⁶ и польские стандартные образцы муки соевых

⁵ Стандартные образцы химического состава природных минеральных веществ: метод. рекомендации / авт.-сост. Н.В. Арнаут. Новосибирск: Изд-во ИГиГ СО АН СССР, 1987. 204 с.

⁶ Certificate of Certified Reference Material Human Hair, Bush Twigs and Leaves, Poplar Leaves and Tea (GSV-1, 2, 3, 4 and GSH-1) / Institute of Geophysical and Geochemical Exploration. Langfang China, 1990.

бобов INCT-SBF-4 и кукурузной муки INCT-CF-3. Правильность РФА оценили сравнением результатов определения содержаний элементов в польском стандартном образце состава травосмеси INCT-MPH-2 с аттестованными значениями. Сопоставление данных показало, что результаты РФА хорошо согласуются с сертифицированными значениями.

Определение общего содержания полифенолов (мг/дм^3) проводили спектрофотометрическим методом, основанным на окислении фенольных соединений в исследуемых образцах реактивом Фолина – Чокальтеу в щелочной среде. Калибровали по галловой кислоте [27].

Полифенольные соединения в исследуемых образцах идентифицировали методом хромато-масс-спектрометрии на ВЭЖХ Agilent 1200 в сочетании с (МС) детектором Agilent 6210 [22, 23].

В эксперименте готовили эфирные экстракты из суслу и виноматериала. Для этого проводили исчерпывающую экстракцию диэтиловым эфиром при температуре 40°C в течение 6 ч. Полученный сухой остаток перерастворяли в смеси метанол : вода (70 : 30, об./об.), выдерживали в ультразвуковой ванне в течение 30 мин и затем центрифугировали 30 мин при 10000 мин^{-1} . Надосадочную жидкость анализировали методом ВЭЖХ-МС. Условия ВЭЖХ-МС анализа: колонка Zorbax 300SB C18 (5 мкм, $150 \times 2,1 \text{ мм}$); температура колонки – 35°C ; элюент А – 0,1 % гептафторбутановая кислота (ГФБК) в воде; элюент Б – 0,1 % ГФБК в ацетонитриле. Элюирование колонки осуществлялось в градиентном режиме: от 10 до 100 % элюента Б за 30 мин; поток элюента – 0,15 мл/мин; объем вводимой пробы – 4 мкл. Длины волн детектирования – 210, 260, 290 и 360 нм (дополнительно регистрировали УФ-спектры в диапазоне 190–400 нм); диапазон детектируемых масс, m/z , – 26–3200; напряжение на капилляре – 3,5 кВ; температура газа-носителя (N_2) – 325°C , поток газа-носителя – 5 л/мин [22].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Плоды зимостойких сортов яблони (Красноярский снегирек, Красная гроздь, Ранетка Пурпуровая, Ранетка Ермолаева, Веселовка и Ранетка Каменно-ангарская) для эксперимента отбирали в стадии потребительской зрелости, без повреждений вредителями и болезнями. Плодоножки при наличии не удаляли.

У сорта Красноярский снегирек плоды мелкие (масса варьирует от 25,0 до 35,0 г.) По форме округлые с закрытой маленькой чашечкой. Кожица гладкая, по окраске в основном зеленоватая, частично красная размытая и полосатая.

Мякоть не окрашена, плотная, мелкозернистая и сочная. Выход сока составил 71,8 %. Полученный из плодов сок имел светло-розовый цвет за счет перехода красящих веществ из кожицы. Аромат – характерный яблочный, вкус – умеренный кислый слаботерпкий.

Плоды сорта Красная гроздь очень мелкие, массой 20,0–38,0 г, приплюснуто-округлой формы. Основная окраска – желтая, покровная – темно-красная, занимает примерно до половины плода. Мякоть по цвету кремовая, на вкус сочная. Выход сока составил 59,2 %. Цвет сока – розовый, аромат – характерный яблочный, вкус – умеренный кисло-сладкий.

Для плодов ранетки Пурпуровой характерен исключительно мелкий размер – от 8,0 до 10,0 г, форма плоская и плоско-округлая, окраска темно-красная. Мякоть по цвету желтая, имеет красные прожилки, текстура плотная и сочная. Вкус кислый и терпкий. Выход сока составил 65,8%. Сок по цвету насыщенный розовый, аромат – яркий яблочный, вкус – кислый и довольно терпкий.

Размер плодов Ранетки Ермолаева мелкий – 8,0–12,0 г, округло-овальной формы. Окраска плодов: основная – желтая, покровная – темно-красная. Мякоть с красными прожилками. Выход сока составил 53,7 %. Цвет сока – розовый, аромат – характерный яблочный, вкус – умеренный кислый и слабый терпкий.

Плоды сорта Веселовка – однородные округлой формы массой до 35,0 г. Основная окраска – золотисто-желтая, покровная – темно-малиновая по всему плоду. Мякоть имеет кремовый цвет, текстура средней плотности, сочная, по вкусу умеренно кисло-сладкая. Выход сока составил 52,8 %. Сок ярко-розовый, аромат – характерный яблочный.

Для плодов Каменно-ангарской ранетки характерен мелкий размер (20,0–30,0 г) и приплюснуто-округлая форма. Основная окраска плодов – желто-зеленая со слабо розовым румянцем, цвет мякоти – кремовый. Выход сока в среднем составил 55,5 %. Сок по окраске – светло-розовый, аромат – типичный яблочный, вкус – кисло-сладкий с небольшой терпкостью.

Минеральный состав плодов в большей степени определяется видовой принадлежностью, экологической обстановкой места его произрастания и агротехникой. Учитывая, что отбор проб проводился с одного участка, элементный состав определяли для сорта Красноярский снегирек. По данным РФА, в воздушно-сухом материале плодов обнаружены следующие макроэлементы, %: Na – 0,008; Mg – 0,056; Al – 0,002; Si – 0,012; P – 0,141; S – 0,05; K – 0,762; Ca – 0,099; Mn – 0,01; Fe – 0,006. Из микроэлементов в плодах присутствуют, в ppm: Ti – менее 4; Cr – 7; Ni – 2, Cu < 8; Zn – 15, Rb – 8; Sr – 9, Ba – 16, Pb – менее 3.

⁷ Кустова И.А. Разработка технологии новых пищевых продуктов с использованием экстрактов из вторичного виноградного сырья: дис. ... канд. техн. наук: 05.18.01. Краснодар, 2016. 186 с.

Из макроэлементов в наибольшем количестве найден К (0,762), который, как известно, оказывает благоприятное действие на сердечную деятельность (суточная потребность взрослого человека – 5 мг). В меньшем количестве содержится Fe (0,006), обладает кроветворной способностью, но в вине является причиной помутнений (белый и черный касс). Содержание тяжелых металлов в плодах находится в пределах допустимых концентраций, предусмотренных в СанПиН 2.3.2.560-96.

Биохимический состав и процентное соотношение компонентов во многом определяют качество сока. По полученным данным экстрактивные вещества соков представлены в основном сахарами и кислотами. Эти технологические показатели сока не нормируются, однако имеют важное значение. По мнению ряда авторов (например, [2, 28, 29]), наиболее благоприятными

для производства качественных натуральных вин являются соки, содержащие более 9 % сахаров и 6–9 г/дм³ органических кислот. Повышение содержания кислот (особенно яблочной) становится причиной неприятной резкости во вкусе (так называемая зеленая кислотность)⁸.

Содержание фенольных соединений, как и содержание органических кислот, не относится к нормируемым показателям сока или вина, но определяет физиологическую ценность продукта. Их количество зависит от содержания в исходном сырье. Кроме того, существенное влияние могут оказывать технологические режимы переработки (степень измельчения, температура, наличие антиоксидантов, активность ферментов полифенолоксидазы и пероксидазы) [12]. Физико-химические показатели соков шести сортов мелкоплодных яблок, выращиваемых на территории Южного Прибайкалья, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Физико-химические показатели соков исследованных сортов

Table 1

Physicochemical characteristics of juices obtained from the studied apple varieties

Сорт яблок	Содержание сухих веществ, %	Сумма сахаров, %	Титруемая кислотность, г/дм ³	Сахаро-кислотный индекс	Витамин С, мг/100 см ³	Сумма фенольных соединений, мг/дм ³
Красноярский снегирек	12,1	11,5	7,8	15	9,5	290
Красная гроздь	13,8	12,5	7,2	17	13,7	166
Каменно-ангарская	12,8	11,5	8,7	13	12,5	180
Ранетка Пурпуровая	18,7	17,0	9,9	17	21,0	202
Ранетка Ермолаева	19,5	18,1	6,7	27	11,2	174
Веселовка	20,1	18,5	9,3	20	10,5	154

В соответствии с результатами, представленными в табл. 1, наиболее высокое содержание фенольных соединений отмечено в соке из яблок сорта Красноярский снегирек – 290 мг/дм³, в том числе 10,57 мг/дм³ приходится на долю антоцианов. Самое низкое содержание фенольных веществ – в сорте Веселовка – 154 мг/дм³, при этом сорт отличается высоким содержанием сухих веществ – 20,1 %, в том числе сахаров – 18,5 %.

Титруемая кислотность в изученных образцах варьирует от 6,7 (Ранетка Ермолаева) до 9,9 г/дм³ (Ранетка Пурпуровая).

По литературным данным, для производства соков и вина наиболее пригодными являются сорта, сахаро-кислотный индекс которых находится в диапазоне 10–20 ед., при этом хорошо ощущается кислый вкус. При коэффициенте 5–9 яблоки кажутся очень кислыми, а в диапазоне 25–30, наоборот, пресными [2, 29]. В изучаемых сортах минимальный сахарокислотный индекс (13) – у сорта ранетка Каменно-ангарская, а максимальный (20) – у сорта Веселовка.

На содержание витамина С большое влияние оказывают сезонные погодные условия. В среднем оно составляет 15–20 мг/100 см³. Макси-

мальное содержание витамина С (21,0 мг/100 см³) найдено в соке, приготовленном из ранетки Ермолаева, что вдвое выше, чем в соке из яблок Красноярский снегирек (9,5 мг/100 см³).

Для брожения выбрали сок сорта Красноярский снегирек. Динамика процесса накопления этанола показана на рис. 1. Использование древесной щепы при брожении позволяет дрожжевым клеткам закрепляться на поверхности щепы, быстро наращивать биомассу, что способствует ускорению процесса брожения.

Согласно данным диаграммы, образование этанола в обоих виноматериалах происходило активнее в период начального брожения и медленнее – в период дображивания. Процесс брожения виноматериала на щепе (образец 1) закончился на 7-е сутки, на 72 ч быстрее, чем в контроле (образец 2), бродившем в аналогичных условиях без щепы. Этому способствовало создание на поверхности древесины более благоприятных условий для развития дрожжевых клеток вследст-

⁸ Ильчибаева И.Б. Технологическое значение органических соединений в виноделии: учеб. пособие. Новочеркасск: Изд-во ЮРГТУ, 2007. 112 с.

вие сорбции на древесине физиологически активных соединений: *p*-активных фенольных веществ, аминокислот и других стимуляторов роста. Кроме того, щеп благоприятно влияла на газовый режим, ускоряя вы-

деление CO₂. Окончание брожения отслеживали путем измерения количества остаточного сахара. Физико-химические показатели готовых образцов вин представлены в табл. 2.

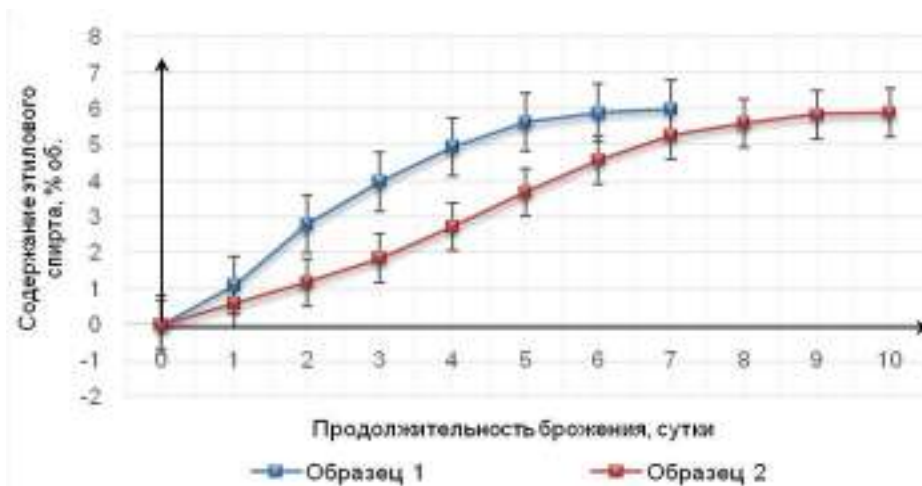


Рис. 1. Динамика накопления этанола в образцах

Fig. 1. Ethanol accumulation in samples

Таблица 2

Физико-химические показатели образцов вин

Table 2

Physicochemical characteristics of wine samples

Показатель	Образец виноматериала	
	1	2
Титруемая кислотность в пересчете на яблочную, г/дм ³	7,60	7,50
Массовая концентрация суммы сахаров, г/100 см ³	0,20	0,15
Массовая концентрация летучих кислот, г/дм ³	0,15	0,20
Объемная доля этилового спирта % об.	5,90	6,00
Массовая концентрация железа, мг/дм ³	1,40	1,70
Массовая концентрация суммы фенольных соединений, мг/дм ³	538,90	1914,70

Как видно из данных, представленных в табл. 2, по содержанию этанола существенных различий не наблюдается: 5,9 % – в образце 1, 6,0 % – в контроле, при остаточном сахаре 0,2 и 0,15 г/дм³ соответственно. По мере накопления этилового спирта в бродящем сусле происходило незначительное понижение титруемой кислотности: с 7,8 – в соке (см. табл. 1) до 7,6 – в образце 1 и до 7,5 – в образце 2. Активная кислотность (pH) в образце 1 колебалась в пределах 3,2–3,9. Окислительно-восстановительный (Eh) потенциал в первый день брожения резко снизился с 340 до 155 мВ, в конце брожения составил 160 мВ. В контроле (образец 2) снижался только до 170 (на 3-й день) и в конце снова вырос до 210 мВ. Известно, что в начале брожения снижение Eh происходит в результате потребления растворенного кислорода активными дрожжами и выделения в среду восстанавливающих веществ (глутатиона и цистеина). Учи-

тывая, что при брожении на щепе (образец 1) концентрация дрожжей выше, снижение Eh потенциала наблюдается больше. Причиной более низкого Eh потенциала в образце 1 в конце брожения могло быть вызвано снижение массовой концентрации фенольных соединений, которые принимают активное участие в окислительно-восстановительных процессах, являясь субстратом окисления. Окисление полифенолов до хинонов имеет высокий Eh (714 мВ) и приводит к увеличению окислительно-восстановительного потенциала вина во втором образце из-за их большей концентрации.

При брожении на щепе (образец 1) наблюдали изменение оптических характеристик виноматериала по сравнению с контролем (рис. 2), что, по-видимому, связано с замедлением окислительных процессов за счет сорбции красящих оттенка окраски (образец 1 – 2,4 нм; образец 2 – 2,1 нм). Эти оптические характеристики явля-

ются критериальными показателями дегустационной оценки винной продукции. По этим особенностям можно судить о типе вина, его качестве, возрасте и наличии недостатков.

Другим подтверждением протекания процесса сорбции красящих и фенольных соединений на поверхности щепы служат результаты измерения содержания фенольных сое-

динений по отношению к контролю. Измерения показали снижение фенольных веществ более чем в 3 раза (с 1,915 в образце 2 до 0,539 мг/100 см³ в образце 1, в том числе содержание мономерных – с 0,479 (образец 2) до 0,141 (образец 1) и полимерных с 1,436 (образец 2) до 0,398 мг/100 см³ (образец 1)).



a



b

**Рис. 2. Окраска виноматериала на третьи сутки брожения:
a – бродящего на древесной щепе (образец 1); b – контрольный (образец 2)**

**Fig. 2. Color of wine material on the third day of fermentation:
a – fermentation on wood chips (sample 1); b – control wine material (sample 2)**

Данные о компонентном составе фенольных соединений в экстрактах сока и виноматериалов были получены на основе хроматографирования эфирной фракции образцов путем извлечения выбранного ионного тока (EIC, extracted ion chromatogram) из полного ионного тока (TIC). Экстрагировать фенольные соединения из растительного сырья можно различными методами и растворителями. Для таких образцов, как кожура и мякоть яблок (а также и винограда⁷) используют водно-спиртовые и водно-ацетоновые смеси [30, 31]. Для анализа жидких сред (яблочные соки и вино) возможно применение адсорбции полифенолов на полиамиде [30, 31] или экстракция диэтиловым эфиром или этилацетатом [32 и др.]. Поэтому в эксперименте выбран именно этот растворитель.

Компонентный состав фенольных соединений в виноматериалах приведен в сравнении с ранее полученными данными для сока из яблок сорта Красноярский снегирек [23] и представлен в табл. 3.

Из приведенных в табл. 3 данных видно, что в составе сока было идентифицировано 15 фенольных соединений. В их состав входят фенол-

карбоновые кислоты (3), дигидрохалконы (3), флаван-3-олы (2), флавонолы и их гликозиды (7).

Обнаруженные в соке три фенолкарбоновые кислоты (хлорогеновая, кофейная, паракумарилхинная), характеризуются, по данным литературных источников, антимикробным [12, 28], противоопухолевым [13, 14] и антиоксидантным [9–11] действиями. Эти кислоты частично сохраняются в виноматериалах и оказывают положительное воздействие на здоровье человека. Однако кофейная кислота в виноматериалах не была обнаружена, что может быть связано со снижением ее концентрации в результате окисления и взаимодействия с компонентами вина, что согласуется с литературными данными. Известно, что она чаще встречается в виде эфиров с органическими кислотами (хинной, яблочной, винной) [35]. Присутствие хлорогеновой кислоты (эфир кофейной и хинной кислот) служит этому подтверждением.

Из дигидрохалконов в соке найдены характерный для сидровых сортов яблок флоридзин [36–38], флоретин и 2'-О-силозидфлоретина. Эти же соединения найдены в составе виноматериалов после окончания брожения.

Таблица 3

Изменение состава фенольных соединений сока и готовых виноматериалов

Table 3

Composition of phenolic compounds of juice and wine materials

Фенольное соединение	Брутто	TR(MS), мин	[M+H]+теор.	УФ _{max} , нм	Сок	Образец вина	
						1	2
Фенолкарбоновые кислоты:							
хлорогеновая кислота (1)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	4,1	355,102	326	+	+	+
кофейная кислота (3,4-диоксикоричная кислота) (2)	C ₉ H ₈ O ₄	5,0	181,050	325	+	—	—
паракумаровая кислота (оксикоричная кислота) (3)	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	6,1	339,107	312	+	+	+
Производные дигидрохалконов:							
2'-О-ксилозид-флоретина (4)	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₄	14,2	569,187	284	+	+	+
флоридзин (5)	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀	15,1	437,144	284	+	+	+
флоретин (2,4,6,4'-тетрагидроксидигидро-халкон) (6)	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	15,4	275,091	286	+	+	+
Флаван-3-олы:							
(+)-катехин (7)	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	9,5	291,086	278	+	—	+
(-)-эпикатехин (8)	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	12,6	291,086	278	+	+	+
Флавонолы и их гликозиды:							
кверцетин (9)	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	17,2	303,050	372	+	+	+
3-О-глюкозид-кверцетина (изокверцитрин) (10)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	13,1	465,103	354	+	+	+
3-О-галактозид кверцетина (11)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	13,4	465,103	355	+	+	+
3-О-ксилозид кверцетина (12)	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	13,3	435,092	356	+	—	+
3-О-арабинозид кверцетина (13)	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	13,9	435,092	354	+	+	+
3-О-рамнозид кверцетина(кверцитрин) (14)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	14,6	449,108	350	+	+	+
3-О-рутинозид кверцетина (рутин) (15)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	12,5	611,161	356	+	+	+

Из идентифицированных флаван-3-олов в соке и контрольном виноматериале (образец 2) обнаружены (+)катехин (7) и его изомер (-)эпикатехин (8), в образце 1, сброженном на щепе, — только (-)эпикатехин. Отсутствие (+)катехина (7) может быть связано со снижением его концентрации ниже пороговой чувствительности прибора за счет сорбции на щепе. По литературным данным, эти соединения склонны к димеризации [39]. (+)Катехин образует два димера: продельфинидин и процианидин В3. Эти соединения, взаимодействуя с белками, могут приводить к образованию коллоидных помутнений в соке и вине [40].

Известно, что флавонолы образуют большое число разнообразных гликозидов, которые чаще всего представлены производными кверцетина, кемферола и мерицетина [1]. По полученным данным, в образцах присутствуют кверцетин (9) и пять его гликозидов: 3-О-глюкозид кверцетина (10), 3-О-галактозид кверцетина (11), 3-О-ксилозид кверцетина (12), 3-О-арабинозид кверцетина (13), 3-О-рамнозид кверцетина (кверцитрин) (14), 3-О-рутинозид кверцетина (рутин) (15). Эти соединения относятся к физиологически активным фитонутриентам, способствуя долголетию, выносливости и укреплению иммунитета, поскольку ингибируют окисление холестерина и являются факторами, снижающими риск развития сердечно-сосудистых и ряда других заболеваний [39, 41].

По нормируемым показателям оба образца вин соответствовали требованиям ГОСТ Р 31820 «Сидры. Общие технические условия». Однако яблочное вино, сброженное на щепе (образец 1), получило более высокую дегустационную оценку — 8,9 балла, в сравнении с контролем (образец 2) — 8,2 балла (по 10 бальной шкале). Образец 1 отличался более светлой соломенной окраской и хорошо выраженным сортовым ароматом яблок. Вкус мягкий, гармоничный с легкой горчинкой, характерной для сидра.

ВЫВОДЫ

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что все исследованные сорта мелкоплодных яблок, выращиваемых в Прибайкалье, являются перспективным сырьем для производства соков и вина, имеют оригинальные вкусовые характеристики и высокое содержание биологически активных веществ (фенольные соединения, витамин С).

В составе сока из яблок сорта Красноярский снегирек идентифицировано 15 полифенольных соединений, представленных фенолкарбоновыми кислотами (3), дигидрохалконами (3), флаван-3-олами (2) и флавонолами (7). Наличие этих веществ свидетельствует о высокой физиологической ценности продукта.

Показано повышение качественных характеристик вина, полученного брожением на древесной щепе (на 0,7 балла дегустационная

оценка выше по сравнению с контролем). Изменились оптические характеристики вина – интенсивность окраски снизилась на 0,382 нм (образец 1 – 0,115 нм; образец 2 – 0,507 нм), а оттенок окраски показал изменение на 0,3 нм (образец 1 – 2,4 нм; образец 2 – 2,1 нм).

Продолжительность процесса брожения при использовании древесной щепы сократилась на 72 ч.

При брожении на щепе общее содержание фенольных веществ снизилось в 3 раза (с 1,915 в образце 2 до 0,539 мг/100 см³ в образце 1, в

том числе содержание мономерных форм – с 0,479 (образец 2) до 0,141 (образец 1) и полимерных – с 1,436 (образец 2) до 0,398 мг/100 см³ (образец 1)).

Изменился состав фенольных соединений в сравнении с контролем в виноматериале, сброженном на щепе: не выделены 3-(+)катехин (7) и О-арабинозидкверцетина (13).

В целом можно отметить высокую перспективность использования приведенных сортов яблок в производстве высококачественных белых натуральных вин.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Вечер А.С., Юрченко Л.А. Сидры и яблочные игристые вина (химия и технология). М.: Пищевая промышленность. 1976. 134 с.
2. Агеева Н.М. Стабилизация виноградных вин: теоретические аспекты и практические рекомендации: монография. Краснодар: Северо-Кавказский зональный науч.-исслед. ин-т садоводства и виноградарства Россельхозакадемии, 2007. 251 с.
3. Древова С.С., Гураль Л.С., Ткаченко Д.П. Оптимальные методы оценки белковых помутнений игристых вин // Пищевая наука и технология. 2015. Т. 9. N 2. С. 56–63.
4. Pocock K.F., Waters E.J. Protein haze in bottled white wines: how well do stability tests and bentonite fining trials predict haze formation during storage and transport? // Australian Journal of Grape and Wine Research, 2006. Vol. 12. Issue 3. P. 212–220. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2006.tb00061.x>
5. Muhlack R.A., O'Neill B.K., Waters E.J., Colby C.B. Optimal conditions for controlling haze-forming wine protein with bentonite treatment: investigation of matrix effects and interactions using a factorial design // Food and Bioprocess Technology. 2016. Vol. 9. Issue 6. P. 936–943. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1682-5>
6. Lambri M, Dordoni R, Silva A, De Faveri DM. Odor-active compound adsorption onto bentonite in a model white wine solution. *Chem. Eng Trans.* 2013;32:1741–1746. <https://doi.org/10.3303/ACOS1311021>
7. Marangon M., Luchetta M., Duan D., Stockdale V.J., Hart A., Rogers P.J., et al. Protein removal from a Chardonnay juice by addition of carrageenan and pectin // Australian Journal of Grape and Wine Research. 2012. Vol. 18. N 2. P. 194–202. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2012.00187.x>
8. Гержикова В.Г., Аникина Н.С., Погорелов Д.Ю., Червяк С.Н., Михеева Л.А. Оценка эффективности поликомпонентных сорбентов методом ранжирования // Научные труды Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства. 2015. Т. 8. С. 243–248
9. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. Structure – Antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids // Free Radical Biology and Medicine. 1996. Vol. 20. N 7. P. 933–956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
10. Piazzon A., Vrhovsek U., Masuero D., Mattivi F., Mandoj F., Nardini M. Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and of the acyl glucuronide of ferulic acid // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2012. Vol. 60. N 50. P. 12312–12323. <https://doi.org/10.1021/jf304076z>
11. Ferreira I.C.F.R., Barros L., Abreu R.M.V. Antioxidants in wild mushrooms // Current Medicinal Chemistry. 2009. Vol. 16. N 2. P. 1543–1560. <https://doi.org/10.2174/092986709787909587>
12. Alves M.J., Ferreira I.C.F.R., Froufe H.J.C., Abreu R.M.V., Martins A., Pintado M. Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies // Journal of Applied Microbiology. 2013. Vol. 115. N 2. P. 346–357. <https://doi.org/10.1111/jam.12196>
13. Yagasaki K., Miura Y., Okauchi R., Furuse T. Inhibitory effects of chlorogenic acid and its related compounds on the invasion of hepatoma cells in culture // Cytotechnology. 2000. Vol. 33. N 1-3. P. 229–235.
14. Heleno S.A., Ferreira I.C.F.R., Calheta R.C., Esteves A.P., Martins A., Queiroz M.J.R.P. Cytotoxicity of *Coprinopsis atramentaria* extract, organic acids and their synthesized methylated and glucuronate derivatives // Food Research International. 2014. Vol. 55. P. 170–175. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.012>
15. Денисенко Т.А., Вишникин А.Б., Цыганок Л.П. Спектрофотометрическое определение суммы фенольных соединений в растительных объектах с использованием хлорида алюминия, 18-молибдодифосфата и реактива Фолина – Чокальтеу // Аналитика и контроль. 2015. Т. 19. N 4. С. 373–380. <https://doi.org/10.15826/analitika.2015.19.4.012>
16. Дейнека В.И., Соломатин Н.М., Дейнека Л.А., Сорокопудов В.Н., Макаревич С.Л. Яблоки с красной мякотью как источник антоцианов // Химия растительного сырья. 2014. N 4. С. 163–168. <https://doi.org/10.14258/jcprm.201404205>
17. Степанова Н.Ю., Богатырев А.Н. Техно-

логическая оценка пригодности разных сортов яблок и малины для производства вина // Пищевая промышленность. 2015. N 8. С. 12–15.

18. Eisele T.A., Drake S.R. The partial compositional characteristics of apple juice from 175 apple varieties // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2005. Vol. 18. N 2–3. P. 213–221.

19. Раченко М.А., Шигарова А.М., Макарова Л.Е. Различия в количестве фенольных соединений в плодах яблонь, выращенных в Предбайкалье // *Вестник ИРГСХА*. 2016. N 72. С. 17–21.

20. Гусакова Г.С., Раченко М.А. Перспективы промышленного использования зимостойких сортов яблони Южного Прибайкалья // *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2016. N 5. С. 52–56.

21. Гусакова Г.С., Раченко М.А., Евстафьев С.Н. Перспективы промышленной переработки семечковых культур Южного Прибайкалья: монография. Иркутск: Изд-во ИРНИТУ, 2016. 156 с.

22. Гусакова Г.С., Чеснокова А.Н., Супрун Н.П., Коваль А.Н., Кузьмин А.В. Изменение состава фенольных соединений в процессе брожения яблочного сока на древесной щепе // *Фенольные соединения: свойства, активность, инновации: сборник научных статей по материалам X Международного симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты»*; отв. ред. Н.В. Загоскина (Москва, 14–19 мая 2018 г.). М.: PRESS-BOOK.RU, 2018. С. 434–438

23. Гусакова Г.С., Чеснокова А.Н., Кузьмин А.В. Физико-химические показатели и состав фенольных соединений сока из яблок, культивируемых в Прибайкалье // *Химия растительного сырья*. 2018. N 2. С. 97–104. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018023294>

24. Пат. № 2648165, Российская Федерация. МПК C12G 1/00. Способ производства яблочного столового вина / Г.С. Гусакова, С.Н. Евстафьев, Н.П. Супрун; патентообладатель ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет»; заявл. 22.09.2017; опубл. 22.03.2018, Бюл. № 9.

25. Методы технологического контроля в виноделии / под ред. В.Г. Гержиковой; 2-е изд., перераб. и доп. Симферополь: Таврида, 2009. 304 с.

26. Dibois M., Gilles K.A., Hamilton Y.K., Rebers P.A., Smith F. Colometric method for determination of sugars and related substances // *Analytical Chemistry*. 1956. Vol. 28. P. 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>

27. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent // *Methods in Enzymology*. 1999. Vol. 299. P. 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

28. Alberto M.R., Rinsdahl C.M.A., de Nadra M.M.C. Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial pathogens // *Electronic Journal of Biotechnology*. 2006. Vol. 9. N 3. P. 205–209. <https://doi.org/10.4067/S0717-34582006000300006>

29. Barcenilla J., Estrella I., Gomez-Cordoves C., Hernandez T., Hernandez L. The influence of yeasts on certain nonvolatile components of wine // *Food Chemistry*. 1989. Vol. 31. N 3. P. 177–187. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.073>

30. Suárez B., Álvarez Á.L., García Y.D., del Barrio G., Picinelli-Lobo A., Parra F. Phenolic profiles, antioxidant activity and in vitro antiviral properties of apple pomace // *Food Chemistry*. 2010. Vol. 120. N 1. P. 339–342. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.073>

31. Kunz T., Chesnokova A., Wietstock P., Lutsky V., Methner F.-J. Acylphloroglucinol glucoside from hops: isolation, identification and haze-activity // *Brewing Science*. 2012. Vol. 65. Issue 7. P. 65–71.

32. Fernandez de Simon B., Perez-Ilzabe J., Hernandez T., Gomez-Gordoves C., Estrel I. HPLC Study of the Efficiency of Extraction of Phenolic Compounds // *Chromatographia*. 1990. Vol. 30. N 1-2. P. 35–37.

33. Панасюк А.Л., Кузьмина Е.И., Егорова О.С. Изменение содержания органических кислот при производстве плодовых напитков и вин // *Пиво и напитки*. 2014. N 2. С. 36–38.

34. Иванченко К.В., Мухтаров Р.Я. Влияние изменения фенольно-кислотного показателя яблочного сусла на качественные показатели сидра газированного полуигристого // *Научные труды Южного филиала Национального университета биоресурсов и природопользования Украины «Крымский агротехнологический университет»*. Серия: Технические науки. 2011. N 138. С. 113–119

35. Кишковский З.Н., Мержаниан А.А. Технология вина. М.: Легкая и пищевая промышленность. 1984. 504 с.

36. Loyola E., Martin-Alvarez P.J., Herraiz T., Reglero G., Herraiz M. A contribution to the study of the volatile fraction in distillates of wines made from Muscat grapes (Pisco) // *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. 1990. Vol. 190. Issue 6. P. 501–505.

37. Manjarrez A., Llama M. Quantification of the volatile components of tequilas and mezcal by gas chromatography // *Rev. Soc. Quim. Mex.* 1969. Vol. 13. P. 1–5.

38. Ли Э., Пигготт Дж. Спиртные напитки: Особенности брожения и производства; пер. с англ. под общ. ред. С.Л. Панасюка. СПб.: Профессия, 2006. 552 с.

39. Siebert K.J., Carrasco A., Lynn P.Y. Formation of Protein–Polyphenol Haze in Beverages // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996. Vol. 44. Issue 8. P. 1997–2005. <https://doi.org/10.1021/jf950716r>

40. Rezk BM, Haenen GR, van der Vijgh WJ, Bast A. The antioxidant activity of phloretin: the disclosure of a new antioxidant pharmacophore in fla-

vonoids. *Biochemical and biophysical research communications*. 2002;295(1):9–13. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00618-6](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00618-6)

41. Роговский В.С., Матюшин А.И., Шиманов-

ский Н.Л. Перспективы применения препаратов кверцетина для профилактики и лечения атеросклероза // *Международный медицинский журнал*. 2011. Т. 17. N 3. С. 114–118.

REFERENCES

1. Vecher AS, Yurchenko LA. *Ciders and sparkling apple wines (chemistry and technology)*. Moscow: Pishchevaya promyshlennost'; 1976. 134 p. (In Russian)
2. Ageeva NM. *Stabilization of grape wines: theoretical aspects and practical recommendations*. Krasnodar: North Caucasian Zonal Scientific Research Institute of Gardening, Viticulture and Wine-making of the Russian Agricultural Academy; 2007. 251 p. (In Russian)
3. Drevova SS, Gural' LS, Tkachenko DP. Optimal methods for evaluating the protein clouding of sparkling wines. *Pishchevaya nauka i tekhnologiya = Food Science and Technology* 2015;9(2):56–63. (In Russian)
4. Pocock KF, Waters EJ. Protein haze in bottled white wines: how well do stability tests and bentonite fining trials predict haze formation during storage and transport? *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 2006;12(3):212–220. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2006.tb00061.x>
5. Muhlack RA, O'Neill BK, Waters EJ, Colby CB. Optimal conditions for controlling haze-forming wine protein with bentonite treatment: investigation of matrix effects and interactions using a factorial design. *Food and Bioprocess Technology*. 2016;9(6):936–943. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1682-5>
6. Lambri M, Dordoni R, Silva A, De Faveri DM. Odor-active compound adsorption onto bentonite in a model white wine solution. *AIDIC Conference Series*. The Italian Association of Chemical Engineering. 2013;32:1741–1746. <https://doi.org/10.3303/ACOS1311021>
7. Marangon M, Luchetta M, Duan D, Stockdale VJ, Hart A, Rogers PJ, et al. Protein removal from a Chardonnay juice by addition of carrageenan and pectin. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 2012;18(2):194–202. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2012.00187.x>
8. Gerzhikova VG, Anikina NS, Pogorelov DYU, Chervyak SN, Mikheeva LA. Estimation of efficiency of polycomponent's sorbents by ranking method. *Nauchnye trudy Severo-Kavkazskogo zonal'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta sadovodstva i vinogradarstva*. = Proceedings of North Caucasian Zonal Scientific Research Institute of Gardening, Viticulture and Wine-making of the Russian Agricultural Academy. 2015;8:243–248. (In Russian)
9. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure – Antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 1996;20(7):933–956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
10. Piazzon A, Vrhovsek U, Masuero D, Mativi F, Mandoj F, Nardini M. Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and of the acyl glucuronide of ferulic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(50):12312–12323. <https://doi.org/10.1021/jf304076z>
11. Ferreira ICFR, Barros L, Abreu RMV. Antioxidants in wild mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*. 2009;16(2):1543–1560. <https://doi.org/10.2174/092986709787909587>
12. Alves MJ, Ferreira ICFR, Froufe HJC, Abreu RMV, Martins A, Pintado M. Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies. *Journal of Applied Microbiology*. 2013;115(2):346–357. <https://doi.org/10.1111/jam.12196>
13. Yagasaki K, Miura Y, Okauchi R, Furuse T. Inhibitory effects of chlorogenic acid and its related compounds on the invasion of hepatoma cells in culture. *Cytotechnology*. 2000;33(1-3):229–235.
14. Heleno SA, Ferreira ICFR, Calheta RC, Esteves AP, Martins A, Queiroz MJRP. Cytotoxicity of *Coprinopsis atramentaria* extract, organic acids and their synthesized methylated and glucuronate derivatives. *Food Research International*. 2014;55:170–175. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.012>
15. Denisenko TA, Vishnikin AB, Tsiganok LP. Spectrophotometric determination of phenolic compounds sum in plants using aluminum chloride, 18-molybdodiphosphate and Folin – Ciocalteu reagents. *Analitika i kontrol = Analytics and Control*. 2015;19(4):373–380. (In Russian) <https://doi.org/10.15826/analitika.2015.19.4.012>
16. Deineka VI, Solomatin NM, Deineka LA, Sorokopudov VN, Makarevich SL. Red-flesh apples as a source of anthocyanins. *Khimija rastitel'nogo syr'ya*. = Chemistry of plant raw materials. 2014;4:163–168. (In Russian) <https://doi.org/10.14258/jcpm.201404205>
17. Stepanova NYu, Bogatyrev AN. Technological Suitability Evaluation of Different Varieties of Apples and Raspberries for Wine. *Rastitel'noe syr'e i produkty ego pererabotki* = Plant raw materials and products of its processing. 2015;8:12–15. (In Russian)
18. Eisele TA, Drake SR. The partial compositional characteristics of apple juice from 175 apple varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2005;18(2–3):213–221.
19. Rachenko MA, Shigarova AM, Makarova LE. Differences in the number of phenolic compounds in the fruits of apple trees grown in the Prebaikalia. *Vestnik IrGSKhA*. = Proceedings of Irkutsk Agricultural Academy. 2016;72:17–21. (In Russian)

20. Gusakova GS, Rachenko MA. Industrial use perspectives of winter-hardy varieties apple from Southern Baikal region. *Vestnik Rossiiskoi sel'skokhozyaistvennoi nauki* = Vestnik of Russian agricultural science. 2016;5:52–56. (In Russian)
21. Gusakova GS, Rachenko MA, Evstaf'ev SN. *Prospects for the industrial processing of pome crops in the southern Baikal region*. Irkutsk: Irkutsk National Research Technical University; 2016. 156 p. (In Russian)
22. Gusakova GS, Chesnokova AN, Suprun NP, Koval' AN, Kuzmina AV. Izmnenie sostava fenol'nykh soedinenii v protsesse brozheniya yablochnogo soka na drevesnoi shchepe = Changes in the composition of phenolic compounds during the fermentation of apple juice on wood chips. In: *Fenol'nye soedineniya: svoystva, aktivnost', innovatsii: sbornik nauchnykh statei po materialam X Mezhdunarodnogo simpoziuma "Fenol'nye soedineniya: fundamental'nye i prikladnye aspekty"* = Phenolic compounds: properties, activity, innovations: Proceedings of the X International Symposium "Phenolic compounds: fundamental and applied aspects". 14–19 May 2018, Moscow. Moscow: PRESS-BOOK.RU, 2018:434–438. (In Russian)
23. Gusakova GS, Chesnokova AN, Kuzmina AV. Physicochemical characteristics and phenolic composition of juice from apples cultivated in the Baikal region *Khimiya Rastitelnogo Syrya*. = Chemistry of plant raw materials. 2018;2:97–104. (In Russian) <https://doi.org/10.14258/jcpm.2018023294>
24. Gusakova GS, Evstaf'ev SN, Suprun NP. Method of producing apple table wine. Patent RF, no. 2648165; 2017. (In Russian)
25. Gerzhikova VG. *Methods of technical chemistry control in winemaking*. Simferopol': Tavrida; 2009. 304 p. (In Russian)
26. Dibois M, Gilles KA, Hamilton YK, Rebers PA, Smith F. Colometric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 1956;28:350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
27. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*. 1999;299:152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)90017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)90017-1)
28. Alberto MR, Rinsdahl CMA, de Nadra MMC. Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial pathogens. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2006;9(3):205–209. <https://doi.org/10.4067/S0717-34582006000300006>
29. Barcenilla J, Estrella I, Gomez-Cordoves C, Hernandez T, Hernandez L. The influence of yeasts on certain nonvolatile components of wine. *Food Chemistry*. 1989;31(3):177–187. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(89\)90056-3](https://doi.org/10.1016/0308-8146(89)90056-3)
30. Suárez B, Álvarez ÁL, García YD, del Barrio G, Picinelli-Lobo A, Parra F. Phenolic profiles, antioxidant activity and in vitro antiviral properties of apple pomace. *Food Chemistry*. 2010;120(1):339–342. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.073>
31. Kunz T, Chesnokova A, Wietstock P, Lutsky V, Methner F-J. Acylphloroglucinol glucoside from hops: isolation, identification and haze-activity. *Brewing Science*. 2012;65(7):65–71.
32. Fernandez de Simon B, Perez-Ilzabe J, Hernandez T, Gomez-Gordoves C, Estrel I. HPLC Study of the Efficiency of Extraction of Phenolic Compounds. *Chromatographia*. 1990;30(1-2):35–37.
33. Panasyuk AL, Kuzmina EI, Egorova OS. Change Organic Acid Content of Various Fruit Raw Material for Producing Beverages and Wines. *Pivo i napitki* = Beer and beverages. 2014;2:36–38. (In Russian)
34. Ivanchenko KV, Mukhtarov RY. Influence of change phenolic-acid index of apple must on high-quality characteristics of semi sparkling cider. *Nauchnye trudy Yuzhnogo filiala Natsional'nogo universiteta bioresursov i prirodopol'zovaniya Ukrainy "Krymskii agrotekhnologicheskii universitet". Seriya: Tekhnicheskie nauki*. = Proceedings of the Southern branch of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine "Crimean Agrotechnological University". Series: Engineering. 2011;138:113–119. (In Russian)
35. Kishkovskii ZN, Merzhanian AA. *Wine Technology*. Moscow: Legkaya i pishchevaya promyshlennost'; 1984. 504 p. (In Russian)
36. Loyola E, Martin-Alvarez PJ, Herraiz T, Reglero G, Herraiz M. A contribution to the study of the volatile fraction in distillates of wines made from Muscat grapes (Pisco). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. 1990;190(6):501–505.
37. Manjarrez A., Llama M. Quantification of the volatile components of tequilas and mezcal by gas chromatography. *Rev. Soc. Quim. Mex.* 1969;13:1–5.
38. Lea AGH, Piggott JR. *Fermented Beverage Production*. New-York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2003. (Russ. ed.: Li E, Piggott D. *Spirtnye napitki: Osobennosti brozheniya i proizvodstva*. St. Petersburg: Professiya; 2006. 552 p.)
39. Siebert KJ, Carrasco A, Lynn PY. Formation of Protein–Polyphenol Haze in Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996;44(8):1997–2005. <https://doi.org/10.1021/jf950716r>
40. Rezk BM, Haenen GR, van der Vijgh WJ, Bast A. The antioxidant activity of phloretin: the disclosure of a new antioxidant pharmacophore in flavonoids. *Biochemical and biophysical research communications*. 2002;295(1):9–13. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00618-6](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00618-6)
41. Rogovsky VS, Matyushin AI, Shimanovsky NL. The prospects of quercetin and its derivatives administration for prevention and treatment of atherosclerosis. *Mezhdunarodnyi meditsinskii zhurnal*. = International medical journal. 2011;17(3):114–118. (In Russian)

Критерии авторства

Супрун Н.П., Гусакова Г.С., Раченко М.А., Чеснокова А.Н., Чупарина Е.В., Немчинова А.И., Макаров С.С. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Супрун Н.П., Гусакова Г.С., Раченко М.А., Чеснокова А.Н., Чупарина Е.В., Немчинова А.И., Макаров С.С. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Гусакова Галина Семеновна,

к.с.-х.н., доцент,
кафедра химии и пищевой технологии
им. профессора В.В. Тутуриной,
Институт высоких технологий,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
✉e-mail: gusakova58@mail.ru

Супрун Наталья Петровна,

аспирант,
кафедра химии и пищевой технологии
им. профессора В.В. Тутуриной,
Институт высоких технологий,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: suprun_np@mail.ru

Раченко Максим Анатольевич,

к.б.н., заведующий оранжереей,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
e-mail: bigmks73@rambler.ru

Чеснокова Александра Николаевна,

к.х.н., заведующая лабораториями,
кафедра химии и пищевой технологии
им. профессора В.В. Тутуриной,
Институт высоких технологий,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: chesnokova@istu.edu

Contribution

Natalya P. Suprun, Galina S. Gusakova, Maxim A. Rachenko, Alexandra N. Chesnokova, Elena V. Chuparina, Alena I. Nemchinova, Sviatoslav S. Makarov carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Natalya P. Suprun, Galina S. Gusakova, Maxim A. Rachenko, Alexandra N. Chesnokova, Elena V. Chuparina, Alena I. Nemchinova, Sviatoslav S. Makarov have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

AUTHORS' INDEX

Galina S. Gusakova,

Cand. Sci. (Agriculture), Associate Professor,
Department of Chemistry and Food Technology,
Institute of High Technologies,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
✉e-mail: gusakova58@mail.ru

Natalya P. Suprun,

Postgraduate Student,
Department of Chemistry and Food Technology,
Institute of High Technologies,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: suprun_np@mail.ru

Maxim A. Rachenko,

Cand. Sci. (Biology), Head of Orangery,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk 664033,
Russian Federation,
e-mail: bigmks73@rambler.ru

Alexandra N. Chesnokova,

Cand. Sci. (Chemistry), Head of Laboratories,
Department of Chemistry and Food Technology
Institute of High Technologies,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: chesnokova@istu.edu

Чупарина Елена Владимировна,
к.х.н., старший научный сотрудник,
Институт геохимии
им. А.П. Виноградова СО РАН,
664033 г. Иркутск, ул. Фаворского, 1а,
Российская Федерация,
e-mail: lchup@igc.irk.ru

Немчинова Алена Игоревна,
аспирант,
кафедра химии и пищевой технологии
им. профессора В.В. Тутуриной,
Институт высоких технологий,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: sibvin@list.ru

Макаров Святослав Станиславович,
магистрант,
Институт высоких технологий,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: makarov@mail.ru

Elena V. Chuparina,
Cand. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,
Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS,
1A, Favorsky St., Irkutsk 664033,
Russian Federation,
e-mail: lchup@igc.irk.ru

Alena I. Nemchinova
Postgraduate Student,
Department of Chemistry and Food Technology,
Institute of High Technologies,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: sibvin@list.ru

Sviatoslav S. Makarov
Master student,
Institute of High Technologies,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: makarov@mail.rumakarov@mail.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 66.021.3:66.063

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-737-749>

Особенности мощностных и массообменных характеристик биореактора с дисковыми перфорированными мешалками

© Р.Б. Хабибрахманов, С.Г. Мухачев

Казанский национальный исследовательский технологический университет,
г. Казань, Республика Татарстан, Российская Федерация

Резюме: Продуктивность биореактора при реализации аэробных процессов биосинтеза зависит от интенсивности массообмена кислорода. Исследованы дисковые мешалки с перфорированной поверхностью, которые обеспечивают увеличение поверхности контакта газовой и жидкой фаз. Экспериментально установлено, что мощностные характеристики дисковых мешалок с отогнутыми сегментами и секторами зависят от угла наклона рабочих поверхностей. Для многоярусных мешалок показано, что при возрастании расстояния между ярусами в диапазоне 0–1,4 от диаметра мешалки показатель степени при числе ярусов в выражении суммарной мощности пропорционален величине указанного расстояния. При расстоянии между ярусами, превышающем диаметр мешалки в 1,5 и более раз, суммарная мощность равна сумме мощностей одиночных мешалок. Энергетическая эффективность процесса массообмена кислорода резко снижается при уменьшении расстояния между ярусами. Показатель эффективности процесса массопередачи кислорода зависит от соотношения аэрации и мощности мешалки и имеет вид кривой с насыщением. Анализ всей совокупности полученных экспериментальных зависимостей позволяет сделать вывод о том, что интенсивный и одновременно энергоэффективный процесс массообмена кислорода может быть обеспечен при малом отношении диаметра аппарата к его высоте, использовании многоярусных мешалок с расстоянием между ярусами, превышающими диаметр мешалки, и при удельной аэрации не менее 3 мин^{-1} . Дисковые перфорированные мешалки могут быть рекомендованы к использованию в конструкциях биореакторов, их применение предпочтительно в процессах наработки биомасс аэробных микроорганизмов, в том числе при выращивании посевных культур с высокой плотностью. Режимы, обеспечивающие достижение высокой плотности популяции аэробных микроорганизмов при скоростях массообмена кислорода, превышающих $10 \text{ кгO}_2/\text{м}^3 \cdot \text{ч}$, характеризуются относительно невысокой энергоэффективностью ($1\text{--}1,2 \text{ кгO}_2/\text{кВт} \cdot \text{ч}$).

Ключевые слова: мешалка, перфорация, коэффициент мощности, коэффициент массопередачи кислорода, массообмен, энергоэффективность

Информация о статье: Дата поступления 28 июля 2019 г.; дата принятия к печати 5 декабря 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Хабибрахманов Р.Б., Мухачев С.Г. Особенности мощностных и массообменных характеристик биореактора с дисковыми перфорированными мешалками // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9, N 4. С. 737–749. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-737-749>

Power and mass exchange characteristics of a bioreactor equipped with disk perforated mixers

Rinat B. Khabibrakhmanov, Sergey G. Mukhachev

Kazan National Research Technological University, Kazan, Republic of Tatarstan, Russian Federation

Abstract: In the implementation of aerobic biosynthesis processes, the productivity of a bioreactor depends on the intensity of oxygen mass transfer. Disk mixers with a perforated surface, providing an increase in the contact surface of the gas and liquid phases, were studied. The power characteristics of disk mixers with bent segments and sectors was experimentally established to depend on the slope of the working surfaces. For

multi-tier mixers, the exponent regarding the number of tiers in the expression of total power was determined to be proportional to the value of the distance between tiers in the range of specified distance equal to 0–1.4 of the diameter of the mixer. At a distance between tiers exceeding the diameter of the mixer by 1.5 or more times, the total power is equal to the sum of the powers of single mixers. The energy efficiency of the process of oxygen mass transfer decreases sharply with decreasing distance between tiers. The efficiency indicator of the oxygen mass transfer depends on the ratio of aeration and power of the mixer, demonstrated in the form of a saturation curve. An analysis of the obtained experimental dependences supports a conclusion concerning the intensive and energy-efficient process of oxygen mass transfer obtained by ensuring a small ratio of the diameter of the unit to its height, use of multi-tier mixers with a distance between tiers greater than the diameter of the mixer and specific aeration of at least 3 min^{-1} . Perforated disk mixers can be recommended for use in bioreactor designs with the optimal implementation in the processes of aerobic microorganism production, including the cultivation of high-density seed crops. At oxygen mass transfer rates exceeding $10 \text{ kgO}_2/\text{m}^3 \cdot \text{h}$, modes ensuring the achievement of a high population density of aerobic microorganisms are characterised by relatively low energy efficiency ($1\text{--}1.2 \text{ kg O}_2/\text{kWh}$).

Keywords: mixer, perforation, power factor, oxygen mass transfer coefficient, mass transfer, energy efficiency

Information about the article: Received July 28, 2019; accepted for publication December 5, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Khabibrakhmanov R.B., Mukhachev S.G. Power and mass exchange characteristics of a bioreactor equipped with disk perforated mixers. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):737–749. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-737-749>

ВВЕДЕНИЕ

Производительность биологических реакторов определяется плотностью популяции микроорганизмов-продуцентов. Вместе с тем при повышении плотности культуры возникают затруднения в обеспечении клеток газообразными компонентами питания. В случае аэробных культур таким компонентом является кислород. Исследование мощностных и массообменных характеристик биореакторов необходимо для решения задач энергосбережения и интенсификации абсорбции кислорода в аэробных процессах биосинтеза. Одним из типов мешалок, обеспечивающих интенсификацию процессов массообмена кислорода в условиях повышенных концентраций биомассы микроорганизмов, являются дисковые мешалки с перфорированными наклонными поверхностями [1, 2]. Однако технические характеристики мешалок данного типа исследованы недостаточно. В то же время известно, что мешалки с наклонными поверхностями имеют большую энергетическую эффективность по сравнению с турбиной Раштона [3]. Целью настоящей работы являлось получение экспериментальных зависимостей, отражающих связи между конструктивными и режимными параметрами аппаратов с дисковыми перфорированными мешалками.

Обозначения.

d_M – диаметр мешалки, мм;
 β – угол наклона сегментов, секторов, радиан;
 S_M – общая площадь мешалки, см^2 ;
 S_L – площадь сегментов, секторов, см^2 ;
 $S_{LM} = 100 \cdot S_L / S_M$ – доля площади лопастей от общей площади мешалки, %;

S_O – площадь перфорации, см^2 ;
 $S_{OL} = 100 \cdot S_O / S_L$ – доля площади перфорации от площади сегментов, %;
 $S_{LZ} = \sin(\beta_R) \cdot S_L$ – проекция сегментов на вертикальную плоскость, см^2 ;
 $S_{MZ} = S_{LZ} \cdot (100 - S_{OL}) / 100$ – проекция неперфорированной поверхности на вертикальную плоскость, см^2 ;
 S_{MZm} – суммарная проекция неперфорированной поверхности m ярусов многоярусной мешалки на вертикальную плоскость, см^2 ;
 B_W – ширина отражательной перегородки, м;
 h_B – высота отражательной перегородки, м;
 n_B – количество отражательных перегородок;
 Re_M – критерий Рейнольдса;
 Eu_M – критерий Эйлера;
 V – скорость аэрации, $\text{м}^3/\text{мин}$;
 V_G – удельная аэрация, мин^{-1} ;
 V_a – относительная скорость аэрации;
 ψ – отношение проекции сегментов или секторов на вертикальную плоскость к общей площади диска;
 K_0 – коэффициент мощности для одноярусных мешалок при отсутствии перегородок;
 K_P – коэффициент мощности для одноярусных мешалок при наличии перегородок;
 $K_{\max}$ – коэффициент мощности для одноярусных мешалок при длине перегородок, равной высоте столба жидкости (H , м);
 K_N – обобщенный коэффициент мощности для одноярусных мешалок;
 L – расстояние мешалки от дна аппарата, см;
 ΔL – расстояние между ярусами многоярусной мешалки, см;

N – мощность одноярусной мешалки, Вт;
 N_{Σ} – мощность многоярусной мешалки, Вт;
 N_L – удельная мощность мешалки, Вт/л;
 N_d/N – отношение мощностей, вводимых мешалкой в аэрируемую и неаэрируемую среды;
 I – ток в цепи якоря двигателя привода мешалки, А;
 m – число ярусов многоярусной мешалки;
 y – показатель степени при числе ярусов многоярусной мешалки;
 w – параметр эффективности, кгО₂/кВт·ч;
 u – режимный параметр, м³/кВт·мин;
 n – угловая скорость вращения мешалки, мин⁻¹;
 E – энергетическая эффективность массо-передачи кислорода, кгО₂/кВт·ч;

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Конструктивные параметры биореактора и встроенных элементов.

Известен ряд конструктивных решений элементов биореактора, обеспечивающих интенсивный режим аэрации и массообмена кислорода. К таким конструкциям относится и многоярусная дисковая мешалка с перфорированными поверхностями [1, 4]. В отличие от турбинной мешалки с наклонными лопастями, для которой

характерно уменьшение мощности в 3 раза при изменении угла наклона от 60 до 30° [5], мощность дисковой мешалки уменьшается в 2,5 раза. Диски имеют отогнутые сегменты (рис. 1, а) или секторы, образующие гофры (рис. 1, б) с перфорированной поверхностью, за счет чего осуществляется режим разнонаправленных пульсаций и диспергация газового потока с возникновением мелкоячеистой динамической пены. Интенсификация массообмена кислорода обеспечивается при этом за счет существенного увеличения поверхности контакта фаз.

Угол наклона рабочих поверхностей является основной технической характеристикой мешалок данного типа. Перфорация представляет собой конические отверстия (усеченный конус, большее основание которого на каждой половине диска с отгибами и на каждой половине гофра обращено в сторону набегающего потока).

Геометрические параметры исследованных ярусов дисковой мешалки представлены в табл. 1, где № 1–5 – диски с отогнутыми сегментами, № 6 – «гофрированный» диск. Параметры отражательных перегородок: количество – 4, ширина – 15 мм, высота – 142 мм, расстояние нижнего края перегородки от днища – 70 мм.



a



b

Рис. 1. Мешалки различной конструкции с перфорированной поверхностью

Fig. 1. Stirrers of various design with perforated surface

Геометрия ярусов дисковых мешалок

Таблица 1

Disk stirrer geometry

Table 1

Параметр	Конструкция яруса мешалки					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Диаметр, мм	100	100	100	100	100	100
Угол наклона, град.	10°	17°	23°	35°	55°	20°
Площадь лопастей (сегменты, секторы), см ²	53,8	53,8	53,8	53,8	53,8	64,4
Доля площади лопастей, % от общей площади мешалки	68,5	68,5	68,5	68,5	68,5	82,0
Проекция лопастей на вертикальную плоскость, см ²	9,3	15,7	21,0	30,9	44,1	22,0
Доля площади перфорации лопастей, %	15,8	15,8	15,8	15,8	15,8	13,2
Проекция неперфорированной поверхности на вертикальную плоскость, см ²	7,9	13,2	17,7	26,0	37,1	19,1
Отношение проекции сегментов или секторов на вертикальную плоскость к общей площади диска	0,10	0,17	0,23	0,33	0,47	0,24

Конструктивные параметры реактора, мм: внутренний диаметр – 150; высота отбортовки днища – 70; высота царги с рубашкой теплообмена – 210; высота крышки с полусферической верхней частью – 150.

Измеряемые и регулируемые параметры: скорость вращения мешалки (тахометр-частотомер фирмы ОВЕН); ток и напряжение в цепи ротора (тестер); расход воздуха (ротаметр РС-3); концентрация растворенного кислорода и температура жидкости (Мультитест); концентрация кислорода в отработанном воздухе (газоанализатор ГАММА-100); расход отработанного воздуха (барабанный счетчик Р7000); температура жидкости и газа (ДТС015-50М, терморегулятор ТРМ210, ОВЕН).

Мощностные характеристики биореактора с дисковыми мешалками.

Эксперименты по исследованию мощностных характеристик мешалок проводились при заливе жидкости (дистиллированная вода) в объеме 5 дм³, а по исследованию массообменных характеристик – при заливе 3 дм³ жидкости.

Характеристики аппарата с одно- и многоярусными дисковыми мешалками исследовались при режимах работы, соответствующих потребности аэробных микроорганизмов в кислороде. Мощность, вводимая в жидкость или газо-жидкостную среду, определялась по разности мощностей при работе мешалки в среде и в воздухе при каждом значении скорости вращения. При этом ток в цепи статора стабилизировался во всех случаях на одном уровне. Величины мощностей на валу перемешивающего устройства определялись на основе экспери-

ментально полученной зависимости крутящего момента от тока в цепи якоря. Крутящий момент определялся с помощью цифрового динамометра в трех повторностях при прямом и обратном медленном вращении вала с установленным шкивом диаметром 100 мм и питании цепи якоря от стабилизатора тока.

Значение критерия Рейнольдса в проведенных экспериментах находилось в диапазоне 62 000–310 000.

Критериальные зависимости для аппаратов с дисковыми мешалками при наличии отражательных перегородок и без них представлены на рис. 2.

Подобные зависимости в координатах критериев Рейнольдса и Эйлера для мешалок известных типов (турбинная, лопастная, якорная, рамная, пропеллерная и др.) имеют в области рассчитанных значений критерия Рейнольдса $(0,6-3,2) \cdot 10^5$ вид наклонных прямых [4]. Мощностные характеристики дисковых мешалок с углом наклона рабочих поверхностей менее 27° отличаются тем, что критерий Эйлера не зависит от величины критерия Рейнольдса (автомодельная область, рис. 2). Таким образом, дисковые мешалки с малым углом наклона лопастей качественно близки к мешалкам турбинного типа, для которых автомодельная область наблюдается в диапазоне значений критерия Рейнольдса, превышающих 10^4 [6]. Характер зависимости $Eu_M = F(Re_M)$ одинаков как при наличии, так и отсутствии отражательных перегородок. При этом абсолютные значения критерия Эйлера для дисковых мешалок ниже, чем для мешалок других типов.

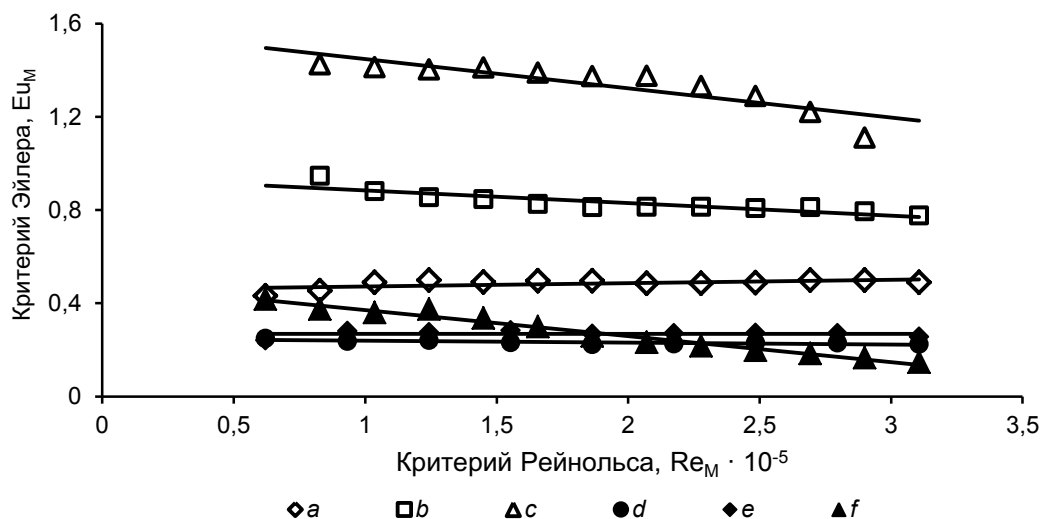


Рис. 2. Экспериментальные критериальные зависимости для одноярусных мешалок: с отражательными перегородками (a – мешалка № 3; b – мешалка № 4; c – мешалка № 5); без отражательных перегородок (d – мешалка № 2; e – мешалка № 3; f – мешалка № 5)

Fig. 2. Experimental criterial dependence for single-tier stirrers: with baffles (a – stirrer no. 3; b – stirrer no. 4; c – stirrer no. 5); without baffles (d – stirrer no. 2; e – stirrer no. 3; f – stirrer no. 5)

В соответствии с известным выражением мощность мешалки равна [7, 8]

$$N = K_N \cdot \rho \cdot n^3 \cdot d^5 \quad (1)$$

Экспериментально полученные значения мощности одноярусных мешалок при варьировании скорости вращения, удельной аэрации и установке их на расстоянии от днища, равному диаметру мешалки, представлены в табл. 2.

Мощность при увеличении аэрации снижается тем значительнее, чем выше угол наклона ра-

бочей поверхности мешалки, что связано с характером изменения газосодержания, определяющего эффективную плотность газо-жидкостной среды.

Мощность одноярусных мешалок при варьировании расстояния от днища аппарата показана в табл. 3.

Как видно из данных, представленных в табл. 3, коэффициент мощности K_N одноярусных мешалок находится в линейной зависимости от расстояния между центром диска мешалки и днищем аппарата (рис. 3).

Таблица 2

Мощности одноярусных мешалок, $L/d_M = 1$

Table 2

Power of single-tier stirrers, $L/d_M = 1$

Угловая скорость вращения мешалки, n , мин ⁻¹	Удельная величина аэрации, V_G , мин ⁻¹	Мощность одноярусной мешалки, N , Вт			
		№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
400	0	1,34	2,79	4,20	2,66
600	0	4,96	8,51	13,96	9,87
800	0	11,69	19,48	32,74	22,54
1000	0	22,34	37,47	63,31	44,13
1200	0	38,82	64,28	102,56	78,98
1400	0	63,00	100,36	140,23	118,97
400	1,0	1,48	2,39	2,61	3,11
600	1,0	3,69	7,53	9,85	9,43
800	1,0	11,38	16,50	27,67	21,54
1000	1,0	21,39	33,15	55,05	41,33
1200	1,0	35,38	57,12	87,56	71,11
1400	1,0	57,56	87,57	118,65	109,19
400	2,5	1,26	1,67	2,82	2,75
600	2,5	3,69	4,73	7,84	7,09
800	2,5	8,27	10,22	16,39	15,64
1000	2,5	15,81	18,01	30,32	28,01
1200	2,5	26,35	29,37	49,72	46,74
1400	2,5	43,33	44,09	76,54	72,64

Таблица 3

Удельные мощности одноярусных мешалок, Вт/л

Table 3

Specific power of single-tier stirrers, W / L

Угловая скорость вращения мешалки n , мин ⁻¹	Конструкция яруса мешалки					
	№ 3	№ 4				№ 5
	Расстояние мешалки от днища аппарата L , см					
	15,5	5,5	8,0	10,5	15,5	5,5
400	0,31	0,30	0,24	0,38	0,39	0,40
500	0,43	0,62	0,61	0,75	0,77	0,90
600	0,67	1,06	1,03	1,32	1,29	1,64
700	1,07	1,73	1,69	2,03	2,18	2,64
800	1,53	2,58	2,41	2,95	3,15	3,86
900	2,17	3,56	3,39	4,04	4,42	5,58

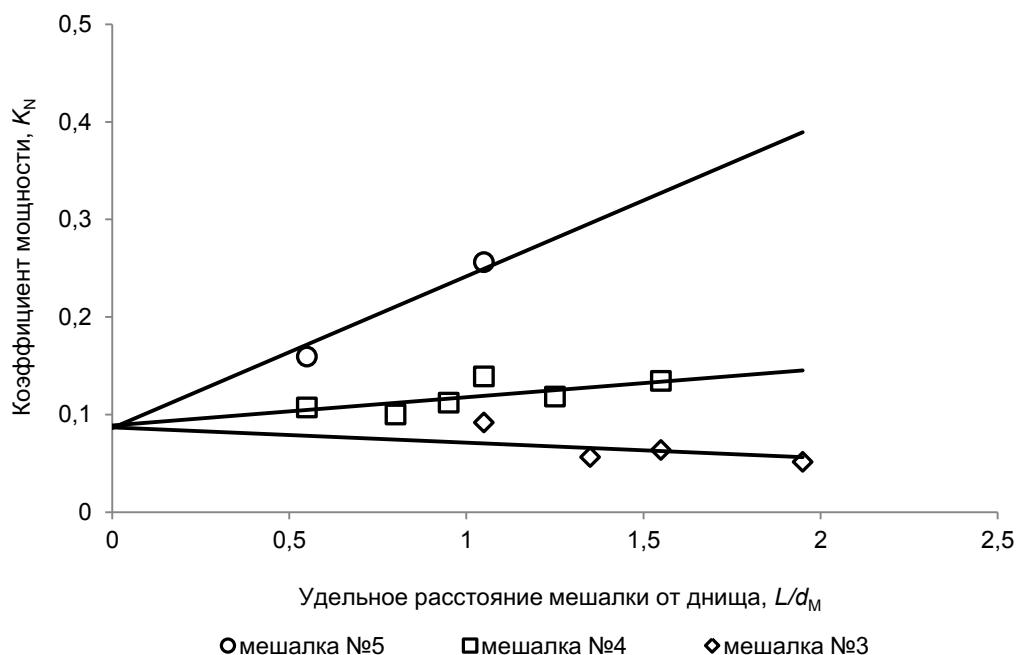


Рис. 3. Зависимость коэффициентов мощности от расстояния мешалки до днища аппарата

Fig. 3. Relationship between power factors and distance from stirrer to apparatus bottom

Данные получены при отсутствии аэрации и усреднении значений коэффициента мощности при варьировании скорости вращения мешалки. Эксперименты реализованы в 3–4 повторностях. Общее число замеров составило 154 для мешалок № 3–5. Наклон графиков полученных зависимостей положителен при углах отгиба секторов более 27–28°. При меньших углах наклона рабочих поверхностей мешалки коэффициент мощности K_N почти не зависит от расстояния между мешалкой и дном аппарата. При приближении мешалок к дну аппарата все линии полученных зависимостей сходятся к одной точке, $K_N(0) \approx 0,087$.

Сравнение параметров одноярусных дисковых мешалок с мешалками других конструкций было проведено на основе корреляционной зависимости, предложенной Haruki Furukawa с сотрудниками (Нагойский технологический институт, Япония) [9]. Указанная корреляционная зависимость обобщает результаты испытаний 7 конструкций мешалок различного типа, имеет вид кривой с насыщением и построена в координатах X – Y :

$$X = \frac{4,5(B_w/D) \cdot (h_B/H) \cdot n_B^{0,8}}{[(2\beta/\pi)^{0,72} \cdot K_{max}^{0,2}]} + K_0/K_{max};$$

$$Y = K_p/K_{max}.$$

Авторы подчеркивают универсальный характер предложенной ими корреляции. Характерные точки по оси абсцисс для турбинных,

пропеллерных, лопастных, шнековых и якорных мешалок расположены в диапазоне от $X = 0,4$ до $X = 1,2$. Нами были рассчитаны значения X и Y для одноярусных дисковых мешалок № 3 и 5 при различной скорости вращения в неаэрированной среде. Все полученные точки легли на указанную корреляционную зависимость. Отличие дисковых мешалок проявилось в том, что характерные точки легли на линию насыщения в область значений X выше 1,2 (погрешность не превышала 3 %). Таким образом, полученные нами данные полностью подтверждают адекватность корреляционной модели, предложенной авторами работы [9].

Одной из мощностных характеристик механических мешалок является отношение мощностей, вводимых мешалкой в аэрируемую и неаэрируемую среды (N_a/N). Это отношение существенно зависит от типа мешалки и относительной скорости аэрации – $V_a = V/(60 \cdot n \cdot d_M)$ [10–13]. Для исследуемых одноярусных мешалок зависимость представлена для скорости вращения 800 и 1400 мин^{–1} (рис. 4, А и 4, В соответственно). Имеет место качественное различие характеристик, полученных для двух групп дисковых мешалок – с углом наклона меньше и больше 27°.

В табл. 4. приведены значения удельной мощности для двухъярусной конструкции № 4 при установке нижнего яруса на расстоянии 5,5 см от днища аппарата и отсутствии аэрации.

Мощность трехъярусных мешалок представлена в табл. 5.

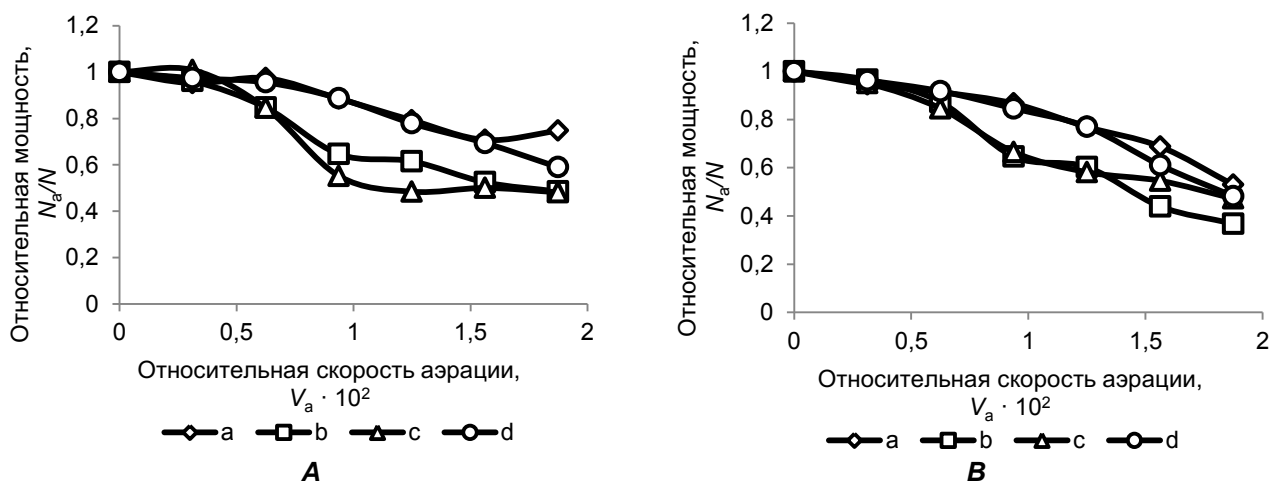


Рис. 4. Зависимость отношения мощностей от относительной скорости аэрации при скорости вращения 800 мин⁻¹ (А) и 1400 мин⁻¹ (В):
 а – мешалка № 3; б – мешалка № 4; с – мешалка № 5; d – мешалка № 6

Fig. 4. Relationship between power ratio and relative aeration rate at rotational velocity 800 min⁻¹ (A) and 1400 min⁻¹ (B):
 a – stirrer no. 3; b – stirrer no. 4; c – stirrer no. 5; d – stirrer no. 6

Таблица 4

Мощность двухъярусных мешалок № 4

Table 4

Power of two-tier stirrers no. 4

Угловая скорость вращения мешалки, n , мин ⁻¹	Расстояние между ярусами мешалки, ΔL , см	Расстояние верхней мешалки от днища аппарата, L_2 , см	Удельная мощность мешалки, N_L , кВт/м ³
500	2,5	8,0	0,73
	5,0	10,5	0,91
	10,0	15,5	1,14
600	2,5	8,0	1,25
	5,0	10,5	1,51
	10,0	15,5	1,95
700	2,5	8,0	1,96
	5,0	10,5	2,49
	10,0	15,5	3,11
800	2,5	8,0	2,91
	5,0	10,5	3,67
	10,0	15,5	4,66

Таблица 5

Мощности трехъярусных мешалок

Table 5

Power of three-tier stirrers

Ярусы мешалки	n , мин ⁻¹	N_L , кВт/м ³ , эксперимент	N_L , кВт/м ³ , расчет
№ 4 + № 4 + № 3	400	0,54	0,56
	500	1,10	1,02
	600	1,85	1,71
	700	2,85	2,72
	800	4,23	3,97
	900	6,05	5,49
№ 5 + № 4 + № 3	400	0,79	0,67
	500	1,36	1,27
	600	2,36	2,22
	700	3,70	3,51
	800	6,07	5,09
	900	7,66	7,20

Как следует из данных о мощности одноярусных и многоярусных мешалок (см. табл. 3–5), мощность в расчете на один ярус многоярусной мешалки меньше мощности одноярусной мешалки, что согласуется с результатами экспериментов других авторов [14, 15].

Для многоярусных мешалок с числом ярусов m было показано, что в выражении суммарной мощности $N_{\Sigma} = [(\Sigma N_i) / m] \cdot m^y$ показатель

степени y при числе ярусов m зависит от отношения расстояния между ярусами к диаметру мешалки – $\Delta L / d_M$ (рис. 5). Эта зависимость линейна и для исследованных конструкций дисковых мешалок имеет вид:

$$y = (a \cdot \Delta L / d_M) \cdot (S_{MZm} / S_{MZ2}),$$

где $a = 0,71$.

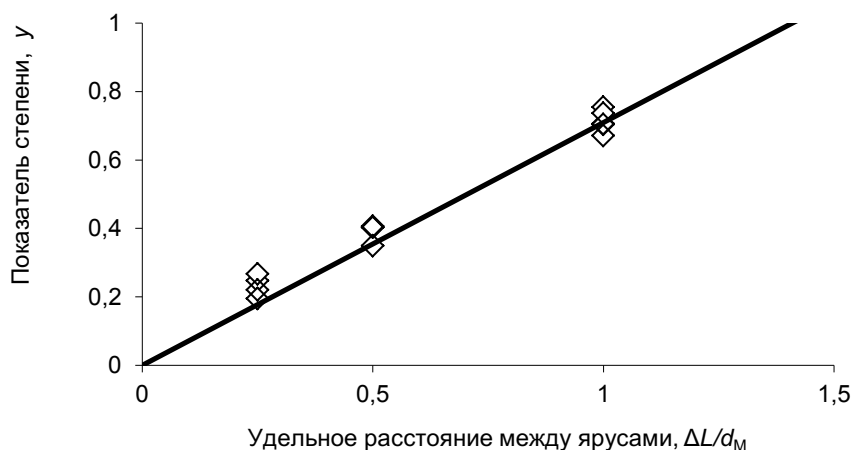


Рис. 5. Зависимость показателя степени при числе ярусов мешалки от относительного расстояния между ярусами

Fig. 5. Relationship between the exponent at number of stirrer tiers and the relative distance between the tiers

Предельное значение показателя степени при числе ярусов мешалки равно 1. Это значение достигается при $\Delta L / d_M \geq 1,444$. Расчеты были выполнены исходя из соотношения мощностей многоярусных мешалок (N_{Σ}) и среднего значения мощностей одноярусных мешалок $N_{cp} = (\Sigma N_i) / m$, установленных на соответствующих расстояниях от днища аппарата.

Таким образом, при удалении ярусов друг от друга на расстояние $1,5 \cdot d_M$ они «работают независимо», то есть суммарная мощность многоярусной мешалки в этом случае равна сумме мощностей отдельных одиночных ярусов [16].

При сближении ярусов (в пределе до нуля) мощность многоярусной мешалки стремится к среднему значению для одноярусной конструкции со средним углом наклона рабочих поверхностей.

Массообменные характеристики биореактора с дисковыми мешалками.

Предельные массообменные характеристики аппарата с дисковыми перфорированными мешалками были получены с использованием сульфитной методики.

Определение сульфитного числа проводилось следующими способами [17]:

1. На основе измерения расходов газовых потоков (воздуха) на входе и выходе аппарата, приведенных к нормальным условиям:

$$V_{in}^n = V_{in} \cdot P \cdot 273,2 / (760 \cdot (273,2 + T)); \quad (2)$$

$$V_{out}^n = V_{out} \cdot P \cdot 273,2 / (760 \cdot (273,2 + T)); \quad (3)$$

Объемный расход кислорода равен:

$$V_{O_2} = V_{in}^n - V_{out}^n; \quad (4)$$

Сульфитное число рассчитывается по формуле

$$R_{O_2} = 60 \cdot V_{O_2} \cdot 32 / (22,4 \cdot V_L); \quad (5)$$

2. На основе баланса инертных компонентов газового потока:

$$V_{in}^n = V_{in}^n \cdot 0,21 - V_{out}^n \cdot C_{O_2}; \quad (6)$$

$$V_{O_2} = 60 \cdot V_{O_2} \cdot 32 / (22,4 \cdot V_L); \quad (7)$$

$$R_{O_2} = 60 \cdot V_{O_2} \cdot 32 / (22,4 \cdot V_L); \quad (8)$$

3. На основе времени окисления фиксированной дозы сульфита натрия:

$$R_{Na_2SO_3} = M_{Na_2SO_3} / \Delta t; \quad (9)$$

$$R_{O_2} = (16 / 126) \cdot (R_{Na_2SO_3} / V_L); \quad (10)$$

где V_{in} – расход воздуха на входе в аппарат, измеряемый ротаметром РСЗ, $\text{дм}^3/\text{мин}$; V_{out} – расход отработанного воздуха на выходе из аппарата, измеряемый газовым барабанным счетчиком РГ 7000, $\text{дм}^3/\text{мин}$; V_{in}^n и V_{out}^n – расходы газовых потоков на входе и выходе аппарата, приведенные к нормальным условиям, $\text{н дм}^3/\text{мин}$; V_{O_2} – расход кислорода, $\text{дм}^3/\text{мин}$; V_L – объем жидкости в аппарате (3 дм^3); R_{O_2} – сульфитное число, $\text{кгO}_2/\text{м}^3 \cdot \text{ч}$; C_{O_2} – объемная доля кислорода в отработанном воздухе; $M_{Na_2SO_3} = 112,5$ – масса навески сульфита натрия, г; Δt – время окисления дозы сульфита натрия, ч; $16/126$ – стехиометрическое соотношение масс кислорода и сульфита натрия по реакции окисления.

Расчеты величин сульфитного числа, выполненные по указанным выше алгоритмам ((2)–(5), (6)–(8) и (9)–(10)) дают близкие значения. Относительные погрешности по этим методам составили соответственно 2,92; 2,08 и 2,87 % [17].

Определение сульфитного числа было

реализовано в двух группах экспериментов:

- 1) при примерно постоянной вводимой мощности одноярусной мешалкой (табл. 6);
- 2) при различных скоростях вращения трехъярусной мешалки (ярусы № 2+№ 4+№ 4) (табл. 7).

В экспериментах исследовались режимы аэрации и перемешивания, необходимые для обеспечения жизнедеятельности плотных культур аэробных микроорганизмов, обеспечивающих высокую продуктивность биореакторов.

Энергетическая эффективность E процесса массопередачи кислорода при относительно малой величине удельной аэрации – 1 мин^{-1} , возрастает с увеличением угла наклона рабочей поверхности одноярусной мешалки, а при больших значениях аэрации – снижается (см. табл. 6 и 7). При всех реализованных значениях аэрации эффективность трехъярусной мешалки снижается с увеличением скорости вращения (соответственно, при возрастании мощности мешалки). Однако эти зависимости выражены слабо.

Таблица 6

Параметры массообмена кислорода при одноярусной мешалке

Table 6

Oxygen mass exchange parameters in single-tier stirrer

Номер эксперимента	Тип мешалки	$V_G, \text{мин}^{-1}$	$n, \text{мин}^{-1}$	$N, \text{Вт}$	$R_{O_2}, \text{кгO}_2/\text{м}^3 \cdot \text{ч}$	$E, \text{кгO}_2/\text{кВт} \cdot \text{ч}$
1	№ 2	1	1870	19,74	8,50	0,43
		2	2000	16,84	14,27	0,84
		3	2050	17,26	15,54	0,89
2	№ 4	1	1800	18,27	8,69	0,48
		2	1940	16,45	12,01	0,72
		3	2050	17,14	14,24	0,82
3	№ 5	1	1670	18,88	9,81	0,52
		2	1750	17,76	10,91	0,61
		3	1870	18,66	14,27	0,75

Таблица 7

Параметры массообмена кислорода при трехъярусной мешалке

Table 7

Oxygen mass exchange parameters in three-tier stirrer

Номер эксперимента	$V_G, \text{мин}^{-1}$	$n, \text{мин}^{-1}$	$N, \text{Вт}$	$R_{O_2}, \text{кгO}_2/\text{м}^3 \cdot \text{ч}$	$E, \text{кгO}_2/\text{кВт} \cdot \text{ч}$
4	1	700	3,96	3,36	0,84
	2	700	3,67	3,49	0,92
	3	700	3,23	4,36	1,25
5	1	1200	14,95	8,46	0,56
	2	1200	13,70	11,66	0,84
	3	1200	13,01	10,78	0,81
6	1	1700	33,63	10,48	0,31
	2	1700	31,86	16,09	0,50
	3	1700	30,69	12,26	0,40

Обработка всей совокупности результатов экспериментов с одноярусными и многоярусными мешалками привела к следующему корреляционному выражению связи между геометрическими и режимными параметрами:

$$w = w_{\max} \cdot u / (0,3 + u), \quad (11)$$

где $u = V_G / [(tg\beta)^{0,5} \cdot N_L]$; $w = E \cdot m^{0,14}$; $w_{\max} = 1,5$.

Полученный при исследовании массообмена кислорода график данной экспериментальной зависимости приведен на рис. 6.

С увеличением расхода газа в расчете на единицу мощности мешалки энергетическая эффективность возрастает, при этом величина w асимптотически приближается к пределу $w_{\max} / m^{0,14}$, лежащему в диапазоне 1,3–1,5 и определяемому, очевидно, всей совокупностью физических и конструктивных параметров. Это не очень высокое значение эффективности, но оно получено для достаточно высокой средней скорости абсорбции кислорода – 10,5 кгО₂/м³·ч, которая соответствует интенсивному режиму аэробного биосинтеза. По известным данным [18], максимальная скорость потребления кислорода дрожжами – продуцентами этанола, выращиваемыми в аэробных условиях, составляет 4,3 моль/кгАСБ·ч. При концентрации биомассы, равной 50 кгАСБ/м³, получаем скорость потребления кислорода 6,88 кг/м³·ч. По данным

В.В. Кафарова с соавторами, удельная скорость потребления кислорода дрожжами на н-парафинах нефти достигает 12 кг/м³·ч, а при культивировании бактерий, растущих на метане, – 16 кг/м³·ч [19].

В процессе периодического глубинного культивирования спорообразующих бактерий *B. subtilis* G-28 [20] при концентрации биомассы 21,7 кгАСБ/м³ интенсивность абсорбции кислорода достигла 11 кгО₂/м³·ч. Процесс проводился в реакторе с трехъярусной дисковой мешалкой. Рабочие поверхности сегментов ярусов имели угол атаки 10, 15 и 15° (расположение сверху вниз). Расстояние между ярусами было равно 0,5· d_M . Таким образом, мешалки данного типа в реальном процессе биосинтеза обеспечивают интенсивность массообмена кислорода, достигаемую в условиях сульфитной модели. А в пилотном биореакторе с шестиярусной мешалкой с радиально-гофрированными дисками сульфитное число превысило 24 кгО₂/м³·ч [2]. При аналогичной конструкции двухъярусной мешалки, установленной вместо турбины Раштона, в посевном биореакторе объемом 10 м³ в доливном процессе выращивания продуцента лизина *Brevibacterium* sp. ВНИИгенетика-90 на Трипольском биохимзаводе (Украина, 1993 г.) биомассу посевного материала удалось увеличить более чем в 3 раза. При этом длительность процесса возросла лишь на 3 ч – с 18 до 21 ч.

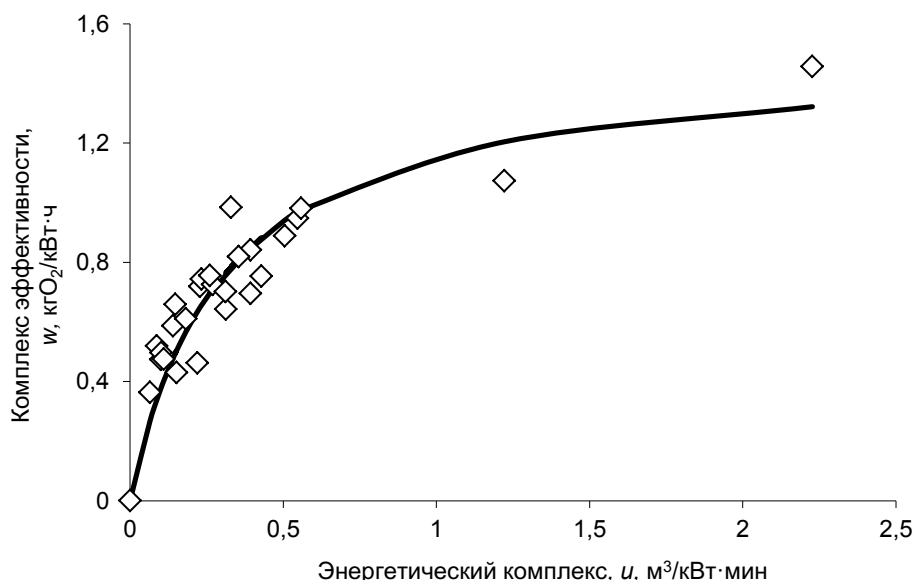


Рис. 6. Зависимость энергетической эффективности процесса массопередачи кислорода от соотношения аэрации и мощности мешалки

Fig. 6. Relationship between the energy efficiency of oxygen mass transfer and aeration ratio to stirrer power

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ всей совокупности полученных экспериментальных зависимостей позволяет сде-

лать вывод о том, что интенсивный и одновременно энергоэффективный процесс массообмена кислорода может быть обеспечен при:

– отношении диаметра аппарата к его высоте 1:2,5–1:3;

– использовании многоярусных мешалок с расстоянием между ярусами, превышающими диаметр мешалки;

– удельной аэрации не менее 2 мин⁻¹.

Дисковые перфорированные мешалки могут быть рекомендованы к использованию в конструкциях биореакторов. Режимы, обеспечивающие достижение высоких плотностей популяции

аэробных микроорганизмов при скоростях массообмена кислорода, превышающих 10 кгО₂/м³·ч, характеризуются энергетической эффективностью 1–1,2 кгО₂/кВт·ч.

Применение дисковых перфорированных мешалок с наклонными рабочими сегментами и секторами предпочтительно в процессах наработки биомасс аэробных микроорганизмов, в том числе при выращивании посевных культур с высокой плотностью.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Пат. № 2021849, Российская Федерация. Перемешивающее устройство для многофазных сред / С.Г. Мухачев, Р.И. Валеев, Ш.Г. Еникеев, В.П. Верхорулов, В.А. Шушков; заявл. 09.04.1991; опубл. 30.10.1994.
2. Мухачев С.Г., Чепегин И.В., Валеев Р.И., Еникеев Ш.Г., Джелинео А. История создания и результаты испытаний пилотного биореактора интенсивного массообмена G-1000 Сербской фирмы «GOSA» // Вестник Казанского технологического университета. 2015. Т. 18. N 23. С. 39–41.
3. Cudak M. Hydrodynamic Characteristics of Mechanically Agitated Air-Aqueous Sucrose Solutions // Chemical and Process Engineering. 2014. Vol. 35. Issue 1. P. 97–107. <https://doi.org/10.2478/cpe-2014-0007>
4. Хабибрахманов Р.Б., Мухачев С.Г. Исследование мощностных характеристик перфорированных одноярусных мешалок при варьировании аэрации // Вестник Казанского технологического университета. 2012. Т. 15. N 11. С. 172–174.
5. Major-Godlowska M., Karcz J. Power consumption for an agitated vessel equipped with pitched blade turbine and short baffles // Chemical Papers. 2018. Vol. 72. P. 1081–1088. <https://doi.org/10.1007/s11696-017-0346-x>
6. Bates R.L., Fondy P.L., Corpstein R.R. Examination of Some Geometric Parameters of Impeller Power // Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development. 1963. Vol. 2. Issue 4. P. 310–314. <https://doi.org/10.1021/i260008a011>
7. Bissel E.S., Hesse H.C., Everett H.I., Rusthon I.H. Design and use of internal devices in agitated vessels // Chemical Engineering Progress. 1947. Vol. 43. Issue 12. P. 649.
8. Кафаров В.В. Процессы перемешивания в жидких средах. М.; Л.: Госхимиздат, 1949. 88 с.
9. Haruki Furukawa, Yoshihito Kato, Yoshiro Inoue, Tomoho Kato, Yutaka Tada, Shunsuke Hashimoto. Correlation of Power Consumption for Several Kinds of Mixing Impellers // International Journal of Chemical Engineering. 2012. Vol. 2012. Article ID 106496. 6 p. <https://doi.org/10.1155/2012/106496>
10. Aerstin F., Street G. Agitation and Mixing. In: Applied Chemical Process Design. Springer, Boston, MA. 1978. P. 9–28. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3976-2_2
11. Bailey J.E., Ollis D.F. Biochemical Engineering Fundamentals. 2 Ed. New York: McGraw-Hill Book Company. 1986. 984 p.
12. Luong H.T., Volesky B. Mechanical Power Requirements of Gas-Liquid Agitated Systems // AIChE Journal. 1979. Vol. 25. Issue 5. P. 893–895. <https://doi.org/10.1002/aic.690250520>
13. Robinson C.W., Hassan I.T.M. Stirred-Tank Mechanical Power Requirement and Gas Holdup in Aerated Aqueous Phases // AIChE Journal. 1977. Vol. 23. Issue 1. P. 48–56. <https://doi.org/10.1002/aic.690230109>
14. Adamiak R., Karcz J. Effects of Type and Number of Impellers and Liquid Viscosity on the Power Characteristics of Mechanically Agitated Gas-Liquid Systems // Chemical Papers. 2007. Vol. 61. Issue 1. P. 16–23. <https://doi.org/10.2478/s11696-006-0089-6>
15. Kamieński J., Niżnik J. Mieszanie układów dwufazowych ciecz-gaz w aparatach z kilkoma mieszadłami // Inżynieria Chemiczna i Procesowa. 1999. Tom 20. Numer 3. P. 299–325.
16. Хабибрахманов Р.Б., Мухачев С.Г. Оценка влияния параметров расположения дисковых мешалок на их мощностные характеристики // Вестник технологического университета. 2017. Т. 20. N 5. С. 53–55.
17. Хабибрахманов Р.Б., Мухачев С.Г. Оценка погрешностей балансовых методов определения скорости абсорбции кислорода раствором сульфата натрия // Вестник технологического университета. 2016. Т. 19. N 1. С. 124–126.
18. Hagman A., Säll T., Piškur J. Analysis of the yeast short-term Crabtree effect and its origin // FEBS Journal. 2014. Vol. 281. P. 4805–4814. <https://doi.org/10.1111/febs.13019>
19. Кафаров В.В., Винаров А.Ю., Гордеев Л.С. Моделирование и системный анализ биохимических производств. М.: Лесная промышленность, 1985. 280 с.
20. Хабибрахманов Р.Б., Мухачев С.Г. Эффективность массопередачи кислорода в процессах культивирования *Bacillus subtilis* // Вестник технологического университета. 2018. Т. 21. N 1. С. 193–195.

REFERENCES

1. Mukhachev SG, Valeev RI, Enikeev ShG, Verchorubov VP, Shushkov VA. *Mixing device for multiphase media*. Patent RF, no. 2021849, 1994. (In Russian)
2. Mukhachev SG, Chepegin IV, Valeev RI, Enikeev ShG, Dzhelineo A. The history of the creation and test results of a pilot bioreactor of intensive mass exchange G-1000 of a Serbian company "GOSA". *Vestnik Kazanskogo Tekhnologicheskogo Universiteta* = Bulletin of the Technological University. 2015;18(23):39–41. (In Russian)
3. Cudak M. Hydrodynamic Characteristics of Mechanically Agitated Air-Aqueous Sucrose Solutions. *Chemical and Process Engineering*. 2014;35(1):97–107. <https://doi.org/10.2478/cpe-2014-0007>
4. Khabibrakhmanov RB, Mukhachev SG. Investigation of the power characteristics of perforated single-tier mixers with varying aeration. *Vestnik Kazanskogo Tekhnologicheskogo Universiteta* = Bulletin of Technological University. 2012;15(11):172–174. (In Russian)
5. Major-Godlewski M, Karcz J. Power consumption for an agitated vessel equipped with pitched blade turbine and short baffles. *Chemical Papers*. 2018;72:1081–1088. <https://doi.org/10.1007/s11696-017-0346-x>
6. Bates RL, Fondy PL, Corpstein RR. Examination of Some Geometric Parameters of Impeller Power. *Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development*. 1963;2(4):310–314. <https://doi.org/10.1021/i260008a011>
7. Bissel ES, Hesse HC, Everett HI, Ruston IH. Design and use of internal devices in agitated vessels. *Chemical Engineering Progress*. 1947;43(12):649.
8. Kafarov VV. *Mixing processes in liquid media*. Moscow, Leningrad: Goskhimizdat, 1949, 88 p. (In Russian)
9. Furukawa H, Kato Y, Inoue Y, Kato T, Tada Y, Hashimoto S. Correlation of Power Consumption for Several Kinds of Mixing Impellers. *International Journal of Chemical Engineering*. 2012; 2012. Article ID 106496. 6 p. <https://doi.org/10.1155/2012/106496>
10. Aertin F, Street G. Agitation and Mixing. In: *Applied Chemical Process Design*. Springer, Boston, MA. 1978, pp. 9–28. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3976-2_2
11. Bailey JE, Ollis DF. *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill Book Company. 1986, 984 p.
12. Luong HT, Volesky B. Mechanical Power Requirements of Gas-Liquid Agitated Systems. *AIChE Journal*. 1979;25(5):893–895. <https://doi.org/10.1002/aic.690250520>
13. Robinson CW, Hassan ITM. Stirred-Tank Mechanical Power Requirement and Gas Holdup in Aerated Aqueous Phases. *AIChE Journal*. 1977;23(1):48–56. <https://doi.org/10.1002/aic.690230109>
14. Adamiak R, Karcz J. Effects of Type and Number of Impellers and Liquid Viscosity on the Power Characteristics of Mechanically Agitated Gas-Liquid Systems. *Chemical Papers*. 2007; 61(1):16–23. <https://doi.org/10.2478/s11696-006-0089-6>
15. Kamiński J, Niżnik J. Mieszanie układów dwufazowych ciecz-gaz w aparatach z kilkoma mieszadłami. *Inżynieria Chemiczna i Procesowa* = Chemical and Process Engineering. 1999;20(3):299–325. (In Polish)
16. Khabibrakhmanov RB, Mukhachev SG. Assessment (of the influence) of the parameters of disk mixers location on their power characteristics. *Vestnik Tekhnologicheskogo Universiteta* = Bulletin of the Technological University. 2017;20(5):53–55. (In Russian)
17. Khabibrakhmanov RB, Mukhachev SG. Estimation of errors in the balance method of determining rate of oxygen absorption by solution of sodium sulphite. *Vestnik Tekhnologicheskogo Universiteta* = Bulletin of the Technological University. 2016;19(1):124–126. (In Russian)
18. Hagman A, Säll T, Piškur J. Analysis of the yeast short-term Crabtree effect and its origin. *FEBS Journal*. 2014;281: 4805–4814. <https://doi.org/10.1111/febs.13019>
19. Kafarov VV, Vinarov AU, Gordeev LS. *Modeling and system analysis of biochemical production*. Moscow: Lesnaya promyshlennost', 1985, 83 p. (In Russian)
20. Khabibrakhmanov RB, Mukhachev SG. Efficiency of oxygen mass transfer in the processes of cultivation of *Bacillus subtilis*. *Vestnik Tekhnologicheskogo Universiteta* = Bulletin of the Technological University. 2018;21(1):193–195 (in Russian)

Критерии авторства

Хабибрахманов Р.Б., Мухачев С.Г. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Хабибрахманов Р.Б., Мухачев С.Г. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Contribution

Rinat B. Khabibrakhmanov, Sergey G. Mukhachev carried out the experimental work, analyzed the experimental results and prepared the text of the manuscript. Rinat B. Khabibrakhmanov, Sergey G. Mukhachev have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Хабибрахманов Ринат Басыйрович,
старший преподаватель кафедры
химической кибернетики факультета
пищевых технологий, аспирант,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68,
Республика Татарстан, Российская Федерация,
✉e-mail: habib13@mail.ru

Мухачев Сергей Гарманович,
к.т.н., доцент кафедры химической
кибернетики факультета пищевых технологий,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68,
Республика Татарстан, Российская Федерация,
e-mail: kznsoes@yandex.ru

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

AUTHORS' INDEX

Rinat B. Khabibrakhmanov,
Senior Lecturer,
Postgraduate Student,
Department of Chemical Cybernetics,
Kazan National Research
Technological University,
68, K. Marx St., Kazan 420015,
Republic of Tatarstan, Russian Federation,
✉e-mail: habib13@mail.ru

Sergey G. Mukhachev,
Ph.D. (Engineering), Associate Professor
Department of Chemical Cybernetics,
Kazan National Research
Technological University,
68, K. Marx St., Kazan 420015,
Republic of Tatarstan, Russian Federation,
e-mail: kznsoes@yandex.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 66.085.

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-750-758>

Экспериментальное исследование СВЧ-пиролиза торфа

© Т.О. Крапивницкая^{***}, А.А. Богдашов*, А.Н. Денисенко*,
М.Ю. Глявин*, Н.Ю. Песков*, Л.Л. Семенычева^{**}, Д.Л. Ворожцов^{**}

* Институт прикладной физики РАН, г. Нижний Новгород, Российская Федерация

** Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
г. Нижний Новгород, Российская Федерация

Резюме: Работа посвящена исследованию деструкции верхового сфагнового торфа под воздействием микроволнового излучения. Для анализа физико-химических процессов создана лабораторная установка на основе коаксиального резонатора-реактора, геометрия которого обеспечивает однородное распределение СВЧ-поля в объеме реактора. В качестве источника СВЧ-излучения использовался промышленный магнетрон с частотой 2,45 ГГц мощностью до 1 кВт. При лабораторных исследованиях с относительно небольшим объемом торфа (~100 г) достоинством созданной установки является возможность быстрого достижения температуры, необходимой для осуществления реакции пиролиза при относительно малом уровне СВЧ-мощности, который в данных экспериментах составлял около 100 Вт. Анализ полученных в ходе реакции продуктов производился на хромато-масс-спектрометре. Проводимые исследования направлены на создание высокоэффективных экологически чистых технологий переработки биотоплива с высоким выходом горючих газов, пригодных для дальнейшего использования в промышленных энергетических установках, а также получения смолистой фракции для создания легких углеводородов и углеродистого остатка для современных высокоэффективных сорбентов. На основе созданной экспериментальной установки проведены исследования мягкого СВЧ-пиролиза торфа при температуре 250 °С в условиях постоянного отвода газообразных продуктов реакции. Получены и проанализированы образцы твердой, жидкой и газовой фаз, представляющие собой ценный углеродистый остаток, маслянистую фракцию и пиролизный газ. В статье анализируется возможность промышленного применения продуктов реакции. Проведено сравнение химического состава продуктов реакции при СВЧ-пиролизе и «традиционном» пиролизе с термическим нагревом. Показано, что в составе выделившихся в процессе СВЧ-пиролиза газов отсутствуют тяжелые ядовитые газы, которые во множестве сопровождают процесс «традиционного» термического пиролиза. Снижение количества ядовитых газов улучшает экологическую составляющую производства. Указанное обстоятельство свидетельствует о перспективности СВЧ-пиролиза для промышленной переработки органических материалов.

Ключевые слова: микроволновый пиролиз торфа, высокотехнологичная обработка органических материалов, мощное микроволновое излучение, возобновляемые источники энергии, энергосберегающие экологически чистые технологии

Благодарности: Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» и при поддержке гранта «Умник-2017» № 13188/2018 и программы фундаментальных научных исследований № 0035-2019-0001.

Информация о статье: Дата поступления 11 сентября 2019 г.; дата принятия к печати 5 декабря 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Крапивницкая Т.О., Богдашов А.А., Денисенко А.Н., Глявин М.Ю., Песков Н.Ю., Семенычева Л.Л., Ворожцов Д.Л. Экспериментальное исследование СВЧ-пиролиза торфа // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9, N 4. С. 750–758. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-750-758>

Microwave pyrolysis experimental study of peat

Tatiana O. Krapivnitskaia^{***}, Alexander A. Bogdashov^{*},
Andrey N. Denisenko^{*}, Mikhail Yu. Glyavin^{*}, Nikolai Yu. Peskov^{*},
Lyudmila L. Semenycheva^{**}, Dmitriy L. Vorozhtcov^{**}

^{*} Institute of Applied Physics Russian Academy of Sciences, Nizhniy Novgorod, Russian Federation

^{**} Lobachevsky State University of Nizhniy Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract: The work is devoted to the study of the destruction of the top sphagnum peat layer due to microwave radiation. For the analysis of physical and chemical processes, a laboratory setup was created on the basis of a coaxial resonator-reactor having a geometry that ensures a uniform distribution of the microwave field in the reactor volume. An industrial magnetron having a frequency of 2.45 GHz and a power of up to 1 kW was used as a source of microwave radiation. In laboratory studies with a relatively small amount of peat (~ 100 g), the advantage of the created setup consists in the ability to quickly achieve the necessary temperature for the pyrolysis reaction at a relatively low level of microwave power (~ 100 W) in these experiments. The analysis of the products obtained during the reaction was carried out using a gas chromatography mass spectrometer. The research was aimed at creating highly-efficient environmentally-friendly technologies for processing biofuels characterised by a high yield of combustible gases suitable for further use in industrial power plants, as well as for obtaining a resinous fraction for the production of light hydrocarbons and a carbon residue for modern highly efficient sorbents. On the basis of the experimental setup, studies were carried out on soft microwave pyrolysis of peat at a temperature of 250 °C under constant removal of gaseous reaction products. Samples of solid, liquid and gas phases presenting valuable carbon residues, oily fractions and a pyrolysis gas, respectively, were obtained and analysed. The article examines the possibility for industrial application of reaction products. The chemical composition of the reaction products during both microwave and "traditional" pyrolysis with thermal heating is compared. The composition of the gases released during microwave pyrolysis is characterised by the absence of heavy toxic gases often accompanying the process of "traditional" thermal pyrolysis. Reducing the amount of toxic gases improves the environmental component of production. This circumstance indicates the prospects of microwave pyrolysis for industrial processing of organic materials.

Keywords: microwave pyrolysis, peat, high-tech processing of organic materials, powerful microwave radiation, renewable energy sources, energy-saving environmentally friendly technologies

Acknowledgements: the work was carried out using the equipment of the CCP "New materials and resource-saving technologies" and with the support of the grant "Umnik-2017" No. 13188/2018 and programs of fundamental scientific research No. 0035-2019-0001.

Information about the article: Received September 11, 2019; accepted for publication December 5, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Krapivnitskaia TO, Bogdashov AA, Denisenko AN, Glyavin MYu, Peskov NYu, Semenycheva LL, Vorozhtcov DL. Microwave pyrolysis experimental study of peat. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2019;9(4): 750–758. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-750-758>

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время все большую актуальность приобретают научные исследования в области физико-химической переработки органического сырья. Для переработки органических веществ и материалов – нефти, угля, торфа, древесины, сельскохозяйственных и промышленных отходов, бытового мусора, широко используется технология пиролиза. В отличие от наиболее распространенного термического (основанного на теплопроводности от поверхностных слоев) нагрева актуальным представляется использование объемного (СВЧ) нагре-

ва материалов [1–17]. Материалом, имеющим широкий спектр практического применения и методов его переработки является торф. Торф – возобновляемый природный биоресурс, который образуется в результате естественного отмирания и неполного распада болотных растений под воздействием биологических процессов в условиях повышенной влажности и недостатка кислорода¹. Распространенным методом переработки торфа является пиролиз –

¹ Крамаренко В.В. Грунтоведение: учебник. М.: Юрайт, 2016. 430 с.

термическая деструкция органических соединений на углеводороды с меньшей молекулярной массой при воздействии высокой температуры без доступа кислорода.

В зависимости от химического состава сырья и физико-химических условий протекания реакции (температуры, давления, влажности, степени присутствия кислорода и др.) процесс пиролиза имеет специфический характер с выходом различных твердых, жидких и газообразных веществ [18, 19]. Одним из важнейших параметров, влияющим на процесс пиролиза, является температура в реакторе. В зависимости от этого выделяют три вида пиролиза: мягкий пиролиз происходит при температурах до 500 °С, нормальный (средний) – 500–800 °С, и жесткий пиролиз – 800–1100 °С. Температура определяет степень деструкции исходных веществ и состав продуктов пиролиза. С ростом температуры соотношение между тремя фазами продуктов разложения меняется: становится меньше выход жидких и твердых остатков (полукокс в случае мягкого пиролиза, кокс в двух других случаях) и увеличивается выход газов, имеющих все меньшую теплоту сгорания.

Наиболее перспективным с экологической точки зрения в настоящее время представляется извлечение органических составляющих в результате СВЧ-пиролиза, поскольку процесс микроволнового нагрева не приносит никаких загрязнений ни в обрабатываемый материал, ни в окружающую среду. Важнейшее преимущество СВЧ-воздействия также заключается в том, что электромагнитные волны проникают на значительную глубину в обрабатываемый материал и при поглощении создают объемное распределение источников тепла, обеспечивая эффективный нагрев материалов с низкой теплопроводностью. При использовании традиционной схемы теплового пиролиза теплопроводность материалов существенно влияет на скорость подвода тепла в область реакции. Поскольку при СВЧ-нагреве температурой материалов во всем объеме реактора можно оперативно управлять, изменяя мощность СВЧ-генератора, дополнительным преимуществом СВЧ-пиролиза является возможность оперативного регулирования скорости пиролитических реакций и состава продуктов на выходе из реактора.

В данной статье описывается лабораторная установка, в которой источником излучения является промышленный магнетрон, работающий на частоте 2,45 ГГц, с регулируемым уровнем выходной СВЧ-мощности. Представлены результаты исследований деструкции торфа в условиях мягкого СВЧ-пиролиза при постоянном отводе газообразных продуктов реакции. Выполнен сравнительный анализ продуктов, полученных при СВЧ-

пиролизе и при пиролизе с термическим нагревом.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для проведения экспериментов по исследованию процесса СВЧ-пиролиза в Институте прикладной физики РАН (ИПФ РАН) разработана лабораторная установка с электродинамической схемой реактора в виде коаксиального резонатора. Данная установка позволяет проводить исследования по воздействию микроволнового излучения на относительно небольшие (порядка 100 г) объемы органических материалов, достаточные для лабораторного анализа, при «бытовом» (не более 1 кВт) уровне СВЧ-мощности. В проведенных экспериментах для нагрева образцов до температур, обеспечивающих инициацию реакции пиролиза, потребовалась СВЧ-мощность на уровне 100 Вт. Выбор электродинамической схемы реактора обусловлен рядом факторов: во-первых, высокой однородностью СВЧ-поля в объеме реактора и, как следствие, равномерным прогревом материала во всем объеме реактора; во-вторых, простотой измерения физических параметров эксперимента (в частности, температура материала в различных точках, коэффициент отражения, добротность резонатора и др.); в-третьих, возможностью построения адекватной математической модели реактора для последующего численного моделирования процессов. Лабораторная установка показана на рис. 1 [20].

Источником СВЧ-излучения является промышленный магнетрон 1 с высоковольтным источником питания 2, позволяющим устанавливать заданный уровень выходной СВЧ-мощности. Передача излучения от магнетрона в реактор осуществляется с помощью гибкого коаксиального кабеля 3. Реактор представляет собой коаксиальный резонатор 4, заполняемый торфом. Для уменьшения коэффициента отражения излучения от нагруженного резонатора-реактора на рабочей частоте 2,45 ГГц производится первоначальная установка оптимальной длины резонатора. Для контроля отраженного сигнала в процессе СВЧ-пиролиза в коаксиальный тракт включен направленный ответвитель 5. Измерение температуры проводилось на внешней границе торфа с помощью термопары 6. Загрузка реактора верховым сфагновым торфом при влажности 50 % составляла в среднем 100 г. В данной серии экспериментов мощность СВЧ-излучения устанавливалась около 100 Вт. Это ограничение связано с тепловым нагревом коаксиального ввода резонатора. Коэффициент отражения от резонатора в процессе пиролиза не превышал -10 дБ. Продукты пиролиза выводились с противоположной относительно СВЧ-ввода стороны резонатора через откач-

ной порт 7. Жидкая и маслянистая фракции оседали в отстойнике, а пиролизный газ осаждался и фиксировался в криогенной ловушке. Для контроля процесса откачки газа использовались манометр 8 и газовый счетчик 9.

Достоинством данной лабораторной конструкции (с загрузкой небольшим количеством топлива) является возможность быстрого достижения температуры, необходимой для осуществления реакции мягкого пиролиза при относительно малом уровне мощности, указанном выше. Нагрев торфа на внешнем контуре уста-

новки до температуры 250 °С осуществлялся в течение 10–15 мин. Следует отметить, что особенностью используемой экспериментальной установки является значительная неоднородность СВЧ-поля в объеме реактора, приводящая к неоднородности нагрева топлива внутри объема реактора. На рис. 2 показано изменение температуры торфа вблизи стенки коаксиального резонатора в процессе пиролиза. Для предотвращения перегрева коаксиального ввода выбран момент выключения магнетрона при температуре на термопаре около 250 °С.

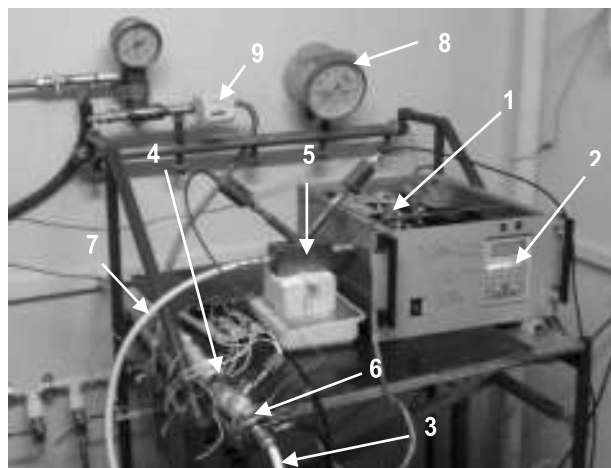


Рис. 1. Экспериментальная установка СВЧ-пиролиза торфа с коаксиальным резонатором:
1 – СВЧ-источник (промышленный 2,45 ГГц магнетрон); 2 – высоковольтный источник питания; 3 – устройство ввода СВЧ-мощности на основе коаксиального кабеля;
4 – лабораторный СВЧ-ректор на основе коаксиального резонатора;
5 – направленный ответвитель; 6 – термопара; 7 – откачной порт с охлаждением отработанных газообразных фракций; 8 – манометр; 9 – газовый счетчик

Fig. 1. Experimental installation of microwave pyrolysis of peat with coaxial resonator:
1 – microwave source - industrial 2.45 GHz magnetron; 2 – hvps; 3 – input device of microwave power on the basis of coaxial cables; 4 – laboratory microwave-rector on the basis of the coaxial resonator; 5 – directional coupler; 6 – thermocouple;
7 – evacuation port with exhaust gas cooling; 8 –manometer; 9 – gas meter

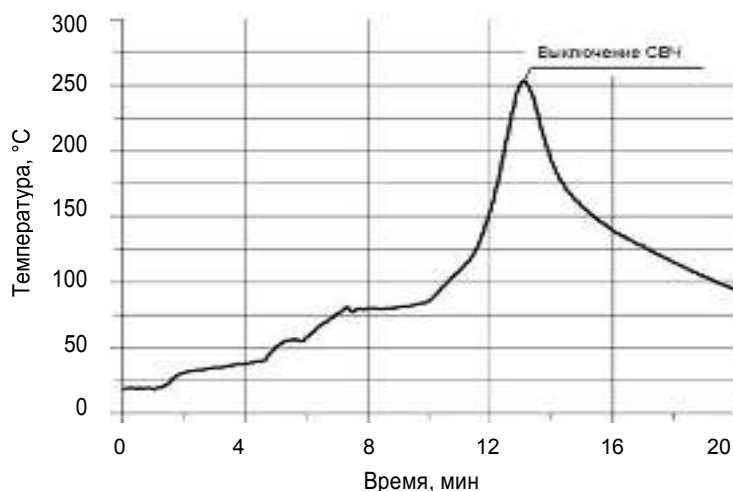


Рис. 2. Изменение температуры торфа вблизи стенки коаксиального резонатора в процессе пиролиза

Fig. 2. Changes in the peat temperature near the wall of the coaxial cavity during pyrolysis

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной серии экспериментов проводилось сравнение проб, полученных в результате «традиционного» теплового пиролиза при температуре 250 °С и СВЧ-пиролиза в условиях постоянного отвода газообразных продуктов реакции.

Анализ полученных в ходе реакции газовой и жидкой фракций производился на хромато-масс-спектрометре GCMS QP2010 Ultra (Shimadzu, США). Определение химического состава осуществлялось по пикам молекулярных и характеристических осколочных ионов. Газовую пробу пиролизата торфа объемом ~2,0 мл загружали газовым шприцом в инжектор хромато-масс-спектрометра. Образец смешивался с потоком газа-носителя (гелий 6.0) при температуре 300 °С. Далее компоненты пробы разделялись на капиллярной хроматографической колонке Ultra ALLOY-5 в течение 10 мин. Обработку результатов хромато-масс-спектрометрического анализа проводили с использованием фирменного программного обеспечения Shimadzu (GCMS Solution ver. 4.11), идентификация примесей происходила с помощью базы данных NIST 11 (The National Institute of Standards and Technology, US Department of Commerce) [3]. Результаты анализа газовой пробы представлены в табл. 1.

Таблица 1
Хромато-масс-спектрометрический анализ пиролитических газов

Table 1
Chromatography-mass spectrometry analysis of pyrolytic gases

Соединение	Термический нагрев	СВЧ-нагрев
CO ₂ +N ₂ +ect.	68,9	69,9
Пропен	15,5	—
Бутен	8,5	—
Фуран	3,7	7,7
Циклопентадиен	0,9	0,2
Гексан	0,1	0,3
2-метилфуран	0,8	0,3
Изопентаналь	0,1	5,0
Бензол	0,6	0,3
Гептан	0,1	0,9
н-Бутилвиниловый эфир	0,2	0,2
Метан	3,7	—
Этан	0,2	3,3
Пропан	2,6	0,1
Ацетальдегид	—	6,3
Ацетон	—	7,1

Измерения показали, что тяжелые ядовитые газы в процессе проводимых экспери-

ментов по СВЧ-пиролизу отсутствуют. В то же время несколько повышен выход газообразного продукта реакции. В условиях промышленного производства газообразные продукты реакции, представляющие собой горючие газы, могут быть использованы в качестве источника энергии для газогенератора электричества, что позволит сократить энергопотребление установки [20].

Маслянистую фракцию пиролизата торфа объемом 0,1 мкл загружали в инжектор хромато-масс-спектрометра. Испарение анализируемого вещества происходило в потоке газа-носителя (гелий 6.0) при температуре 250 °С. Далее компоненты образца разделялись на капиллярной хроматографической колонке ZB-FFAP в течение 30 мин. Результаты анализа представлены в табл. 2. Из общей смеси была исключена вода и произведен пересчет на 100 % масс. вещества. Эксперименты показали, что маслянистая фракция представляет собой смесь низших карбоновых кислот и ароматических углеводородов.

Таблица 2
Хромато-масс-спектрометрический анализ маслянистой фракции

Table 2
Chromatography-mass spectrometry analysis of the oily fraction

Соединение	Термический нагрев	СВЧ-нагрев
Ацетальдегид	7,33	1,18
Метанол	8,67	5,69
Ацетон	8,67	4,12
Ацетон	18,67	23,04
Уксусная кислота	16,67	19,02
5-метил-2-фуральдегид	10,00	—
Фуральдегид	30,00	—
Пропионовая кислота	—	7,55
2-формил-5-метилфуран	—	8,43
Фенол	—	3,82
Крезол	—	0,88
Муравьиная кислота	—	2,25
Фурфурол	—	24,02

В табл. 3 представлены результаты элементного анализа углеродистого остатка после СВЧ-обработки в сравнении с «традиционным» термическим нагревом. Процентный выход углерода при СВЧ-нагреве в 1,4 раза больше, чем при обычном тепловом нагреве. Повышенное содержание углерода в остатке позволяет рассчитывать на большее выделение аллотропных модификаций углерода из смеси.

Таблица 3

Углеродистый остаток в процессе пиролиза торфа

Table 3

Carbon residue in the process of peat pyrolysis

Исходный торф	Массовая доля, %			
	азот	углерод	водород	сера
Образец перед СВЧ-нагревом	1,75±0,09	60±3	7,36±0,4	менее 0,3
Образец после СВЧ-нагрева	2,47±0,12	84±4	4,9±0,3	менее 0,3
Образец после теплового нагрева	1,4	64,28	5,02	менее 0,3

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан лабораторный реактор на основе коаксиального резонатора для СВЧ-пиролиза небольших объемов органического топлива. С использованием данной установки, работающей на частоте 2,45 ГГц при уровне вводимой СВЧ-мощности около 100 Вт, при температуре около 250 °С проведены эксперименты по реализации процесса мягкого пиролиза торфа в условиях постоянного отвода газообразных продуктов реакции. Получены и проанализированы продукты пиролиза торфа: ценный углеродистый остаток, маслянистая фракция и пиролизный газ. В случае СВЧ-пиролиза содержание фракций характеризуется значительно большим набором органических соединений. Рассмотрена возможность промышленного применения указанных выше продуктов пиролиза. Пиролизный газ, содержащий метан, может использоваться либо как топливо, либо как исходное вещество для цепочки последовательных технологических процессов производства предельных ациклических углеводородов и синтетических полимеров; жидкая маслянистая фракция – как исходное вещество для выделения легких ароматических углеводородов; углеродистый остаток (содержание углерода более

60 %) – в различных сферах производства, включая производство электродов для алюминиевой промышленности и заземлителей, новых аллотропных модификаций углерода (нанотрубки, фуллерены), углеволокна, сорбентов. В составе выделившихся в процессе СВЧ-пиролиза газов, согласно проведенному химическому анализу, отсутствуют тяжелые ядовитые газы, которые во множестве сопровождают процесс традиционного термического пиролиза и затрудняют (с экологической точки зрения) его промышленное применение. Это позволяет в дальнейшем рассчитывать на перспективу использования СВЧ-пиролиза для переработки отходов вредных производств. Все вышеизложенное свидетельствует о перспективности микроволнового метода переработки торфа.

На следующем этапе работ предполагается модифицировать конструкцию реактора с увеличением мощности СВЧ-генератора и массы загружаемого материала, а также поднять температуру в реакторе для более глубокой переработки исходного вещества. Результаты данных исследований могут послужить основой для создания компактных и высокоэффективных промышленных установок для переработки органических материалов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гунич С.В., Янчуковская Е.В. Анализ процессов пиролиза отходов производства и потребления // Известия Вузов. Прикладная химия и биотехнология 2016. Т. 6. N 1 (16). С. 86–93.
2. Куряева Т.А. Исследование состава углеметановых геоматериалов с помощью СВЧ пиролиза каменного угля // Интерэкспо Гео-Сибирь. 2015. Т. 2. N 3. С. 93–96.
3. Яцун А.В., Коновалов П.Н., Коновалов Н.П. СВЧ-пиролиз изношенных автомобильных шин в присутствии гидроксида калия // Современные наукоемкие технологии. 2017. N 2 (13). С. 83–87.
4. Гунич С.В., Янчуковская Е.В., Днепровская Н.И. Анализ современных методов переработки твердых бытовых отходов // Известия Вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2015. N 2 (13). С. 110–115.
5. Полищук Т.С., Череватюк Г.В., Патрушева О.В. Использование микроволнового излучения в нефтехимии // Молодой ученый. 2017. N 2-1 (136). С. 23–27.
6. Yang J., Chen H., Zhao W., Zhou J. TG–FTIR-MS study of pyrolysis products evolving from peat // Journal of Analytical and Applied Pyrolysis. 2016. Vol. 117. P. 296–309. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2015.11.002>
7. Chen X., Che Q., Li S., Liu Z., Yang H., Chen Y., et al. Recent developments in lignocellulosic biomass catalytic fast pyrolysis: Strategies for the optimization of bio-oil quality and yield // Fuel Processing Technology. 2019. Vol. 196. 106180.
8. Makkawi Y.T., Sayed Y.El., Salih M., Nancarrow P., Banks S.W., Bridgwater T. Fast pyrolysis of date palm (*Phoenix dactylifera*) waste in a bubbling fluidized bed reactor // Renewable Energy. 2019. Vol. 43. P. 719–730. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.05.028>
9. Lam S.S., Wan Mahari W.A., Ok Y.S., Peng W., Chong C.T., Ma N.L., et al. Microwave vacuum

pyrolysis of waste plastic and used cooking oil for simultaneous waste reduction and sustainable energy conversion: Recovery of cleaner liquid fuel and techno-economic analysis // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2019. Vol. 115. P. 109359. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109359>

10. Khiari B., Jeguirim M. Tunisian agro-food wastes recovery by pyrolysis: Thermogravimetric analysis and kinetic study // 10th International Renewable Energy Congress (IREC). 26–28 March 2019, Sousse, Tunisia. <https://doi.org/10.1109/IREC.2019.8754614>

11. Zhang Y., Cheng Q., Wang D., Xia D., Zheng X., Li Z., et al. Preparation of Pyrolytic Carbon from Waste Tires for Methylene Blue Adsorption // *JOM. Journal of the Minerals, Metals and Materials Society*. 2019. Vol. 71. Issue 10. P. 3658–3666. <https://doi.org/10.1007/s11837-019-03658-7>

12. Lambert A., Anawati J., Walawalkar M., Tam J., Azimi G. Innovative Application of Microwave Treatment for Recovering of Rare Earth Elements from Phosphogypsum // *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 2018. Vol. 6. Issue 12. P. 16471–16481. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b03588>

13. Wahi R., Abdul Aziz S.M., Hamdan S., Ngaini Z. Biochar production from agricultural wastes via low-temperature microwave carbonization // *IEEE International RF and Microwave Conference*. 2015. Vol. 4. P. 250–253. <https://doi.org/10.1109/RFM.2015.7587754>

14. Klinger J., Bar-Ziv E., Shonnard D.R., Westover T., Emerson R. Predicting Properties of Gas and Solid Streams by Intrinsic Kinetics of Fast Pyrolysis of Wood // *Energy and Fuels*. 2016. Vol. 30. Issue 1. P. 318–325. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b01877>

15. Markin V.I., Cheprasova M.Yu., Bazarnova N.G. General areas of the use of a microwave

radiation for processing of plant raw materials (review) // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2015. Vol. 41. Issue 7. P. 686–699. <https://doi.org/10.1134/S1068162015070110>

16. Borges F.C., Du Z-Y., Xie Q., Trierweiler J.O., Cheng Y., Wan Y., et al. Fast microwave assisted pyrolysis of biomass using microwave absorbent // *Bioresource Technology*. 2014. Vol. 56. P. 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.038>

17. Ren S., Lei H., Wang L., Bu Q., Chen S., Wu J., et al. Microwave pyrolysis of Douglas fir sawdust pellet // *American Society of Agricultural and Biological Engineers Annual International Meeting*. 2011. Vol. 2. P. 1334–1348. <https://doi.org/10.13031/2013.37300>

18. Богдашов А.А., Крапивницкая Т.О., Песков Н.Ю. Моделирование тепловых и электродинамических процессов при СВЧ-пиролизе торфа // СВЧ-техника и телекоммуникационные технологии (КрыМиКо'2018): материалы 28-й Междунар. Крымской конф. (Севастополь, 9–15 сентября 2018 г.). Севастополь, 2018. Т. 6. С. 1381–1387.

19. Krapivnitskaia T.O., Bogdashov A.A., Denisenko A.N., Glyavin M.Yu., Kalynov Yu.K., Kuzikov S.V., et al. High-temperature microwave pyrolysis of peat as a method to obtaining liquid and gaseous fuels // *EPJ Web of Conferences*. 10th International Workshop 2017 “Strong Microwaves and Terahertz Waves: Sources and Applications”. 2017. Vol. 149. 02023. 2 p. <https://doi.org/10.1051/epjconf/201714902023>

20. Богдашов А.А., Крапивницкая Т.О., Денисенко А.Н., Песков Н.Ю., Глявин М.Ю., Семеничева Л.Л. [и др.]. СВЧ-пиролиз торфа: результаты и перспективы // СВЧ-техника и телекоммуникационные технологии (КрыМиКо'2018): материалы 28-й Междунар. Крымской конф. (Севастополь, 9–15 сентября 2018 г.). Севастополь, 2018. Т. 6. С. 1394–1399.

REFERENCES

1. Gunich SV, Yanchukovskaya EV. Analysis of processes of pyrolysis of wastes of production and consumption. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2916;6(1):86–93. (In Russian)

2. Kiryaeva TA. Analysis of coal-and-methane geomaterial composition using microwave-assisted pyrolysis of black coal. *Interespo Geo-Sibir*. 2015;2(3):93–96. (In Russian)

3. Yatsun AV, Konovalov PN, Konovalov NP. Microwave pyrolysis of scrap tires in the presence of potassium hydroxide. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii* = Modern high technologies. 2017;2(13):83–87. (In Russian)

4. Gunich SV, Yanchukovskaya EV, Dneprovskaya NI. Analysis of modern methods of hard domestic wastes processing. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings

of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2015;(2):110–115. (In Russian)

5. Polishchuk TS, Cherevatyuk GV, Patrusheva OV. The use of microwave radiation in petrochemistry. *Molodoi uchenyi* = Young scientist. 2017;(2-1):23–27. (In Russian)

6. Yang J, Chen H, Zhao W, Zhou J. TG–FTIR–MS study of pyrolysis products evolving from peat. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2016;117:296–309. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2015.11.002>

7. Chen X, Che Q, Li S, Liu Z, Yang H, Chen Y, et al. Recent developments in lignocellulosic biomass catalytic fast pyrolysis: Strategies for the optimization of bio-oil quality and yield. *Fuel Processing Technology*. 2019;196:106180.

8. Makkawi YT, Sayed YEI, Salih M, Nancarrow P, Banks SW, Bridgwater T. Fast pyrolysis of date palm (*Phoenix dactylifera*) waste in a bubbling

fluidized bed reactor. *Renewable Energy*. 2019;43: 719–730. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.05.028>

9. Lam SS, Wan Mahari WA, Ok YS, Peng W, Chong CT, Ma NL, et al. Microwave vacuum pyrolysis of waste plastic and used cooking oil for simultaneous waste reduction and sustainable energy conversion: Recovery of cleaner liquid fuel and techno-economic analysis. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2019;115:109359. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109359>

10. Khiari B, Jeguirim M. Tunisian agro-food wastes recovery by pyrolysis: Thermogravimetric analysis and kinetic study. *10th International Renewable Energy Congress (IREC)*. 26–28 March 2019, Sousse, Tunisia. <https://doi.org/10.1109/IREC.2019.8754614>

11. Zhang Y, Cheng Q, Wang D, Xia D, Zheng X, Li Z, et al. Preparation of Pyrolytic Carbon from Waste Tires for Methylene Blue Adsorption. *JOM. Journal of the Minerals, Metals and Materials Society*. 2019;71(10):3658–3666. <https://doi.org/10.1007/s11837-019-03658-7>

12. Lambert A, Anawati J, Walawalkar M, Tam J, Azimi G. Innovative Application of Microwave Treatment for Recovering of Rare Earth Elements from Phosphogypsum. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 2018;6(12):16471–16481. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b03588>

13. Wahi R, Abdul Aziz SM, Hamdan S, Ngani Z. Biochar production from agricultural wastes via low-temperature microwave carbonization. *IEEE International RF and Microwave Conference*. 2015;4:250–253. <https://doi.org/10.1109/RFM.2015.7587754>

14. Klinger J, Bar-Ziv E, Shonnard DR, Westover T, Emerson R. Predicting Properties of Gas and Solid Streams by Intrinsic Kinetics of Fast Pyrolysis of Wood. *Energy and Fuels*. 2016;30(1):318–325. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b01877>

15. Markin VI, Cheprasova MYu, Bazarnova NG. General areas of the use of a microwave radiation for processing of plant raw materials (review). *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*.

2015;41(7):686–699. <https://doi.org/10.1134/S1068162015070110>

16. Borges FC, Du Z-Y, Xie Q, Trierweiler JO, Cheng Y, Wan Y, et al. Fast microwave assisted pyrolysis of biomass using microwave absorbent. *Bioresource Technology*. 2014;156:267–274. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.038>

17. Ren S, Lei H, Wang L, Bu Q, Chen S, Wu J, et al. Microwave pyrolysis of Douglas fir sawdust pellet. *American Society of Agricultural and Biological Engineers Annual International Meeting*. 2011;2:1334–1348. <https://doi.org/10.13031/2013.37300>

18. Bogdashov AA, Krapivnitskaya TO, Peskov NYu. Simulation of microwave pyrolysis of peat. In: *SVCh-tekhnika i telekommunikatsionnye tekhnologii (CriMiCo'2018): materialy 28-i Mezhdunarodnoi Krymskoi konferentsii* = Microwave and Telecommunication Technology (CriMiCo-2018): Proceedings of the 28th International Crimean Conference. 9–15 September 2018, Sevastopol. Sevastopol, 2018, vol. 6, p. 1381–1387. (In Russian)

19. Krapivnitskaia TO, Bogdashov AA, Denisenko AN, Glyavin MYu, Kalynov YuK, Kuzikov SV, et al. High-temperature microwave pyrolysis of peat as a method to obtaining liquid and gaseous fuel. *EPJ Web of Conferences*. 10th International Workshop 2017 “Strong Microwaves and Terahertz Waves: Sources and Applications”. 2017. Vol. 49. 02023. 2 p. <https://doi.org/10.1051/epjconf/201714902023>

20. Bogdashov AA, Krapivnitskaia TO, Denisenko AN, Peskov NYu, Glyavin MYu, Semenycheva LL, et al. Microwave pyrolysis of peat: results and prospects. In: *SVCh-tekhnika i telekommunikatsionnye tekhnologii (CriMiCo'2018): materialy 28-i Mezhdunarodnoi Krymskoi konferentsii* = Microwave and Telecommunication Technology (CriMiCo'2018): Proceedings of the 28th International Crimean Conference. 9–15 September 2018, Sevastopol. Sevastopol, 2018, vol. 6, p. 1394–1399. (In Russian)

Критерии авторства

Крапивницкая Т.О., Богдашов Ф.А., Денисенко А.Н., Глявин М.Ю., Песков Н.Ю., Семеньева Л.Л., Ворожцов Д.Л. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Крапивницкая Т.О., Богдашов Ф.А., Денисенко А.Н., Глявин М.Ю., Песков Н.Ю., Семеньева Л.Л., Ворожцов Д.Л. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Contribution

Tatiana O. Krapivnitskaia, Alexander A. Bogdashov, Andrey N. Denisenko, Mikhail Yu. Glyavin, Nikolai Yu. Peskov, Lyudmila L. Semenycheva, Dmitry L. Vorozhtcov carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Tatiana O. Krapivnitskaia, Alexander A. Bogdashov, Andrey N. Denisenko, Mikhail Yu. Glyavin, Nikolai Yu. Peskov, Lyudmila L. Semenycheva, Dmitry L. Vorozhtcov have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Крапивницкая Татьяна Олеговна,
аспирант,
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, Нижний Новгород, пр-т Гагарина, 23,
Российская Федерация;
ведущий инженер,
ФИЦ Институт прикладной физики РАН,
603950, Нижний Новгород,
ул. Ульянова, 46, Российская Федерация,
✉e-mail: kto465@yandex.ru

Богдашов Александр Александрович,
к.ф.-м.н., старший научный сотрудник,
ФИЦ Институт прикладной физики РАН,
603950, Нижний Новгород,
ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
e-mail: bogdash@appl.sci-nnov.ru

Денисенко Андрей Николаевич,
ведущий конструктор,
ФИЦ Институт прикладной физики РАН,
603950, Нижний Новгород,
ул. Ульянова, 46, Российская Федерация,
e-mail: androu@appl.sci-nnov.ru

Глявин Михаил Юрьевич,
д.ф.-м.н., заведующий лабораторией
микроволновой обработки материалов,
ФИЦ Институт прикладной физики РАН,
603950, Нижний Новгород,
ул. Ульянова, 46, Российская Федерация,
e-mail: glyavin@appl.sci-nnov.ru

Песков Николай Юрьевич,
д.ф.-м.н., профессор РАН,
ведущий научный сотрудник,
ФИЦ Институт прикладной физики РАН,
603950, Нижний Новгород,
ул. Ульянова, 46, Российская Федерация,
e-mail: peskov@appl.sci-nnov.ru

Семенычева Людмила Леонидовна,
д.х.н., заведующая лабораторией
нефтехимии,
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23, Российская Федерация,
e-mail: llsem@yandex.ru

Ворожцов Дмитрий Леонидович,
к.х.н., ведущий инженер,
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23, Российская Федерация,
e-mail: dmvorozh@gmail.com

AUTHORS' INDEX

Tatiana O. Krapivnitskaia,
Postgraduate Student,
Lobachevsky State University of Nizhniy Novgorod,
23, Gagarin Ave., Nizhniy Novgorod, 603022,
Russian Federation,
Leading Engineer,
Institute of Applied Physics,
Russian Academy of Sciences,
46, Ul'yanov St., Nizhniy Novgorod 603950,
Russian Federation
✉e-mail: kto465@yandex.ru

Alexander A. Bogdashov,
Cand. (Physics and Mathematics),
Senior Researcher,
Institute of Applied Physics,
Russian Academy of Sciences,
46, Ul'yanov St., Nizhniy Novgorod 603950,
Russian Federation
e-mail: bogdash@appl.sci-nnov.ru

Andrey N. Denisenko,
Leading Designer,
Institute of Applied Physics,
Russian Academy of Sciences,
46, Ul'yanov St., Nizhniy Novgorod 603950,
Russian Federation
e-mail: androu@appl.sci-nnov.ru

Mikhail Yu. Glyavin,
Dr. Sci. (Physics), Head of Laboratory,
Institute of Applied Physics,
Russian Academy of Sciences,
46, Ul'yanov St., Nizhniy Novgorod 603950,
Russian Federation
e-mail: glyavin@appl.sci-nnov.ru

Nikolai Yu. Peskov,
Dr. Sci. (Physics), Professor of Russian Academy
of Sciences, Leading Researcher
Institute of Applied Physics,
Russian Academy of Sciences,
46, Ul'yanov St., Nizhniy Novgorod 603950,
Russian Federation
e-mail: peskov@appl.sci-nnov.ru

Lyudmila L. Semenycheva,
Dr. Sci. (Chemistry), Head of Laboratory,
Lobachevsky State University of Nizhniy Novgorod,
23, Gagarin Ave., Nizhniy Novgorod 603022,
Russian Federation
e-mail: llsem@yandex.ru

Dmitriy L. Vorozhtcov
Cand. (Chemistry), Leading Engineer
Lobachevsky State University of Nizhniy Novgorod,
23, Gagarin Ave., Nizhniy Novgorod 603022,
Russian Federation
e-mail: dmvorozh@gmail.com

Оригинальная статья / Original article

УДК 66.021.1:66.074.9

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-759-767>

Эффективность очистки и гидравлическое сопротивление струйно-фильтрационного пылеуловителя

© Н.М. Самохвалов, В.В. Виноградов, Ю.А. Зыкова

Иркутский национальный исследовательский технический университет,
г. Иркутск, Российская Федерация

Резюме: Цель настоящего исследования – разработка методики расчета гидравлического сопротивления и эффективности очистки запыленных газов струйно-фильтрационным пылеуловителем на основе экспериментальных данных. Названный пылеуловитель применяется для очистки запыленных газовых потоков высокой концентрации путем двухступенчатой очистки. На первой ступени в целях максимального снижения пылевой нагрузки происходит осаждение пылевых частиц под действием инерционных сил, возникающих за счет резкого торможения струи запыленного газа. На второй ступени обеспечивается высокоэффективная очистка потока на уровне 98–99 % и более за счет процесса фильтрации через насыпной зернистый слой. Проведены экспериментальные исследования влияния скорости струи, конструктивных размеров сопла и его расстояния до входа в бункер, размеров и плотности пылевых частиц, запыленности газового потока и свойств пыли на гидравлическое сопротивление и эффективность очистки струйной и фильтрующей частей пылеуловителя. Установлено, что наиболее существенное влияние на рост гидравлического сопротивления и эффективности очистки струйной части оказывают скоростной напор струи, угол сходимости сопла и форма аэроканала. Определены оптимальные пределы скорости струи, размеры конструктивных элементов пылеуловителя, которые позволяют обеспечить эффективность очистки пылегазового потока струйной частью не менее чем на 80 %. Разработаны методы расчета гидравлического сопротивления струйной части пылеуловителя на основе коэффициентов местного сопротивления, конфузора, отвода и аэроканала в зависимости от плотности очищаемого газа и средней скорости потока в аэроканале. Определено гидравлическое сопротивление чистой зернистой фильтрующей перегородки, а также при накоплении в ней пылевого осадка. На основе закона улавливания частиц однородным фильтром применительно к зернистым слоям разработан метод расчета поверхности и толщины фильтрующего слоя и продолжительности межрегенерационного цикла фильтрации.

Ключевые слова: пылеуловитель, струйная очистка, фильтрация, эффективность, гидравлическое сопротивление

Информация о статье: Дата поступления 26 апреля 2019 г.; дата принятия к печати 5 декабря 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Самохвалов Н.М., Виноградов В.В., Зыкова Ю.А. Эффективность очистки и гидравлическое сопротивление струйно-фильтрационного пылеуловителя // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9, № 4. С. 759–767. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-759-767>

Cleaning efficiency and hydraulic resistance of the jet filter dust collector

Nikolay M. Samokhvalov, Vladimir V. Vinogradov, Yulia A. Zyкова

Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: The current study is aimed at the development of a methodology for calculating hydraulic resistance and the efficiency of cleaning dusty gases with a jet filter dust collector based on experimental data. This dust collector is applied in cleaning dusty gas streams of high concentration by means of a two-stage procedure. At the

first stage, in order to minimise dust load, dust particles are deposited under the action of inertial forces arising from the sharp deceleration of a stream. At the second stage, a highly effective purification of the flow is ensured at the level of 98–99 % or more due to the filtering process through the bulk granular layer. Experimental studies of hydraulic resistance and cleaning efficiency of the jet and filter parts of the dust collector affected by jet velocity, nozzle design and its distance to the hopper, dust particle size and density, dust content of the gas flow, as well as dust properties, were carried out. The most significant influence on the increase in hydraulic resistance and the cleaning efficiency of the jet part was established to be exerted by the high-pressure head of the jet, the convergence angle of the nozzle and the shape of the air channel. The optimal limits of the jet velocity, the dimensions of the structural elements of the dust collector are determined, ensuring the efficiency of cleaning the dust and gas stream in the jet part by at least 80 %. Methods were developed for calculating the hydraulic resistance of the jet part of the dust collector based on the coefficients of local resistance, reducer, exhaust and air channel, depending on the density of the gas being cleaned and the average flow rate in the air channel. The hydraulic resistance of the granular filtering partition when clean, as well as during the accumulation of dust sediment, was determined. Based on the law of particle accumulation by a uniform filter as applied to granular layers, a method was developed for calculating the surface and thickness of the filter layer and the duration of the inter-regeneration cycle of the filter.

Keywords: dust collector, jet cleaning, filtration, efficiency, hydraulic resistance

Information about the article: Received April 26 2019; accepted for publication December 5, 2019; available online December 30 2019.

For citation: Samokhvalov NM, Vinogradov VV, Zykova YA. Cleaning efficiency and hydraulic resistance of the jet filter dust collector. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):759–767. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-759-767>

ВВЕДЕНИЕ

Во многих промышленных химико-технологических процессах, таких как сушка сыпучих и порошкообразных материалов в «кипящем» или «фонтанирующем» слое, каталитические процессы в аппаратах с псевдоожиженным слоем, пневмотранспорт пылевидных материалов и другие, образуются газовые потоки с высокой концентрацией дисперсных систем. Для таких потоков используется многоступенчатая очистка. Чаще всего каждая стадия протекает в отдельном аппарате. На первой стадии происходит предварительная очистка, для которой применяются сепараторы, аппараты инерционного осаждения или циклоны. На второй стадии очистка происходит в аппаратах с высокой эффективностью, но, как правило, и с более высокими экономическими затратами¹ [1–5]. Аппараты первой ступени громоздки и имеют низкую эффективность очистки, в пределах 40–50 %. Циклоны имеют высокое гидравлическое сопротивление, плохо улавливают частицы размером менее 20–30 мкм и малоэффективны при низкой запыленности [6–8]. Авторами настоящей статьи разработан струйно-фильтрационный пылеуловитель (СФП), который совмещает две стадии – предварительную очистку за счет струйно-инерционного осаждения и эффективную очистку за счет фильтрова-

ния в зернистом слое [9, 10].

Однако эффективность очистки промышленных газов от пыли и гидравлическое сопротивление в струйно-фильтрационном пылеуловителе недостаточно изучены, нет методов расчета этих показателей и размеров аппарата, которые позволили бы проектировать промышленные варианты.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для оценки возможностей пылеулавливания струйно-фильтрационным аппаратом использовалась экспериментальная установка, схема которой представлена на рис. 1.

Установка состоит из пылеуловителя 1, который включает струйную часть 2, зернистый фильтрующий слой 3 и пылесадительный бункер 4. Для измерения запыленности очищенного потока применялся метод внешней фильтрации с использованием аспиратора 5 для отбора проб воздуха через фильтровальный патрон 6. Запыление воздуха, поступающего на очистку, осуществлялось с помощью дозатора 7. Расход воздуха измерялся ротаметром 8. Гидравлическое сопротивление измерялось микроманометром 9 типа ММН-240. Воздух подавался компрессором 10. Эффективность очистки струйной частью определялась по массе уловленной пыли в бункере аппарата. Для исследований использовались потоки, запыленные цементом, дробленным песком и мукой. Фракционный состав пыли определялся с помощью импактора НИИОГаз.

¹ Биргер М.И., Вальдберг А.Ю., Мягков Б.И., Падва В.Ю., Русанов А.А., Урбах И.И. Справочник по пыле- и золоулавливанию. М.: Энергоатомиздат, 1983. 312 с.

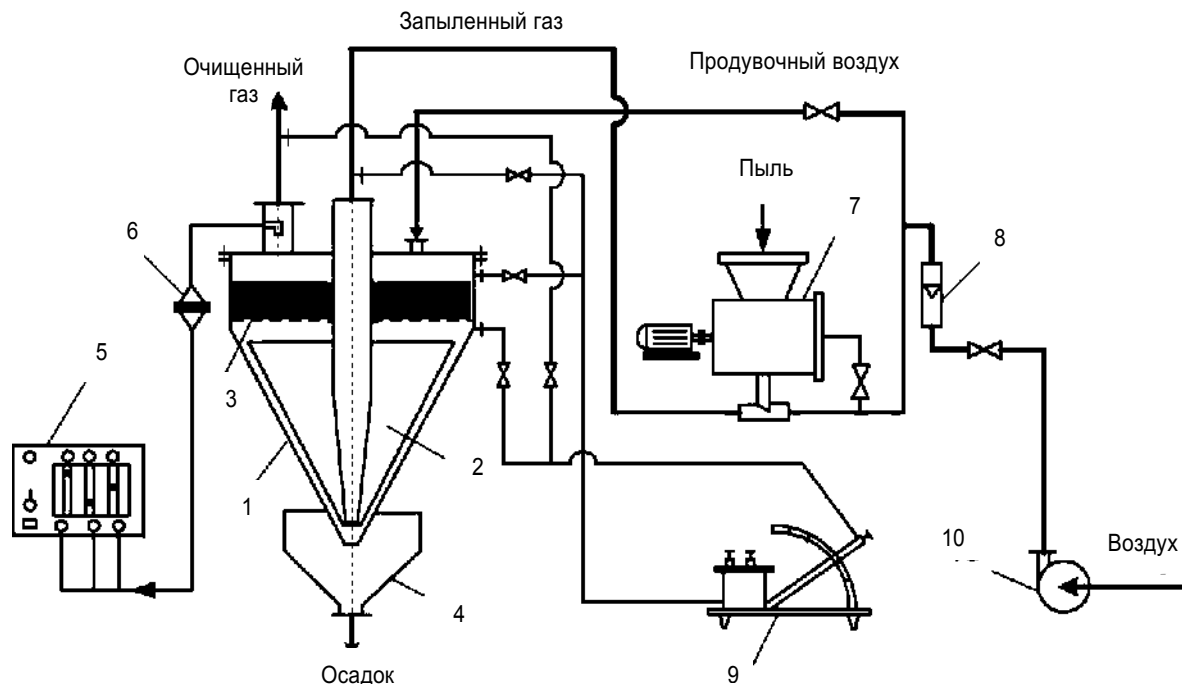


Рис. 1. Схема экспериментальной установки

Fig. 1. Experimental installation

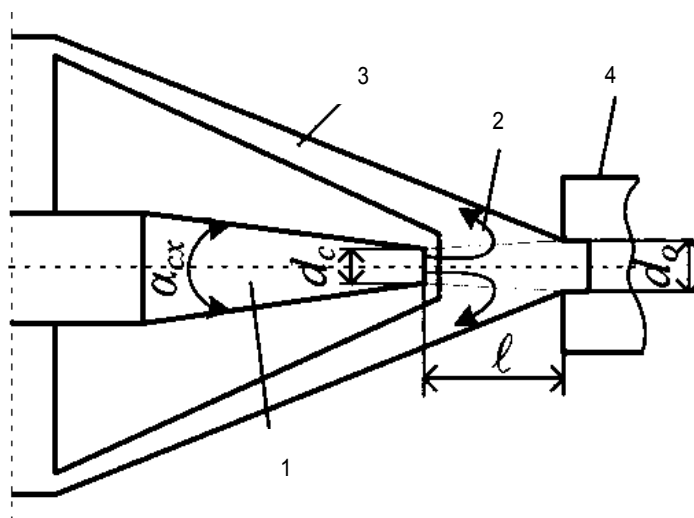


Рис. 2. Схема струйной части пылеуловителя:
 1 – конфузор; 2 – отвод; 3 – аэроканал; 4 – пылеосадительный бункер

Fig. 2. Scheme of the jet part of the dust collector:
 1 – confuser; 2 – tap; 3 – aerocalanal; 4 – dust bin

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования гидравлического сопротивления и эффективности очистки только струйной частью пылеуловителя (без загрузки фильтрующего слоя), позволили установить зависимость этих показателей от скорости струи на выходе из сопла, размеров и конструктивных особенностей пылеуловителя, свойств пыли.

Установлено, что основное влияние на вели-

чину гидравлического сопротивления при движении «чистого» воздуха оказывают скоростной напор струи, угол сходимости сопла α_{cx} и форма аэроканала (рис. 2).

Скоростной напор зависит от расхода воздуха и выходного диаметра сопла d_c . Увеличение скорости струи на выходе из сопла приводит к росту гидравлического сопротивления (кривая 1 рис. 3).

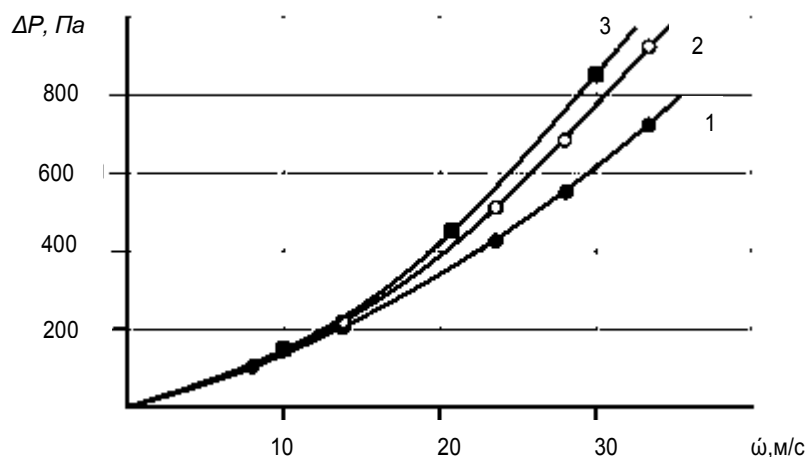


Рис. 3. Гидравлическое сопротивление струйно-фильтрационного пылеуловителя:
 1 – сопротивление струйной части при «чистом» потоке;
 2 – сопротивление струйной части при запыленном потоке;
 3 – общее сопротивление с учетом фильтрующего слоя

Fig. 3. Hydraulic resistance of jet filtering dust collector:
 1 – “clean” flow resistance; 2 – dusty flow resistance;
 3 – total resistance taking into account the filter layer

Исследование влияния расстояния l между срезом сопла и входом в бункер показало, что приближение сопла к бункеру уменьшает входное сечение аэроканала и усложняет разворот потока, что приводит к росту сопротивления. Удаление сопла от бункера уменьшает силу инерции струи, размывает ее, что отрицательно сказывается на эффективности осаждения пыли. На основе этого рекомендуется расстояние между соплом и бункером принимать равным от 2 до 5 диаметров входного отверстия в бункер d_0 . При очистке запыленного потока только струйной частью гидравлическое сопротивление возрастает по сравнению с «чистым» потоком, причем с ростом скорости

это различие увеличивается (кривая 2 рис. 3). При использовании фильтрующего слоя к сопротивлению струйной части добавляется сопротивление зернистой перегородки (кривая 3 рис. 3).

Высокая эффективность очистки в струйно-фильтрационном пылеуловителе определяется условиями фильтрования и характеристиками зернистого слоя. Однако остаточная запыленность очищаемого потока зависит от эффективности осаждения пыли в струйной части аппарата. Характерные изменения эффективности очистки получены при очистке воздуха, запыленного дробленым песком с медианным размером частиц 30 мкм (рис. 4).

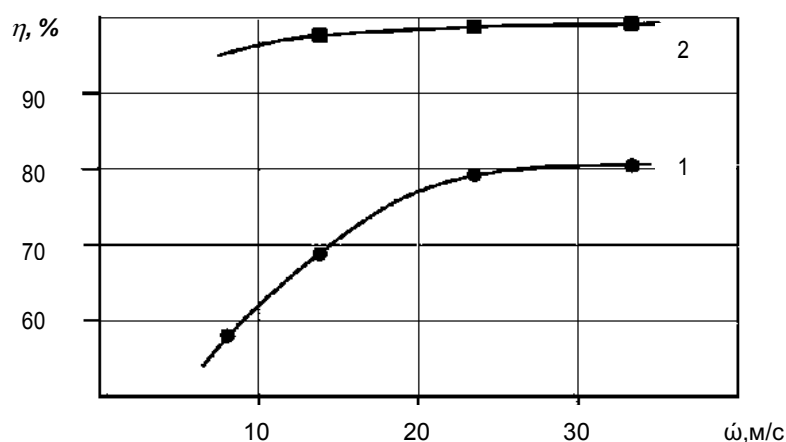


Рис. 4. Эффективность очистки струйно-фильтрационного пылеуловителя:
 1 – эффективность струйной части; 2 – общая эффективность очистки

Fig. 4. Cleaning efficiency of jet filter dust collector:
 1 – jet efficiency; 2 – overall cleaning efficiency

Эффективность струйной части зависит от размера, плотности и других свойств пыли, расстояния сопла до входного отверстия бункера, конусности корпуса и других факторов, но основное влияние на нее оказывает скорость струи.

Эффективность очистки воздуха от мучной пыли с размерами частиц менее 63 мкм при скорости потока на выходе из сопла 19 м/с составляла от 70 до 81 %. С увеличением скорости струи до 27 м/с эффективность возросла до 91. Испытания проводились с использованием сопла диаметром 5,6 мм, расстояние его до бункера – 21 мм, диаметр входного отверстия бункера – 13,8 мм. Очистка воздуха от мучной пыли с размером частиц более 80 мкм при скорости струи 27 м/с позволила достичь эффективности очистки струйной частью более 93 % [10].

Несмотря на повышение эффективности инерционного осаждения от скорости струи, работа пылеуловителя при высоких скоростях нецелесообразна. Низкая скорость струи не позволяет создать необходимую силу инерции для мелких частиц пыли, а высокая скорость приводит к вихреобразованию потока при его развороте перед бункером и повышенному уносу пыли, из-за чего эффективность очистки практически не растет (кривая 1 рис. 4). Такой же эффект наблюдается при приближении сопла к бункеру и уменьшении угла сходимости конуса корпуса.

Частицы пыли с большей плотностью лучше отделяются от потока, а уменьшение их размера приводит к обратному эффекту. Так, при улавливании цемента с медианным размером пыли 15 мкм и плотностью 2900 кг/м³ эффективность осаждения была практически такой же, как и для песочной пыли с размером частиц 40 мкм и плотностью 1550 кг/м³.

На основе выполненных исследований рекомендуется при проектировании пылеуловителя скорость струи на выходе из сопла ω_c принимать в пределах 25–30 м/с, что позволит обеспечить эффективность очистки на уровне 80 % и невысокое гидравлическое сопротивление. Конусность корпуса предлагается принимать равной 60°. Длину сопла для стабилизации сужаемого потока рекомендуется принимать в размере 4–5 диаметров входного сечения сопла².

Для расчета гидравлического сопротивления струйной части пылеуловителя ее конструкцию принципиально можно представить как состоящую из известных элементов – конфузора, отвода и аэроканала (см. рис. 2), которые являются местными сопротивлениями. Тогда сопротивление струйной части для незапыленного потока можно определить на основе уравнения Вейсбаха как сумму долей скоростного напора в

этих элементах пылеуловителя³:

$$\Delta P_c = \zeta_{\text{конф}} \frac{\rho_g \omega_c^2}{2} + \zeta_{\text{отв}} \frac{\rho_g \omega_c^2}{2} + \zeta_{\text{отв}} \frac{\rho_g \omega_a^2}{2},$$

где $\zeta_{\text{конф}}$, $\zeta_{\text{отв}}$, ζ_a – коэффициенты местного сопротивления конфузора, отвода и аэроканала соответственно; ρ_g – плотность газа; ω_a – средняя скорость потока в аэроканале.

Коэффициент местного сопротивления конфузора можно выразить следующей зависимостью²:

$$\zeta_{\text{конф}} = K_1 \cdot \zeta_{\text{вн.с}},$$

где K_1 – коэффициент смягчения; $\zeta_{\text{вн.с}}$ – коэффициент местного сопротивления за счет изменения сечений сопла на входе и выходе, как от внезапного сужения.

Коэффициент смягчения при длине сопла больше двух диаметров выходного отверстия можно определить в зависимости от угла сходимости $\alpha_{\text{сх}}$ по таблице². Коэффициент $\zeta_{\text{вн.с}}$ определяется на основе критерия Re и соотношения сечений F на входе и F_o на выходе из сопла⁴ [11].

Коэффициент местного сопротивление отвода $\zeta_{\text{отв}}$, который характеризует потерю напора потока при развороте струи газа от бункера к аэроканалу, можно определить как произведение двух компонентов $\zeta_{\text{отв}} = AB^4$ [11]. Компонент A учитывает угол разворота, а компонент B – радиус разворота потока, поступающего в аэроканал. Угол разворота потока можно принять равным 180°, а радиус разворота – равным ширине потока на входе в аэроканал.

Коэффициент местного сопротивления для аэроканала рекомендуется рассматривать как внезапное расширение, при котором $\zeta_a = f(Re, S_o / S)$. Сечение S_o определяется как сечение на входе в аэроканал, а сечение S соответствует сечению цилиндрической части аппарата. С целью учета влияния пыли сопротивление струйной части ΔP_c при очистке запыленного газа для принятой скорости струи на выходе из сопла в пределах 25–30 м/с необходимо увеличить в 1,25 раза.

Сравнение опытных и расчетных значений гидравлического сопротивления для экспериментальной модели струйного пылеуловителя показало удовлетворительную сходимость в пределах ± 30 %.

³ Касаткин А.Г. Основные процессы и аппараты химической технологии: учебник для вузов; 14-е изд., стер. М.: Альянс, 2008. 750 с.

⁴ Павлов К.Ф., Романков П.Г., Носков Ф.Ф. Примеры и задачи по курсу процессов и аппаратов химической технологии: учеб. пособие для вузов. М.: Альянс, 2006. 575 с.

² Идельчик И.Е. Справочник по гидравлическим сопротивлениям; под ред. М.О. Штейнберга. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Машиностроение, 1992. 672 с.

Таблица 1

Значения коэффициента k_1

Table 1

Coefficient k_1 values

$\alpha_{сх},^\circ$	10	20	30	40	60
k_1	0,42	0,23	0,19	0,16	0,18

Гидравлическое сопротивление зернистого слоя подчиняется закону Дарси и складывается из сопротивления фильтрующей перегородки $\Delta P_{фп}$ и прироста сопротивления за счет накопленного осадка пыли $\Delta P_{ос}$ [12, 13]:

$$\Delta P_{зс} = \Delta P_{фп} + \Delta P_{ос}$$

Для расчета сопротивления фильтрующей перегородки можно использовать зависимости, полученные применительно к шероховатым зернам [14]:

$$\Delta P_{фп} = (11,9 \cdot W_0^{1,3} \cdot \mu^{0,7} \cdot \rho_z^{0,3} \cdot H) / \varepsilon_0^3,$$

или для зерен с гладкой поверхностью:

$$\Delta P_{фп} = (1,89 \cdot W_0^{1,6} \cdot \mu^{0,4} \cdot f^{1,4} \cdot \rho_z^{0,6} \cdot H) / \varepsilon_0^3,$$

где W_0 – скорость фильтрования, м/с; μ – динамическая вязкость газа, Па·с; f – удельная поверхность зерен, м²/м³; ρ_z – плотность газа, кг/м³; H – толщина фильтрующего слоя, м; ε_0 – доля свободного объема зернистого слоя, м³/м³.

Для учета остаточного сопротивления после регенерации при использовании непрерывной регенерации фильтрующего слоя расчетное гидравлическое сопротивление $\Delta P_{ос}$ необходимо увеличить на 20–30 %.

Для расчета сопротивления осадка при пылеулавливании в зернистых фильтрах предложена следующая зависимость [15]:

$$\Delta P_{ос} = [K_{пс} \cdot W_0^2 (Z_{вх} - Z_{ост}) \cdot T] \cdot \varepsilon_0^2,$$

где $K_{пс}$ – коэффициент сопротивления пылевого слоя, с⁻¹; T – продолжительность межрегенерационного цикла фильтрования; $Z_{вх}$ – входная запыленность, кг/м³; $Z_{ост}$ – остаточная запыленность, кг/м³.

$K_{пс}$ определяет изменение сопротивления осадка за счет накопления пылевого осадка в единице объема за единицу времени и зависит от свойств пыли и газового потока. При накоплении пыли в зернистом слое происходит изменение доли его свободного объема. Это приводит к усилению турбулентности потока внутри каналов фильтрующей перегородки и одновременно к усилению вторичного уноса пыли. В этом случае при расчете гидравлического сопротивления следует учитывать эти

изменения, методика его расчета представлена в работе [15].

Общее гидравлическое сопротивление СФП рассчитывается с учетом сопротивлений струйной и фильтрующей части по уравнению:

$$\Delta P = \Delta P_c + \Delta P_{фп} + \Delta P_{ос}.$$

Для оценки эффективности улавливания пыли η фильтрующим слоем на основе закона улавливания частиц однородным фильтром предлагается зависимость

$$\eta = 1 - \exp \{ - \eta_3 \cdot K_n^{0,15} \}, \quad (1)$$

где η_3 – эффективность захвата частиц зернами фильтрующего слоя; K_n – показатель вторичного уноса пыли.

Эффективность захвата рассчитывается по зависимости:

$$\eta_3 = 2,3 K_3 \cdot H^{0,82} / W_0.$$

Коэффициент эффективности захвата предложено определять по формуле [16]

$$K_3 = 17850 \mu \delta^{0,25} [(1 - \varepsilon_0) / (P_{нп} \cdot d_3^{2,25})],$$

где δ – медианный размер пылевых частиц, м; $\rho_{нп}$ – насыпная плотность пыли, кг/м³; d_3 – диаметр зерен фильтрующего материала, м.

Толщину зернистого слоя в зависимости от эффективности очистки в пределах от 90 до 100 % предлагается в соответствии с работой [14] рассчитывать по зависимости:

$$H = 0,0152 \cdot [(\eta - 90) / (1 - \varepsilon_0)] + 0,05 \quad (2)$$

Показатель вторичного уноса рассчитывается по уравнению

$$K_n = 1 - K_y (T / T_{пр})^{0,15},$$

где K_y – коэффициента уноса пыли; T – продолжительность межрегенерационного цикла фильтрования, с; $T_{пр}$ – время пребывания запыленного потока в зернистом слое, с.

Для расчета коэффициента уноса предложена следующая зависимость [16]:

$$K_y = \beta / (\delta \cdot \rho_{пп} \cdot \operatorname{tg} \alpha_0),$$

где β – опытный коэффициент (для непо-

движного слоя $\beta = 3,6 \cdot 10^{-3} \text{ м}^2/\text{кг}$; $\text{tg}\alpha_o$ – тангенс угла естественного откоса пыли, характеризующего сыпучесть пыли.

Время пребывания выражается зависимо-стью от толщины зернистого слоя и скорости запыленного потока в его каналах:

$$T_{\text{пр}} = H\varepsilon_o / W_o \quad (3)$$

Продолжительность межрегенерационного цикла фильтрования принимается из соотношения:

$$T = \tau_{\text{пр}} / K_f, \quad (4)$$

где K_f – фактор стационарности, значение которого принимается не менее 0,0002.

Расчет толщины и поверхности фильтрующего слоя выполняется по следующей методике. Для заданной эффективности очистки по уравнению (2) определяется толщина зернистого слоя. Из уравнения (1), определяющего эффективность очистки в зернистом слое, рассчитывается скорость фильтрования W_o . По зависимости (3) находится время пребывания запыленного потока в зернистом слое. Принимается значение фактора стационарности на

15–20 % больше рекомендуемого K_f , и по формуле (4) рассчитывается продолжительность межрегенерационного цикла фильтрования T . Используя заданную производительность по очищаемому газу Q , $\text{м}^3/\text{с}$, определяется величина поверхности фильтрования зернистого слоя по уравнению $F = Q / W_o$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполнены исследования очистки запыленных газов струйно-фильтрационным пылеуловителем. Определены значения скорости струи на срезе сопла и конструктивные размеры элементов пылеуловителя, которые обеспечивают эффективность очистки в струйной части не менее 80 %, а общую эффективность пылеуловителя – на уровне 98–99 % и более. Предложены методы расчета гидравлического сопротивления пылеуловителя, учитывающие сопротивление струйной части, фильтрующей перегородки и прироста сопротивления при накоплении пыли в зернистом слое. Разработана методика расчета эффективности очистки зернистым слоем, которая позволяет определить толщину фильтрующей перегородки, скорость, поверхность и продолжительность межрегенерационного цикла фильтрования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Trevor S., George C. Filters and Filtration Handbook. (Sixth Edition). Philadelphia: Elsevier Ltd, 2015. 444 p.

2. Coulson J.M., Richardson J.F. Chemical engineering. Vol. 2. Particle Technology and Separation Processes. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2002. 1183 p.

3. Peukert W., Wadenpohl C. Industrial separation of fine particles with difficult dust properties // Powder Technology. 2001. Vol. 118. Issue 1. P. 136–148. [https://doi.org/10.1016/S0032-5910\(01\)00304-7](https://doi.org/10.1016/S0032-5910(01)00304-7)

4. Guan L., Gu Z., Yuan Z., Yang L., Zhong W., Wu Y., et al. Numerical study on the penetration of ash particles in a three-dimensional randomly packed granular filter // Fuel. 2016. Vol. 163. Issue 1. P. 122–128. : <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.09.056>

5. Chen Y.-S., Chyou Y.-P., Li S.-C. Hot gas clean-up technology of dust particulates with a moving granular bed filter // Applied Thermal Engineering. 2015. Vol. 74. P. 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2014.03.015>

6. Рудыка Е.А., Батурина Е.В. Анализ пылеочистного оборудования, используемого при производстве растворимых порошков // Вестник Воронежского государственного университета инженерной технологии. 2016. N 2 (68). С. 193–196. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2016-2-193-196>

7. Подпороинов Б.Ф., Семенов А.С. Пути повышения эффективности пылеулавливания аппаратов в системах очистки вентиляцион-

ных выбросов // Вестник Белгородского государственного технологического университета им. В.А. Шухова. 2016. N 11. С. 104–107. <https://doi.org/10.12737/22434>

8. Асламов А.А., Ляпустин Р.Ю., Асламова В.С. Методика расчета эффективности циклонов // Современные технологии и научно-технический прогресс. 2018. Т. 1. С. 7–8.

9. Пат. 144702, Российская Федерация, МПК B01D46/30. Устройство для очистки газов от пыли / Н.М. Самохвалов, Ю.А. Зыкова, В.В. Виноградов; заявитель и патентообладатель Иркутский государственный технический университет. № 2014103084/12; заявл. 29.01.2014; опубл. 27.08.2014, Бюл. № 24. 2 с.

10. Самохвалов Н.М., Зыкова Ю.А., Виноградов В.В. Пылеуловитель струйно-фильтрационного действия // Экология и промышленность России. 2016. Т. 20. N 1. С. 4–7. <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2016-1-4-7>

11. Асламова В.С. Расчет гидравлического сопротивления прямоточного циклона с промежуточным отбором // Известия Томского политехнического университета. 2008. Т. 313. N 4. С. 54–60.

12. Wu B.F.-C., Huang H.-T. Hydraulic resistance induced by deposition of sediment in porous medium // Journal of Hydraulic Engineering. 2000. Vol. 126. N. 7. P. 547–551.

13. Зыкова Ю.А., Самохвалов Н.М., Виноградов В.В. Сопротивление пылевого осадка в щелевом фильтре // Известия Томского политех-

нического университета. Инжиниринг георесурсов. 2016. Т. 327. N 4. С. 88–96.

14. Самохвалов Н.М. Фильтрование запыленных газов насыпной зернистой средой: монография. Иркутск: Изд-во ИрГТУ, 2012. 140 с.

15. Самохвалов Н.М., Виноградов В.В., Зыко-

ва Ю.А. Очистка промышленных газов от пыли: монография. Иркутск: Изд-во ИРНИТУ, 2015. 170 с.

16. Самохвалов Н.М., Скачков Е.В. Гидродинамика и эффективность улавливания пыли в зернистых фильтрах // Химическая промышленность сегодня. 2009. N 6. С. 49–56.

REFERENCES

1. Trevor S, George C. *Filters and Filtration Handbook*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Ltd.; 2015. 444 p.

2. Coulson JM, Richardson JF. *Chemical engineering*. Vol. 2. Particle Technology and Separation Processes. Oxford: Butterworth-Heinemann; 2002. 1183 p.

3. Peukert W, Wadenpohl C. Industrial separation of fine particles with difficult dust properties. *Powder Technology*. 2001;118(1):136–148. [https://doi.org/10.1016/S0032-5910\(01\)00304-7](https://doi.org/10.1016/S0032-5910(01)00304-7)

4. Guan L, Gu Z, Yuan Z, Yang L, Zhong W, Wu Y, et al. Numerical study on the penetration of ash particles in a three-dimensional randomly packed granular filter. *Fuel*. 2016;163(1):122–128. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.09.056>

5. Chen Y-S, Chyou Y-P, Li S-C. Hot gas clean-up technology of dust particulates with a moving granular bed filter. *Applied Thermal Engineering*. 2015;74:146–155. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2014.03.015>

6. Rudyka EA, Baturina EV. Analysis of dust removal equipment used in the manufacture of soluble powders. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologii* = Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2016;2:193–196. (In Russian) <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2016-2-193-196>

7. Podporinov BF, Seminenko AS. Ways to increase the efficiency of dust collection in ventilation exhaust cleaning systems. *Vestnik Belgorodskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta im. V.A. Shukhova* = Bulletin of Belgorod State Technological University named after V.G. Shukhov 2016;11:104–107. (In Russian) <https://doi.org/10.12737/22434>

8. Aslamov AA, Lyapustin RY, Aslamova VS. Methodology for calculating the efficiency of cyclones. *Sovremennye tekhnologii i nauchno-*

tekhnicheskii progress = Modern technologies and technical progress. 2018;1:7–8. (In Russian)

9. Samokhvalov NM, Zyкова YuA, Vinogradov VV. Device for cleaning gases from dust. Patent RF, no. 144702; 2014. (In Russian)

10. Samokhvalov NM, Zyкова YuA, Vinogradov VV. Dust collector for jet filtering action. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii* = Ecology and Industry of Russia. 2016;20(1):4–7. (In Russian) <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2016-1-4-7>

11. Aslamova VS. Calculation of hydraulic resistance of direct-flow cyclone with intermediate selection. *Izvestiya Tomskogo politekhnicheskogo universiteta* = Bulletin of the Tomsk Polytechnic University. 2008;313(4):54–60. (In Russian)

12. Wu BF-C, Huang H-T. Hydraulic resistance induced by deposition of sediment in porous medium. *Journal of Hydraulic Engineering*. 2000; 126(7):547–551.

13. Zyкова YuA, Samokhvalov NM, Vinogradov VV. Dust Resistance in a Slit Filter. *Izvestiya Tomskogo politekhnicheskogo universiteta. Inzhiniring georesursov* = Bulletin of the Tomsk Polytechnic University. Geo Assets Engineering. 2016;327(4):88–96. (In Russian)

14. Samokhvalov NM. *Fil'trovanie zapylennykh gazov nasypnoi zernistoi sredoi* = Filtration of dusty gases in bulk granular medium. Irkutsk: Irkutskii natsional'nyi issledovatel'skii tekhnicheskii universitet; 2012. 140 p. (In Russian)

15. Samokhvalov NM, Vinogradov VV, Zyкова YuA. *Ochistka promyshlennykh gazov ot pyli* = Purification of industrial gases from dust. Irkutsk: Irkutskii natsional'nyi issledovatel'skii tekhnicheskii universitet; 2015. 170 p. (In Russian)

16. Samokhvalov NM, Skachkov EV. Hydrodynamics and dust collection efficiency in granular filters. *Khimicheskaya promyshlennost' segodnya* = Chemical industry today. 2009;6:49–56. (In Russian)

Критерии авторства

Самохвалов Н.М., Виноградов В.В., Зыкова Ю.А. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Самохвалов Н.М., Виноградов В.В., Зыкова Ю.А. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

Nikolay M. Samokhvalov, Vladimir V. Vinogradov, Yulia A. Zyкова carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Nikolay M. Samokhvalov, Vladimir V. Vinogradov, Yulia A. Zyкова have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

AUTHORS' INDEX

Самохвалов Николай Митрофанович,
к.т.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
✉ e-mail: snm4186@mail.ru

Nikolay M. Samokhvalov,
Ph.D. (Engineering), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: snm4186@mail.ru

Виноградов Владимир Владимирович,
к.т.н., электроник,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: vvv158@mail.ru

Vladimir V. Vinogradov,
Ph.D. (Engineering), Electronics,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: vvv158@mail.ru

Зыкова Юлия Александровна,
преподаватель,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: ulya2279@mail.ru

Yulia A. Zyкова,
Senior Teacher,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: ulya2279@mail.ru

Original article / Оригинальная статья

УДК 541.64:547.458.87

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-768-772>

Light-scattering study of silver nanocomposites based on hydrophilic nitrogen-containing heterocyclic copolymers

© Anastasiya A. Ivanova

A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: A light scattering study was performed on new silver-containing polymer nanocomposites based on water-soluble copolymers of 1-vinyl-1,2,4-triazole having sodium salt of vinylsulphonic acid of various compositions. The formation of nanocomposites was carried out using chemical reduction of silver ions by sodium borohydride in a copolymer-containing aqueous medium. According to the dynamic light scattering data, a decrease in the average sizes of metal-polymer coils in water-salt solutions of nanocomposites is explained in terms of an increase in the content of sulphonate groups in the stabilising polymer matrix. The electrophoretic light scattering with phase analysis of synthesised nanocomposites reveals the zeta potential (ζ) to vary from -35.0 to -75.3 mV with an increased sulphonate unit proportion in the stabilising polymer matrix, indicating an increase in the stability of the colloidal system. The functional composition of the stabilising polymer matrix is established to provide a significant effect on the hydrodynamic dimensions of polymer nanocomposites in an aqueous medium.

Keywords: polymer nanocomposites, silver nanoparticles, 1-vinyl-1,2,4-triazole, vinylsulphonic acid sodium salt

Acknowledgments: The study is supported by the Russian Foundation for Basic Research (project no. 19-03-00708). The main results are obtained using the equipment of the Baikal Analytical Centre for Collective Use of the SB RAS.

Information about the article: Received April 9, 2019; accepted for publication December 5, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Ivanova AA. Light-scattering study of silver nanocomposites based on hydrophilic nitrogen-containing heterocyclic copolymers. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):768–772 (In English) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-768-772>

Исследование нанокомпозитов серебра на основе гидрофильных азотсодержащих гетероциклических сополимеров методами светорассеяния

А.А. Иванова

Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация

Резюме: Методами светорассеяния исследованы новые полимерные серебросодержащие нанокомпозиты на основе водорастворимых сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с натриевой солью винилсульфоновой кислоты различного состава. Формирование нанокомпозитов осуществляли методом химического восстановления ионов серебра боргидридом натрия в водной среде в присутствии сополимеров. По данным динамического светорассеяния с увеличением содержания сульфонатных групп в стабилизирующей полимерной матрице наблюдается уменьшение средних размеров металло-полимерных клубков в водно-солевых растворах нанокомпозитов. Исследования синтезированных нанокомпозитов методом электрофоретического светорассеяния с анализом фаз показывают, что с увеличением доли сульфо-

натных звеньев в составе стабилизирующей полимерной матрицы величина дзета-потенциала (ζ) изменяется от -35,0 до -75,3 мВ, что указывает на повышение стабильности коллоидной системы. Установлено, что функциональный состав стабилизирующей полимерной матрицы оказывает существенное влияние на гидродинамические размеры полимерных нанокompозитов в водной среде.

Ключевые слова: полимерные нанокompозиты, наночастицы серебра, 1-винил-1,2,4-триазол, натриевая соль винилсульфоновой кислоты

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-03-00708). Основные результаты получены с использованием материально-технической базы Байкальского аналитического центра коллективного пользования СО РАН.

Информация о статье: Дата поступления 9 апреля 2019 г.; дата принятия к печати 5 декабря 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Иванова А.А. Исследование нанокompозитов серебра на основе гидрофильных азот-содержащих гетероциклических сополимеров методами светорассеяния // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9, № 4. С. 768–772. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-768-772>

INTRODUCTION

Obtaining organic-inorganic nanocomposites based on functional polymers appears to be a promising direction. In the processes of nanoparticle formation, a stabilising matrix is necessary, since the presence of various functional groups allows further modification [1–3], opening up promising new avenues for utilising target composites [4–6].

Due to the possibility of using different approaches to stabilise nanoparticles [7–9], accounting for the ability of the stabilising polymer matrix to interact with nanoparticles in order to avoid their agglomeration is of a great importance [10]. The copolymers of 1-vinyl-1,2,4-triazole are acknowledged to be effective stabilisers of metal nanoparticles [11–20].

This paper presents the results of the synthesis and property study of new silver-containing nanocomposites based on copolymers of 1-vinyl-1,2,4-triazole (VT) with the sodium salt of vinylsulphonic acid (Na-VSA).

EXPERIMENTAL PART

The silver content was determined using an AA-6200 atomic absorption spectrometer (Shimadzu, Japan) in flame atomisation mode. The solution of 0.1 M NaNO₃ with 0.1 mg/mL nanocomposite concentration was applied to determine the hydrodynamic particle radius and zeta potential (ζ) of the studied samples by means of the dynamic light scattering (DLS) and electrophoretic light scattering with phase analysis (PALS) methods, respectively, using a Zetasiser Nano-ZS photon particle analyser (Malvern Instruments, UK). The measurements were carried out in thermostated cuvettes with an of 25 °C and an angle of detec-

tion of scattered light operating temperature equal to 173°.

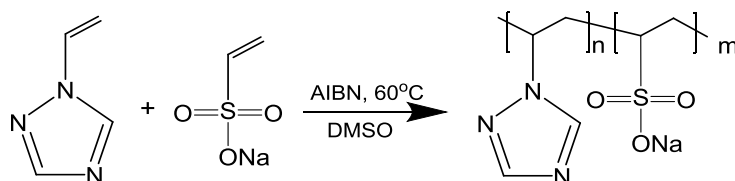
The initial reagents for the synthesis of nanocomposites consisted of CP grade substances of NH₄OH, AgNO₃ and NaBH₄, as well as copolymers of VT with Na-VSA of various compositions, obtained under conditions of radical initiation of azobisisobutyronitrile (AIBN) at a temperature of 60 °C in DMSO [21].

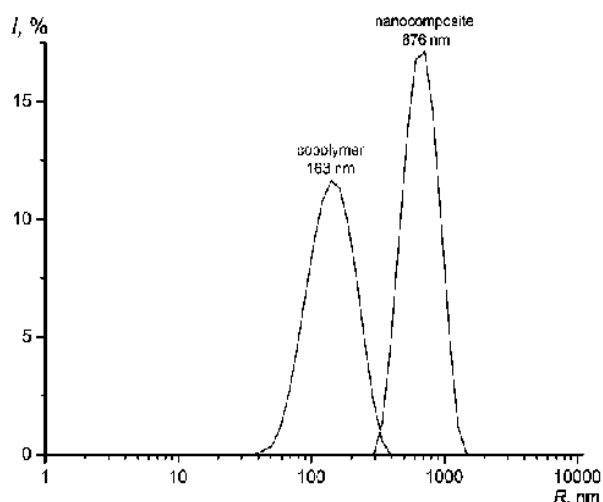
Synthesis of copolymers. The radical copolymerisation of VT and Na-VSA proceeded in DMSO at various initial monomer ratios under the influence of AIBN in argon-containing sealed ampoules at 60 °C for 8 hours. Further, the reaction mixture was dialysed against distilled water for 72 hours through a 5 KDa membrane (MFPI, Cellu Sep H1). Subsequently, the composite was isolated by lyophilisation. As the result, white nanocomposite powders were obtained with a yield of 82–89 %.

Synthesis of nanocomposites. A solution of 0.5 mmol AgNO₃ in 1 mL of 25% NH₄OH was added to 1.0 g (10 mmol) of a copolymer dissolved in 15 mL of double-distilled water followed by intensive stirring for 30 min at 20 °C. Then, 1 mmol of NaBH₄ was gradually added with the stirring continued for 8 hours. Then the reaction mixture was dialysed for 48 hours. Subsequently, the composite was isolated by lyophilisation. The synthesis resulted in dark-brown powders of nanocomposites with a yield of 65–70 %.

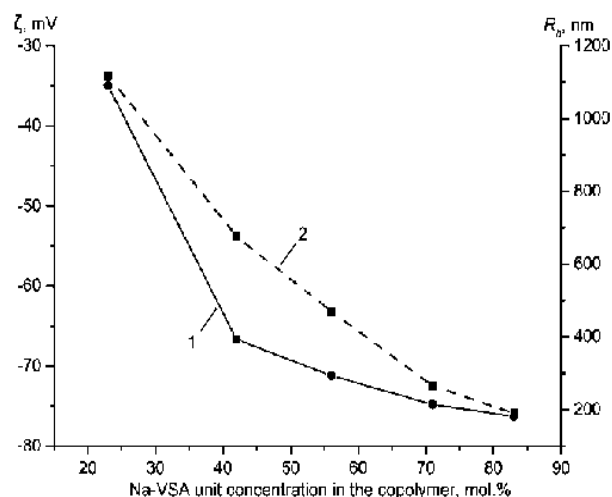
RESULTS AND DISCUSSION

The reaction of VT and Na-VSA radical copolymerisation proceeded in accordance with the scheme [21]





a



b

Hydrodynamic radii R_h distribution of the scattering particles for the nanocomposite and the initial copolymer (a); Relationship between zeta-potential (1) and the hydrodynamic radii R_h of scattering particles (2) of nanocomposites and content of Na-VSA in the original copolymer (b)

Гистограмма распределения по гидродинамическим радиусам R_h рассеивающих частиц для нанокомпозита и исходного сополимера (a); Зависимость дзета-потенциала (1) и гидродинамических радиусов R_h рассеивающих частиц (2) нанокомпозитов от содержания Na-BCK в исходном сополимере (b)

The histograms provided in the figure are characterised by a monomodal particle size distribution with a maximum corresponding to the effective hydrodynamic radius of the scattering particles. A noticeable increase is indicated in the hydrodynamic radius of complex nanocomposite particles presented by an ensemble of silver nanoparticles in a coil of copolymer macromolecules, as compared to the initial copolymer macromolecules (from 163 nm in the initial copolymer to 676 nm in the based nanocomposite). This is possibly due to the formation of coordinated cross-linked complex particles under the action of multiple cooperative forces of intermolecular interaction, with metallic silver nanoparticles acting as coordinating cross-linking agent. As a result of this interaction, relatively large macromolecular coils are formed.

With an increase in the proportion of Na-VSA in the stabilising copolymer, a decrease in the average sizes of metal-polymer coils is observed, indicating the formation of more compact structures. The functional composition effect of the stabilising matrix on the hydrodynamic dimensions of polymer nanocomposites is associated

with the action of salt groups: sulphonate fragments in the ionised state cause the appearance of a negative charge on polymer macromolecules further immobilised on the positively charged surface of silver metal nanoparticles, leading to a denser coagulation of macromolecular coils.

Studies of synthesised nanocomposites by electrophoretic light scattering with phase analysis identified the zeta potential (ζ) ranging from -35.0 to -75.3 mV with an increase in the proportion of sulphonate units in the stabilising polymer matrix, indicating an increase in the stability of the colloidal system.

CONCLUSION

A light scattering study was carried out on new stable polymer nanocomposites with silver nanoparticles based on 1-vinyl-1,2,4-triazole and the sodium salt of vinylsulphonic acid copolymers. The functional composition of the stabilising polymer matrix was established to cause a significant effect on the hydrodynamic dimensions of polymer nanocomposites in an aqueous medium.

REFERENCES

1. Zenin AA. Synthesis of hybrid materials in polyelectrolyte matrixes: control over sizes and spatial organization of metallic nanostructures *Polymer science. Series C.* 2016;58(1):118–130. <https://doi.org/10.1134/S1811238216010136>
2. Demchenko V, Riabov S, Shtompel V. X-ray

Study of Structural Formation and Thermomechanical Properties of Silver-Containing Polymer Nanocomposites. *Nanoscale Research Letters*. 2017; 12(1):235–240. <https://doi.org/10.1186/s-11671-017-1967-2>

3. Dzhardimalieva GI, Uflyand IE. Preparation of metal-polymer nanocomposites by chemical reduction of metal ions: functions of polymer matrices. *Journal of Polymer Research*. 2018;25:255–320. <https://doi.org/10.1007/s10965-018-1646-8>

4. Tylkowski B, Trojanowska A, Nowak M, Marciniak L, Jastrzab R. Applications of silver nanoparticles stabilized and/or immobilized by polymer matrices. *Physical Sciences Reviews*. 2017;2(7). 6 p. <https://doi.org/10.1515/psr-2017-0024>

5. Prakash J, Pivin JC, Swart HC. Noble metal nanoparticles embedding into polymeric materials: From fundamentals to applications. *Advances in Colloid and Interface Science. Part B*. 2015;226: 187–202. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.10.010>

6. Gerasin VA, Antipov EM, Karbushev VV, Kulichikhin VG, Karpacheva GP, Talroze RV, et al. New approaches to the development of hybrid nanocomposites: from structural materials to high-tech applications. *Russian Chemical Reviews*. 2013;82(4):303–332. <https://doi.org/10.1070/RC2013v082n04ABEH004322>

7. Derjaguin B, Landau L. Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Progress Surface Science*. 1993;43(1-4): 30–59. [https://doi.org/10.1016/00796816\(93\)-90013-L](https://doi.org/10.1016/00796816(93)-90013-L)

8. Verwey EJW. Theory of the Stability of Lyophobic Colloids. *The Journal of Physical Chemistry*. 1947;51(3):631–636. <https://doi.org/10.1021/j150453a001>

9. Manojkumar K, Sivaramakrishna A, Vijayakrishna K. A short review on stable metal nanoparticles using ionic liquids, supported ionic liquids, and poly(ionic liquids). *Journal of Nanoparticle Research*. 2016;18(4):103–124. <https://doi.org/10.1007/s11051-016-3409-y>

10. Zezin AA, Feldman VI, Abramchuk SS, Ivanchenko VK, Zezina EA, Shmakova NA, et al. Formation of metal-polymer hybrid nanostructures during radiation-induced reduction of metal ions in poly(acrylic acid)-poly(ethylenimine) complexes. *Polymer Science. Series C*. 2011;53(1):61–67. <https://doi.org/10.1134/S1811238211060038>

11. Prozorova GF, Pozdnyakov AS, Emel'yanov AI, Korzhova SA, Ermakova TG, Trofimov BA. Water-soluble silver nanocomposites with 1-Vinyl-1,2,4-triazole copolymer. *Doklady Chemistry*. 2013;449(1): 87–88. <https://doi.org/10.1134/S00125-00813030051>

12. Pozdnyakov AS, Emel'yanov AI, Ermakova TG, Prozorova GF. Functional polymer nanocomposites containing triazole and carboxyl groups. *Polymer Science. Series B*. 2014;56(2):238–246. <https://doi.org/10.1134/s1560090414020122>

13. Kuznetsova NP, Ermakova TG, Pozdnyakov AS, Emel'yanov AI, Prozorova GF. Synthesis and characterization of silver polymer nanocomposites of 1-vinyl-1,2,4-triazole with acrylonitrile. *Russian Chemical Bulletin*. 2013;62(11):2509–2513. <https://doi.org/10.1007/s11172-013-0364-y>

14. Pozdnyakov A.S., Emel'yanov A.I., Kuznetsova N.P., Ermakova T.G., Korzhova S.A., Khutsishvili S.S., et al. Synthesis and Characterization of Silver-Containing Nanocomposites Based on 1-Vinyl-1,2,4-triazole and Acrylonitrile Copolymer. *Journal of Nanomaterials*. 2019. Article ID 4895192. 7 p. <https://doi.org/10.1155/2019/4895192>

15. Prozorova GF, Korzhova SA, Mazyar IV, Belovezhets LA, Kuznetsova NP, Emel'yanov AI, et al. Synthesis and properties of novel copolymer-Ag(0) nanocomposites. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiyai Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(1):22–27. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-1-22-27>

16. Pozdnyakov AS, Ivanova AA, Emel'yanov AI, Ermakova TG, Prozorova GF. Nanocomposites with silver nanoparticles based on copolymer of 1-vinyl-1,2,4-triazole with N-vinylpyrrolidone. *Russian Chemical Bulletin*. 2017;66(6):1099–1103. <https://doi.org/10.1007/s11172-017-1860-2>

17. Pozdnyakov AS, Emel'yanov AI, Kuznetsova NP, Ermakova TG, Bolgova YI, Trofimova OM, et al. A Polymer Nanocomposite with CuNP Stabilized by 1-Vinyl-1,2,4-triazole and Acrylonitrile Copolymer. *Synlett*. 2016;27(6):900–904. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1561292>

18. Prozorova GF, Korzhova SA, Pozdnyakov AS, Emel'yanov AI, Ermakova TG, Dubrovina VI. Immunomodulatory properties of silver-containing nanocomposite on the basis of polyvinyltriazole. *Russian Chemical Bulletin*. 2015;64(6):1437–1439. <https://doi.org/10.1007/s11172-015-1028-x>

19. Zezina EA, Emel'yanov AI, Pozdnyakov AS, Prozorova GF, Abramchuk SS, Feldman VI, et al. Radiation-induced synthesis of copper nanostructures in the films of interpolymer complexes. *Radiation physics and chemistry*. 2019;158:115–121. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2019.01.019>

20. Pozdnyakov AS, Emel'yanov AI, Kuznetsova NP, Ermakova TG, Fadeeva TV, Sosodova LM, et al. Nontoxic hydrophilic polymeric nanocomposites containing silver nanoparticles with strong antimicrobial activity. *The International Journal of Nanomedicine*. 2016;11:1295–1304. <https://doi.org/10.2147/IJN.S98995>

21. Pozdnyakov AS, Sekretarev EA, Emel'yanov AI, Prozorova GF. Hydrophilic functional copolymers of 1-vinyl-1,2,4-triazole with vinylsulfonic acid sodium salt. *Russian Chemical Bulletin*. 2017;66(12):2293–2297. <https://doi.org/10.1007/s11172-017-2017-z>

Contribution

Anastasiya A. Ivanova carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Anastasiya A. Ivanova has exclusive author's rights and bears responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

AUTHORS' INDEX

Anastasiya A. Ivanova,
Junior Researcher,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute
of Chemistry SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk 664033,
Russian Federation,
✉e-mail: ivanova93@irioch.irk.ru

Критерии авторства

Иванова А.А. выполнила экспериментальную работу, на основании полученных результатов провела обобщение и написала рукопись. Иванова А.А. имеет на статью эксклюзивные авторские права и несет ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Автор прочитал и одобрил окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Иванова Анастасия Андреевна,
младший научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
✉e-mail: ivanova93@irioch.irk.ru

Краткие сообщения / Brief communication

УДК 662.756.3

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-773-778>

Перезэтерификация подсолнечного масла в среде суб- и сверхкритического диметилкарбоната

© Н.П. Тигунцева, Е.С. Фомина, С.Н. Евстафьев

Иркутский национальный исследовательский технический университет,
г. Иркутск, Российская Федерация

Резюме: Разработка экологически безопасных способов получения биодизельного топлива и освоение новых возобновляемых источников энергии на сегодняшний день являются актуальными задачами. Цель работы – оценка влияния продолжительности и температуры обработки подсолнечного масла в среде суб- и сверхкритического диметилкарбоната на выход и состав метиловых эфиров карбоновых кислот. Эксперимент выполнен в автоклаве периодического типа в интервале температур 150–325 °С, мольное соотношение масло : диметилкарбонат = 1 : 9. Химический состав продуктов перезэтерификации исследован методом ГХ-МС. Показано, что в субкритических условиях в интервале 150–225 °С перезэтерификация масел практически не происходит. Увеличение выхода метиловых эфиров наблюдается при температурах выше 225 °С с максимумом (90,6 % масс.) в сверхкритической области при 280 °С. При обработке в субкритических условиях в течение 9 мин выход метиловых эфиров не превышает 80 % масс. При этом в составе продуктов перезэтерификации наряду с метиловыми эфирами обнаружены моно- и диглицериды жирных кислот, метанол, глицерин и продукты его превращений, содержание которых с повышением температуры снижается. Продукт перезэтерификации масла в сверхкритических условиях представлен по составу метиловыми эфирами карбоновых кислот. Содержание примесей не более 1 %. Влияние продолжительности обработки на выход метиловых эфиров наиболее выражено в субкритических условиях процесса. В сверхкритических условиях более 80 % триглицеридов масла превращается в метиловые эфиры карбоновых кислот в течение 3–5 мин обработки. На основании проведенных исследований обоснован выбор температурных условий процесса перезэтерификации масла в среде диметилкарбоната и получены дополнительные сведения о составе продуктов.

Ключевые слова: диметилкарбонат, суб- и сверхкритические условия, перезэтерификация, подсолнечное масло, метиловые эфиры карбоновых кислот, биодизельное топливо

Информация о статье: Дата поступления 15 апреля 2019 г.; дата принятия к печати 25 ноября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 декабря 2019 г.

Для цитирования: Тигунцева Н.П., Фомина Е.С., Евстафьев С.Н. Перезэтерификация подсолнечного масла в среде суб- и сверхкритического диметилкарбоната // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9, N 4. С. 773–778. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-773-778>

Transesterification of sunflower oil in a sub- and supercritical dimethyl carbonate medium

Nadezhda P. Tiguntceva, Elena S. Fomina, Sergej N. Evstaf'ev

Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: At present, the development of environmentally friendly methods for producing biodiesel and the development of new renewable energy sources appears to be an urgent task. The present article reports on a study aimed at assessing the effect of the duration and temperature of sunflower oil processing in sub- and supercritical dimethyl carbonate media on the yield and composition of methyl esters of carboxylic acids. The experiment was carried out using a batch type autoclave in the temperature range of 150–325 °C and an oil : dimethyl carbonate molar ratio equal to 1 : 9. The chemical composition of transesterification products was studied using the GC-MS method. Under subcritical conditions in the range of 150–225 °C, no transesterification of oils practically is detected. An increase in the yield of methyl esters is observed at temperatures

above 225 °C with a maximum value of 90.6 % mass identified in the supercritical region at 280 °C. When processed under subcritical conditions for 9 min, the yield of methyl esters does not exceed 80 % of the mass. Along with methyl esters, transesterification products were represented by mono- and diglycerides of fatty acids, methanol, glycerine and the products of glycerine transformations. The content of these products decreased under an increase in temperature. The transesterification product of oil under supercritical conditions is represented by the composition of methyl esters of carboxylic acids. The content of impurities is not more than 1 %. The effect of the treatment duration on the yield of methyl esters is shown to be most pronounced in the subcritical conditions of the process. Under supercritical conditions, more than 80 % of the oil triglycerides are converted to carboxylic acid methyl esters within 3–5 minutes of treatment. Based on the conducted studies, the choice of temperature conditions for the transesterification of oil in dimethyl carbonate medium was substantiated and additional information on the composition of the products was obtained.

Keywords: dimethyl carbonate, sub- and supercritical conditions, transesterification, sunflower oil, methyl esters of carboxylic acids, biodiesel

Information about the article: Received April 19, 2019; accepted for publication November 25, 2019; available online December 30, 2019.

For citation: Tiguntceva NP, Fomina ES, Evstaf'ev SN. Transesterification of sunflower oil in a sub- and supercritical dimethyl carbonate medium. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4):773–778 (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-773-778>

ВВЕДЕНИЕ

Вредное воздействие на экологию использованного нефтяного дизельного топлива и сокращение запасов нефти способствовали разработке способов получения биодизельного топлива из растительных масел: в настоящее время эфиры рапсового масла используются в качестве топлива в Европе, а эфиры пальмового масла – в Малайзии [1, 2].

Биодизельное топливо обычно получают путем переэтерификации из пальмового, соевого и рапсового масел [3–6] и животных жиров [7]. Традиционный способ его получения представляет собой многостадийный процесс, включающий переэтерификацию триглицеридов масла метанолом в присутствии щелочного катализатора, фракционирование полученных продуктов и очистку. К основным недостаткам этого процесса относят его продолжительность, сложность очистки продукта, высокие требования к составу сырья, токсичность метанола и продуктов очистки.

Проведение переэтерификации в среде сверхкритического метанола без катализатора [8, 9] и с катализатором [10] позволило существенно сократить продолжительность процесса и снизить требования к составу масел, в частности, по содержанию воды и свободных карбоновых кислот. Недостатками оставались токсичность метанола и проведение реакции в условиях высоких температур (350–400 °C). В целях повышения экологичности процесса производства вместо метанола было предложено использовать этанол [11–15] и диметилкарбонат при атмосферном давлении [16, 17] и в сверхкритических условиях [18–21]. Было показано, что переэтерификация диметилкарбонатом имеет практические перспективы, поскольку

ку диметилкарбонат является экологически чистым реагентом и имеет высокую метилирующую способность. Процесс протекает с высокой скоростью, а полученное биотопливо по ряду характеристик превосходит традиционное биодизельное топливо. Однако для широкого практического внедрения требуются дополнительные исследования, так как недостаточно сведений о механизме переэтерификации, а также о составе продуктов в зависимости от условий процесса, в частности, мало изучена переэтерификация диметилкарбонатом в субкритических условиях.

Цель настоящей работы – дать сравнительную оценку влияния продолжительности и температуры обработки подсолнечного масла в среде суб- и сверхкритического диметилкарбоната на выход и состав метиловых эфиров карбоновых кислот.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Работа выполнена с нерафинированным подсолнечным маслом, приобретенным в торговой сети. В качестве метилирующего реагента использован диметилкарбонат. Критические параметры диметилкарбоната [16]: температура – 274,9 °C; давление – 4,63 МПа.

Переэтерификацию масла проводили в автоклаве объемом 8 см³, изготовленном из нержавеющей стали, в интервале температур 150–325 °C и продолжительности изотермической выдержки от 3 до 13 мин. Скорость нагрева автоклава до заданной температуры составляла 20 град/мин, скорость охлаждения – 50 град/мин. Мольное соотношение масло : диметилкарбонат = 1 : 9.

Количественное содержание диметилкарбоната, свободных и метилированных карбоно-

вых кислот в продуктах переэтерификации определяли методом ГХ-МС на хроматографе 7820 А с селективным масс-спектрометрическим детектором HP 5975 фирмы «Agilent Technologies». Энергия ионизации – 70 эВ. Температура: сепаратора – 280 °С, ионного источника – 230 °С. Кварцевая колонка 30000×0,25 мм со стационарной фазой (95 % диметил-5 % дифенилполисилоксан). Условия анализа: 3 мин изотермы при 45 °С с последующим подъемом температуры до 180 °С со скоростью 25 град/мин и затем – до 230 °С со скоростью 4 град/мин с выдержкой в течение 20 мин при 230 °С. Идентификацию компонентов осуществляли с использованием библиотеки масс-спектров «NIST11». В качестве внутреннего стандарта использовали ацетонитрил.

Кислотное и эфирное числа масла определяли по ГОСТ 52110-2003 и ГОСТ 5478-90 соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исходное масло характеризуется относительно высоким содержанием свободных карбоновых кислот. Кислотное число масла в пересчете на олеиновую кислоту составило 0,86 % масс. В их составе в преобладающих количествах присутствуют такие ненасыщенные кислоты, как олеиновая, линолевая и линоленовая. На долю насыщенных кислот, представленных пальмитиновой и стеариновой кислотами, приходится около 11 %. Высокое содержание триглицеридов кислот (ЭЧ = 97,8 % масс.) в комплексе со свободными карбоновыми кислотами обеспечивает достаточно высокий выход метиловых эфиров

при обработке масла диметилкарбонатом.

Согласно полученным данным, выход метиловых эфиров повышается с увеличением температуры и продолжительности обработки.

В субкритических условиях в интервале температур 150–225 °С процесс переэтерификации масла практически не протекает. Выход метиловых эфиров не превышает 1,5 % (рис. 1). При последующем повышении температуры он резко возрастает, достигая 60,5 % масс. при 260 °С обработке в течение 9 мин. При увеличении продолжительности до 13 мин выход эфиров составил 70,6 %. Максимальный выход метиловых эфиров – 90,6 % масс., был получен при продолжительности обработки 9 мин в сверхкритических условиях при 280 °С. В этих условиях 92,3 % триглицеридов масла превратилось в метиловые эфиры кислот. Использование температуры обработки более 300 °С нежелательно, так как выход эфиров снижается, вероятно, из-за их низкой термостойкости.

Влияние продолжительности обработки на выход метиловых эфиров наиболее выражено в субкритических условиях (рис. 2). Так, при 260 °С при повышении продолжительности обработки с 3 до 9 мин выход метиловых эфиров увеличился практически на 60 %, в то время как при 280 °С – лишь на 12 %. Следует отметить, что процесс переэтерификации масла в сверхкритических условиях протекает с большей скоростью, поскольку при 280 °С в течение 3 мин около 80 % свободных карбоновых кислот и триглицеридов масла превращаются в метиловые эфиры, в то время как в субкритических условиях при 260 °С – не более 1,5 %.

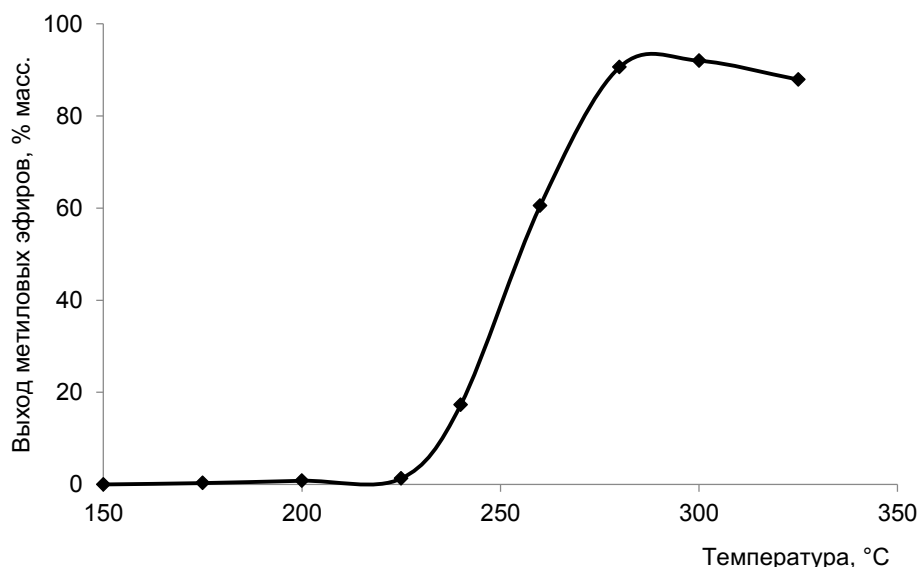


Рис. 1. Зависимость выхода метиловых эфиров от температуры переэтерификации (продолжительность 9 мин)

Fig. 1. Methyl esters yield versus transesterification temperature (duration 9 min)

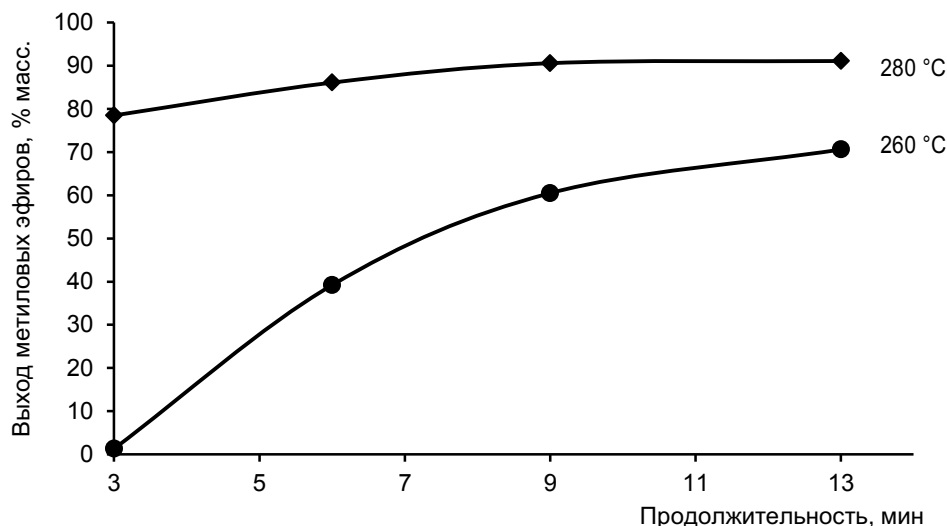


Рис. 2. Зависимость выхода метиловых эфиров от продолжительности обработки

Fig. 2. Methyl esters yield versus duration of treatment

Основными компонентами продукта переэтерификации масла, полученного в среде сверхкритического диметилкарбоната при 280 °C (9 мин), являются метиловые эфиры насыщенных (C_8 – C_{19}) и ненасыщенных кислот (C_{16} – C_{20}). На долю последних, представленных эфирами пальмитолеиновой, олеиновой, линолевой и эйкозадиеновой кислот, приходится 84 % от общего содержания эфиров. Доминирующим является метилолеат (65 % отн.). Содержание примесей, представленных в основном алканами, не превышает 1 %. Глицеринкарбонат, цитрамаловая кислота и глиоксаль, образование которых предполагают при сверхкритической переэтерификации диметилкарбонатом [16], не обнаружены, что свидетельствует о необходимости дополнительных исследований механизма процесса переэтерификации масел в среде диметилкарбоната.

Отличительной особенностью продуктов переэтерификации подсолнечного масла в сверхкритических условиях является присутствие в их составе моно- и диглицеридов жирных кис-

лот, метанола, глицерина и продуктов его превращений (глицидола, 1-метоксипропандиола, 1,3-диметокси-2-пропанола, 2-пропенил-оксиметилоксирана и др.). С повышением температуры обработки их содержание снижается.

ВЫВОДЫ

В результате проведенного исследования:

– подтверждена возможность проведения переэтерификации подсолнечного масла в среде суб- и сверхкритического диметилкарбоната без использования катализаторов с получением высокого выхода метиловых эфиров карбоновых кислот;

– установлено, что переэтерификация масла диметилкарбонатом протекает в интервале температур 225–280 °C;

– показано, что в составе продуктов субкритической переэтерификации наряду с метиловыми эфирами присутствуют моно- и диглицериды жирных кислот, метанол, глицерин и продукты его превращений. Содержание примесей в продукте сверхкритической переэтерификации не превышает 1 %.

REFERENCES

1. Balat M, Balat H. Progress in biodiesel progressing. *Applied Energy*. 2010;87(6):1815–1835. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.01.012>
2. Wan Z, Hameed BH. Transesterification of palm oil to methyl ester on activated carbon supported calcium oxide catalyst. *Bioresource Technology*. 2011;102(3):2659–2664. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.119>
3. Zabeti M, Wan Daud WMA, Aroua MK. Activity of solid catalysts for biodiesel production: A review. *Fuel Processing Technology*. 2009;90(6):770–777. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2009.03.010>
4. Kim H-J, Kang B-S, Kim M-J, Park YM, Kim D-K, Lee J-S, et al. Transesterification of vegetable oil to biodiesel using heterogeneous base catalyst. *Catalysis Today*. 2004;93-95:315–320. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2004.06.007>
5. D'Cruz A, Kulkarni MG, Meher LC, Dalai AK. Synthesis of biodiesel from canola oil using heterogeneous base catalyst. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 2007;84(10):937–943. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1121-x>
6. Irmawati R, Shafizah I, Nur Sharina A, Abastabar Ahangar H, Taufiq-Yap YH. Transester-

ification of Palm Oil by Using Silica Loaded Potassium Carbonate (K_2CO_3/SiO_2) Catalysts to Produce Fatty Acid Methyl Esters (FAME). *Energy and Power*. 2014;4(1):7–15. <https://doi.org/10.5923/j.ep.20140401.02>

7. Encinar JM, Sámchez N, Martínez G, García L. Study of biodiesel production from animal fats with high free fatty acid content. *Bioresource Technology*. 2011;102(23):10907–10914. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.068>

8. Kusdiana D, Saka S. Methyl Esterification of Free Fatty Acids of Rapeseed Oil as Treated in Supercritical Methanol. *Journal of Chemical Engineering of Japan*. 2001;34(3):383–387. <https://doi.org/10.1252/jcej.34.383>

9. Zhou C, Wang C, Wang W, Wu Y, Yu F, Chi R, et al. Continuous production of biodiesel from soybean oil using supercritical methanol in a vertical tubular reactor: I. Phase holdup and distribution of intermediate product along the axial direct direction. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2010;18:626–629.

10. Kusdiana D, Saka S. Kinetics of transesterification in rapeseed oil to biodiesel fuel as treated in supercritical methanol. *Fuel*. 2001;80(5):693–698. [https://doi.org/10.1016/S0016-2361\(00\)00140-X](https://doi.org/10.1016/S0016-2361(00)00140-X)

11. Vieitez I, Pardo MJ, da Silva C, Bertoldi C, de Castilhos F, Oliveira JV, et al. Continuous synthesis of castor oil ethyl esters under supercritical ethanol. *Journal of Supercritical Fluids*. 2011;56(3):271–276. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2010.10.034>

12. Vieitez I, Irigaray B, Casullo P, Pardo MJ, Grompone MA, Jachmanian I. Effect of free fatty acids on the efficiency of the supercritical ethanolysis of vegetable oils from different origins. *Energy and Fuels*. 2012;26(3):1946–1951. <https://doi.org/10.1021/ef201977s>

13. Vieitez I, da Silva C, Alckmin I, de Castilhos F, Oliveira JV, Grompone MA, Jachmanián I. Stability of ethyl esters from soybean oil exposed to high temperatures in supercritical ethanol. *Journal of Supercritical Fluids*. 2011;56(3):265–270. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2010.10.033>

14. Tan KT, Gui MM, Lee KT, Mohamed AR. Supercritical alcohol technology in biodiesel production: a comparative study between methanol and ethanol. *Energy Sources. Part A*. 2010;33(2):156–163. <https://doi.org/10.1080/15567030902937226>

15. Velez A, Soto G, Hegel P, Mabe G, Pereda S. Continuous production of fatty acid ethyl esters from sunflower oil using supercritical ethanol. *Fuel*. 2012;97:703–709.

16. Ilham Z, Saka S. Dimethyl carbonate as potential reactant in non-catalytic biodiesel production by supercritical method. *Bioresource Technology*. 2009;100(5):1793–1796. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.050>

17. Kwon EE, Yi H, Jeon YJ. Boosting the value of biodiesel byproduct by the non-catalytic transesterification of dimethyl carbonate via a continuous flow system under ambient pressure. *Chemosphere*. 2014;113:87–92. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.055>

18. Fabbri D, Bevoni V, Notari M, Rivetti F. Properties of a potential biofuel obtained from soybean oil by transmethylation with dimethyl carbonate. *Fuel*. 2007;86(5-6):690–697. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2006.09.003>

19. Dawodu FA, Ayodele OO, Xin J, Zhang S. Dimethyl carbonate mediated production of biodiesel at different reaction temperatures. *Renewable Energy*. 2014;68:581–587. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.02.036>

20. Ilham Z, Saka S. Optimization of supercritical dimethyl carbonate method for biodiesel production. *Fuel*. 2012;97:670–677. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.02.066>

21. Ilham Z, Saka S. Two-step supercritical dimethyl carbonate method for biodiesel production from *Jatropha curcas* oil. *Bioresource Technology*. 2010;101(8):2735–2740. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.053>

Критерии авторства

Тигунцева Н.П., Фомина Е.С., Евстафьев С.Н. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Тигунцева Н.П., Фомина Е.С., Евстафьев С.Н. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Contribution

Nadezhda P. Tiguntceva, Elena S. Fomina, Sergej N. Evstaf'ev carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Nadezhda P. Tiguntceva, Elena S. Fomina, Sergej N. Evstaf'ev have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Тигунцева Надежда Павловна,

к.х.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
✉e-mail: tignadezhda@yandex.ru

Фомина Елена Сергеевна,

к.х.н., старший преподаватель,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: lenafomina1982@yandex.ru

Евстафьев Сергей Николаевич,

д.х.н., профессор, заведующий кафедрой
химии и пищевой технологии,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: esn@istu.edu

AUTHORS' INDEX

Nadezhda P. Tiguntceva,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
✉e-mail: tignadezhda@yandex.ru

Elena S. Fomina,

Cand. Sci. (Chemistry), Senior Lecturer,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: lenafomina1982@yandex.ru

Sergej N. Evstaf'ev,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Head of Chemistry
and Food Technology Department,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk 664074,
Russian Federation,
e-mail: esn@istu.edu

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ ТОМА 9, 2019 г.

А

Агровиченко Д.В. N1 С. 139–144
Адамович С.Н. N3 С. 430–438;
Айзина Ю.А. N1 С. 36–43
Акинина Ю.Н. N4 С. 679–693
Александрова С.С. N2 С. 288–301
Алиева А.Ф. N3 С. 376–384;
Анциферов Е.А. N4 С. 600–611
Арефьева О.Д. N2 С. 159–169
Аронова Е.Б. N4 С. 679–693
Артемяева Ж.Н. N2 С. 328–341
Асламова В.С. N2 С. 351–359
Асякина Л.К. N4 С. 703–711
Аюрова О.Ж. № 1 С. 6–12

Б

Бабынин Э.В. N1 С. 81–94; N2 С. 302–312
Багинов Д.Б. N1 С. 13–21
Бадарин С.А. N3 С. 403–419;
Бадеева Е.К. N1 С. 81–94
Бадырова Н.М. N4 С. 621–634
Базарнова Ю.Г. N4 С. 679–693
Базаров Б.Г. N2 С. 202–211
Базарова Ж.Г. N2 С. 202–211
Базарова Ц.Т. N2 С. 202–211
Байбакова О.В. N3 С. 420–429;
Банникова А.В. N2 С. 270–276
Барбора Л. N3 С. 477–488
Барышок В.П. N4 С. 590–599
Бахманова Ф.Н. N2 С. 194–201
Баяндин В.В. N3 С. 366–375;
Беловежец Л.А. N1 С. 23–27
Белых О.А. N1 С. 118–124
Беляк А.Л. N2 С. 342–350
Бешков В. N3 С. 477–488
Бибиков Д.Н. N3 С. 403–419;
Битуев А.В. N1 С. 6–12; N2 С. 232–238
Богдашов А.А. N4 С. 750–758
Боженков Г.В. N2 С. 320–327
Болотникова О.И. N4 С. 679–693
Болотникова Т.А. N4 С. 679–693
Бондаревич Е.А. N1 С. 75–80
Борисенко А.Ю. N4 С. 665–678
Боровский Г.Б. N2 С. 277–287
Бояркина С.В. N1 С. 67–74
Бровдыова Т. N1 С. 44–52
Будаева В.В. N3 С. 420–429; N4 С. 654–664
Букин Ю.С. N4
Булаева Н.М. N1 С. 145–152

В

Валеева А.Р. N2 С. 239–249
Валиулина Д.Ф. N2 С. 239–249
Вдовина Т.В. N1 С. 44–52
Верхозина В.А. N1 С. 109–117
Верхозина Е.В. N1 С. 109–117
Виноградов В.В. N4 С. 665–678

Ворожцов Д.Л. N4 С. 750–758
Волох О.А. N3 С. 403–419;
Волошина А.Д. N1 С. 81–94
Воронкова М.С. N3 С. 529–535;
Воронов В.К. N1 С. 183–193
Выборнова Т.В. N4 С. 643–653
Высочина Г.И. N1 С. 95–101; N3 С. 529–535

Г

Гаджиева С.Р. N2 С. 194–201; N3 С. 385–394
Ганина А.А. N3 С. 536–546;
Гефан Н.Г. N3 С. 430–438
Гладилина Ю.А. N2 С. 288–301
Гладышева Е.К. N2 С. 260–269; N3 С. 420–429
Глявин М.Ю. N4 С. 750–758
Голодков Ю.Э. N2 С. 342–350
Голубев Д.С. N2 С. 260–269
Горбунова Н.В. N2 С. 270–276
Горбунова Ю.О. N3 С. 477–488;
Грабельных В.А. N2 С. 351–359
Грабельных О.И. N3 С. 461–476;
Гришин Д.В. N2 С. 288–301
Гусакова Г.С. N4 С. 722–736
Губанов Н.Д. N2 С. 320–327
Гусева Е.А. N4 С. 600–611
Гусейнов Ф.Э. N3 С. 376–384;

Д

Дадашев М.Н. N1 С. 145–152
Дарбакова Н.В. N2 С. 250–259
Дегтярева И.А. N2 С. 302–312
Денисенко А.Н. N4 С. 750–758
Джафаров Р.Ф. N1 С. 145–152
Джигоев Ю.П. N4 С. 665–678
Доржиева С.Г. N2 С. 202–211
Дорофеев Н.В. N3 С. 461–476;
Дошлов И.О. N2 С. 313–319
Дриль А.А. N3 С. 500–508;
Дубровский Д.А. N3 С. 536–546;
Дударева Л.В. N3 С. 439–446;
Дышлюк Л.С. N4 С. 703–711
Дьячкова С.Г. N2 С. 328–341; N3 С. 536–546

Е

Евелева В.В. N4 С. 635–642
Евстафьев С.Н. N4 С. 773–778
Евсевлеева Л.Г. N1 С. 133–138
Евтеев А.В. N2 С. 270–276
Емельянов А.И. N1 С. 23–27; N3 С. 557–562
Еникеев А.Г. N4 С. 694–702
Еникеева Л.Ю. N4 С. 694–702

Ж

Жданова Г.О. N3 С. 477–488
Жданов Д.Д. N2 С. 288–301
Жмурина Н.Д. N1 С. 125–132

З

Засовская М.А.	N2 C. 170–175
Заяханов М.Е.	N1 C. 6–12; N2 C. 232–238
Земнухова Л.А.	N2 C. 159–169
Злобин В.И.	N4 C. 665–678
Зыкова Ю.А.	N4 C. 665–678

И

Иванова А.А.	N4 C. 768–772
Иванов В.В.	N3 C. 447–460
Иванова Е.И.	N3 C. 430–438
Иванова М.В.	N2 C. 277–287
Иванова Н.Н.	N4 C. 712–721
Ильина О.В.	N1 6–12

К

Кадырова Э.М.	N2 C. 176–181
Камаева А.Ю.	N2 C. 159–169
Камалов Р.Т.	N1 C. 60–66
Канарская З.А.	N3 C. 509–518;
Канарский А.В.	N3 C. 509–518;
Карпачева Я.Г.	N1 C. 28–35
Кашеева Е.И.	N4 C. 654–664
Кобзева С.Ю.	N1 C. 125–132
Ковальский Б.И.	N1 C. 139–144
Ковехова А.В.	N2 C. 159–169
Коденцова В.М.	N3 C. 519–528;
Комиссаров А.В.	N3 C. 403–419;
Кондакова М.А.	N2 C. 277–287
Кондратьева Л.М.	N1 C. 133–138
Коржова С.А.	N1 C. 23–27
Корнев А.Ю.	N3 C. 547–557
Кортаева Н.Е.	N2 C. 277–287
Корсукова А.В.	N3 C. 461–476;
Корчевин Н.А.	N1 C. 133–138; N 4 C. 576–589
Костылева Н.И.	N3 C. 403–419;
Коцюржинская Н.Н.	N1 C. 75–80
Кочеткова А.А.	N3 C. 519–528;
Крапивницкая Т.О.	N4 C. 750–758
Кузнецов В.И.	N3 C. 430–438;
Кузнецова Н.П.	N1 C. 23–27
Кузора И.Е.	N2 C. 328–341; N3 C. 536–546
Кузьмина Т.Н.	N4 C. 712–721
Кукушкина Т.А.	N3 C. 529–535;
Кулшреста В.	N3 C. 557–562;
Кульков В.Н.	N1 C. 60–66
Купчинский А.Б.	N3 C. 477–488;
Куран П.	N1 C. 44–52

Л

Лебедева О.В.	N3 C. 557–562
Ле Н.Т.З.	N4 C. 590–599
Лескова О.А.	N1 C. 75–80
Летова И.А.	N1 C. 53–59
Логвинова А.В.	N2 C. 202–211

М

Мадумаров С.А.	N1 C. 53–59
----------------	-------------

Макарова Н.В.	N2 C. 239–249
Макаров С.С.	N4 C. 722–736
Малахова Е.А.	N3 C. 557–562
Мамедова Ч.А.	N3 C. 395–402
Марданова В.И.	N3 C. 385–394
Махиянов А.Н.	N1 C. 81–94
Миронова Г.Ф.	N4 C. 654–664
Митрофанова И.В.	N4 C. 712–721
Михайлова Н.П.	N4 C. 679–693
Медведев Д.В.	N2 C. 320–327
Миндубаев А.З.	N1 C. 81–94
Минзанова С.Т.	N1 C. 81–94
Миронова Л.Г.	N1 C. 81–94
Могнонов Д.М.	№ 1 C. 6–12; N4 C. 612–620
Муравьев А.С.	N1 C. 102–108
Мурсалов Р.Р.	N1 C. 145–152
Мухачев С.Г.	N4 C. 737–749

Н

Нагорнов С.А.	N3 C. 547–557
Насонова В.В.	N3 C. 557–562
Нгуен Тхи Тху Суан	N3 C. 366–375
Недвецкая Г.Б.	N1 C. 36–43
Немчинова А.И.	N4 C. 722–736
Нечипоренко А.П.	N3 C. 489–499
Никифоров А.К.	N3 C. 403–419
Никонова В.С.	N4 C. 576–589
Ниндакова Л.О.	N4 C. 621–634
Новикова И.В.	N1 C. 102–108
Новокшенов В.В.	N3 C. 366–375

О-П

Оборина Е.Н.	N3 C. 430–438
Обуздина М.В.	N2 C. 351–359
Омеличкина Ю.В.	N1 C. 67–74
Орехова С.М.	N3 C. 489–499
Остяк А.С.	N3 C. 430–438
Панасенко А.Е.	N2 C. 159–169
Перетолчина Н.П.	N4 C. 665–678
Песков Н.Ю.	N4 C. 750–758
Петров О.Н.	N1 C. 139–144
Петрук А.А.	N1 C. 95–101
Пискунов Д.Б.	N1 C. 81–94
Плотникова А.С.	N1 C. 36–43
Плотникова Л.В.	N3 C. 489–499
Плотников П.П.	N3 C. 489–499
Побежимова Т.П.	N3 C. 461–476
Подгорбунская Т.А.	N3 C. 366–375
Пожидаев Ю.Н.	N1 C. 13–21; N3 C. 557–562
Поздняков А.С.	N1 C. 23–27
Покровская М.В.	N2 C. 288–301
Полякова Н.В.	N2 C. 159–169
Принцева А.А.	N4 C. 643–653
Прозорова Г.Ф.	N1 C. 23–27
Просеков А.Ю.	N4 C. 703–711

Р-С

Раскулова Т.В.	N3 C. 557–562
----------------	---------------

Раченко М.А.	N4 С. 722–736	Х-Ч	
Рева О.Н.	N4 С. 665–678	Хабибулина А.Р.	N1 С. 44–52
Рождественская Л.Н.	N3 С. 500–508	Хабибрахманов Р.Б.	N4 С. 737–749
Розенцвейг И.Б.	N3 С. 430–438; N4 С. 576–589	Хазагаева С.Н.	N2 С. 250–259
Романцова С.В.	N3 С. 547–557	Хамагаева И.С.	N2 С. 250–259
Рудиковская Е.Г.	N3 С. 439–446	Хан Х.	N4 С. 654–664
С		Хаптанова Н.М.	N3 С. 430–438
Садловский С.В.	N4 С. 600–611	Ха Т.З.	N3 С. 509–518
Саксонов М.Н.	N3 С. 477–488	Хохлов С.Ю.	N4 С. 712–721
Саловарова В.П.	N4 С. 665–678	Цыренов В.Ж.	N2 С. 250–259
Самойленко Г.Ю.	N1 С. 75–80	Черпалова Т.М.	N4 С. 635–642
Самохвалов Н.М.	N4 С. 759–767	Чеснокова А.Н.	N4 С. 722–736
Саркисян В.А.	N3 С. 519–528	Чиркова В.Ю.	N2 С. 222–231
Свердлова О.Л.	N1 С. 133–138	Чупарина Е.В.	N1 С. 118–124; N4 С. 722–736
Се Б.	N3 С. 477–488	Чырагов Ф.М.	N2 С. 194–201; N3 С. 385–394
Седлов Д.Н.	N3 С. 536–546	Ш-Щ	
Семенычева Л.Л.	N4	Шаглаева Н.С.	N1 С. 13–21; N3 С. 366–375
Сибиева Л.М.	N2 С. 302–312	Шалунц Л.В.	N2 С. 351–359
Синицына Н.В.	N3 С. 403–419	Шалыгина В.В.	N1 С. 28–35
Сироткин А.С.	N1 С. 44–52; N2 С. 302–312	Шамилова Н.Т.	N3 С. 376–384
Скиба Е.А.	N2 С. 260–269; N3 С. 420–429	Шариков А.Ю.	N3 С. 447–460
Смирнова М.Ю.	N1 С. 28–35	Шарлаева Е.А.	N2 С. 222–231
Соколов Н.Н.	N2 С. 288–301	Шарова Н.Ю.	N4 С. 643–653
Сокольников А.Н.	N1 С. 139–144	Шафикова Т.Н.	N1 С. 67–74
Солопанов Е.Ю.	N1 С. 60–66	Шах Махмуд Р.З.	N1 С. 53–59.
Станевич Л.М.	N1 С. 13–21	Шелепина Н.В.	N1 С. 125–132
Семенычева Л.Л.	N4 С. 750–758	Шипелин В.А.	N3 С. 519–528
Станевич Л.М.	N1 С. 13–21	Шиповская Е.А.	N4 С. 635–642
Старикова О.В.	N2 С. 328–341	Шкетова Л.И.	N1 С. 106–117
Стась И.Е.	N2 С. 222–231	Шмаков В.Н.	N3 С. 439–446
Степанов В.И.	N3 С. 447–460	Шрам В.Г.	N1 С. 139–144
Степанова Е.В.	N2 С. 212–221	Щербаков А.В.	N3 С. 509–518
Степаненко Л.А.	N4 С. 665–678	Щербакова Е.Н.	N3 С. 509–518
Стом Д.И.	N3 С. 477–488	Щёкотова А.В.	N2 С. 250–259
Суворова Г.Г.	N2 С. 277–287	Ю-Я	
Супрун Н.П.	N4 С. 722–736	Юрицын И.А.	N1 С. 102–108
Сысоева М.А.	N1 С. 53–59	Эюбова Э.Дж.	N3 С. 376–384
Т		Яковлева А.А.	N4 С. 600–611
Танганов Б.Б.	N2 С. 232–238; N4 С. 612–620		
Тигунцева Н.П.	N4 С. 773–778		
Тимофеева С.С.	N1 С. 106–117		
Трёгл Й.	N1 С. 44–52		
Туниева Е.К.	N3 С. 557–562		
Тушинова Ю.Л.	N2 С. 202–211		
У-Ф			
Уколова И.В.	N2 С. 277–287		
Ушаков И.А.	N2 С. 313–319; N3 С. 430–438		
Фарион И.А.	N1 С. 6–12		
Файсканов К.М.	N2 С. 212–221		
Федяева А.В.	N2 С. 277–287		
Фиалков В.А.	N3 С. 477–488		
Филатова Е.Г.	N1 С. 13–21		
Филенко Д.Г.	N1 С. 145–152		
Фомина Е.С.	N4 С. 773–778		
Фролова Ю.В.	N3 С. 519–528		

Уважаемые читатели!

Приглашаем Вас к активному творческому сотрудничеству по научным направлениям:

- Химические науки
- Физико-химическая биология
- Химическая технология

Журнал «Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология» включен в перечень рецензируемых научных изданий (**Перечень ВАК**) и следующие базы данных: Web of Science (**ESCI**), Chemical Abstracts Service (**CAS**), **EBSCO** Publishing Databases, European Reference Index for the Humanities and the Social Sciences (**ERIH PLUS**), **ВИНИТИ РАН**, система Российского индекса научного цитирования, представлен в электронной библиотеке «**Cyberleninka**», Directory of Open Access Journals (**DOAJ**) и описан в **Ulrich's Periodicals Directory**.

Публикациям журнала присваивается **DOI (Digital object identifier)**.

Редколлегия

Dear readers!

We would like to invite you to creative cooperation in the fields:

- Chemical Sciences
- Physical-Chemical and General Biology
- Chemical Technology

The Journal «Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya» is included in the list of journals which are regarded as academic publications by the State Commission for Academic Degrees and Titles (**ВАК**). The Journal also is indexing in Web of Science (**ESCI**), Chemical Abstracts Service (**CAS**), **EBSCO** Publishing Databases, European Reference Index for the Humanities and the Social Sciences (**ERIH PLUS**), **VINITI** Database (Referativnyi Zhurnal), Russian Science Citation Index, included in the digital scientific library **Cyberleninka**, Directory of Open Access Journals (**DOAJ**) and is described in **Ulrich's Periodicals Directory**.

Publications are assigned a **DOI (Digital object identifier)**.

Editorial Board

ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия и биотехнология
Том 9 N 4 (31) 2019

12+

PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
Applied chemistry and biotechnology
Volume 9 N 4 2019

Редактор О.А. Терновская
Перевод на английский язык Томаса Бивитта, Е.А. Приваловой
Компьютерный набор и верстка Н.П. Супрун
Ответственный за выпуск Ю.Н. Пожидаев

Дата выхода в свет 20.12.2019. Формат 60 x 90 / 8.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. л. 19,75.
Тираж 500 экз. Зак. 256. Поз. плана 5н.

Отпечатано в типографии издательства
ФГБОУ ВО «Иркутский национальный
исследовательский технический университет»
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83

Издание распространяется бесплатно
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83

Адрес типографии:
664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 81/12А