

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

12+

Том 10 N 2

2020



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ

**Прикладная химия
и биотехнология**

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ

ИРКУТСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия
и биотехнология

Том 10 N 2 2020



ИЗДАТЕЛЬСТВО
Иркутского национального исследовательского
технического университета



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия и биотехнология
Том 10 N 2 2020

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 10 N 2 2020

EDITORIAL BOARD

Editor in Chief :

Sergei N. Evstafev

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

Кунавина Е.А., Пешков С.А., Искандаров А.Ю. Синтез и строение 1-алкокси-1,4-диоксо-2-алкенолятов натрия и бис-(4-алкил(арил)-1-оксо-1-алкоксиалкан-2,4-дионато)металлов(II) на их основе.....	180
Черепанов И.С., Крюкова П.С. Образование гуминоподобных веществ в реакции D-глюкозы с <i>p</i> -толуидином в безводном этаноле.....	188
Марданова В.И., Тахирли Ш.А., Гаджиева С.Р., Чырагов Ф.М. Изучение комплексообразования никеля(II) с 1,3-дифенил-2-(2-гидрокси-4-нитрофенилгидрозо) проподионом-1,3 в присутствии третьих компонентов.....	196
Полынский И.В., Мироненко В.В., Полынская М.М., Анциферов Е.А. Исследование противокоррозионных свойств эпоксидных композиций методом импедансной спектроскопии.....	205
Сомин В.А., Комарова Л.Ф., Куталова А.В. Исследования по использованию лузги гречихи для умягчения воды.....	213

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Матвеев Ю.И., Аверьянова Е.В. Об агрегации в бинарных биополимерных системах.....	223
Муста Оглы Н.М., Шарова Н.Ю. Фитатгидролизующая активность штамма <i>Aspergillus niger</i> Л-4.....	232
Пятрикас Д.В., Горбылева Е.Л., Федяева А.В., Захарова С.С., Шпатов А.В., Попов С.А., Боровский Г.Б. Поиск биологически активных веществ природного происхождения на основе малополярных экстрактов хвойных.....	240
Агеева Н.М., Тихонова А.Н., Бирюков А.П. Влияние ферментных препаратов на ароматобразующие компоненты красных столовых вин.....	251
Чашина Е.Р., Ефременко З.А., Саловарова В.П., Гавриков Д.Е., Приставка А.А. Гидролиз целлюлозы ферментным комплексом <i>Trichoderma viride</i> в присутствии фторида натрия: влияние структуры субстрата и сорбционной активности целлюлаз.....	261
Абилова Г.А. Влияние салицилата натрия на физиолого-биохимические показатели проростков пшеницы при действии тяжелых металлов.....	274
Рабинович Г.Ю., Смирнова Ю.Д., Фомичева Н.В. Получение новых кремнийорганических удобрений и их апробация при моделировании водных стрессов.....	284
Ищенко А.А., Филинова Н.В., Сидоров А.В. Влияние клубеньковых и патогенных бактерий на изменение уровня оксида азота и циклического аденозинмонофосфата в корнях гороха на начальных этапах взаимодействия.....	294
Павлов И.Н. Влияние автогидролитической обработки <i>Miscanthus sacchariflorus</i> Andersson на выход редуцирующих веществ при последующем ферментализе.....	303
Мезенова Н.Ю., Агафонова С.В., Мезенова О.Я., Байдалинова Л.С., Волков В.В. Ферментативная модификация побочного мясокостного коллагенсодержащего сырья при его переработке.....	314

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Саламатов В.И. Исследование фильтрующих свойств тканей из хлопковых и синтетических волокон.....	325
Мамедов И.Г., Джавадова О.Н., Азимова Н.В. Приготовление дизельных смесей и исследование их физических свойств.....	332
Крапивницкая Т.О., Буланова С.А., Сорокин А.А., Денисенко А.Н., Ворожцов Д.Л., Семеньева Л.Л. Анализ продуктов низкотемпературного СВЧ-пиролиза торфа.....	339
Боженков Г.В., Медведев Д.В., Рудякова Е.В., Губанов, Н.Д. Каталитическая депарафинизация средних дистиллятов.....	349

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Чеснокова А.Н., Жамсаранжапова Т.Д., Закарчевский С.А., Кулшреста В., Скорникова С.А., Макаров С.С., Пожидаев Ю.Н. Влияние содержания цеолита на протонную проводимость и технические характеристики мембран на основе сшитого поливинилового спирта.....	360
---	-----

CONTENTS

CHEMICAL SCIENCES

Kunavina E.A., Peshkov S.A., Iskandarov A.Yu. Synthesis and structure of sodium 1-alkoxy-1,4-dioxo-2-alkenolates and <i>bis</i> -(4-alkyl(aryl)-1-oxo-1-alkoxyalkane-2,4-dionato) metals (II) based on them.....	180
Cherepanov I.S., Kryukova P.S. Formation of humic substances in the reaction of D-glucose with p-toluidine in anhydrous ethanol.....	188
Mardanov V.I., Taxirli S.A., Hajiyeva S.R., Ciraqov F.M. Component complexation study of Ni(II) with 1,3-diphenyl-2-(2-hydroxy-4-nitrophenylhydrozo)propodion-1,3.....	196
Polyansky I.V., Mironenko V.V., Polynskaya M.M., Antsiferov E.A. Impedance spectroscopy study of anticorrosive properties of epoxy compositions.....	205
Somin V.A., Komarova L.F., Kutalova A.V. Study of buckwheat husk application for water demineralisation.....	213

PHYSICAL-CHEMICAL BIOLOGY

Matveev Yu.I., Averyanova E.V. On aggregation in binary biopolymer systems.....	223
Musta Ogly N.M., Sharova N.Yu. Phytate hydrolysing activity of the <i>Aspergillus niger</i> L-4 micromycete strain.....	232
Pyatrikas D.V., Gorbyleva E.L., Fedyaeva A.V., Zakharova S.S., Shpatov A.V., Popov S.A., Borovskii G.B. Search for biologically active substances of natural origin based on low-polar conifer extracts.....	240
Ageeva N.M., Tichonova A.N., Biryukov A.P. Effect of enzyme preparations on the aroma-forming components of red table wines.....	251
Chashina E.R., Efremenko Z.A., Salovarova V.P., Gavrikov D.E., Pristavka A.A. Cellulose hydrolysis by <i>Trichoderma viride</i> enzyme complex in the presence of sodium fluoride: effect of substrate structure and cellulase sorption activity.....	261
Abilova G.A. Effect of sodium salicylate treatment on physiological and biochemical parameters of wheat seedlings under the influence of heavy metals.....	274
Rabinovich G.Yu., Smirnova Yu.D., Fomicheva N.V. Obtaining of new organosilicon fertilisers and their testing via water stress modelling.....	284
Ishchenko A.A., Filinova N.V., Sidorov A.V. Effect of nodule and pathogenic bacteria on levels of nitric oxide and cyclic adenosine monophosphate in pea roots at initial stages of interaction.....	294
Pavlov I.N. Effect of the autohydrolytic treatment of <i>Miscanthus sacchariflorus</i> Andersson on the yield of the reducing substances during the subsequent fermentolysis.....	303
Mezenova N.Yu., Agafonova S.V., Mezenova O.Ya., Baydalina L.S., Volkov V.V. The use of enzymatic modification in recycling of meat and bone collagen-containing byproducts.....	314

CHEMICAL TECHNOLOGY

Salamatov V.I. Study of the filtering properties of fabrics derived from cotton and synthetic fibres.....	325
Mamedov I.G., Javadova O.N., Asimova N.V. Preparation of diesel fuel blends and study of their physical properties.....	332
Krapivnitskaya T.O., Bulanov S.A., Sorokin A.A., Denisenko A.N., Vorozhtsov D.L., Semenicheva L.L. Analysis of the products of low-temperature microwave pyrolysis of peat.....	339
Bozhenkov G.V., Medvedev D.V., Rudyakova E.V., Gubanov N.D. Catalytic deparaffinization of middle distillates.....	349

BRIEF COMMUNICATION

Chesnokova A.N., Zhamsaranzhapova T.D., Zakarchevskiy S.A., Kulshrestha V., Skornikova S.A., Makarov S.S., Pozhidaev Yu.N. Effect of zeolite content on proton conductivity and technical characteristics of the membranes based on crosslinked polyvinyl alcohol.....	360
---	-----

Original article / Оригинальная статья

УДК 541.49; 542.06

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-180-187>

Synthesis and structure of sodium 1-alkoxy-1,4-dioxo-2-alkenolates and bis-(4-alkyl(aryl)-1-oxo-1-alkoxyalkane-2,4-dionato) metals (II) based on them

© Elena A. Kunavina*, Sergey A. Peshkov*, Aybek Yu. Iskandarov**

*Orenburg State University, Orenburg, Russian Federation

**Tashkent State Pedagogical University, Tashkent, Uzbekistan

Abstract: A priority task in contemporary organic chemistry consists in the synthesis of practically useful metal complexes having carbonyl-containing ligands. The present article details the isolation of several new bis-(4-alkyl(aryl)-1-oxo-1-alkoxyalkane-2,4-dionato) metals (II) via complex formation of metal salts of (zinc (II), copper (II) and nickel (II)) with sodium 1-alkoxy-1,4-dioxo-2-alkenolates obtained by condensation of alkyl (aryl) methyl ketones with dialkyl oxalates in the presence of sodium or sodium hydride as a condensing reagent. The structure of the synthesised sodium oxoenolates and metal complexes was confirmed by spectral analysis methods (IR, NMR ^1H -, NMR ^{13}C -spectroscopy and mass spectrometry). In the IR spectra of the solid samples of the isolated compounds, stretching vibrations bands of ester carbonyl groups were identified, as well as high-intensity ether bands due to the vibrations of C-O-C bonds. For compounds containing aromatic fragments, bands corresponding to vibrations of monosubstituted benzene rings were found in the IR spectra. The NMR spectra of ^1H of sodium oxoenolates and metal complexes recorded in DMSO- d_6 demonstrated characteristic signals of ethoxy and n-butoxy fragments, methine protons, as well as protons of aromatic rings. Chemical shifts of carbon atoms in the NMR spectra ^{13}C of sodium oxoenolates correspond well to the reference values. In the mass spectra of synthesised compounds recorded in electrospray mode, signals of protonated and cationised molecules were observed $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $[\text{M}+\text{K}]^+$. Using quantum chemical methods, the models of the obtained compounds were constructed along with a calculation of the formation energies and dissociation constants. Optimisation of the geometric parameters of the equilibrium states of sodium oxoenolate and metal complexes was carried out using the following two methods: density functional theory (DFT) and self-consistent field (SCF). The relative formation energies indicate high stability of the synthesised substances, while, according to the data obtained, copper complexes are characterised by greater stability in the gas phase as compared to zinc and nickel.

Keywords: sodium oxoenolates, metal complexes, synthesis, spectral analysis

Information about the article: Received January 23, 2020; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Kunavina EA, Peshkov SA, Iskandarov AYu. Synthesis and structure of sodium 1-alkoxy-1,4-dioxo-2-alkenolates and bis-(4-alkyl(aryl)-1-oxo-1-alkoxyalkane-2,4-dionato) metals (II) based on them. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):180–187. (In English) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-180-187>

Синтез и строение 1-алкокси-1,4-диоксо-2-алкенолятов натрия и бис-(4-алкил(арил)-1-оксо-1-алкоксиалкан-2,4-дионато)металлов(II) на их основе

Е.А. Кунавина*, С.А. Пешков*, А.Ю. Искандаров**

*Оренбургский государственный университет,

г. Оренбург, Российская Федерация

**Ташкентский государственный педагогический университет,

г. Ташкент, Узбекистан

Резюме: Синтез практически значимых металлокомплексов с карбонилсодержащими лигандами является приоритетной задачей современной органической химии. Комплексообразованием 1-алкокси-1,4-диоксо-2-алкенолятов натрия, полученных конденсацией алкил(арил)метилкетонов с диалкилоксалатами в присутствии в качестве конденсирующего реагента натрия или гидрида натрия, с солями металлов (цинка(II), меди(II) и никеля(II)) выделены новые бис-(4-алкил(арил)-1-оксо-1-алкоксиалкан-2,4-дионато)металлы(II). Строение синтезированных оксоенолятов натрия и металлокомплексов подтверждено спектральными методами анализа (ИК-, ЯМР ^1H -, ЯМР ^{13}C -спектроскопии и масс-спектрометрии). В ИК-спектрах твердых образцов выделенных соединений обнаружены полосы валентных колебаний сложноэфирных карбонильных групп, а также эфирные полосы высокой интенсивности, обусловленные колебаниями связей С-О-С. Для соединений, содержащих ароматические фрагменты в ИК-спектрах, найдены полосы, отвечающие колебаниям монозамещенных бензольных колец. В спектрах ЯМР ^1H оксоенолятов натрия и металло-комплексов, записанных в DMSO-d_6 , присутствуют классические сигналы этокси- и *n*-бутоксифрагментов, метиновых протонов, а также протонов ароматических колец. Химические сдвиги углеродных атомов в спектрах ЯМР ^{13}C оксоенолятов натрия хорошо сопоставимы со справочными значениями. В масс-спектрах синтезированных соединений, зарегистрированных в режиме электрораспыления, наблюдаются сигналы протонированных и катионированных молекул $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $[\text{M}+\text{K}]^+$. С использованием квантово-химических методов построены модели полученных соединений и рассчитаны энергии образования и константы диссоциации. Оптимизация геометрических параметров равновесных состояний оксоенолятов натрия и металло-комплексов произведена в рамках двух методов: теории функционала плотности (DFT) и самосогласованного поля (SCF). Относительные величины энергий образования свидетельствуют о высокой стабильности синтезированных веществ, при этом, согласно полученным данным, большей устойчивостью в газовой фазе характеризуются медные комплексы.

Ключевые слова: оксоеноляты натрия, металлокомплексы, синтез, спектральный анализ

Информация о статье: Дата поступления 23 января 2020 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Кунавина Е.А., Пешков С.А., Искандаров А.Ю. Синтез и строение 1-алкокси-1,4-диоксо-2-алкенолятов натрия и бис-(4-алкил(арил)-1-оксо-1-алкоксиалкан-2,4-дионато)металлов(II) на их основе. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 2. С. 180–187. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-180-187>

INTRODUCTION

The chemistry of metal complexes is an extensive and rapidly developing field due to the multifunctionality and practical significance of these materials. Among the interesting properties of metal-complex compounds are included biological, pharmacological, photochemical and photo-physical attributes [1–15]. Additionally some metal complexes have been successfully used in the development of novel nanoscale structures [16]. Among metal complexes having organic ligands, the least studied are those based on polycarbonyl systems with conjugated α - and β -dioxo links. In order to expand the number of available metal complexes having carbonyl-containing ligands, the present study set out to synthesise new representative compounds and evaluate their stability using quantum chemical methods.

EXPERIMENTAL

Synthesis of 4-alkyl(aryl)-1-alkoxy-1,4-dioxo-2-sodium alkenolates (1). General procedure. 0.58 g (25 mmol) of sodium was gradually added with stirring to a mixture of 25 mmol of the corresponding methyl ketones (3-methylbutanone-2 or acetophenone), 25 mmol of dialkyl oxalates (di-*n*-butyloxalate or diethyl oxalate) and

50–100 ml of benzene or toluene. The reagent mixture was boiled for 1.5–2 h (TLC control) in a round bottom flask with reflux condenser. Following evaporation of solvent, the obtained oxoeno-lates were washed with ether.

1-Butoxy-5-methyl-1,4-dioxo-2-hexene-2-so-dium-olate (1a). Yield 84 %, melting point (t_{melt}) – 118–122 °C. IR spectrum, ν , cm^{-1} : 2959 ν_{as} (CH_3), 2931 ν_{as} (CH_2), 1698 ($\text{C}^1=\text{O}$), 1625 ($\text{C}^4=\text{O}$, $\text{C}=\text{C}$), 1379 δ (CH_3), 1267 ν (C-O-C) 951, 770 δ (CH). NMR spectrum ^1H , δ , ppm (DMSO-d_6): 0,91 t (3H, $\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$, J_{HH} 7,7 Hz), 0,98 d (6H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1,35 m (2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,60 m (2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2,40 m (1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 4,05 t (4H, $2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, J_{HH} 7,2 Hz), 5,65 s (1H, CH). NMR spectrum ^{13}C , δ_{C} , ppm (DMSO-d_6): 13,5 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 18,6 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 19,8 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 20,0 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 30,1 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 63,7 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 93,6 (CH), 167,0 (CONa), 168,7 (COOC_4H_9), 199,4 ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$). Mass spectrum (ESI-TOF), m/z (I_{rel} , %): 237.1099 (62) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 259.0914 (47) $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Calculated: for $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{Na}$ – 237.1097; for $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{Na}_2$ – 259.0917.

Sodium 1,4-dioxo-4-phenyl-1-ethoxy-2-buten-2-olate (1b). Yield – 85 %, t_{melt} – 156–160 °C. IR spectrum, ν , cm^{-1} : 3060 ν (C-H, Ar), 2979 ν_{as}

(CH₃), 2929 ν_{as} (CH₂), 2871 ν_s (CH₂), 1687 ν (C¹=O), 1623 ν (C⁴=O), 1575 ν (C=C), 1505 ν (C=C, Ar), 1390, 1364 δ (CH₃), 1231 ν (C-O-C), 1097 δ (CH, Ar), 950-753 (CH). NMR spectrum ¹H, δ , ppm (DMSO-d₆): 1.26 t (3H, COOCH₂CH₃, J_{HH} 7.4 Hz), 4.17 q (2H, COOCH₂CH₃, J_{HH} 7.4 Hz), 6.42 s (1H, CH), 7.29–7.51 m (3H, C³H, C⁴H, C⁵H in C₆H₅), 7.82 d (2H, C²H, C⁶H in C₆H₅). NMR spectrum ¹³C, δ_c , ppm (DMSO-d₆): 14,0 (OCH₂CH₃), 60,3 (OCH₂CH₃), 92,0 (CH), 126,4 (C² and C⁶ in C₆H₅), 128,1 (C³ and C⁵ in C₆H₅), 129,8 (C⁴ in C₆H₅), 142,2 (C¹ in C₆H₅), 167,2 (CONa), 170,6 (COOC₂H₅), 185,4 (C₆H₅CO). Mass spectrum (ESI-TOF), m/z (I_{rel} , %): 243.0624 (38) [M+H]⁺, 265.0443 (82) [M+Na]⁺. Calculated: for C₁₂H₁₂O₄Na – 243.0628; for C₁₂H₁₁O₄Na₂ – 265.0447.

Synthesis of bis-(4-alkyl(aryl)-1-oxo-1-alkoxyalkane-2,4-dionato)-metals (II) (2a–2e). General procedure. A solution of 1.0 mmol (0.18 g) zinc acetate, 1.0 mmol (0.18 g) of copper acetate or 1.0 mmol (0.24 g) of nickel chloride hexahydrate in 30–50 ml of water was added with stirring to a solution of 2.0 mmol of sodium 4-alkyl(aryl)-1-alkoxy-1,4-dioxo-2-alkenolates (**1a** or **1b**) in 30–50 ml of water for preparation of compounds **2a** and **2d**, **2b** and **2e**, **2c** and **2f**, correspondingly. After 30 minutes, the as-formed precipitate was filtered off and recrystallised from ethanol. The yields were not optimised.

Bis-(1-butoxy-5-methyl-1-oxohexane-2,4-dionato) zinc (II) (2a). Yield – 47 %, t_{melt} – 102–104 °C. IR spectrum, ν , cm⁻¹: 2959 ν_{as} (CH₃), 2933 ν_{as} (CH₂), 1725 ν (COOC₂H₅), 1599 ν (C=C), 1455 δ_{as} (CH₃), 1267 ν (C-O-C), 822, 781 δ (CH). NMR spectrum ¹H, δ , ppm (DMSO-d₆): 0,91 t (6H, 2COOCH₂CH₃, J_{HH} 7,6 Hz), 0,98 d (12H, 2(CH₃)₂CH, J_{HH} 7,7 Hz), 1,35 m (4H, 2OCH₂CH₂CH₂CH₃), 1,59 m (4H, 2OCH₂CH₂CH₂CH₃), 2,40 m (1H, (CH₃)₂CH), 4,06 t (2H, OCH₂CH₂CH₂CH₃, J_{HH} 7,2 Hz), 5,64 s (2H, 2CH). Mass spectrum (ESI-TOF), m/z (I_{rel} , %): 491.1616 (34) [M+H]⁺, 508.1887 (38) [M+NH₄]⁺, 513.1436 (64) [M+Na]⁺. Calculated: for C₂₂H₃₅O₈Zn⁺ – 491.1618; for C₂₂H₃₈O₈NZn⁺ – 508.1883; for C₂₂H₃₄O₈NaZn⁺ – 513.1437.

Bis-(1-butoxy-5-methyl-1-oxohexane-2,4-dionato) copper (II) (2b). Yield – 38 %, t_{melt} – 190–192 °C. IR spectrum, ν , cm⁻¹: 2961 ν_{as} (CH₃), 2934 ν_{as} (CH₂), 1722 ν (COOC₂H₅), 1582 ν (C=C), 1456 δ_{as} (CH₃), 1317 ν (C-O-C), 823, 796 δ (CH). Mass spectrum (ESI-TOF), m/z (I_{rel} , %): 512.1443 (46) [M+Na]⁺, 528.1182 (34) [M+K]⁺. Calculated: for C₂₂H₃₄O₈NaCu⁺ – 512.1442; for C₂₂H₃₄O₈KCu⁺ – 528.1181.

Bis-(1-butoxy-5-methyl-1-oxohexane-2,4-dionato) nickel (II) (2c). Yield – 34 %, t_{melt} – 98–100 °C. IR spectrum, ν , cm⁻¹: 2958 ν_{as} (CH₃), 2933 ν_{as} (CH₂), 1724 ν (COOC₂H₅), 1598 ν (C=C), 1454 δ_{as} (CH₃), 1269 ν (C-O-C), 843, 777 δ (CH). Mass

spectrum (ESI-TOF), m/z (I_{rel} , %): 485.1682 (65) [M+H]⁺, 507.1498 (32) [M+Na]⁺. Calculated: for C₂₂H₃₅O₈Ni⁺ – 485.1680; for C₂₂H₃₄O₈NaNi⁺ – 507.1499.

Bis-(1-oxo-4-phenyl-1-ethoxybutane-2,4-dionato) zinc (II) (2d). Yield 43%, t_{melt} – 130–131 °C. IR spectrum, ν , cm⁻¹: 2971 ν_{as} (CH₃), 1726 ν (COOS₂H₅), 1597, 1575 ν (C=C), 1519, 1464 ν (C=C, Ar), 1429 δ_{as} (CH₃), 1274 ν (C-O-C), 1170 δ_{planar} (CH, Ar), 770, 752 $\delta_{non-planar}$ (CH, Ar). NMR spectrum ¹H, δ , ppm (DMSO-d₆): 1,27 t (6H, 2COOCH₂CH₃, J_{HH} 7,4 Hz), 4,18 q (4H, 2COOCH₂CH₃, J_{HH} 7,4 Hz), 6,42 s (2H, 2CH), 7,24-7,52 m (6H, C³H, C⁴H, C⁵H in 2C₆H₅), 7,82 d (4H, C²H, C⁶H in 2C₆H₅). Mass spectrum (ESI-TOF), m/z (I_{rel} , %): 503.0678 (80) [M+H]⁺, 520.0945 (53) [M+NH₄]⁺, 525.0497 (100) [M+Na]⁺, 541.0235 (22) [M+K]⁺. Calculated: for C₂₄H₂₃O₈Zn⁺ – 503.0679; for C₂₄H₂₆O₈NZn⁺ – 520.0944; for C₂₄H₂₂O₈NaZn⁺ – 525.0498; for C₂₄H₂₂O₈KZn⁺ – 541.0238.

Bis-(1-oxo-4-phenyl-1-ethoxybutane-2,4-dionato) copper (II) (2e). Yield – 42 %, t_{melt} – 125–127 °C. IR spectrum, ν , cm⁻¹: 2976 ν_{as} (CH₃), 1728 ν (COOC₂H₅), 1592 ν (C=C), 1564, 1514, 1456 ν (C=C, Ar), 1434 δ_{as} (CH₃), 1272 ν (C-O-C), 1142 δ_{planar} (CH, Ar), 769, 743 $\delta_{non-planar}$ (CH, Ar). Mass spectrum (ESI-TOF), m/z (I_{rel} , %): 502.0685 (22) [M+H]⁺, 519.0948 (98) [M+NH₄]⁺, 524.0503 (100) [M+Na]⁺, 540.0243 (48) [M+K]⁺. Calculated: for C₂₄H₂₃O₈Cu⁺ – 502.0683; for C₂₄H₂₆O₈NCu⁺ – 519.0949; for C₂₄H₂₂O₈NaCu⁺ – 524.0503; for C₂₄H₂₂O₈KCu⁺ – 540.0242.

Bis-(1-oxo-4-phenyl-1-ethoxybutane-2,4-dionato) nickel (II) (2f). Yield – 38 %, t_{melt} – 140–143 °C. IR spectrum, ν , cm⁻¹: 2954 ν_{as} (CH₃), 1729 ν (COOC₂H₅), 1595, 1572 ν (C=C), 1519, 1456 ν (C=C, Ar), 1422 δ_{as} (CH₃), 1269 ν (C-O-C), 1146 δ_{planar} (CH, Ar), 771, 745 $\delta_{non-planar}$ (CH, Ar). Mass spectrum (ESI-TOF), m/z (I_{rel} , %): 497.0745 (56) [M+H]⁺, 519.0561 (42) [M+Na]⁺. Calculated: for C₂₄H₂₃O₈Ni⁺ – 497.0741; for C₂₄H₂₂O₈NaNi⁺ – 519.0560.

IR spectra of compounds **1a**, **1b** were recorded on a Bruker Alpha FTIR spectrometer; ATR mode, ZnSe crystal IR spectra of compounds **2a–2e** were recorded on a Vertex 70 IR Fourier spectrometer (Bruker, Germany): range – 400–4000 cm⁻¹, resolution – 2 cm⁻¹, number of scans of the background and sample – 32, ATR mode, diamond crystal. NMR spectra ¹H of the compounds **1a**, **1b**, **2a** and **2d** and NMR ¹³C of the compounds **1a** and **1b** in DMSO-d₆ were obtained using NMR Fourier spectrometer Bruker AVANCE II (400 MHz), internal standard – TMS. Mass spectra of the compounds **1**, **2** were recorded on a quadrupole-time-of-flight ultra-high-resolution mass spectrometer Orbitrap Elite, MicroTof Bruker Daltonics. Positive ions were de-

tected in the electrospray ionisation (ESI) mode. Samples dissolved in DMSO diluted with acetonitrile or methanol were injected with a syringe pump at a flow rate of 240 µl/h.

The individuality of the obtained substances was confirmed by TLC on Silufol UV-254 plates in the benzene–ether–acetone (10:9:1) system or acetone–hexane (2:3) system; the chromatograms were stained using iodine vapour. The initial reagents were purified by distillation before use.

The optimisation of the geometric parameters of the equilibrium states of sodium oxoenolate and metal complexes was carried out using the following two methods: density functional theory (DFT) and self-consistent field (SCF). When calculating using the SCF method, the aug-cc-pVDZ basis was used, while the DFT method used the PBE/DZP approximation. Accounting for solvents was carried out according to the PCM model, in the case of compounds **1a**, **1b** – benzene and water, for compounds **2a–2f** – water. The relative formation energies of the structures **2a–2f** were calculated using the following equations

$$\Delta G^\circ(E) = G^\circ(E)(\text{MeX}) - G^\circ(E)(\text{Me}^{2+}) + G^\circ(E)(2\text{X}^-);$$

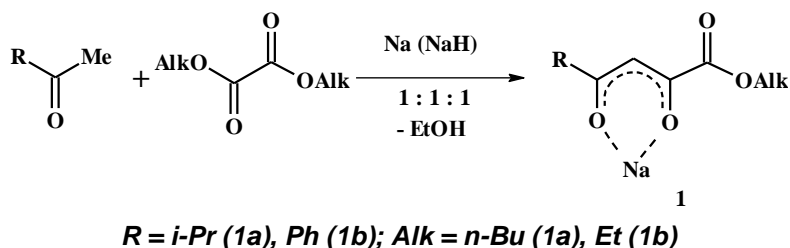


Fig. 1. Scheme of the synthesis of 1-alkoxy-1,4-dioxo-2-sodium alkenolates (**1**)

Рис. 1. Схема синтеза 1-алкокси-1,4-диоксо-2-алкенолятов натрия (**1**)

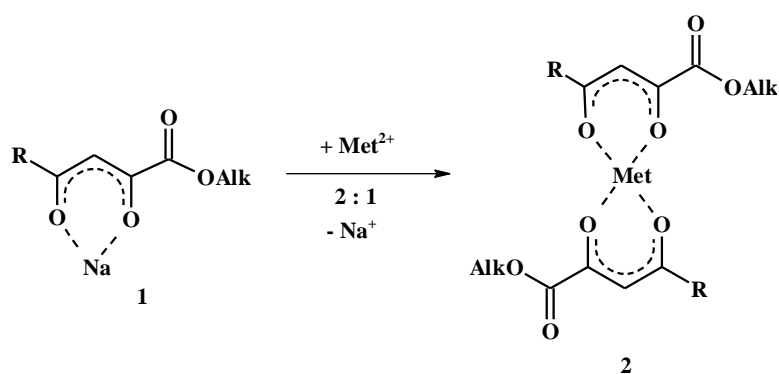


Fig. 2. Scheme of synthesis of bis-[4-alkyl(aryl)-1-oxo-1-alkoxyalkane-2,4-dionato] metals (II) (**2**)

Рис. 2. Схема синтеза бис-(4-алкил(арил)-1-оксо-1-алкоксиалкан-2,4-дионато)металлов(II) (**2**)

$$\Delta G^\circ(E) = G^\circ(E)_{\Sigma_{\text{pr}}} - G^\circ(E)_{\Sigma_{\text{reag}}} [17].$$

The calculations were performed in the Fire-Fly 8.1 software package.

RESULTS AND DISCUSSION

The condensation of alkyl(aryl)methyl-ketones (3-methylbutanone-2 and acetophenone) with dialkyl oxalates (diethyl oxalate and di-*n*-butyl-oxalate) in the presence of sodium or sodium hydride in benzene or toluene at a ratio of the starting reagents 1:1:1 yielded sodium 1-alkoxy-1,4-dioxo-2-alkenolates (**1**) (Fig. 1).

New bis-(4-alkyl(aryl)-1-oxo-1-alkoxyalkane-2,4-dionato)-metals (II) (**2**) were synthesised by complex formation of sodium oxoenolates (**1**) with salts of zinc (II), copper (II) and nickel (II) in an aqueous medium with the initial ratio of reagents of 2:1 (Fig. 2).

The structure of the obtained sodium oxoenolates (**1**) and metal (II) complexes (**2**) based on them was confirmed by means of IR, NMR¹H-, NMR¹³C-spectroscopy, as well as mass spectrometry^{1,2}.

¹Pretsch E, Bühlmann P, Affolter C. Structure Determination of Organic Compounds. Tables of spectral data (translated from English by B.N. Tarasevich). Moscow: Mir; BINOM. Laboratoriya Znaniy, 2006. 438 p.

²Silverstein R, Webster F, Kiemle D. Spectrometric identification of organic compounds (translated from English by N.M. Sergeev, B.N. Tarasevich). Moscow: BINOM. Laboratoriya Znaniy, 2012. 557 p.

IR spectra of solid samples of sodium 1-alkoxy-1,4-dioxo-2-alkenolates (**1**) and bis-(4-alkyl(aryl)-1-oxo-1-alkoxyalkane-2,4-dionato) metals (II) (**2**) are characterised by the presence of a bright stretching band of the ester carbonyl group in the region of 1698–1687 cm^{-1} (for compounds **1a** and **1b**) and 172–1722 cm^{-1} (for compounds **2a–2f**). The bands in the region of 1597–1456 cm^{-1} are due to vibrations of monosubstituted aromatic rings (for compounds **1b** and **2d–2f**). The high-frequency ether band arising due to vibrations of the C-O-C fragment appears in the region of 1267–1231 cm^{-1} (for compounds **1a** and **1b**) and 1317–1267 cm^{-1} (for compounds **2a–2f**).

In the NMR spectra of ^1H sodium oxoenolates (**1a** and **1b**) and zinc complexes (**2a** and **2d**) recorded in DMSO- d_6 , the characteristic ethoxy fragments signals are observed for **1b** and **2d**) and n-butoxy fragments signals (for compounds **1a** and **2a**). Methine protons are identified by singlet signals in the region of 5.65–6.42 ppm. Proton signals of the monosubstituted aromatic rings for compounds **1b** and **2d** with phenyl fragments were recorded in the range 7.24–7.82 ppm.

The NMR spectra of ^{13}C sodium oxoenolates (**1a** and **1b**) recorded in DMSO- d_6 , contain signals of alkyl carbon atoms in the range 13.5–30.1 ppm. The signals of aromatic carbon atoms (for compound **1b**) were recorded in the region of 126.4–142.2 ppm. Carbon atoms of carbonyl

groups of ester fragments were detected at 168.7 (for n-butoxycarbonyl group of compound **1a**) and 170.6 (for ethoxycarbonyl group of compound **1b**).

In the mass spectra of synthesised compounds recorded in the electrospray mode, signals of protonated and cationised molecules are observed $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $[\text{M}+\text{K}]^+$.

In order to study the stability of the synthesised compounds, quantum-chemical calculations of their formation energies were carried out (Table 1). The calculations demonstrate the best convergence under the HF / aug-cc-pVDZ approximation. The solvation effects were considered only in the PBE / DZP approximation; in view of the complexity of the calculation, the solvation correction for the aug-cc-pVDZ basis was not considered in the SCF method. According to the obtained data, copper complexes have the greatest stability in the gas phase out of all the complexes tested. In general, according to the relative values of the formation energies, all compounds are stable, and metal complexes (**2**) are characterised by greater stability compared to sodium oxoenolates (**1**).

The values of the theoretically calculated dissociation constants of the obtained compounds are provided in Table 2. The obtained values indicate that zinc complexes (**2a**, **2d**) possess the highest electrolytic dissociation capacity of all obtained metal complexes, while the compounds **1a**, **1b** are relatively similar in terms of electrolyte strength.

Table 1
Absolute (E^0 , G^0) and relative (ΔE , ΔG) formation energies of compounds 1a, 1b, 2a–2f

Таблица 1
Абсолютные (E^0 , G^0) и относительные (ΔE , ΔG) энергии образования соединений 1a, 1b, 2a–2f

Compound	HF / aug-cc-pVDZ		PBE / DZP		PBE / DZP + PCM	
	E^0 , Hartree	ΔE , kJ/mol	G^0 , Hartree	ΔE , kJ/mol	G^0 , Hartree	ΔE , kJ/mol
1a	-887,923168	-143,3	-891,566532	-161,5	-891,584457	-137,6
1b	-922,301360	-145,2	-926,104389	-157,3	-926,125552	-139,0
2a	-3229,962850	-1315,8	-3237,721356	-1435,8	-3237,765320	-79,6
2b	-3091,107386	-1354,0	-3098,915975	-1556,8	-3098,947774	-922,5
2c	-2959,021762	-1270,8	-2966,768176	-1509,1	-2966,787241	-384,2
2d	-3298,717676	-1311,7	-3306,801958	-1448,6	-3306,847853	-80,5
2e	-3159,861688	-1348,6	-3167,994962	-1565,4	-3168,030201	-923,1
2f	-3027,776747	-1267,1	-3035,849309	-1523,3	-3035,872814	-393,1

Table 2
Dissociation constants of compounds 1a, 1b, 2a, 2c, 2d, 2f

Таблица 2
Константы диссоциации соединений 1a, 1b, 2a, 2c, 2d, 2f

Compound	PBE / DZP + PCM	
	Stage I	Stage II
1a	$9,5 \cdot 10^{-39}$	–
1b	$4,5 \cdot 10^{-38}$	–
2a	$1,7 \cdot 10^{-42}$	$1,4 \cdot 10^{-28}$
2c	$7,3 \cdot 10^{-96}$	$6,0 \cdot 10^{-82}$
2d	$8,0 \cdot 10^{-41}$	$7,9 \cdot 10^{-28}$
2f	$1,4 \cdot 10^{-95}$	$1,4 \cdot 10^{-82}$

CONCLUSIONS

During the study, potentially valuable sodium 1-alkoxy-1,4-dioxo-2-alkenolates and complexes of zinc (II), copper (II) and nickel (II) with carbonyl-containing ligands were successfully synthesised.

1. Popov LD, Morozov AN, Shcherbakov IN, Tupolova YuP, Lukov VV, Kogan VA. Metal complexes with polyfunctional ligands based of bis(hydrazones) of dicarbonyl compounds. *Russian Chemical Reviews*. 2009;78(7):643–658. <https://doi.org/10.1070/RC2009v078n07ABEH003890>
2. Levchenkov SI, Shcherbakov IN, Popov LD, Lyubchenko SN, Tsaturyan AA, Beloborodov SS, et al. Transition metal complexes with 2,6-di-tert-butyl-p-quinone 1'-phthalazinylhydrazone. *Russian Journal of General Chemistry*. 2013;83(10):1928–1936. <https://doi.org/10.1134/S1070363213100216>
3. Burlov AS, Zaichenko SB, Popov LD, Vlasenko VG, Borodkin GS, Makarova NI, et al. Synthesis, Structure, and spectral properties of 3,5-di-tert-butyl-1,2-benzoquinone 3-hydroxynaphthoylhydrazone and its complexes with Zn(II), Cd(II), Ni(II), Co(II). *Russian Journal of General Chemistry*. 2019;89(4):727–735. <https://doi.org/10.1134/S1070363219040157>
4. Popov LD, Shcherbakov IN, Tupolova YP, Etmetchenko LN, Kogan VA, Levchenkov SI, et al. Copper(II) complexes with N-(phenyl)alkylthiosemicarbazones of 3,5-dichloro- and 3,5-diiodosalicylic aldehydes. *Russian Journal of General Chemistry*. 2016;86(2):344–348. <https://doi.org/10.1134/S1070363216020249>
5. Shcherbakov KV, Burgart YaV, Saloutin VI. Metal complexes based on functionalized 4-hydroxypolyfluorocoumarins. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2014;50(6):815–821. <https://doi.org/10.1134/S1070428014060104>
6. Melkozerov SA, Pervova IG, Lipunov IN, Dvoskin EA, Lipunova GN, Barachevskii VA. Synthesis and photoluminescence properties of zinc(II) complexes with salicylaldehyde hetarylhydrazones. *Russian Journal of General Chemistry*. 2013;83(4):646–651. <https://doi.org/10.1134/S1070363213040063>
7. Kudyakova YuS, Goryaeva MV, Burgart YaV, Saloutin VI. Asymmetric azomethine ligands based on 2-[(2-aminophenyl)amino-methylidene]-3-oxo-3-polyfluoroalkylpropionates and aldehydes. *Russian Chemical Bulletin*. 2010;59(9):1753–1760. <https://doi.org/10.1007/s11172-010-0308-8>
8. Metelitsa AV, Burlov AS, Borodkina IG, Bren VA, Garnovskii AD, Minkin VI, et al. Luminescent complexes with ligands containing C=N bond. *Russian Journal of Coordination*

Their structure was established using IR, NMR ¹H-, NMR ¹³C-spectroscopy and high-resolution mass spectrometry methods. Quantum-chemical calculations of the formation energies and dissociation constants were carried out.

REFERENCE

1. *Chemistry*. 2006;32(12):858–868. <https://doi.org/10.1134/S1070328406120025>
9. Blokhin YI, Lyubimov IA, Bagautdinov AM, Abramov IA, Khotina IA, Karnoukhova VA. Copper(I) complexes with phenylphosphonous acid diamide. *Russian Journal of Coordination Chemistry*. 2016;42(6):372–377. <https://doi.org/10.1134/S1070328416060014>
10. Yang T, Niu F, Li LX, Xia ZN, Zhang Y, You ZL. Synthesis, characterization, crystal structures, and antimicrobial activity of cobalt(II) and iron(III) complexes derived from n-(2-hydroxybenzylidene)-3-methylbenzohydrazide. *Russian Journal of Coordination Chemistry*. 2016;42(6): 402–409. <https://doi.org/10.1134/S1070328416050109>
11. Kuvshinova EM, Bykova MA, Vershinina IA, Gornukhina OV, Lyubimova TV, Semeykin AS. Synthesis and coordination properties of cobalt complexes of 5-phenyl-2,3,7,8,12,18-hexamethyl-13,17-diethylporphine and its nitrosubstituted in organic solvents. *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii. Khimiya i Khimicheskaya Tekhnologiya = Russian Journal of Chemistry and Chemical Technology*. 2018;61(7):44–49. (in Russian) <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20186107.5843>
12. Kudayarova T.V., Tyutina M.A., Danilova E.A. Complexes of izothiadiaazole-containing bromonitrosubstituted three units product with d-metals (Ni, Co, Zn). *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii. Khimiya i Khimicheskaya Tekhnologiya = Russian Journal of Chemistry and Chemical Technology*. 2018;61(12):68–73. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20186112.5799>
13. Chizhova NV, Ivanova YuB, Mamardashvili NZ, Rusanov AI, Khrushkova YV. Synthesis and spectral and fluorescent properties of metal complexes of octakis(4-fluorophenyl)tetraazaporphyrins. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2019; 55(5):655–661. <https://doi.org/10.1134/S1070428019050129>
14. Seifullina II, Martsinko EÉ, Chebanenko EA, Gridina TL, Mudrik LM, Fedchuk AS. Antiviral properties of the new coordination compound silver bis(citrato)germanate. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2019;53(4):318–321. <https://doi.org/10.1007/s11094-019-01999-w>
15. Mustafina AR, Skripacheva VV, Konovalov AI. Outer-sphere association of calixarenes and other macrocyclic ligands with metal complexes as the basis for the design of molecular devices. *Russian Chemical Reviews*.

2007; 76(10): 917–930. <http://dx.doi.org/10.1070/RC2007v076n10ABEH003727>

16. Amerkhanova ShK, Nurkenov OA, Uali AS, Satpaeva ZhB, Abdiken FS. And complex formation ability of n-2-(2-ydroxyben-zoyl)hydrazinocarbonotioilbenzamide towards to La³⁺, Y³⁺, Nd³⁺ ions in binary mixture “water–1,4-dioxane”. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2016;6(4):9–14. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2016-6-4-9-14>

17. Peshkov SA, Khursan SL. Complexation of the Zn, Co, Cd, and Pb ions by metallothioneins: A QM/MM simulation. *Computational and Theoretical Chemistry*. 2017;1106:1–6. <http://doi.org/10.1016/j.comptc.2017.02.029>

БИЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Popov L.D., Morozov A.N., Shcherbakov I.N., Tupolova Yu.P., Lukov V.V., Kogan V.A. Metal complexes with polyfunctional ligands based of bis(hydrazones) of dicarbonyl compounds // *Russian Chemical Reviews*. 2009. Vol. 78. Issue 7. P. 643–658. <https://doi.org/10.1070/RC2009v078n07ABEH003890>

2. Levchenkov S.I., Shcherbakov I.N., Popov L.D., Lyubchenko S.N., Tsaturyan A.A., Beloborodov S.S., et al. Transition metal complexes with 2,6-di-tert-butyl-p-quinone 1'-phthalazinylhydrazone // *Russian Journal of General Chemistry*. 2013. Vol. 83. Issue 10. P. 1928–1936. <https://doi.org/10.1134/S1070363213100216>

3. Burlov A.S., Zaichenko S.B., Popov L.D., Vlasenko V.G., Borodkin G.S., Makarova N.I., et al. Synthesis, structure, and spectral properties of 3,5-di-tert-butyl-1,2-benzoquinone 3-hydroxynaphthoylhydrazone and its complexes with Zn(II), Cd(II), Ni(II), Co(II) // *Russian Journal of General Chemistry*. 2019. Vol. 89. Issue 4. P. 727–735. <https://doi.org/10.1134/S1070363219040157>

4. Popov L.D., Shcherbakov I.N., Tupolova Y.P., Etmetchenko L.N., Kogan V.A., Levchenkov S.I., et al. Copper(II) complexes with N-(phenyl)alkylthiosemicarbazones of 3,5-dichloro- and 3,5-diiodosalicylic aldehydes // *Russian Journal of General Chemistry*. 2016. Vol. 86. Issue 2. P. 344–348. <https://doi.org/10.1134/S1070363216020249>

5. Shcherbakov K.V., Burgart Ya.V., Saloutin V.I. Metal complexes based on functionalized 4-hydroxypolyfluorocoumarins // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2014. Vol. 50. Issue 6. P. 815–821. <https://doi.org/10.1134/S1070428014060104>

6. Melkozerov S.A., Pervova I.G., Lipunov I.N., Dvoskin E.A., Lipunova G.N., Barachevskii V.A. Synthesis and photoluminescence properties of zinc(II) complexes with salicylaldehyde hetarylhydrazones // *Russian Journal of General Chemistry*. 2013. Vol. 83. Issue 4. P. 646–651. <https://doi.org/10.1134/S1070363213040063>

7. Kudyakova Yu.S., Goryaeva M.V., Burgart Ya.V., Saloutin V.I. Asymmetric azomethine ligands based on 2-[(2-aminophenyl)amino-methylidene]-3-oxo-3-polyfluoroalkylpropionates and aldehydes // *Russian Chemical Bulletin*. 2010.

Vol. 59. Issue 9. P. 1753–1760. <https://doi.org/10.1007/s11172-010-0308-8>

8. Metelitsa A.V., Burlov A.S., Borodkina I.G., Bren V.A., Garnovskii A.D., Minkin V.I., et al. Luminescent complexes with ligands containing C=N bond // *Russian Journal of Coordination Chemistry*. 2006. Vol. 32. Issue 12. P. 858–868. <https://doi.org/10.1134/S1070328406120025>

9. Blokhin Y.I., Lyubimov I.A., Bagautdinov A.M., Abramov I.A., Khotina I.A., Karnoukhova V.A. Copper(I) complexes with phenylphosphonous acid diamide // *Russian Journal of Coordination Chemistry*. 2016. Vol. 42. Issue 6. P. 372–377. <https://doi.org/10.1134/S1070328416060014>

10. Yang T., Niu F., Li L.X., Xia Z.N., Zhang Y., You Z.L. Synthesis, characterization, crystal structures, and antimicrobial activity of cobalt(II) and iron(III) complexes derived from n-(2-hydroxybenzylidene)-3-methylbenzohydrazide // *Russian Journal of Coordination Chemistry*. 2016. Vol. 42. Issue 6. P. 402–409. <https://doi.org/10.1134/S1070328416050109>

11. Кувшинова Е.М., Быкова М.А., Вершинина И.А., Горнухина О.В., Любимова Т.В., Семейкин А.С. Синтез и координационные свойства кобальтовых комплексов 5-фенил-2,3,7,8,12,18-гексаметил-13,17-диэтилпорфина и его нитрозамещенных в органических растворителях // *Известия высших учебных заведений. Серия: Химия и химическая технология*. 2018. Т. 61. N 7. С. 44–49. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20186107.5843>

12. Kudayarova T.V., Tyutina M.A., Danilova E.A. Complexes of izothiadiazole-containing bromonitrosubstituted three units product with d-metals (Ni, Co, Zn) // *Известия высших учебных заведений. Серия: Химия и химическая технология*. 2018. Т. 61. N 12. С. 68–73. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20186112.5799>

13. Chizhova N.V., Ivanova Yu.B., Mamardashvili N.Z., Rusanov A.I., Khrushkova Y.V. Synthesis and spectral and fluorescent properties of metal complexes of octakis(4-fluorophenyl)tetraazaporphyrins // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2019. Vol. 55. Issue 5. P. 655–661. <https://doi.org/10.1134/S1070428019050129>

14. Seifullina I.I., Martsinko E.É., Chebanenko E.A., Gridina T.L., Mudrik L.M., Fedchuk A.S. Antiviral properties of the new coordination compound silver bis(citrato)germanate // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2019. Vol. 53. Issue 4. P. 318–321. <https://doi.org/10.1007/s11094-019-01999-w>

15. Mustafina A.R., Skripacheva V.V., Konovalov A.I. Outer-sphere association of calixarenes and other macrocyclic ligands with metal complexes as the basis for the design of molecular devices // *Russian Chemical Reviews*. 2007. Vol. 76. Issue 10. P. 917–930. <http://doi.org/10.1070/RC2007v076n10ABEH003727>

16. Амерханова Ш.К., Нуркенов О.А., Уали А.С., Сатпаева Ж.Б., Абдикен Ф.С. Синтез и комплексообразующая способность *n*-2-(2-гидроксibenзоил)-гидразинокaрбоно-тиилбензамидa (II) по отношению к ионам La^{3+} , Y^{3+} , Nd^{3+} в бинарной смеси «вода–1,4-диоксан» // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2016. Т. 6. N 4. С. 9–14. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2016-6-4-9-14>

17. Peshkov S.A., Khursan S.L. Complexation of the Zn, Co, Cd, and Pb ions by metallothioneins: A QM/MM simulation // *Computational and Theoretical Chemistry*. 2017. Vol. 1106. P. 1–6. <http://doi.org/10.1016/j.comptc.2017.02.029>

Критерии авторства

Elena A. Kunavina, Sergey A. Peshkov, Aybek Yu. Iskandarov carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict 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.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Elena A. Kunavina,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Orenburg State University,
13, Pobedy Ave., Orenburg, 460018,
Russian Federation,
e-mail: kea20072007@yandex.ru

Sergey A. Peshkov,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Orenburg State University,
13, Pobedy Ave., Orenburg, 460018,
Russian Federation,
e-mail: darvin156@mail.ru

Aybek Yu. Iskandarov,
Associate Professor,
Department of Chemistry and Methodology
of Teaching Chemistry,
Tashkent State Pedagogical University,
27, Bunyodkor Ave., Tashkent, 100183,
Uzbekistan,
e-mail: oybekiskandarov@mail.ru

Contribution

Кунавина Е.А., Пешков С.А., Искандаров А.Ю. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, 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

Кунавина Елена Александровна,
к.х.н., доцент,
Оренбургский государственный университет,
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13,
Российская Федерация,
e-mail: kea20072007@yandex.ru

Пешков Сергей Алексеевич,
к.х.н., доцент,
Оренбургский государственный университет,
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13,
Российская Федерация,
e-mail: darvin156@mail.ru

Искандаров Айбек Юлдашевич,
доцент, заведующий кафедрой химии
и методики ее преподавания,
Ташкентский государственный
педагогический университет,
100183, г. Ташкент, пр-т Бунедкор, 27,
Узбекистан,
e-mail: oybekiskandarov@mail.ru

Original article / Оригинальная статья

УДК 664.11+577.1+547.9

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-188-195>

Formation of humic substances in the reaction of *D*-glucose with *p*-toluidine in anhydrous ethanol

© Igor S. Cherepanov, Polina S. Kryukova

Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation

Abstract: The aim of the study was to investigate the processes of formation and structural group composition of the products formed during the reaction of *D*-glucose with *p*-toluidine in anhydrous ethanol using electronic and vibrational spectroscopy methods. The evolution of the profiles of the electronic spectra of working solutions shows the formation of a chromophore system: clear peaks at 380 and 440 nm are already present at a reaction time of 60 min. The appearance of an additional maximum at 520 nm (90, 120 min) likely corresponds to the formation of chromophores in condensed structures, as confirmed by a decrease in the values of the E_4/E_6 indices over time. The dynamics of the transformation of structural elements is also clearly seen in the analysis of IR spectra: as the reactions proceed, the CH aliphatic component of the structure decreases, while the aromatisation and functionalisation of products by chromophore groups increases. For products obtained between 90 and 120 min, a clear band at 1656 cm^{-1} , attributed to stretching vibrations of multiple bonds in conjugated C=C–C=O systems and azomethine fragments, indicates the of condensation reactions. In the spectra of insoluble solid products fractionated by water, the intensity of the bands at 1656 and 1190 cm^{-1} is significantly reduced; this is possibly due to the transfer of some of the coloured low molecular weight products to the aqueous phase. A comparison of the IR Fourier transform spectra of the final solid products with the spectra of natural and synthetic humic-like substances indicates their similar structural group composition. The intensity of the bands at 1620 , 1508 and 815 cm^{-1} indicates a significant contribution of the aromatic component to the structure of the products of water-insoluble fractions; the water-soluble fractions mainly include aliphatic oxygen-containing structures resulting from the oxidative destruction of the initial carbohydrate. The synthesised products seem promising as convenient plant growth regulators with controlled release of the active substance.

Keywords: *D*-glucose, *p*-toluidine, humic substances, ethanol media, spectroscopy

Information about the article: Received November 22, 2019; accepted for publication, May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Cherepanov IS, Kryukova PS. Formation of humic substances in the reaction of *D*-glucose with *p*-toluidine in anhydrous ethanol. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):188–195. (In English) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-188-195>

Образование гуминоподобных веществ в реакции *D*-глюкозы с *p*-толуидином в безводном этаноле

И.С. Черепанов, П.С. Крюкова

Удмуртский государственный университет, г. Ижевск, Российская Федерация

Резюме: Целью исследования являлось изучение процессов образования и структурно-группового состава продуктов взаимодействия *D*-глюкозы с *p*-толуидином в среде безводного этанола методами электронной и колебательной спектроскопии. Эволюция профилей электронных спектров рабочих растворов показывает формирование хромофорной системы: четкие пики при 380 и 440 нм регистрируются уже при продолжительности реакции 60 мин. Появление дополнительного максимума при 520 нм (90, 120 мин), вероятно, отвечает образованию хромофоров конденсированных структур, что подтверждается уменьшением значений индексов E_4/E_6 со временем. Динамика трансформации структурных элементов также отчетливо прослеживается при анализе ИК-спектров: по мере протекания реакций СН-алифатическая составляющая структуры уменьшается, при этом увеличивается ароматизация и функционализация продуктов хромофорными группами. Для продуктов, полученных в течение 90 и 120 мин термостатирования, в спектрах

фиксируется четкая полоса при 1656 см^{-1} , относимая к валентным колебаниям кратных связей в сопряженных системах $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$ и азометиновых фрагментах, что указывает на протекание реакций конденсации. В спектрах фракционированных водой нерастворимых твердых продуктов интенсивность полос при 1656 и 1190 см^{-1} существенно снижается, возможно, за счет перехода части окрашенных низкомолекулярных продуктов в водную фазу. Сопоставление характера ИК-Фурье-спектров конечных твердых продуктов со спектрами природных и синтетических гуминовоподобных веществ показывает их сходный структурно-групповой состав. Интенсивность полос при 1620 , 1508 и 815 см^{-1} свидетельствует о существенном вкладе ароматической составляющей в структуру продуктов водонерастворимых фракций, при этом в состав водорастворимых фракций входят в основном алифатические кислородсодержащие структуры, образующиеся в результате окислительной деструкции исходного углевода. Синтезированные продукты представляются перспективными в качестве доступных регуляторов роста растений с контролируемым выделением активного вещества.

Ключевые слова: *D*-глюкоза, *p*-толуидин, гуминовоподобные вещества, этанольные среды, спектроскопия

Информация о статье: Дата поступления 22 ноября 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня. 2020 г.

Для цитирования: Черепанов И.С., Крюкова П.С. Образование гуминовоподобных веществ в реакции *D*-глюкозы с *p*-толуидином в безводном этаноле. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 188–195. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-188-195>

INTRODUCTION

Synthetic analogues of natural compounds are important products of modern chemistry and chemical technology. One of the most accessible and widely studied are humic acids and humic substances, whose synthetic structural reproduction became possible in the middle of the 20th century [1, 2]. The interest in synthetic analogues of humic substances is driven by the need to obtain preparations that have valuable properties [3, 4]. Thanks to the established and proven practically-significant properties of humic substances, various methods for their preparation, as well as the relationship between their structure and properties are currently being intensively studied. To date, both chemical [3, 4] and biochemical [5] methods for producing synthetic analogues of humins have been developed. Humic substances are known to display a wide range of known properties (antioxidant, antiviral, surface-active), and can be used as plant growth regulators [3, 5]. These factors, as well as new works in the field of developed surface materials and nanostructures [6, 7] suggest the potential for further developments in the search for new reaction systems for synthesis. Particular attention in this case is given to systems based on simple carbohydrates [3, 6, 7], presenting themselves as reactive and available substrates. Notably, synthetic humins based on monosaccharides were obtained under conditions of acid catalysis, the structure of which is represented by furan or furanic-aliphatic polymers [3, 4], distinguishing them from natural humic substances. The introduction of an active component of aromatic nature into the reaction system opens up additional possibilities for the synthesis of the target products [7], in which the solvent effect plays an important role. The solubility of carbohy-

drates in ethanol-water solutions decreases significantly with an increase in the proportion of alcohol, which can shift the amino-carbonyl interactions in such systems into the partially heterogeneous category. In this case, process dynamics, which are determined by the desorption rate of products from the surface of the carbohydrate, for the most part do not depend on the nucleophilicity of the amine [8], expanding the possibilities of the classical Maillard reaction with the participation of aromatic amines [9]. In connection with the stated purpose of the present study, processes of formation and structural group composition of the products of the interaction of *D*-glucose with *p*-toluidine in anhydrous ethanol were examined.

EXPERIMENTAL

The synthesis of the target products was carried out in anhydrous (99.9 %) ethanol ("Merck") in the system *D*-glucose – *p*-toluidine of equimolar composition (0.002 mol) and heated in a three-necked flask with water heating and reflux at a thermostat temperature of 70 °C for a predetermined time. The absorption spectra of diluted samples selected during the processes (0.1 ml in 5 ml of solvent) were recorded in quartz cuvettes ($l = 1\text{ cm}$) on an SF-2000 spectrophotometer (OKB SPECTR, St. Petersburg, Russia) at a wavelength range of 300–700 nm with a step of 5 nm. At the end of the measurement processes, the solvent was removed and the products, presenting themselves as black-brown substances, were washed with anhydrous ether and dried. Some of the products were fractionated with water. IR Fourier spectra of solid products were recorded in the transmission format in KBr pellets (1:250) on an FSM 2201 IR Fourier transform spectrometer (Infraspek LLC, St. Petersburg,

Russia) in the wavelength range of 500–4000 cm^{-1} having a spectral resolution of 4 cm^{-1} with 40 scans. The initial spectra were processed in the FSpec and PeakFit software programs. The second derivative spectra were obtained as a result of numerical differentiation using smoothing by a fourth-order polynomial in windows up to 15 points. No fewer than three experiments were carried out.

RESULTS AND DISCUSSION

The direct determination of the structure of humic substances is greatly complicated by the compositional heterofunctionality and large number of combinations of structural units [10, 11]. In this case, IR spectroscopy, being a non-destructive method, provides fairly complete information about the set of basic atomic groups, as well as their mutual structural combination [12]. The dynamics of the transformation of structural elements can be clearly seen in the frequency analysis (Fig. 1):

– as the target processes proceed, a clear peak appears at 1190 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-O-C}} + \nu_{\text{C-O-N}}$ [13]), whose intensity increases with time;

– for products obtained at 90 and 120 min incubation, a fixed band at 1656 cm^{-1} is attributable to the stretching vibrations of multiple bonds in conjugated system $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$, indicating the condensation reaction [2].

Fractionation of final solid products with water allows the water-insoluble fractions to be isolated in the form of brown powders, in the spectra of which the main bands remain unchanged in

time (Fig. 2, spectra 1, 2), while the band intensities at 1656 and 1190 cm^{-1} decline. The latter may indicate the transition of some of the soluble coloured products to the aqueous phase, which, according to the authors of the publication [13], correlates with an increase in the band in the region of 1660 cm^{-1} and a decrease in the colour intensity of water-soluble fractions.

The nature of the vibrational spectra is a fairly reliable criterion for assigning the structure of products to a certain group of natural substances [2, 3, 5]. The assignment of the main bands in the IR Fourier transform spectra of solid products isolated from reaction systems shows the following structural group composition (see Fig. 2): 1720 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$, shoulder), 1190, 1215, 1270 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-OH}}$, $\nu_{\text{C-OH}}$, $\nu_{\text{C-O-C}}$), 3400–3200 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$, $\nu_{\text{N-H}}$), aromatic system: 1508, 1580, 1622 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=C}}$), 815 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$), 3030 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$), as well as the limiting aliphatic constituent: 1000–1100 cm^{-1} ($\nu_{\text{CO}} + \delta_{\text{CO}} + \nu_{\text{CC}} + \nu_{\text{ring}}^{\text{as}}$), 2855, 2922, 2950 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$). The presence of intense bands at 1508 and 815 cm^{-1} , as well as signals at 3030 cm^{-1} indicates the contribution of the uncondensed aromatic component characteristic of natural humic substances in the structure of products [10], which distinguishes them from previously synthesised carbonisation products [9]. Similar bands of corresponding intensity were observed by other authors in the IR spectra of natural and synthetic humic-like substances [1–8, 11, 14], indicating their structural similarity with the products we isolated.

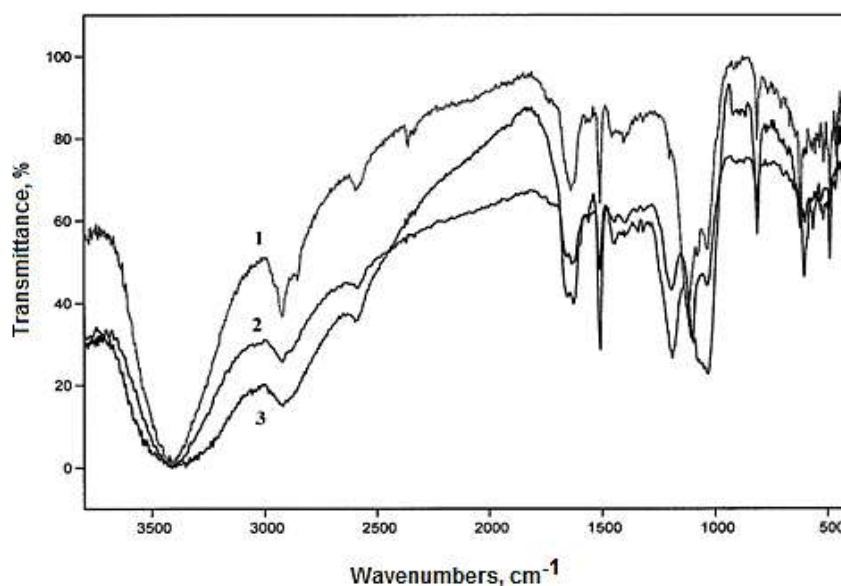


Fig. 1. IR-Fourier transform spectra of solid products isolated from reaction systems with different temperature control durations, min: 1 – 60; 2 – 90; 3 – 120

Рис. 1. ИК-Фурье спектры твердых продуктов, выделенных из реакционных систем при различной продолжительности термостатирования, мин: 1 – 60; 2 – 90; 3 – 120

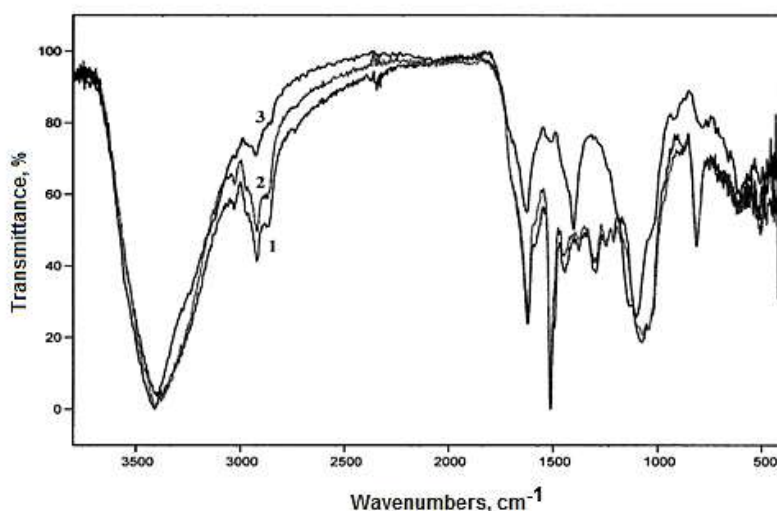


Fig. 2. IR-Fourier transform spectra of solid water-insoluble products isolated from reaction systems at different durations of temperature control, min: 1 – 60; 2 – 120; 3 – product of water-soluble fraction (120 min)

Рис. 2. ИК-Фурье спектры твердых водонерастворимых продуктов, выделенных из реакционных систем при различной продолжительности термостатирования, мин: 1 – 60; 2 – 120; 3 – продукт водорастворимой фракции (120 мин)

The electronic absorption spectra of the working solutions under the accepted experimental conditions are shown in Fig. 3. When analysing the nature of the profiles of their spectra, absorption in the entire wavelength range and increased optical density values are noted; this was not previously observed when using dried alcohol (98 %) as a solvent in the reaction of *D*-glucose with *p*-toluidine [9]. In addition, visual observations show the presence of an insoluble

part of the carbohydrate that passes into the solution only at the end of the measurements.

The evolution of the profiles of the electronic spectra of working solutions shows the formation of a chromophore system: clear peaks at 380 and 440 nm are already present at a reaction time of 60 min. The appearance of an additional maximum at 520 nm (90, 120 min) probably corresponds to the formation of chromophores of condensed structures. Similar spectra are charac-

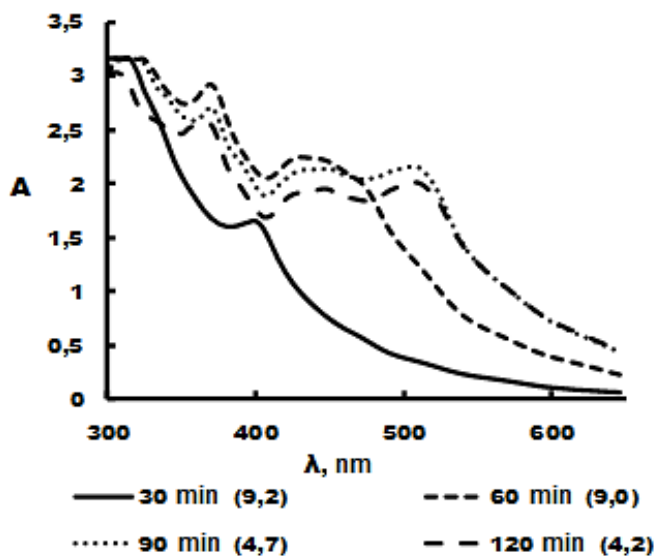


Fig. 3. Absorption spectra of process solutions and condensed products (values of E_4/E_6 indices are in brackets)

Рис. 3. Спектры поглощения рабочих растворов при различной продолжительности термостатирования (в скобках указаны значения индексов E_4/E_6)

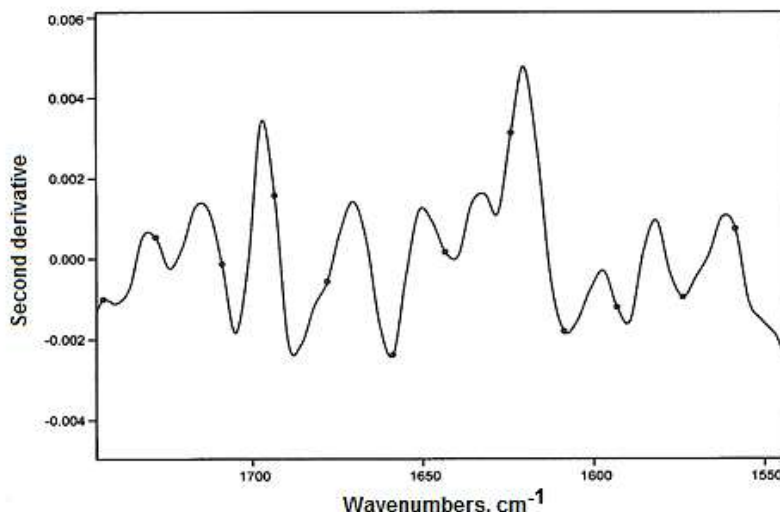


Fig. 4. IR-Fourier transform spectra second derivative of solid water-soluble product

Рис. 4. Вторая производная ИК-Фурье спектра твердого продукта водорастворимой фракции

teristic of π electron systems of aromatic phenolic and quinoid structures [4], which is consistent with the vibrational spectroscopy data analysed above. A comparison of the indices E_4/E_6 calculated from the absorption values at $\lambda = 465$ and 650 nm [5, 10] confirms this conclusion: the particularly sharp decrease in the index values from 60 to 90 min of temperature control indicates the formation of condensed conjugate and aromatic structures or intermolecular donor-acceptor complexes with charge transfer [10].

The decrease in the optical density of the solutions with a thermostating time of 120 min is probably caused by the precipitation of some products due to an increase in molecular weight and a decrease in solubility in the reaction medium. Thus, the chromophore system of the final products, which includes three absorption maxima (380, 440 and 520 nm), begins to form by 60 min: this is represented by a combination of the aromatic component of the structure with oxygen- and nitrogen-containing functional groups.

Removing the solvent from the water-soluble fraction allows a yellow solid residue to be isolated whose IR-Fourier transform spectrum differs from the spectra of the products of water-insoluble fractions (see Fig. 2, spectrum 3). In particular, the intensity of the "aromatic" bands of 815 and 1508 cm^{-1} is significantly reduced; the clear peak appearing at 1404 cm^{-1} probably corresponds to the vibrations of C(O)OH, OH, and CH [2, 3, 10]. Signals at 1656 and 1190 cm^{-1} are not clearly recorded due to merging with wide bands with maxima at 1625 and 1137 cm^{-1} . Twice-repeated differentiation of the IR-Fourier transform spectrum band in the interval $1800\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$ allows the peak to be divided at 1625 cm^{-1} into several bands (Fig. 4), the most intense of which are at 1620 and 1705 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=C}} + \nu_{\text{C=O}}$). Less intense bands

(1584, 1645, 1670, 1720 cm^{-1}) can also be attributed to functionalised oxygen fragments [15].

It can be assumed that the composition of water-soluble fractions consists mainly of aliphatic oxygen-containing structures formed as a result of oxidative degradation of the initial carbohydrate [14, 16, 17]; some of the bonds can be hydrolytically cleaved during fractionation [13].

The synthesised products have a number of important properties that are practically significant for their use as plant growth stimulants; in particular, the aromatic component. The authors of [12] showed that the growth-regulating activity of humic substances corresponds to an increase in their aromaticity. Other publications report the effectiveness of Schiff's aromatic bases on the yield of a number of agricultural crops [18, 19]. There has been growing interest in systems that are stable under natural conditions with controlled release of active substances [20]. For this reason, we are currently conducting studies to investigate the dynamics of fractionation of synthesised products, as well as vegetative experiments on test cultures in the Udmurt Republic.

Further studies are planned in the direction of studying the nature of the action of synthesised products on individual phases of plant development, as well as studies of their ecotoxicity and biodegradability. In the future, we also plan to develop a technological scheme that allows the process of synthesising growth regulators to be scaled up for industrial production.

CONCLUSIONS

Electronic and vibrational spectroscopy methods were used to study the formational and structural dynamics of products in the reaction of *D*-glucose with *p*-toluidine in anhydrous ethanol. The implementation of amino-carbonyl reactions

of carbohydrates in non-aqueous alcoholic solutions can result in their significant intensification, allowing the procural of fractionated products structurally similar to substances of the humic class. The combination of the aromatic component of the structure with hydrolytically labile oxy-

gen- and nitrogen-containing functional groups determines the biological activity during the growing season, which determines the prospect of using the synthesised products as available plant growth regulators with controlled release of the active substance.

REFERENCES

1. Goh KM, Stevenson FJ. Comparison of infrared spectra of synthetic and natural humic and fulvic acids. *Soil Science*. 1971;112(6):392–400.
2. Stevenson FJ, Goh KM. Infrared spectra of humic acids and related substances. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1971;35(5):471–483. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(71\)90044-5](https://doi.org/10.1016/0016-7037(71)90044-5)
3. Sumerskii IV, Krutov SM, Zarubin MYa. Humic-like substances formed under conditions of industrial hydrolysis of wood. *Russian Journal of Applied Chemistry*. 2010;83(2):320–327. <https://doi.org/10.1134/S1070427210020266>
4. Litvin VA, Galagan RL, Minaev BF. Synthesis and properties of synthetic analogs of natural humic acids. *Russian Journal of Applied Chemistry*. 2012;85(2):296–302. <https://doi.org/10.1134/S1070427212020243>
5. Koroleva OV, Kulikova NA, Alekseeva TN, Stepanova EV, Davidchik VN, Belyatva EYu, et al. A comparative characterization of fungal melanin and humic-like substances synthesized by *Cerrena maxima* 0275. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2007;43(1):61–67.
6. Liang L, Zhou M, Li K, Jiang L. Facile and fast polyaniline-directed synthesis of monolithic carbon cryogels from glucose. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2018;265(1):26–34. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2013.01.035>
7. Bai C, Shen F, Qi X-H. Preparation of porous carbon directly from hydrothermal carbonization of fructose and phloroglucinol for adsorption of tetracycline. *Chinese Chemical Letters*. 2017;28(5):960–962. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2016.12.026>
8. Shul'tsev AL. N-glycosides of 4-amino-styrene. *Russian Journal of General Chemistry*. 2014;84(2):235–241. <https://doi.org/10.1134/S1070363214020133>
9. Cherepanov IS. Estimation of carbonized product's aromaticity in carbohydrate–arylamine systems. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Severo-Kavkazskii region. Tekhnicheskie nauki*. 2018;4:118–123. (In Russian) <https://doi.org/10.17213/0321-2653-2018-4-118-123>
10. Gressel N, McGrath AE, McColl JG, Powers RF. Spectroscopy of aqueous extracts of forest litter. I. Suitability of methods. *Soil Science Society of America Journal*. 1995;59(6):1715–1723. <https://doi.org/10.2136/sssaj1995.0361599500590060030x>
11. Van Zandvoort I, Koers E, Wiengarth M, Bruijninx P, Baldus M, Weckhuysen B. Structural characterization of ¹³C-enriched humins and alka-
- li-treated ¹³C-humins by 2D solid-state NMR. *Green Chemistry*. 2015;17(8):4383–4392. <https://doi.org/10.1039/C5GC00327J>
12. Zherebtsov SI, Malysenko NV, Votolin KS, Androkhonov VA, Sokolov DA, Dugarjav J. et al. Humic preparations: relation between structural group composition and biological activity. *Vestnik Kuzbasskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta* = Bulletin of the Kuzbass state technical university. 2018;5:52–60. (In Russian) <https://doi.org/10.26730/1999-4125-2018-5-52-60>
13. Tsilomelekis G, Orella M, Lin Z, Cheng Z, Zheng W, Nikolakis V, et al. Molecular structure, morphology and growth mechanism and rates of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) derived humins. *Green Chemistry*. 2016;18(7):1983–1993. <https://doi.org/10.1039/c5gc01938a>
14. Yaylayan V, Kaminsky E. Isolation and structural analysis of Maillard polymers: caramel and melanoidin formation in glycine/glucose model system. *Food Chemistry*. 1998;63(1):25–31.
15. Yang Y-H, Sheng F-L, Tao Z-Y. Transmission FT-IR difference spectroscopic characterization of a fulvic acid from weathered coal in water. *Toxicological and Environmental Chemistry*. 1995;51(1-4):135–144. <https://doi.org/10.1080/0277249509358231>
16. Jung A-V, Frochot C, Parant S, Lartiges BS, Selve C, Viriot M-L, et al. Synthesis of aminophenolic humic-like substances and comparison with natural aquatic humic acids: a multi-analytical techniques approach. *Organic Geochemistry*. 2005;36(9):1252–1271. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2005.04.004>
17. Patil SKR, Lund CRF. Formation and growth of humins via aldol addition and condensation during acid-catalyzed conversion of 5-hydroxymethylfurfural. *Energy and Fuels*. 2011;25(10):4745–4755. <https://doi.org/10.1021/ef2010157>
18. Timofeev VP, Selimov FA, Dzhemelev UM. Aromatic Schiff's bases as growth regulator for plants. Patent RF, no. 210122; 1995. (In Russian)
19. Palande SV, Swamy DK. Synthesis, characterization and biological activity of Schiff base 2-[(2-(2-methoxy-phenoxy)-ethylimino)-methyl]-phenol and its transition metal complexes. *International Research Journal of Science and Engineering*. 2018;A2:35–40.
20. Atabaeva MA, Dzhedzheya VT, Luss AL, Ustinova MS, Shtilman MI. Polymeric forms of plant growth regulators. *Uspekhi v khimii i khimicheskoi tekhnologii*. 2019;33(2):18–19. (In Russian)

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Goh K.M., Stevenson F.J. Comparison of infrared spectra of synthetic and natural humic and fulvic acids // *Soil Science*. 1971. Vol. 112. Issue 6. P. 392–400.
2. Stevenson F.J., Goh K.M. Infrared spectra of humic acids and related substances // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1971. Vol. 35. Issue 5. P. 471–483. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(71\)90044-5](https://doi.org/10.1016/0016-7037(71)90044-5)
3. Sumerskii I.V., Krutov S.M., Zarubin M.Ya. Human-like substances formed under conditions of industrial hydrolysis of wood // *Russian Journal of Applied Chemistry*. 2010. Vol. 83. Issue 2. P. 320–327. <https://doi.org/10.1134/S1070427210020266>
4. Litvin V.A., Galagan R.L., Minaev B.F. Synthesis and properties of synthetic analogs of natural humic acids // *Russian Journal of Applied Chemistry*. 2012. Vol. 85. Issue 2. P. 296–302. <https://doi.org/10.1134/S1070427212020243>
5. Koroleva O.V., Kulikova N.A., Alekseeva T.N., Stepanova E.V., Davidchik V.N., Belyatva E.Yu., et al. A comparative characterization of fungal melanin and humic-like substances synthesized by *Cerrena maxima* 0275 // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2007. Vol. 43. Issue 1. P. 61–67.
6. Liang L., Zhou M., Li K., Jiang L. Facile and fast polyaniline-directed synthesis of monolithic carbon cryogels from glucose // *Microporous and Mesoporous Materials*. 2018. Vol. 265. Issue 1. P. 26–34. <https://doi.org/10.1016/J.micromeso.2018.01.035>
7. Bai C., Shen F., Qi X.-H. Preparation of porous carbon directly from hydrothermal carbonization of fructose and phloroglucinol for adsorption of tetracycline // *Chinese Chemical Letters*. 2017. Vol. 28. Issue 5. P. 960–962. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2016.12.026>
8. Shul'tsev A.L. N-glycosides of 4-amino-styrene // *Russian Journal of General Chemistry*. 2014. Vol. 84. N 2. P. 235–241. <https://doi.org/10.1134/S1070363214020133>
9. Черепанов И.С. Оценка параметров ароматичности продуктов карбонизации в системах углеводов–ариламин // *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Технические науки*. 2018. N 4 (200). С. 118–123. <https://doi.org/10.17213/0321-2653-2018-4-118-123>
10. Gressel N., McGrath A.E., McColl J.G., Powers R.F. Spectroscopy of aqueous extracts of forest litter. I. Suitability of methods // *Soil Science Society of America Journal*. 1995. Vol. 59. Issue 6. P. 1715–1723. <https://doi.org/10.2136/sssaj1995.03615995005900060030x>
11. Van Zandvoort I., Koers E., Wiengarth M., Buijninx P., Baldus M., Weckhuysen B. Structural characterization of ¹³C-enriched humins and alkali-treated ¹³C-humins by 2D solid-state NMR // *Green Chemistry*. 2015. Vol. 17. Issue 8. P. 4383–4392. <https://doi.org/10.1039/C5GC00327J>
12. Жеребцов С.И., Малышенко Н.В., Вотлин К.С., Андроханов В.А., Соколов Д.А., Дугаржав Ж. [и др.]. Гуминовые препараты: связь структурно-группового состава и биологической активности // *Вестник Кузбасского государственного технического университета*. 2018. N 5 (129). С. 52–60. <https://doi.org/10.26730/1999-4125-2018-5-52-60>
13. Tsilomelekis G., Orella M., Lin Z., Cheng Z., Zheng W., Nikolakis V., et al. Molecular structure, morphology and growth mechanism and rates of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) derived humins // *Green Chemistry*. 2016. Vol. 18. Issue 7. P. 1983–1993. <https://doi.org/10.1039/c5gc01938a>
14. Yaylayan V., Kaminsky E. Isolation and structural analysis of Maillard polymers: caramel and melanoidin formation in glycine/glucose model system // *Food Chemistry*. 1998. Vol. 63. Issue 1. P. 25–31.
15. Yang Y.-H., Sheng F.-L., Tao Z.-Y. Transmission FT-IR difference spectroscopic characterization of a fulvic acid from weathered coal in water // *Toxicological and Environmental Chemistry*. 1995. Vol. 51. Issue 1-4. P. 135–144. <https://doi.org/10.1080/02772249509358231>
16. Jung A.-V., Frochot C., Parant S., Lartiges B.S., Selve C., Viriot M.-L., et al. Synthesis of amino-phenolic humic-like substances and comparison with natural aquatic humic acids: a multi-analytical techniques approach // *Organic Geochemistry*. 2005. Vol. 36. Issue 9. P. 1252–1271. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2005.04.004>
17. Patil S.K.R., Lund C.R.F. Formation and growth of humins via aldol addition and condensation during acid-catalyzed conversion of 5-hydroxymethylfurfural // *Energy and Fuels*. 2011. Vol. 25. Issue 10. P. 4745–4755. <https://doi.org/10.1021/ef2010157>
18. Пат. № 2101227, Российская Федерация. Ароматические основания Шиффа в качестве регулятора роста растений / В.П. Тимофеев, Ф.А. Селимов, У.М. Джемилев; патентообладатель Стерлитамакский нефтехимический завод; заявл. 04.08.1995, опубл. 10.01.1998.
19. Palande S.V., Swamy D.K. Synthesis, characterization and biological activity of Schiff base 2-[(2-(2-methoxy-phenoxy)-ethylimino)-methyl]-phenol and its transition metal complexes // *International Research Journal of Science and Engineering*. 2018. Special Issue A2. P. 35–40.
20. Атабаева А.М., Джеджева В.Т., Лусс А.Л., Устинова М.С., Штильман М.И. Полимерные формы регуляторов роста растений // *Успехи в химии и химической технологии*. 2019. Т. 33. N 2. С. 18–19.

Contribution

Igor S. Cherepanov and Polina S. Kryukova carried out the experimental work, analyzed the experimental results and prepared the text of the manuscript. Igor S. Cherepanov and Polina S. Kryukova 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.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Igor S. Cherepanov,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Udmurt State University,
1 Universitetskaya St.,
Izhevsk 426034,
Russian Federation,
e-mail: cherchem@mail.ru

Polina S. Kryukova,
Student,
Udmurt State University,
1 Universitetskaya St.,
Izhevsk 426034,
Russian Federation,
e-mail: cherchem@mail.ru

Критерии авторства

Черепанов И.С. и Крюкова П.С. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Черепанов И.С. и Крюкова П.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

Черепанов Игорь Сергеевич,
к.х.н., доцент
Удмуртский государственный университет,
426034, г. Ижевск, ул. Университетская, 1,
Российская Федерация,
e-mail: cherchem@mail.ru

Крюкова Полина Сергеевна,
студентка,
Удмуртский государственный университет,
426034, г. Ижевск, ул. Университетская, 1,
Российская Федерация,
e-mail: cherchem@mail.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 543.42:546.74:54.412. 2

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-196-204>

Изучение комплексообразования никеля(II) с 1,3-дифенил-2-(2-гидрокси-4-нитрофенилгидрозо)проподионом-1,3 в присутствии третьих компонентов

© В.И. Марданова*, Ш.А. Тахирли**, С.Р. Гаджиева*, Ф.М. Чырагов*

* Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан

** Ленкоранский государственный университет, г. Ленкорань, Азербайджан

Резюме: Изучено влияние третьих компонентов – α, α' -дипиридила (α, α' -дип), фенантролина (Фен) и батофенантролина (Б-фен), на комплексообразование никеля(II) с 1,3-дифенил-2-(2-гидрокси-4-нитрофенилгидрозо)проподионом-1,3 (R). Однородно- (Ni-R) и смешанолигандные (Ni(II)-R- α, α' -дип, Ni(II)-R-Фен и Ni(II)-R-Б-фен) комплексные соединения образуются при pH = 6, 5,5 и 5 соответственно. Максимальный выход составил: комплекса Ni(II)-R – при концентрации R $8 \cdot 10^{-5}$ М; комплекса Ni(II)-R- α, α' -дип – при концентрации R $8 \cdot 10^{-5}$ М и α, α' -дип $5,2 \cdot 10^{-5}$ М; Ni(II)-R-Фен – при концентрации R $8 \cdot 10^{-5}$ М и $4,8 \cdot 10^{-5}$ М Фен; комплекса Ni(II)-R-Б-фен – при концентрации R $8 \cdot 10^{-5}$ М и Б-фен $4 \cdot 10^{-5}$ М. Все комплексы образуются сразу после смешивания растворов компонентов и различаются устойчивостью. Установлено соотношение реагирующих компонентов в составе однородно- (1:2) и смешанолигандных (1:2:1) соединений. Определен интервал подчинения закону Бера. Определены коэффициенты уравнения градуировочного графика по методу наименьших квадратов. При комплексообразовании никеля(II) зависимость $A = f(c)$ выражается линейными уравнениями. Вычислены константы устойчивости однородно- (Ni(II)-R) и смешанолигандных (Ni(II)-R- α, α' -дип, Ni(II)-R-Фен и Ni(II)-R-Б-фен) комплексов. При оптимальных условиях комплексообразования Ni(II)-R титровали раствором третьих компонентов (α, α' -дип, Фен и Б-фен) кондуктометрическим методом. Изучено влияние посторонних ионов на комплексообразование никеля(II) с R в отсутствие и в присутствии третьих компонентов. Установлено, что в присутствии третьих компонентов избирательность реакций комплексообразования значительно увеличивается. Данные реагенты избирательнее для спектрофотометрического определения никеля(II) по сравнению с реагентами, известными из литературы. Разработанная методика применена для определения никеля(II) в трех сортах яблок.

Ключевые слова: никель(II), азосоединения, разнолигандный комплекс, α, α' -дипиридил, фенантролин, батофенантролин

Информация о статье: Дата поступления 19 июля 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Марданова В.И., Тахирли Ш.А., Гаджиева С.Р., Чырагов Ф.М. Изучение комплексообразования никеля(II) с 1,3-дифенил-2-(2-гидрокси-4-нитрофенилгидрозо)проподионом-1,3 в присутствии третьих компонентов. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 2. С. 196–204. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-196-204>

Component complexation study of Ni(II) with 1,3-diphenyl-2-(2-hydroxy-4-nitrophenylhydrozo)propodion-1,3

Vusala I. Mardanova, Shalala A. Taxirli, Sevinjh R. Hajiyeva, Famil M. Chyrarov

* Baku State University, Baku, Azerbaijan

** Lankaran State University, Lankaran, Azerbaijan

Abstract: The effect of various components, including α, α' -dipyridyl (α, α' -dip), phenanthroline (Phen) and bathophenanthroline (B-phen), on the complexation of Ni(II) with 1,3-diphenyl-2-(2-hydroxy-4-

nitrophenylhydrozo)propodion-1,3 (R) was studied. Homogeneous (Ni(II)-R) and mixed-ligand (Ni(II)-R- α,α' -dip, Ni(II)-R-Phen and Ni(II)-R-B-phen) complex compounds are determined to form at pH = 6, 5.5 and 5, respectively. The yield of the Ni(II)-R complex is established to be maximal at R concentration of $8 \cdot 10^{-5}$ M; Ni(II)-R- α,α' -dip – at concentration R and α,α' -dip of $8 \cdot 10^{-5}$ and $5.2 \cdot 10^{-5}$ M, respectively; Ni(II)-R-Phen – at concentration R and Phen of $8 \cdot 10^{-5}$ and $4.8 \cdot 10^{-5}$ M, respectively; Ni(II)-R-B-phen – at concentration of R and B-phen $8 \cdot 10^{-5}$ and $4 \cdot 10^{-5}$ M, respectively. All complexes, which differ in stability, were determined to form immediately after mixing the solutions of the components. The ratio of reacting components in the composition of homogeneous (1:2) and mixed (1:2:1) ligand compounds is established in terms of conformity to Beer's law. The equation coefficients for the calibration curve were obtained by the method of least squares. In the complexation of nickel(II), the $A = f(c)$ dependence was shown to be expressed by linear equations. The stability constants of homogeneous (Ni(II)-R) and mixed-ligand (Ni(II)-R- α,α' -dip, Ni(II)-R-Phen and Ni(II)-R-B-phen) complexes were calculated. Under optimal complexation conditions, Ni(II)-R was titrated with a solution of the components, including α,α' -dip, Phen and B-phen, using the conductometric method. The effect of foreign ions on the complexation of nickel(II) with R both in the absence and presence of other components was studied. In the presence of other components, the selectivity of complexation reactions was established to increase significantly. These reagents were proved to be more selective for spectrophotometric determination of nickel(II) in comparison with reagents known from the literature. The developed technique was applied for nickel(II) determination in three varieties of apples.

Keywords: nickel(II), azo-compounds, mixed-ligand complex, α,α' -dipyridyl, phenanthroline, bathophenanthroline

Information about the article: Received July 19, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Mardanova Vİ, Taxirli SA, Hajiyeva SR, Ciraqov FM. Component complexation study of Ni(II) with 1,3-diphenyl-2-(2-hydroxy-4-nitrophenylhydrozo)propodion-1,3. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):196–204. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-196-204>

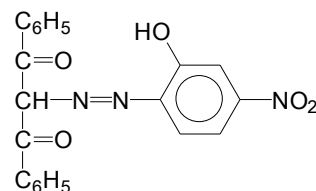
ВВЕДЕНИЕ

По сравнению с другими переходными металлами никель является умеренно токсичным элементом, однако, даже при низкой концентрации оказывает общее токсическое воздействие на организм человека, повышение его содержания вызывает заболевания дыхательных путей и легких, злокачественные опухоли и дерматические реакции. Предполагалось, что в некоторых количествах никель необходим растениям и животным [1–4]. Вредно попадание никеля в почву и сточные воды, откуда он по пищевой цепочке может оказаться в пищевых продуктах, употребляемых человеком. Этот факт объясняет важность мониторинга концентрации никеля в пищевых продуктах. Атомная абсорбционная спектрометрия пламенной и графитовой печи и спектрофотометрические методы обеспечивают точное и быстрое определение никеля в растениях и пищевых продуктах [5–14]. Однако очень часто прямое определение не может быть применено из-за низкой концентрации анализируемых веществ или матричных помех.

Авторами настоящей работы фотометрическим методом исследовано комплексообразование никеля(II) с 1,3-дифенил-2-(2-гидрокси-4-нитрофенилгидрозо)проподион-1,3 (R) в присутствии α,α' -дипиридила (α,α' -дип), фенантролина (Фен) и батофенантролина (Б-фен).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагент синтезирован по методике, представленной в работах [15, 16], его состав и строение установлены методами элементного анализа и ИК-спектроскопии:



В работе использовали $1 \cdot 10^{-3}$ М этанольный раствор реагента и водно-этанольные растворы (3:7) третьих компонентов, которые готовили растворением их точных навесок. Раствор иона никеля(II) готовили из $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ растворением точной навески в воде. Для создания необходимой кислотности использовали ацетатно-аммиачные буферные растворы. Все использованные реагенты имеют квалификацию не ниже ч.д.а.

Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре Lamda 40 (Perkin Elmer) и фотоколориметре КФК-2 в кювете с толщиной слоя 1 см. Кислотность буферных растворов измеряли на иономере РНС-25, настроенном стандартными буферными растворами. Удельную электропроводность растворов измеряли на кондуктометре КЭЛ-1М2.

ОБСУЖДЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе эксперимента установлено, что R в этиловом спирте при pH = 6 имеет полосу поглощения с максимумом $\lambda = 425$ нм. В этих условиях он образует комплекс с никелем(II), максимум поглощения при 452 нм. Исследование полученного комплекса в присутствии α, α' -дипиридила, диантипириметана и батофенантролина в широком интервале pH показало, что под влиянием третьего компонента образуются разнолигандные комплексы: Ni(II)-R- α, α' -дип с максимумом светопоглощения $\lambda = 468$ нм, Ni(II)-R-Фен – с $\lambda = 472$ нм, и Ni(II)-R-Б-фен – с $\lambda = 478$ нм. Окраска реагента

и комплексов зависит от pH среды, поэтому спектры поглощения при комплексообразовании изучали на фоне контрольного опыта R- α, α' -дип, R-Фен и R-Б-фен. Под влиянием третьих компонентов у всех образующихся смешанолигандных комплексов наблюдался bathochromный эффект (рис. 1).

Изучение зависимости оптической плотности от pH раствора показало, что при взаимодействии с α, α' -дипиридиллом, диантипириметаном и батофенантролином оптимальные условия комплексообразования сдвигаются в кислую среду (pH = 5) для всех комплексов (рис. 2).

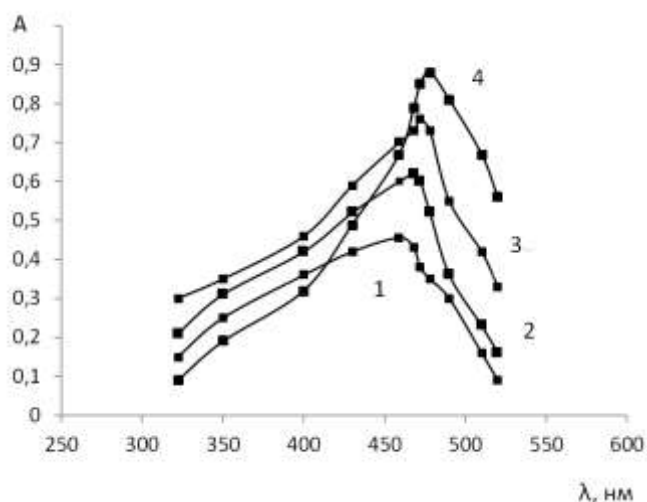


Рис. 1. Спектры поглощения растворов комплексов с никелем(II):
1 – Ni-R; 2 – Ni-R- α, α' -дип; 3 – Ni-R-Фен; 4 – Ni-R-Б-фен. $C_{Ni} = 4 \cdot 10^{-5} M$; $C_R = 1 \cdot 10^{-4} M$

Fig. 1. Absorbance spectrum of nickel(II) complexes
1 – Ni-R; 2 – Ni-R- α, α' -dip; 3 – Ni-R-Phen; 4 – Ni-R-B-phen. $C_{Ni} = 4 \cdot 10^{-5} M$; $C_R = 1 \cdot 10^{-4} M$

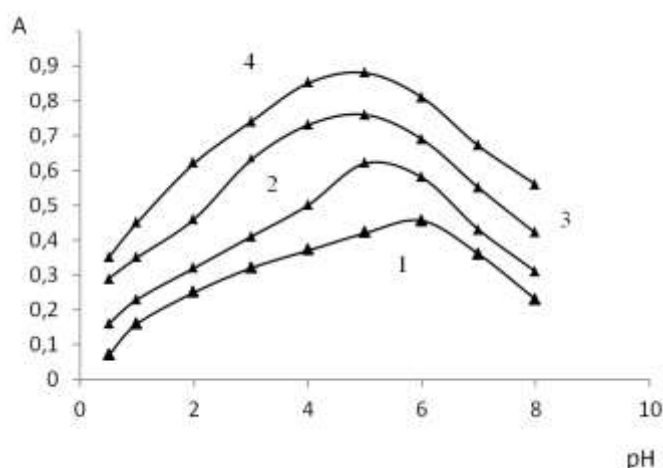


Рис. 2. Зависимость оптической плотности раствора комплексов никеля(II) от pH в присутствии и в отсутствие третьих компонентов при λ_{opt} на фоне контрольного опыта:
1 – Ni-R; 2 – Ni-R- α, α' -дип; 3 – Ni-R-Фен; 4 – Ni-R-Б-фен $C_{Ni} = 4 \cdot 10^{-5} M$; $C_R = 1 \cdot 10^{-4} M$

Fig. 2. Optical density of nickel(II) complexes solution versus pH in the presence and absence of third component at λ_{opt} on the background experiment:
1 – Ni-R; 2 – Ni-R- α, α' -dip; 3 – Ni-R-Phen; 4 – Ni-R-B-phen $C_{Ni} = 4 \cdot 10^{-5} M$; $C_R = 1 \cdot 10^{-4} M$

В целях выбора оптимальных условий изучено влияние концентрации реагирующих веществ, температуры и времени на образование бинарного и разнолигандного комплексов. Максимальный выход комплексов получен: Ni(II)-R – при концентрации компонента R $8 \cdot 10^{-5}$ М; комплекса Ni(II)-R- α, α' -дип – при концентрации компонентов $8 \cdot 10^{-5}$ и $5,2 \cdot 10^{-5}$ соответственно; комплекса Ni(II)-R-Фен – при концентрации компонентов $8 \cdot 10^{-5}$ и $4,8 \cdot 10^{-5}$ соответственно; комплекса Ni(II)-R-Б-фен – при концентрации компонентов $8 \cdot 10^{-5}$ и $4 \cdot 10^{-5}$ М соответственно. Все комплексы образуются сразу после смешивания растворов компонентов и различаются устойчивостью.

Константы устойчивости и соотношения компонентов в составе образующихся комплексов установлены методами изомолярных серий, относительного выхода Старика – Барбанеля и сдвига равновесия¹.

Метод Старика – Барбанеля позволяет точно оценить стехиометрические коэффициенты и может быть применен к любой стехиометрической реакции независимо от устойчивости концентрации взаимодействующих веществ [17, 18].

Исследование показало, что соотношение компонентов в комплексе Ni(II)-R составляет 1:2, в разнолигандных комплексах – 1:2:1.

Молярные коэффициенты светопоглощения, интервал линейности градуировочного графика для определения никеля(II), а также другие аналитические характеристики реагентов приведены в табл. 1.

Определены коэффициенты уравнения градуировочного графика по методу наименьших квадратов [19]. При комплексообразовании никеля(II) зависимость $A = f(c)$ выражается следующими линейными уравнениями:

- $A = (0,19 \pm 0,02)c + (4,8 \pm 0,12)10^{-2}$ – для Ni(II)-R;
- $A = (0,24 \pm 0,01)c + (3,2 \pm 0,10)10^{-2}$ – для Ni(II)-R- α, α' -дип;
- $A = (0,27 \pm 0,02)c + (6,9 \pm 0,09)10^{-2}$ – для Ni(II)-R-Фен;
- $A = (0,37 \pm 0,01)c + (7,2 \pm 0,08)10^{-2}$ – для Ni(II)-R-Б-фен.

Как видно, с возрастанием угла наклона (а) линейных уравнений увеличиваются молярные коэффициенты поглощения комплексов.

При оптимальных условиях комплексообразования Ni(II)-R титровали раствором третьих компонентов (α, α' -дип, Фен, и Б-фен) кондуктометрическим методом [20] (табл. 2).

Спектрофотометрические характеристики комплексов никеля(II)

Таблица 1

Table 1

Main characteristics of nickel(II) complexes

Комплекс	pH	λ_{\max} , нм	$\Delta\lambda$, нм	$\varepsilon \cdot 10^{-4}$, л/моль·см	Me:R	Подчинение закону Бера, мкг/мл	$\lg\beta$
Ni(II)-R	6	452	27	0,875±0,04	1:2	0,46–2,32	8,24±0,04
Ni(II)-R- α, α' -дип	5	468	43	1,550±0,03	1:2:1	0,13–2,32	10,09±0,06
Ni(II)-R-Фен	5	472	47	1,900±0,02	1:2:1	0,11–2,32	10,84±0,06
Ni(II)-R-Б-фен	5	478	53	2,200±0,03	1:2:1	0,11–2,78	11,22±0,04

Результаты кондуктометрического титрования раствора Ni-R растворами третьих компонентов (α, α' -дип, Фен, и Б-фен ($m \cdot 10^4 \text{ Ом}^{-1} \text{ см}^{-1}$))

Таблица 2

Table 2

Result of the conductometric titration of the Ni-R solution with solution of third component (α, α' -dip, Phen, and B-phen ($m \cdot 10^4 \text{ Ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$))

Комплекс	V_{Ni} , мл									
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
R	1,80	1,77	1,75	1,73	1,72	1,70	1,69	1,68	1,68	1,68
R- α, α' -дип	1,76	1,73	1,70	1,69	1,68	1,65	1,63	1,62	1,62	1,62
R-Фен	1,70	1,64	1,58	1,50	1,45	1,40	1,38	1,38	1,38	1,38
R-Б-фен	1,62	1,58	1,50	1,45	1,40	1,35	1,33	1,32	1,32	1,32

¹ Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрическим и спектрофотометрическим методом анализа. 5-е изд., стер. М.: «Книга по требованию», 2013. 432 с.

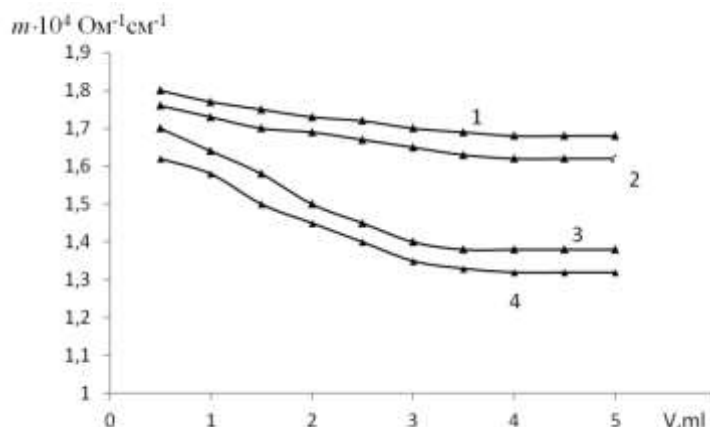


Рис. 3. Зависимость удельной электропроводности от объема титранта:
 1 – Ni(II)-R; 2 – Ni(II)-R-α,α'-дип; 3 – Ni(II)-R-Фен; 4 – Ni(II)-R-Б-фен

Fig. 3. Conductivity versus titrant volume:
 1 – Ni(II)-R, 2 – Ni(II)-R-α,α'-dip, 3 – Ni(II)-R-Phen, 4 – Ni(II)-R-B-phen

Результаты показывают, что чем меньше удельная электропроводность, тем больше устойчивость комплексов. Был построен график зависимости удельной электропроводности от объема титранта для Ni(II)-R, Ni(II)-R-α,α'-дип, Ni(II)-R-Фен и Ni(II)-R-Б-фен (рис. 3).

Изучено влияние посторонних ионов на комплексообразование никеля(II) с R в отсут-

ствии и в присутствии третьих компонентов. Установлено, что в присутствии третьих компонентов избирательность реакций комплексообразования значительно увеличивается (табл. 3): данные реагенты избирательнее для спектрофотометрического определения никеля(II) по сравнению с реагентами, известными из литературы [14].

Таблица 3

Допустимые соотношения посторонних ионов к никелю(II) при его определении в виде однородно- и смешаннолигандных комплексов (погрешность 5 %)

Table 3

Foreign ions and nickel(II) valid ratios at determination of nickel(II) in the form of mono- and mixed-ligand complexes (error 5 %)

Посторонние ионы	R	R-α,α'-дип	R-Фен	R-Б-фен	2-[(2-меркаптофенил-имино)метил]фенол [1]
Na(I)	*	*	*	*	300
K(I)	*	*	*	*	300
Mg(II)	124	414	248	414	250
Ca(II)	207	414	670	670	250
Ba(II)	472	472	236	472	–
Zn(II)	11	224	12	224	300
Cd(II)	215	215	215	366	50
Co(II)	61	464	215	464	20
Cu(II)	**	22	110	110	20
Mn(II)	28	940	190	940	200
Al(III)	5	9	47	47	250
Fe(III)	10	93	193	193	20
Cr(III)	179	258	258	258	20
Pb(II)	71	71	71	142	–
V(V)	88	88	176	572	–
W(VI)	197	952	634	952	–
Mo(VI)	331	828	372	828	–
F ⁻	319	6379	1276	6379	–
C ₂ O ₄ ²⁻	22	43	217	217	–
HPO ₄ ²⁻	617	1234	617	1234	300
Лимонная кислота	116	231	462	462	–
Винная кислота	517	2506	2506	2506	–
Тиомочевина	13	66	262	262	–

Примечание. * – не мешает; ** – мешает.

Разработанная методика применена для определения никеля(II) в трех сортах яблок.

Методика анализа. Навеску образца фруктов массой 200 г после высушивания помещали в графитовую чашку, сжигали в муфельной печи при 550–750 °С до полного разложения органических веществ. Полученную золу растворяли в смеси 15 мл HCl и 5 мл HNO₃ в чашке из стеклоуглерода и трижды обрабатывали 4–5 мл HCl при 60–70 °С до полной отгонки оксидов азота. Далее смесь растворяли в дистиллированной воде, фильтровали в колбе емкостью 100 мл и разбавляли до метки. Аликвотную часть раствора переносили в мерную колбу емкостью 25 мл, добавляли 2 мл 1·10⁻³ М раствора реагента, 1 мл 10⁻² М раствора батофенантролина, доводили объем до метки аммиачно-ацетатным буферным рас-

твором pH = 5. Оптическую плотность раствора измеряли на приборе КФК-2 при λ = 400 нм на фоне контрольного опыта в кювете с толщиной поглощающего свет слоя l = 1 см. Содержание никеля в анализируемых сортах яблок находили по предварительно построенному градуировочному графику. Полученные результаты представлены в табл. 4 и сопоставлены с данными анализа атомно-абсорбционного метода (ААС).

Как видно из данных, представленных в табл. 4, результаты предлагаемой методики и ААС хорошо согласуются между собой. Таким образом, предлагаемая методика определения никеля(II) с 1,3-дифенил-2-(2-гидрокси-4-нитрофенилгидрозо) проподион-1,3 в присутствии батофенантролина проста, экспрессна и дает надежные результаты.

Таблица 4

Результаты определения никеля(II) во фруктах (n=5, P=0,95)

Table 4

Results of nickel(II) definition in fruits (n = 5, P = 0.95)

Сорт яблок	Найдено Ni, % мас.	
	R + батофенантролин	ААС
Палмет	(8,30±0,04)·10 ⁻³	(8,42±0,06) 10 ⁻³
Симиренко	(8,15±0,06) 10 ⁻³	(8,03±0,07) 10 ⁻³
Фуджи	(8,00±0,06) 10 ⁻³	(7,89±0,05) 10 ⁻³

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для определения никеля спектрофотометрическим методом использовано азопроизводное β-дикетон в присутствии третьих компонентов. Структура реагента изучена методом ЯМР- и ИК-спектроскопии, а чистота проверена бумажной хроматографией.

Комплексные соединения никеля с реагентом в присутствии третьих компонентов исследованы спектрофотометрическим методом, определены оптимальные условия комплексообразования и характеристики комплексов (рН_{опт}, λ_{опт}, молярные коэффициенты поглощения, состав комплексов, интервал подчинения закону Бера, константы устойчивости). Определено, что в присутствии третьего компонента некоторые аналитические параметры реак-

ции увеличиваются. Методом наименьших квадратов определены коэффициенты в уравнениях градуировочных графиков.

При оптимальных условиях комплексообразования Ni(II)-R титровали раствором третьих компонентов (α,α'-дип, Фен, и Б-фен) кондуктометрическим методом. Результаты показали, что чем меньше удельная электропроводность, тем выше устойчивость комплексов.

Изучено влияние посторонних ионов и маскирующих веществ на реакции комплексообразования. Установлено, что реакции с модифицированными формами реагентов характеризуются более высокой избирательностью. Разработаны высокоточные воспроизводимые методики определения никеля в трех сортах яблок.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Shabani H.A., Dadfarnia S., Shahbaazi Z., Jafari A.A. Extraction-spectrophotometric determination of nickel at microgram level in water and wastewater using 2-[(2-mercaptophenylimino)methyl]phenol // Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia. 2008. Vol. 22. Issue 3. P. 323–329. <https://doi.org/10.4314/bcse.v22i3.61196>
2. Kumar K.S., Swaroop B.L., Rao S.P., Chiranjeevi P. Spectrophotometric determination of nickel using a new chromogenic reagent in plant

leaves // International Journal of Environmental Studies. 2004. Vol. 61. Issue 6. P. 719–726. <https://doi.org/10.1080/00207230410001688143>

3. Sarma L.S., Kumar J.R., Reddy K.J., Thriveni T., Reddy A.V. Development of highly sensitive extractive spectrophotometric determination of nickel(II) in medicinal leaves, soil, industrial effluents and standard alloy samples using pyridoxal-4-phenyl-3-thiosemicarbazone // Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2008. Vol. 22. Issue 4. P. 285–295. <https://doi.org/10.10>

16/j.jtemb.2008.06.003

4. Марданова В.И., Тахирли Ш.А., Чырагов Ф.М. Изучение комплексообразования никеля(II) с 1-фенил-2-(2-гидрокси-4-нитрофенилгидрозо) бутадио-1,3 в присутствии третьих компонентов // East European Scientific Journal. 2018. Vol. 10. Issue 38. P. 63–67.

5. Li Z., Pan J., Tang J. Determination of nickel in food by spectrophotometry with o-carboxylbenzenediazoaminoazobenzene // Analytical Letters. 2002. Vol. 35. Issue 1. P. 671–183. <https://doi.org/10.1081/AL-120002369>

6. Марданова В.И., Тахирли Ш.А., Бабаев А.Г., Чырагов Ф.М. Изучение комплексообразования никеля(II) с 1-фенил-2-(2-гидрокси-4-нитрофенилгидрозо) бутадио-ном-1,3 в присутствии третьих компонентов // Химические проблемы. 2019. N 2. P. 316–322. <https://doi.org/10.32737/2221-8688-2019-2-316-322>

7. Hu Q., Yang G., Huang Z., Yin J. Determination of nickel with 2-(2-quinolylazo)-5-diethylaminoaniline as a chromogenic reagent // Analytical Sciences 2003. Vol. 19. Issue 10. P. 1449–1452. <https://doi.org/10.2116/analsci.19.1449>

8. Kumar B.N., Kanchi S., Sabela M.I., Bissetty K., Jyothi N.V.V. Spectrophotometric determination of nickel (II) in waters and soils: novel chelating agents and their biological applications supported by DFT method // Karbala International Journal of Modern Science. 2016. Vol. 2. Issue 4. P. 239–250. <https://doi.org/10.1016/j.kijoms.2016.08.003>

9. Alieva R.A., Melikova V.I., Chyrarov F.M. Pyrogallol azo derivatives as analytical reagents for determining nickel(II) // Journal of Analytical Chemistry. 2007. Vol. 62. Issue 6. P. 526–529. <https://doi.org/10.1134/S1061934807060056>

10. Bai K.A., Vallinath G.V.S., Chandrasekhar K.B., Devanna N. Derivative spectrophotometric determination of nickel(II) using 3,5-dimethoxy-4-hydroxy benzaldehyde isonicotinoyl hydrazine (DMNBH) // Rasayan Journal of Chemistry. 2010. Vol. 3. Issue 3. P. 467–472.

11. Barman B., Barua S. Spectrophotometric determination of nickel(II) by using bis-[2,6-(2'-

hydroxy-4'-sulpho-l'-naphthylazo)] pyridine disodium salt // Asian Journal of Chemistry. 2009. Vol. 21. Issue 7. P. 5469–5474.

12. Li X.-D., Zhai Q.-Z. Spectrophotometric determination of nickel with chlorophosphonazo-III // Chemical Science Transactions. 2014. Vol. 3. Issue 3. P. 1023–1026. <https://doi.org/10.7598/ost.2014.803>

13. Ranganath B., Basha V.S., Jayapal M.R., Ramana P.V. Direct Spectrophotometric determination of Ni(II) using esomeprazole // International Journal of Pharmacy and Chemistry. 2015. Vol. 1. Issue 1. P. 7–11. <https://doi.org/10.11648/j.ijpc.20150101.12>

14. Macit M., Bati H., Bati B. Synthesis of 4-benzyl-1-piperazineglyoxime and its use in the spectrophotometric determination of nickel // Turkish Journal of Chemistry. 2000. Vol. 24. Issue 1. P. 481–88.

15. Проблемы химии и применения β-дикетонатов металлов / под. ред. В.И. Спицына. М.: Наука, 1982. 264 с.

16. Бусев А.И. Синтез новых органических реагентов для неорганического анализа. М.: Изд-во МГУ, 1972. 245 с.

17. Алиева Р.А., Айвазова А.В., Еспанди Ф.Е., Чырагов Ф.М. Спектрофотометрический метод определения железа (III) в разных сортах яблок // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8. N 1. С. 42–50. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-1-42-50>

18. Залов А.З. Экстракционно-фотометрическое определение марганца(II) о-гидрокситиофенолом и аминифенолами // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 4. Физика. Химия. 2015. Т. 2. N 1. С. 61–71.

19. Батунер Л.М., Позин М.Е. Математические методы в химической технике. 4-е изд. Л.: Хим. лит., 1971. 638 с.

20. Худякова Т.А., Крешков А.П. Теория и практика кондуктометрического и хронокондуктометрического анализа. М.: Химия. 1976. 304 с.

REFERENCES

1. Shabani HA, Dadfarnia S, Shahbaazi Z, Jafari AA. Extraction-spectrophotometric determination of nickel at microgram level in water and wastewater using 2-[(2-mercaptophenyl-imino)methyl]phenol. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*. 2008;22(3):323–329. <https://doi.org/10.4314/bcse.v22i3.61196>

2. Kumar KS, Swaroop BL, Rao SP, Chiranjeevi P. Spectrophotometric determination of nickel using a new chromogenic reagent in plant leaves. *International Journal of Environmental Studies*. 2004;61(6):719–726. <https://doi.org/10.1080/00207230410001688143>

80/00207230410001688143

3. Sarma LS, Kumar JR, Reddy KJ, Thriveni T, Reddy AV. Development of highly sensitive extractive spectrophotometric determination of nickel(II) in medicinal leaves, soil, industrial effluents and standard alloy samples using pyridoxal-4-phenyl-3-thiosemicarbazone. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2008;22(4):285–295. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2008.06.003>

4. Mardanova VI, Taxirli ShA, Ciraqov FM. Studying the complex formation of nickel (II) with 1-phenyl-2-(2-hydroxy-4-nitrophenylhydrozo) buta-

dio-1,3 in the presence of third components. *East European Scientific Journal*. 2018;10(3):63–67.

5. Li Z, Pan J, Tang J. Determination of nickel in food by spectrophotometry with o-Carboxylbenzenediazoaminoazobenzene. *Analytical Letters*. 2002;35(1):671–183. <https://doi.org/10.1081/AL-120002369>

6. Mardanova VI, Tahirli ShA, Babaev AQ, Chiragov FM. Studying of the complex formation of nickel (II) with 1-phenyl-2-(2-hydroxy nitrophenylhydroso) butanedione-1,3 in the presence of third components. *Chemical Problems*. 2019;2:316–322. <https://doi.org/10.32737/2221-8688-2019-2-316-322>

7. Hu Q, Yang G, Huang Z, Yin J. Determination of nickel with 2-(2-quinolyazo)-5-diethylaminoaniline as a chromogenic reagent. *Analytical Sciences*. 2003;19(10):1449–1452. <https://doi.org/10.2116/analsci.19.1449>

8. Kumar BN, Kanchi S., Sabela MI, Bisetty K, Jyothi NVV. Spectrophotometric determination of nickel (II) in waters and soils: novel chelating agents and their biological applications supported by DFT method. *Karbala International Journal of Modern Science*. 2016;2(4):239–250. <https://doi.org/10.1016/j.kijoms.2016.08.003>

9. Alieva RA, Melikova VI, Chyragov FM. Pyrogallol azo derivatives as analytical reagents for determining nickel (II). *Journal of Analytical Chemistry*. 2007;62(6):526–529. <https://doi.org/10.1134/S1061934807060056>

10. Bai KA, Vallinath GVS, Chandrasekhar KB, Devanna N. Derivative spectrophotometric determination of nickel(II) using 3,5-dimethoxy-4-hydroxy benzaldehyde isonicotinoyl hydrazine (DMHBH). *Rasayan Journal of Chemistry*. 2010;3(3):467–472.

11. Barman B, Barua S. Spectrophotometric determination of nickel(II) by using bis-[2,6-(2'-hydroxy-4'-sulpho-l'-naphthylazo)]pyridine disodium salt. *Asian Journal of Chemistry*. 2009;21(7):5469–5474.

12. Li X-D, Zhai Q-Z. Spectrophotometric determination of nickel with chlorophosphonazo-III. *Chemical Science Transactions*. 2014;3(3):1023–1026. <https://doi.org/10.7598/ost2014.803>

13. Ranganath B, Basha VS, Jayapal MR, Ramana PV. Direct Spectrophotometric determination of Ni(II) using esomeprazole. *International Journal of Pharmacy and Chemistry*. 2015;1(1):7–11. <https://doi.org/10.11648/j.ijpc.20150101.12>

14. Macit M, Bati H, Bati B. Synthesis of 4-benzyl-1-piperazineglyoxime and its use in the spectrophotometric determination of nickel. *Turkish Journal of Chemistry*. 2000;24(1):481–88.

15. Spitsyn VI. (ed.) *Problems of chemistry and the use of metal β -diketonates*. Moscow: Nauka; 1982. 264 p. (In Russian)

16. Busev AI. *Synthesis of new organic reagents for inorganic analysis*. Moscow: Izdatel'stvo Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta; 1972. 245 p. (In Russian)

17. Aliyeva RA, Ayvazova AV, Espandi FE, Chiragov FM. Determination of iron (III) in various apple cultivars using the spectrophotometric method. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2018;8(1):42–50. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-1-42-50>

18. Zalov AZ. Extraction-photometric determination of manganese(II) with o-hydroxythiophenol derivatives and aminophenols. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta = Vestnik of Saint Petersburg university. Physics and Chemistry*. 2015;2(1):61–71. (In Russian)

19. Batuner LM, Pozin ME. *Mathematical methods in chemical engineering*. Leningrad: Izdatel'stvo khimicheskoi literatury; 1971. 638 p. (In Russian)

20. Khudyakova TA, Kreshkov AP. *Theory and practice of conductometric and chronoconductometric analysis*. Moscow: Khimiya; 1976. 304 p. (In Russian)

Критерии авторства

Марданова В.И., Тахирли Ш.А., Гаджиева С.Р., Чырагов Ф.М. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, 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

Vusala I. Mardanova, Shalala A. Taxirli, Sevinjh R. Hajiyeva, Famil M. Chyragov carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict 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

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Марданова Вусала Исмаил,
к.х.н., научный сотрудник,
Бакинский государственный университет,
Az1148, г. Баку, ул. З. Халилова, 23,
Азербайджан,
e-mail: vusala_chem@mail.ru

Vusala I. Mardanova,
Cand. Sci. (Chemistry), Reseacher,
Baku State University,
23, Z. Khalilov St., Baku, Az1148, Azerbaijan,
e-mail: vusala_chem@mail.ru

Тахирли Шалала Абид,
аспирант,
Ленкоранский государственный университет,
Az4200, г. Ленкорань, пр-т Ази Асланова, 50,
Азербайджан,
e-mail: Taxirli87@mail.ru

Shalala A. Taxirli,
Postgraduate Student,
Lankaran State University,
50, A. Aslanov Ave., Lankaran, Az4200,
Azerbaijan,
e-mail: Taxirli87@mail.ru

Гаджиева Севиндж Рафик,
д.х.н., профессор, заведующая кафедрой
экологической химии,
Бакинский государственный университет,
Az1148, г. Баку, ул. З. Халилова, 23,
Азербайджан,
e-mail: fidan_chem@rambler.ru

Sevinjh R. Hajiyeva,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Head of the Department of Ecological Chemistry,
Baku State University,
23, Z. Khalilov St., Baku, Az1148, Azerbaijan,
e-mail: fidan_chem@rambler.ru

Чырагов Фамиль Муса,
д.х.н., профессор, заведующий кафедрой
аналитической химии,
Бакинский государственный университет,
Az1148, г. Баку, ул. З. Халилова, 23,
Азербайджан,
e-mail: fidan_chem@rambler.ru

Famil M. Chyragov,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Head
of the Analytical Chemistry Department
Baku State University,
23, Z. Khalilov St., Baku, Az1148,
Azerbaijan,
e-mail: fidan_chem@rambler.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 620.193.4

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-205-212>

Исследование противокоррозионных свойств эпоксидных композиций методом импедансной спектроскопии

© И.В. Польшинский*, В.В. Мироненко*, М.М. Польшинская**, Е.А. Анциферов*

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

**Иркутский государственный университет путей сообщения,
г. Иркутск, Российская федерация

Резюме: Металлы и их сплавы являются важными конструкционными материалами. Воздействие окружающей среды на металлические изделия и конструкции приводит к самопроизвольному разрушению, которое происходит в результате их электрохимического или химического взаимодействия с окружающей средой. Для защиты металлических изделий от коррозии используют эпоксидные смолы и композиционные материалы. Поглощение воды и диффузия в эпоксидных покрытиях может вызвать электрохимические реакции на границе раздела полимер–металл, которые являются основной причиной разрушения металлов с полимерным покрытием в условиях эксплуатации. Цель настоящей работы – исследовать антикоррозионное поведение эпоксидных композиций после сернокислотного воздействия. Методом импедансной спектроскопии исследованы эпоксидные покрытия на стальной основе. В состав эпоксидного связующего входили смолы на основе бисфенола А, отвержденные различными аминными отвердителями. Для выявления структурных изменений материалов и изменения их защитных свойств проводилось моделирование воздействия агрессивной среды: 30-дневная выдержка в концентрированной серной кислоте. Получены годографы импеданса исследованных систем, предложены эквивалентные схемы для аппроксимации экспериментальных данных. Высокая пористость эпоксидной системы на основе NPEK-114L приводит к увеличению скорости коррозии. Растворение продуктов коррозии при более длительном времени испытаний и, как следствие, более высокая диффузия коррозионных ионов в покрытии вызывают снижение коррозионной стойкости. Эпоксидные композиции на основе смолы NPEL-128 (олигомерный продукт на основе диглицидилового эфира дифенилолпропана) показали улучшенные антикоррозионные характеристики. Установлено, что добавка алкил-глицидилового эфира для уменьшения вязкости смолы NPEK-114L ухудшает защитные свойства композита при воздействии кислоты.

Ключевые слова: эпоксидные композиции, бисфенол А, импедансная спектроскопия, стойкость при воздействии кислот

Информация о статье: Дата поступления 10 октября 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Польшинский И.В., Мироненко В.В., Польшинская М.М., Анциферов Е.А. Исследование противокоррозионных свойств эпоксидных композиций методом импедансной спектроскопии. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 2. С. 205–212. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-205-212>

Impedance spectroscopy study of anticorrosive properties of epoxy compositions

Igor V. Polynskii*, Vladimir. Mironenko*, Mariia M. Polynskaya**, Evgeniy A. Antsiferov*

*Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

**Irkutsk State Transport University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: Although metals and their alloys are important structural materials, electrochemical or chemical interactions between metal structures and the environment leads to their spontaneous destruction. In order to protect metal products from corrosion, epoxy resins and polymer composite materials can be applied. However, polymer-coated metals may degrade under operating conditions due to electrochemical reactions at the polymer-metal interface caused by water absorption and diffusion in epoxy coatings. The present study is aimed at an investigation of the anticorrosive behaviour characteristic of epoxy compositions following exposure to sulphuric acid. The method of impedance spectroscopy was applied to evaluate epoxy coatings on a steel base. The composition of the epoxy binder included bisphenol A resins cured with various amine curing agents. In order to identify structural changes in materials, as well as the changes in their protective properties, the effects of an aggressive environment were simulated by means of exposure to concentrated sulphuric acid over a 30-day period. Impedance hodographs of the studied systems were obtained and equivalent schemes for the approximation of experimental data proposed. The high porosity of the NPEK-114L based epoxy system was established to result in an increase in the corrosion rate. Dissolution of corrosion products over a longer test period – and consequent higher diffusion of corrosive ions in the coating – was determined to cause a decrease in corrosion resistance. Epoxy compositions based on NPEL-128 resin (oligomeric product based on diphenylolpropane diglycidyl ether) demonstrated improved anticorrosion characteristics. The addition of alkyl glycidyl ether for NPEK-114L resin viscosity reduction was shown to affect the protective properties of the composite under acid exposure.

Keywords: epoxy compositions, bisphenol A, impedance spectroscopy, acid resistance

Information about the article: Received October 10, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Polyansky IV, Mironenko VV, Polynskaya MM, Antsiferov EA. Impedance spectroscopy study of anticorrosive properties of epoxy compositions. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):205–212. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-205-212>

ВВЕДЕНИЕ

Развитие новых производств в химической, нефтехимической, электронной и машиностроительной отраслях промышленности, а также в атомной энергетике привело к необходимости создания покрытий, обладающих высокой химстойкостью, прочностью, технологичностью при нанесении на металлическую подложку и долговечностью в эксплуатации.

Для оценки свойств разрабатываемых покрытий с успехом используются экспериментальные методы импедансной спектроскопии, позволяющие оценивать антикоррозионную эффективность покрытий как в лабораториях, так и в производственных условиях [1–5].

Целью данной работы являлось исследование противокоррозионной эффективности ряда композитных эпоксидных покрытий при помощи методов импедансной спектроскопии. Для выявления структурных изменений материалов и изменения их защитных свойств проводилось моделирование воздействия агрессивной среды: 30-дневная выдержка в концентрированной серной кислоте (начальные 24 ч – при 80 °С, дальнейшая выдержка – при комнатной температуре).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Измерения проводили на приборе PGSTAT 302N (Metrohm Autolab) в диапазоне 5–0,01 Гц в 3-электродной электрохимической ячейке. Рабочий электрод представлял собой

металлическую пластину площадью 2 см², покрытую эпоксидными составами, выдержанную в серной кислоте. Вспомогательным электродом служила платиновая пластина, а в качестве электрода сравнения использовали хлоридсеребряный электрод. Все измерения проводились при постоянном поддержании температуры в ячейке 25 °С в 0,1 нормальном растворе серной кислоты.

Объектами исследования выступали эпоксидные композиции, где состав наполнителя был постоянным (кварцевая мука со средним размером частиц 30 мкм – 30 %, диоксид титана марки R-996 0,23 мкм – 5 %, колер – 1 %), а состав смолы и тип отвердителя менялись (табл. 1). В качестве эпоксидных смол использовались стандартные коммерческие продукты производства компании Nan Ya Plastics, Тайвань. Исползованные для приготовления образцов эпоксидные смолы представляют собой стандартный тип смолы на основе бисфенола А для адгезивов, покрытий и герметиков (аналог ЭД-20/22). Для этих смол масса эпоксидного эквивалента находится в диапазоне 180–200 г/экв, а основное различие обусловлено вязкостью, которая контролируется разбавителями.

Приготовление составов композитов производилось с учетом стехиометрических соотношений смола/отвердитель. Составы смол приготавливались из смол NPEK-114L и NPEL-128 в соотношении 50:50 %. В качестве

Таблица 1

Состав эпоксидного связующего исследованных образцов

Table 1

Epoch binder composition of the studied samples

Образец	Смола	Вязкость*, (мПа·с при 25°C)	Масса эпоксидного эквивалента*, г/экв	Отвердитель
1	NPEK-114L	600–1200	195–204	ХТ
2	NPEL-128	12000–15000	181–185	М-4
3	NPEK-114L + NPEL-128	6300–8100	188–195	ХТ
4	NPEL-127	7000–10000	176–185	Поксипол
5	NPEL-128	12000–15000	181–185	Поксипол
6	NPEK-114L + NPEL-128	6300–8100	188–195	М-4

* – данные спецификации производителя.

отвердителя использовались составы на основе модифицированных алифатических аминов (ХТ-489, М-4) и отвердитель на основе триметиламина («Поксипол»). Полимеризация приготовленных составов проводилась при начальной выдержке при температуре 70 °С один час с последующей сушкой при температуре 25 °С сутки.

Толщина всех образцов была изначально одинаковой и составляла 450 мкм. Перед началом измерения все образцы замачивались в 0,1 нормальном растворе серной кислоты на сутки.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наиболее широко используемым в настоящее время методом исследования коррозионной стойкости окрашенных металлов является емкостно-омический или импедансный, на основе которого исследовались системы с различными покрытиями [6–9]. Суть метода заключается в измерении электрических емкости и сопротивления окрашенного металла, погруженного в электролит, при наложении на систему переменного тока. Метод основан на представлении, что металл с покрытием при контакте с электролитом описывается эквивалентной электрической схемой, в которой емкость и сопротивление соединены параллельно. Таким образом, в момент соприкосновения с электролитом система может рассматриваться как конденсатор с потерями, в котором металл и электролит являются обкладками, а диэлектрической прокладкой выступает лакокрасочное покрытие. Признаком наличия или появления дефекта в покрытии является изменение сопротивления и емкости исследуемой системы¹ [2, 10]. По мере нарушения сплошности покрытия и появления участков с прямой проводимостью электролит достигает поверх-

ности металла, и измеряемая емкость будет определяться суммой электрической и электрохимической составляющих. Электрическая емкость мала по величине и не зависит от частоты, а электрохимическая емкость сильно зависит от частоты и возрастает по мере разрушения покрытия. Сопротивление зависит от частоты переменного тока в том случае, когда покрытие обладает высокими изолирующими свойствами, что характерно для начального момента воздействия электролита на лакокрасочное покрытие и для покрытий с высокими защитными свойствами. Для покрытий с низкими защитными свойствами характерно отсутствие или слабая зависимость сопротивления от частоты.

В данном случае систему «металл – покрытие – электролит» следует рассматривать как электрохимически активную, имеющую специфические свойства, связанные с наличием на поверхности металла пленки эпоксидного покрытия, изменяющего характер диффузии реагирующих веществ и кинетику электрохимических реакций [11, 12].

Традиционно для покрытий, содержащих наполнитель, используют такую эквивалентную схему для описания электрохимического поведения, где первое звено отвечает за электрическое поведение наполнителя и границу раздела двух диэлектриков, а второе звено описывает свойства полимерного связующего (рис. 1, а) [13]. Эквивалентная схема была подобрана экспериментальным путем с помощью программного обеспечения Nova 1.8 (рис. 1, б).

Элемент постоянной фазы (Constant phase element – CPE) является обобщенным и универсальным средством для моделирования импеданса обширного класса электрохимических систем [14, 15]. Этот элемент может отражать как экспоненциальное распределение

¹Дамаскин Б.Б., Петрий О.А., Цирлина Г.А. Электрохимия: учебник. М.: Химия, 2006. 672 с.

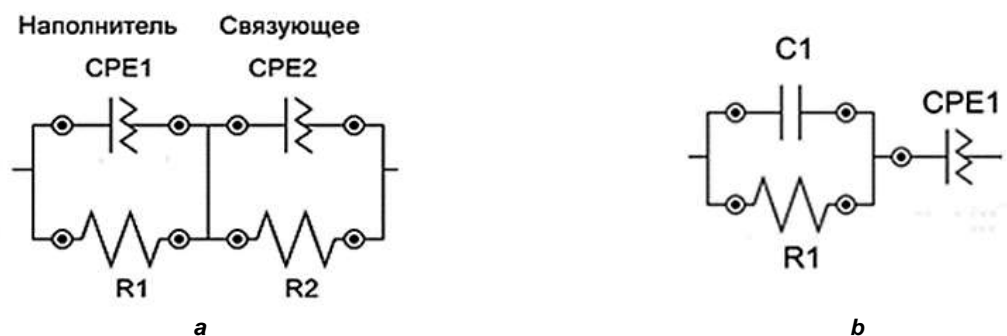


Рис. 1. Эквивалентная схема для описания годографов импеданса покрытий: а – образцы 2, 4, 5; б – образец 6; CPE – элемент постоянной фазы

Fig. 1. Equivalent scheme for describing the impedance hodographs of coatings: а – samples 2, 4, 5; б – sample 6; CPE – constant phase element

параметров данной электрохимической реакции, связанной с преодолением энергетического барьера при переносе заряда и массы, так и импедансное поведение, вызванное фрактальной структурой поверхности исследуемого электрода. В самом общем смысле поведение элемента CPE можно рассматривать как проявление свойств фрактальности в пространстве частот.

Импеданс элемента CPE может быть представлен формулой:

$$Z_{CPE} = 1/Y_0(j\omega)^n,$$

где j – мнимая единица; ω – угловая частота ($\omega = 2\pi f$); Y_0 – фактор пропорциональности; n – экспоненциальный показатель, обозначающий фазовое отклонение [15].

Полученные нами экспериментальные годографы импеданса для образцов 1–6 существенно отличаются друг от друга. Для образцов 1 и 3 они не имеют выраженной формы и лежат в пределах 30–1700 Ом. Для образцов 2, 4 и 5 годографы представляют собой правильные полуокружности с центром, расположенным ниже оси координат (рис. 2, а), что ха-

рактерно для систем, описываемых предполагаемой эквивалентной схемой (см. рис. 1, а). Для образца 6 вид годографа отличается от остальных, хотя и характеризуется высоким значением модуля импеданса (рис. 2, б).

Проведение расчета параметров эквивалентных схем при помощи программного обеспечения Nova 1.8 позволило получить оптимальное согласие с ходом годографов для образцов 2, 4, 5, 6 и численные значения для элементов эквивалентных схем (табл. 2). Расчетные годографы хорошо аппроксимируют экспериментальные спектры импеданса, что свидетельствует о наличии в образцах кластеров, статистически различающихся по электросопротивлению и взаимной емкости [16, 17].

Учитывая тот факт, что содержание наполнителя во всех исследованных образцах одинаково, полученные данные для образцов 2, 4, 5 можно интерпретировать следующим образом. При введении в полимерное покрытие кварцевой муки проникновение электролита происходит дополнительно по границам частиц наполнителя с полимерной матрицей. Соответственно, в таком покрытии природа

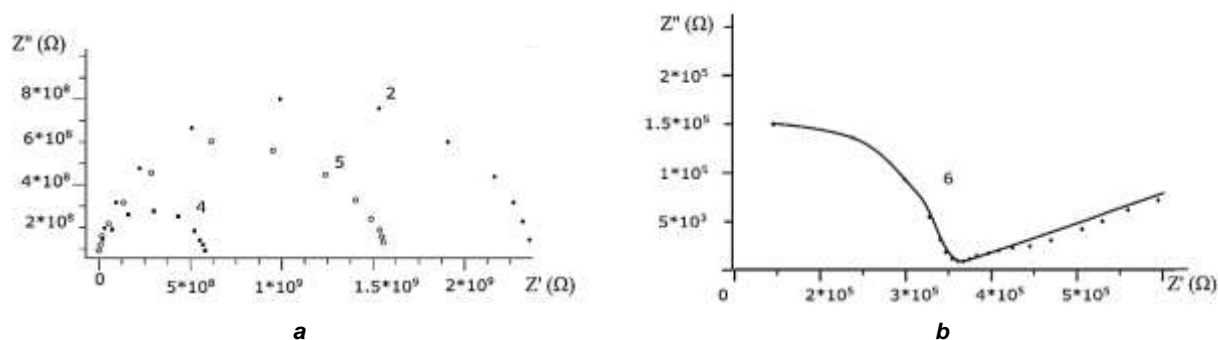


Рис. 2. Годографы импедансов для образцов покрытий 2, 4, 5 (а) и для образца 6 (б); точки соответствуют эксперименту, сплошная линия – расчетным данным

Fig. 2. Impedance hodographs for coating samples 2, 4, 5 (a) and for sample 6 (b); the points correspond to the experiment, solid line – calculated data

Таблица 2

Значения параметров элементов эквивалентных схем
 для годографов импеданса исследованных образцов 2, 4–6

Table 2

Parameter values for equivalent circuit elements
 for impedance hodographs of the studied samples 2, 4–6

Образец	Y_1 $\text{Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{n_1}$	n_1	R_1 $\text{Ом} \cdot \text{см}^2$	Y_2 $\text{Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{n_2}$	n_2	R_2 $\text{Ом} \cdot \text{см}^2$
2	$1,5 \cdot 10^{-10}$	0,94	$5,24 \cdot 10^9$	$3,9 \cdot 10^{-10}$	0,99	$1,52 \cdot 10^8$
4	$1,43 \cdot 10^{-10}$	0,93	$1,05 \cdot 10^{10}$	$5,1 \cdot 10^{-10}$	0,99	$7,44 \cdot 10^7$
5	$1,46 \cdot 10^{-10}$	0,93	$5,73 \cdot 10^9$	$3,37 \cdot 10^{-10}$	0,98	$1,33 \cdot 10^8$
6	$5,56 \cdot 10^{-6}$	0,16	$2,89 \cdot 10^5$	$1,33 \cdot 10^{-10}$ (C_1)	–	–

каналов-проводников и их кластеризация изменяются и становятся зависимыми от концентрации наполнителя и его распределения в объеме [18, 19]. В случае постоянной концентрации наполнителя вклад первого звена эквивалентной схемы будет одинаковым, что и наблюдается для параметров Y_1 , n_1 , R_1 . Для второго звена схемы, относящегося к собственно эпоксидной матрице, параметр n_2 близок к 1, при котором элемент СРЕ дает импеданс чистого или распределенного емкостного элемента. Высокие значения активного сопротивления свидетельствуют об отсутствии дефектов связующего для образцов 2 и 5.

Для описания годографа импеданса образца 6 была использована другая эквивалентная схема (представлена на рис. 1, б). В этом случае показатель степени n_1 , определяющий характер частотной зависимости импеданса, имеет значение 0,16. Для $n = 0 \pm \varepsilon$ (область R) элемент СРЕ1 описывает импеданс чистого или распределенного (искаженного) резистивного элемента. Здесь следует подчеркнуть, что даже при очень малых отклонениях n от нуля СРЕ отражает частотную зависимость, хотя и небольшую. Причем первое звено схемы отвечает за частотные свойства наполнителя, а второе – за свойства эпоксидного покрытия.

Полученные данные позволяют оценить качество эпоксидного покрытия и коррозионную стойкость образцов после моделирования агрессивного воздействия. Для образцов 1 и 3

обнаружена высокая проницаемость покрытий, связанная с образованием в композитах каналов-проводников. Остальные образцы в кислой среде проявляют лучшие укрывные свойства, которые напрямую зависят от химических свойств композитов и устойчивости полученного на их основе эпоксидного покрытия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ полученных данных и компонентов образцов покрытий 1–6 позволил установить, что смола НРЕК, используемая в качестве основы, даже в смеси с более вязкой увеличивает влагопоглощение композита при воздействии кислоты. Это приводит к проницаемости защитного слоя электролитом, что отражается на поведении годографов. В состав смолы НРЕК, относящейся к традиционно разбавленным смолам на основе бисфенола А, для уменьшения вязкости добавляется C_{12} – C_{14} алкилглицидиловый эфир, который, по всей видимости, является компонентом, ответственным за проявление наблюдаемых экспериментальных характеристик композитов.

Другим показателем, ответственным за устойчивость покрытия в агрессивной среде, является тип используемого отвердителя. Полученные данные свидетельствуют о нарушении покрытия и его проницаемости электролитом. Наилучшие показатели характерны для смолы с модифицированным аминным отвердителем М-4, получаемым на основе полиэтиленполиамиона (ПЭПА).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Dagdag O., Galai M., Touhami M. Ebn, Essamri A., Elparfi A. Electrochemical study of the polymer behavior of an epoxy coating on carbon steel in 3 % NaCl using polarization curves and SIE // Journal of Materials and Environmental Science. 2016. Vol. 7. Issue 9. P. 3454–3464.
2. Xuan H.T.T., Truc T.A., Olivier M.-G., Vandermiers C., Guérit N., Pébère N. Corrosion protection mechanisms of carbon steel by an

- epoxy resin containing indole-3 butyric acid modified clay // Progress in Organic Coatings. 2010. Vol. 69. Issue 4. P. 410–416. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2010.08.004>
3. Azadi M., Bahrololoom M.E., Olya M.J. EIS Study of Epoxy Paints in Corrosive Environments with a New Filler: Rice Husk Ash // Progress in Color, Colorants and Coatings. 2016. Vol. 9. Issue 1. P. 53–60.

4. Volmajer N.K., Steinbücher M., Berce P., Venturini P., Gaberšček M. Electrochemical Impedance Spectroscopy Study of Waterborne Epoxy Coating Film Formation // *Coatings*. 2019. Vol. 9. Issue 4. P. 254. <https://doi.org/10.3390/coatings9040254>

5. Kharitonov D.S., Kurilo I.I., Zharskii I.M. Effect of sodium vanadate on corrosion of AD31 aluminum alloy in acid media // *Russian Journal of Applied Chemistry*. 2017. Vol. 90. Issue 7. P. 1089–1097. <https://doi.org/10.1134/S1070427217070102>

6. Журавлёва А.С., Петрова О.Д., Кузьмин М.П., Кузьмина М.Ю. Влияние условий электрохимического оксидирования на морфологию и устойчивость анодных пленок ZnO // *Вестник Иркутского государственного технического университета*. 2016. N 1 (108). С. 107–115.

7. Xing X., Xu X., Wang J., Hu W. Preparation and inhibition behavior of ZnMoO₄/reduced graphene oxide composite for Q235 steel in NaCl solution // *Applied Surface Science*. 2019. Vol. 479. P. 835–846. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.02.149>

8. Rodriguez-Gomez F.J., Valdelamar M.P., Vazquez A.E., Del Valle Perez P., Mata R., Miralrio A., et al. Mycophenolic acid as a corrosion inhibitor of carbon steel in 3 % wt. NaCl solution. An experimental and theoretical study // *Journal of Molecular Structure*. 2019. Vol. 1183. P. 168–181. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.12.035>

9. Bhaskaran, Pancharatna P.D., Lata S., Singh G. Imidazolium based ionic liquid as an efficient and green corrosion constraint for mild steel at acidic pH levels // *Journal of Molecular Liquids*. 2019. Vol. 278. P. 467–476. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.01.068>

10. Bambara G., Lunazzi G.C., Martini B. Electrochemische Aspekte des Versagens von organischen Überzügen // *Werkstoffe und Korrosion*. 1982. Bd. 33. N 11. S. 610–617.

11. Томашов Н.Д., Чернова Г.П. Теория коррозии и коррозионностойкие конструкционные материалы. М.: Металлургия, 1986. 359 с.

12. Осипов П.В., Осипчик В.С., Смотров С.А. Регулирование свойств эпоксидных олигомеров // *Успехи в химии и химической технологии*. 2008. Т. 22. N 5 (85). С. 53–56.

13. Barsoukov E., MacDonald JR. Impedance Spectroscopy Theory, Experiment, and Applications Second Edition. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Interscience, 2005. 595 p. <https://doi.org/10.1002/jrs.1558>

14. Стройнов З.Б., Графов Б.М., Саввова-Стройнова Б., Елкин В.В. Электрохимический импеданс. М.: Наука, 1991. 33 с.

15. Orazem M.E., Tribollet V. Electrochemical Impedance Spectroscopy. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Interscience, 2008. 523 p. <https://doi.org/10.1002/9780470381588>

16. Залесова О.Л., Ярославцева О.В., Соловьев А.С., Рудой В.М. Использование импедансной спектроскопии для определения влияния объемной концентрации пигмента на структурные свойства эпоксидного покрытия // *Вестник Казанского технологического университета*. 2014. Т. 17. N 14. С. 136–139.

17. Котлярова И.А., Степина И.В., Илюшкин Д.А., Цветков И.С. Оценка влияния полярности дисперсных наполнителей на структуру и водопоглощение эпоксидных материалов // *Вестник МГСУ. Научно-технический журнал по строительству и архитектуре*. 2019. Т. 14. N 6. С. 690–699. <https://doi.org/10.22227/1997-0935.2019.6.690-699>

18. Gong W., Yin X., Liu Y., Chen Y., Yang W. 2-Amino-4-(4-methoxyphenyl)-thiazole as a novel corrosion inhibitor for mild steel in acidic medium // *Progress in Organic Coatings*. 2019. Vol. 126. P. 150–161. <https://doi.org/10.1016/j.porg-coat.2018.10.001>

19. Mazumder M.A.J. Synthesis, characterization and electrochemical analysis of cysteine modified polymers for corrosion inhibition of mild steel in aqueous 1M HCl // *RSC Advances*. 2019. Vol. 9. Issue 8. P. 4277–4294. <https://doi.org/10.1039/C8RA09833>

REFERENCES

1. Dagdag O, Galai M, Touhami M Ebn, Es-samri A, Elparfi A. Electrochemical study of the polymer behavior of an epoxy coating on carbon steel in 3 % NaCl using polarization curves and SIE. *Journal of Materials and Environmental Science*. 2016;7(9):3454–3464.

2. Xuan HTT, Truc TA, Olivier M-G, Vandermiers C, Guérit N, Pébère N. Corrosion protection mechanisms of carbon steel by an epoxy resin containing indole-3 butyric acid modified clay. *Progress in Organic Coatings*. 2010;69(4):410–416. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2010.08.004>

3. Azadi M, Bahrololoom ME, Olya MJ. EIS Study of Epoxy Paints in Corrosive Environments with a New Filler: Rice Husk Ash. *Progress in Color, Colorants and Coatings*. 2016;9(1):53–60.

4. Volmajer NK, Steinbücher M, Berce P, Venturini P, Gaberšček M. Electrochemical Impedance Spectroscopy Study of Waterborne Epoxy Coating Film Formation. *Coatings*. 2019;9(4):254. <https://doi.org/10.3390/coatings9040254>

5. Kharitonov DS, Kurilo II, Zharskii IM. Effect of sodium vanadate on corrosion of AD31 alumi-

num alloy in acid media. *Russian Journal of Applied Chemistry*. 2017;90(7):1089–1097. <https://doi.org/10.1134/S1070427217070102>

6. Zhuravleva AS, Petrova OD, Kuzmin MP, Kuzmina MYu. Electrochemical oxidation conditions effect on morphology and stability of ZnO anodic films. *Vestnik Irkutskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta* = Proceedings of Irkutsk State Technical University. 2016;1:107–115. (In Russian)

7. Xing X, Xu X, Wang J, Hu W. Preparation and inhibition behavior of ZnMoO₄/reduced graphene oxide composite for Q235 steel in NaCl solution. *Applied Surface Science*. 2019;479:835–846. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.02.149>

8. Rodriguez-Gomez FJ, Valdelamar MP, Vazquez AE, Del Valle Perez P, Mata R, Miralrio A, et al. Mycophenolic acid as a corrosion inhibitor of carbon steel in 3 % wt. NaCl solution. An experimental and theoretical study. *Journal of Molecular Structure*. 2019;1183:168–181. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.12.035>

9. Bhaskaran, Pancharatna PD, Lata S, Singh G. Imidazolium based ionic liquid as an efficient and green corrosion constraint for mild steel at acidic pH levels. *Journal of Molecular Liquids*. 2019;278:467–476. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.01.068>

10. Bambara G, Lunazzi GC, Martini B. Electrochemical aspects of organic coating failure. *Werkstoffe und Korrosion* = Materials and Corrosion. 1982;33(11):610–617. (In German)

11. Tomashov ND, Chernova GP. *Theory of corrosion and corrosion-resistant constructional materials*. Moscow: Metallurgiya; 1986. 359 p. (In Russian)

12. Osipov PV, Osipchik VS, Smotrova SA. Regulation of the properties of epoxy oligomers. *Uspekhi v khimii i khimicheskoi tekhnologii*. 2008;22(5):53–56. (In Russian)

13. Barsoukov E, MacDonald J.R. *Impedance Spectroscopy Theory, Experiment, and Applications*. 2nd ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Interscience, 2005. 595 p. <https://doi.org/10.1002/jrs.1558>

14. Stroinov ZB, Grafov BM, Savvova-Stroinova B, Elkin VV. *Electrochemical impedance*. Moscow: Nauka; 1991. 33 p. (In Russian)

15. Orazem ME, Tribollet B. *Electrochemical Impedance Spectroscopy*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Interscience; 2008. 523 p. <https://doi.org/10.1002/9780470381588>

16. Zalesova OL, Yaroslavtseva OV, Solov'ev AS, Rudoi VM. Use of impedance spectroscopy to determine the effect of the volume concentration of the pigment on the structural properties of the epoxy coating. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*. 2014;17(14):136–139. (In Russian)

17. Kotlyarova IA, Stepina IV, Ilyushkin DA, Tsvetkov IS. Assessment of influence of disperse filler polarity on structure and water absorption of epoxy composition. *Vestnik MGSU. Nauchno-tekhnicheskii zhurnal po stroitel'stvu i arhitekture* = Vestnik MGSU (Monthly Journal on Construction and Architecture). 2019;14(6):690–699. (In Russian) <https://doi.org/10.22227/1997-0935.2019.6.690-699>

18. Gong W, Yin X, Liu Y, Chen Y, Yang W. 2-Amino-4-(4-methoxyphenyl)-thiazole as a novel corrosion inhibitor for mild steel in acidic medium. *Progress in Organic Coatings*. 2019;126:150–161. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2018.10.001>

19. Mazumder MAJ. Synthesis, characterization and electrochemical analysis of cysteine modified polymers for corrosion inhibition of mild steel in aqueous 1M HCl. *RSC Advances*. 2019;9(8):4277–4294. <https://doi.org/10.1039/C8RA09833>

Критерии авторства

Полынский И.В., Мироненко В.В., Полынская М.М., Анциферов Е.А. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Авторы 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

Igor V. Polynskii, Vladimir. Mironenko, Mariia M. Polynskaya, Evgeniy A. Antsiferov carried out the experimental work, analyzed the experimental results and prepared the text of the manuscript. All authors 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

Полынский Игорь Владимирович,
аспирант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: polinigor@yandex.ru

Мироненко Владимир Витальевич,
аспирант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: mironenko_vv@istu.edu

Полынская Мария Михайловна,
к.э.н., доцент кафедры управления качества
и инженерной графики,
Иркутский государственный университет
путей сообщения,
664074, г. Иркутск, ул. Чернышевского, 15,
Российская Федерация,
e-mail: marypo1976@yandex.ru

Анциферов Евгений Александрович,
к.х.н., директор Института высоких
технологий,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: antsiferov@istu.edu

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Igor V. Polynskii,
Postgraduate Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: polinigor@yandex.ru

Vladimir V. Mironenko,
Postgraduate Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: mironenko_vv@istu.edu

Mariia M. Polynskaya,
Cand. Sci. (Economics),
Associate Professor,
Department of Quality Management
and Engineering Graphics,
Irkutsk State Transport University,
15, Chernyshevsky St., Irkutsk, 664074, Russian
Federation,
e-mail: marypo1976@yandex.ru

Evgeniy A. Antsiferov,
Cand. Sci. (Chemistry),
Director of High Technologies Institute,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: antsiferov@istu.edu

Оригинальная статья / Original article

УДК 628.164

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-213-222>

Исследования по использованию лузги гречихи для умягчения воды

© В.А. Сомин, Л.Ф. Комарова, А.В. Куталова

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова,
г. Барнаул, Российская Федерация

Резюме: Представлен краткий обзор научной литературы по основным направлениям исследований в области сорбционного умягчения воды. Рассмотрены наиболее часто применяемые для этих целей материалы как минерального, так и органического происхождения. Отмечено, что перспективным сырьем для производства сорбентов являются различные природные материалы, а также отходы деревообработки и растениеводства. Поскольку в нативном виде они имеют невысокую сорбционную способность, требуется их активация, которую возможно проводить различными методами. Авторами проведены исследования по изучению сорбции солей жесткости (кальция и магния) из водных растворов в статических условиях на нативной и химически модифицированной лузге гречихи в диапазоне концентраций от 2 до 40 мг-экв/дм³. В качестве модификаторов использована соляная и ортофосфорная кислоты, а также гидроксид натрия. Изучение кинетики сорбции показало, что равновесие в системе достигается достаточно быстро – в течение 5 мин от начала сорбции. Также изучена возможность максимального извлечения жесткости из водных растворов. Установлено, что лучшие сорбционные свойства относительно солей жесткости проявляет лузга гречихи, модифицированная гидроксидом натрия, максимальное значение сорбционной емкости для которой составляет 2,4 мг-экв/дм³. Вместе с тем отмечено, что химическая модификация незначительно увеличивает сорбционную емкость лузги: для нативной она составила 2,0 мг-экв/дм³. Для всех типов полученных материалов построены изотермы сорбции жесткости в диапазоне исследуемых концентраций и отмечено, что данные изотермы относятся к типу S4 по классификации Гильса. Проведена математическая обработка по моделям сорбции Ленгмюра, Фрейндлиха, БЭТ и Дубинина – Радушкевича. Выявлено, что процесс сорбции катионов кальция и магния с наибольшей вероятностью описывается уравнением Фрейндлиха.

Ключевые слова: умягчение воды, сорбция, сорбционная емкость, лузга гречихи

Информация о статье: Дата поступления 3 февраля 2020 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Сомин В.А., Комарова Л.Ф., Куталова А.В. Исследования по использованию лузги гречихи для умягчения воды. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 2. С. 213–222. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-213-222>

Study of buckwheat husk application for water demineralisation

Vladimir A. Somin, Larisa F. Komarova, Anastasiya V. Kutalova

Polzunov Altai State Technical University, Barnaul, Russian Federation

Abstract: In the present paper, a brief review of the scientific literature on the main research directions in the field of sorption filters used for water demineralisation is presented. Materials used for these purposes, both of mineral and organic origin, are considered. Various natural materials, including waste products from wood processing and agriculture, are promising raw materials for the production of sorbents. Since these materials are typically characterised by low sorption ability in their raw form, additional activation processes are required. In this connection, research was conducted by the authors on the sorption of hardness salts (calcium and magnesium) from aqueous solutions in static conditions using raw and chemically modified buckwheat husk in a concentration range from 2 to 40 mEq/dm³. Hydrochloric and phosphoric acids, as well as sodium hydroxide, were used as modifiers. A study of the sorption kinetics demonstrated that the system achieves equilibrium within 5 min from the start of sorption. Additionally, the possibility of maximum demineralisation of

aqueous solutions was studied. The best sorption properties with respect to hardness salts were demonstrated by buckwheat husks modified by sodium hydroxide, which had a maximum sorption capacity of 2.4 mEq/dm³ as compared to 2.0 mEq/dm³ for raw husks. For all types of obtained materials, mineral sorption isotherms were constructed in the range of studied concentrations. These isotherms were established to be of S4 type according to the Giles classification. Mathematical processing was carried out according to the sorption models of Langmuir, Freundlich, BET and Dubinin-Radushkevich. The sorption process for calcium and magnesium cations was revealed to be most accurately described by the Freundlich equation.

Keywords: water demineralisation, sorption, sorption capacity, buckwheat husk

Information about the article: Received February 3, 2020; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Somin VA, Komarova LF, Kutalova AV. Study of buckwheat husk application for water demineralisation. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):213–222. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-213-222>

ВВЕДЕНИЕ

Повышенная жесткость воды, обусловленная присутствием в ней значительного количества растворенных солей кальция и магния, является одной из актуальных проблем водопользования. Жесткость ухудшает органолептические свойства воды, придавая ей горьковатый вкус, и приводит к возникновению желчекаменных и мочекаменных болезней. Норма физиологической полноценности солей жесткости по рекомендации ВОЗ составляет 1–4 мг-экв/дм³, а предельное содержание в питьевой воде, согласно СанПиН 2.1.4.1074-01, – 7 мг-экв/дм³.

Использование воды с повышенной жесткостью в промышленности приводит к образованию накипи на стенках нагревательных приборов (котлов, батарей и др.), что существенно ухудшает их теплотехнические характеристики. Кроме того, длительный контакт внутренних поверхностей оборудования и трубопроводов с жесткой водой уменьшает их внутреннее сечение из-за отложения солей жесткости.

Для удаления жесткости из воды применяют различные методы, которые используются самостоятельно (кипячение, реагентная обработка) или в сочетании с другими: термически, мембранными, ионообменными, а также различные их комбинации. Каждый из этих методов позволяет в той или иной степени подготовить воду для использования в технических целях или как питьевую. Выбор метода обусловлен параметрами исходной воды, требованиями к очищенной, а также заданной производительностью.

В настоящее время традиционным способом удаления жесткости из воды является умягчение с использованием ионообменных смол. Однако наряду с эффективностью метода ему свойственны и некоторые недостатки: высокие требования к качеству подаваемой на ионный обмен воды, большой расход реагентов при регенерации, сложность утилизации элюатов, а также высокая стоимость ионообменных

смол. Все это приводит к значительным затратам на обслуживание ионообменных установок.

В этой связи перспективным представляется использование материалов различного природного происхождения, способных заменить дорогостоящие смолы. К ним можно отнести различные минералы, имеющие в своей структуре обменные катионы. В частности, авторами работ [1, 2] для удаления из воды загрязнений в ионной форме предложено использовать глауконит. Перспективными также являются бентонитовые глины [3–5], цеолиты [6].

К одним из последних поколений сорбентов можно отнести материалы из углеродных нанотрубок, синтезированных с применением различных катализаторов [7, 8].

В качестве сырья для создания материалов, способных извлекать соли металлов, в том числе жесткости, могут быть использованы различные органические отходы, образующиеся в сельском хозяйстве, лесоперерабатывающем комплексе и др. Такое сырье весьма экологично и имеет незначительную стоимость, при этом одновременно решается проблема его утилизации. Так, дешевое сырье представляют отходы обмолота проса, хлопкосодержащее волокно [9] и хитозан [10], которые показали высокую эффективность (до 99,9 %) при удалении ионов металлов. В качестве сорбционного материала может быть использован листовая опад различных пород деревьев [11]. Интерес также представляют листья томата [12], баклажана [13], имеющие широкую доступность.

Продукт переработки древесины – лигнин, находит применение при извлечении из воды ртути, цинка и кадмия [14, 15]. Для этих же целей могут использоваться иголки хвойных пород деревьев [16, 17], волокно семян тополя [18].

Из отходов растениеводства перспективными являются шелуха риса [19], гречихи [20] и пшеницы [21], скорлупа грецкого ореха [22], стебли банана [23], бамбука [24], кукурузы [25],

виноградной лозы [26], а также кожура банана [27] и граната [28].

Использование соломы различных зерновых культур для целей очистки воды исследовалось авторами работ [29–32]. Также при получении сорбционных материалов была показана возможность использования лузги подсолнечника [33, 34]. Немалый интерес представляет и лузга гречихи, в большом количестве образующаяся на перерабатывающих предприятиях Алтайского края и не находящая широкого применения.

Целью представленной работы являлось изучение возможности использования лузги гречихи для удаления соединений жесткости из воды.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для целей исследования использовались модельные растворы с содержанием общей жесткости (сульфата магния и хлорида кальция) от 2 до 40 мг-экв/г. Сорбцию проводили при температуре 22 °С и фиксированной массе сорбента (1 г) с применением механического перемешивания. Значение общей жесткости определялось по методике, изложенной в ГОСТ 31954-2012 («Вода питьевая. Методы определения общей жесткости»), – комплексонометрическим титрованием пробы раствором трилона Б в присутствии индикатора (в нашем случае использовался эриохром черный в виде порошка в смеси с хлоридом натрия в соотношении 1:100). Высокие концентрации растворов перед анализом предварительно разбавлялись дистиллированной водой.

С целью увеличения сорбционной способности лузги гречихи была проведена ее предварительная модификация растворами орто-

фосфорной и соляной кислот (0,5 н), гидроксида натрия (500 мг/дм³).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С использованием модельных растворов с разной начальной концентрацией соединений жесткости в лабораторных условиях были исследованы кинетические и статические характеристики полученных сорбентов. Первоначально была изучена кинетика сорбции исследуемых катионов при их начальной концентрации – 10 мг-экв/дм³. Исследования проводили на нативной лузге. В результате было определено время достижения равновесия в гетерофазной системе «ион металла – раствор» в процессе сорбции. Из графика, представленного на рис. 1, видно, что равновесие в системе достигается достаточно быстро – в течение 5 мин от начала сорбции.

На втором этапе изучалась возможность максимального извлечения жесткости из водных растворов. Исследования проводились как на нативной лузге гречихи, так и на лузге, модифицированной растворами ортофосфорной и соляной кислот и гидроксида натрия. Сорбционная емкость рассчитывалась по формуле:

$$A = \frac{(C_s - C_p) \cdot V}{m},$$

где A – сорбционная емкость, мг-экв/г; C_s , C_p – начальная и равновесная концентрация жесткости соответственно в исходном растворе и после завершения процесса, мг-экв/дм³; V – объем раствора, дм³; m – масса навески адсорбента, г.

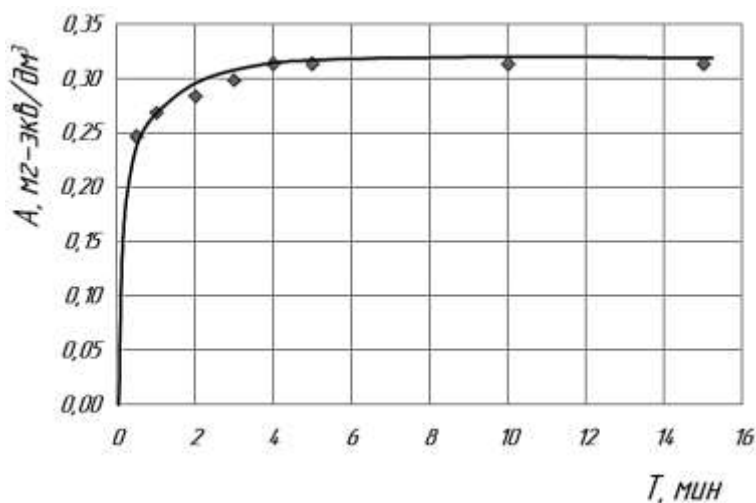


Рис. 1. Кинетическая кривая сорбции соединений жесткости на нативной лузге гречихи

Fig. 1. Kinetic of sorption of stiffness compounds on native buckwheat husk

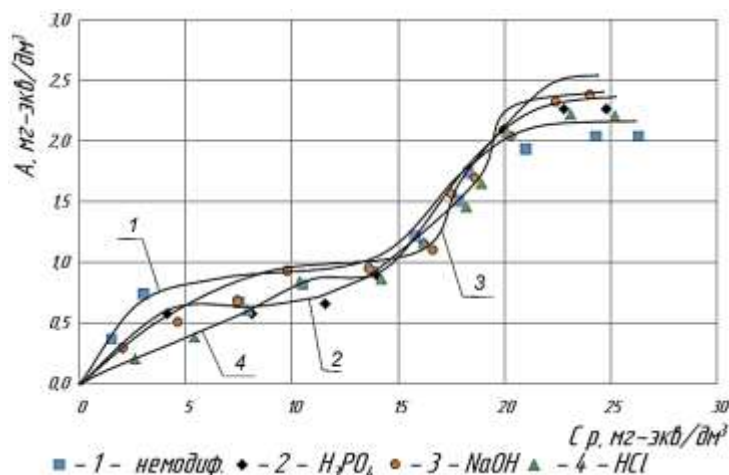


Рис. 2. Зависимость сорбционной емкости (A) лузги гречихи от равновесной концентрации (Cp) жесткости в растворе

Fig. 2. Relationship between the sorption capacity (A) of buckwheat husk and the equilibrium concentration (Cp) of stiffness in solution

Полученные в результате изотермы сорбции представлены на рис. 2.

Как видно, все изотермы, представленные на рис. 2, имеют практически одинаковый характер: выгнутый начальный участок и точку перегиба в диапазоне равновесных концентраций от 5 до 15 мг-экв/дм³. Все зависимости можно отнести к типу S4 по классификации Гильса. Отмечено, что химическая модификация незначительно увеличивает сорбционную емкость лузги: для нативной она составила 2,0 мг-экв/дм³, а максимальная отмечена у лузги, обработанной гидроксидом натрия – 2,4 мг-экв/дм³ (на 15 % больше). Эффективность удаления катионов кальция и магния составила от 31 % для растворов с высокой концентрацией, до 62 % – для слабо концентрированных.

С целью количественного описания процесса сорбции полученные данные подвергнуты линеаризации по моделям Ленгмюра, Фрейндлиха, БЭТ и Дубинина – Радужкевича.

Модель Ленгмюра позволяет учесть наиболее сильные отклонения от закона Генри, связанные с ограниченностью поверхности адсорбента, что приводит к адсорбционному насыщению его поверхности по мере увеличения концентрации распределяемого вещества. Это положение уточняется следующим: адсорбция локализована на отдельных центрах, каждый из которых взаимодействует только с одной молекулой адсорбата с образованием монослоя; адсорбционные центры энергетически эквивалентны, а адсорбированные молекулы не взаимодействуют друг с другом.

Данные, полученные при линеаризации экспериментальных данных по модели Ленгмюра, показали, что модель не применима к описанию сорбционного процесса соединений жесткости лузгой гречихи из-за малого значе-

ния коэффициента аппроксимации ($R^2 < 0,5$) и говорит о том, что сорбция протекает не в одном слое.

Модель сорбции Фрейндлиха используется для описания процессов сорбции веществ на гетерогенном слое сорбента с неопределенным количеством активных центров связывания. При использовании этой модели нельзя рассчитать количество активных центров на единицы связывающего агента. Уравнение изотермы модели Фрейндлиха выведено из предположения, что адсорбционные центры обладают различными величинами энергии, следовательно, в первую очередь происходит заполнение активных центров с максимальной энергией, то есть с сильной связывающей способностью, а прочность сцепления уменьшается с увеличением степени заполнения. Уравнение Фрейндлиха в логарифмической форме имеет вид:

$$\ln A = \ln K + 1/n \ln C,$$

где K – коэффициент, отражающий количество и прочность образующихся связей между сорбатом и сорбентом; n – коэффициент, характеризующий интенсивность течения сорбционных процессов и распределение активных центров.

Модель Фрейндлиха позволяет оценить прочность и скорость образования химических связей между сорбатом и сорбентом. Однако она не дает предельного значения сорбции при насыщении.

Результаты, полученные при линеаризации экспериментальных данных по модели Фрейндлиха для лузги гречихи, представлены в таблице. Отмечено, что они достаточно хорошо линеаризуются в области как больших, так и малых концентраций ($R^2 = 0,842 - 0,968$).

Линеаризация изотерм сорбции по модели Фрейндлиха

Linearization of sorption isotherms according to the Freundlich model

Материал	Линейная форма уравнения	R ²
Гречиха нативная	$\ln A = 0,560 \cdot \ln C_1 - 0,535$	0,842
Гречиха, модифицированная: NaOH	$\ln A = 0,830 \cdot \ln C_2 - 0,840$	0,933
HCl	$\ln A = 1,075 \cdot \ln C_3 - 1,174$	0,968
H ₃ PO ₄	$\ln A = 0,796 \cdot \ln C_4 - 0,827$	0,854

Представления о многослойной адсорбции отражены в теории Брунауэра, Эммета и Теллера (БЭТ), которая рассматривает поверхность как совокупность одинаковых адсорбционных мест, которые служат основанием для вертикальных групп адсорбированных молекул, являющихся центрами дальнейшей адсорбции.

Каждая группа рассматривается как отдельная система, то есть процессы адсорбции-десорбции в соседних группах происходят независимо, что означает отсутствие боковых взаимодействий. Предполагается, что любое место в *i*-м слое может быть занято только в том случае, если все нижележащие места заняты.

Применительно к адсорбции из растворов уравнение БЭТ записывается следующим образом:

$$A = a_m \frac{K}{\left(1 - \frac{C_p}{C_s}\right) \left(1 + (K-1) \frac{C_p}{C_s}\right)} \cdot \frac{C_p}{C_s},$$

где a_m – предельная адсорбционная способность (емкость монослоя); K – константа уравнения полимолекулярной адсорбции; C_p и C_s – равновесная и начальная концентрации растворов соответственно.

Результаты, полученные при линеаризации экспериментальных данных по теории БЭТ, показали, что в области изучаемых концентраций коэффициент аппроксимации низкий ($R^2 < 0,2$), что говорит о неприменимости данной модели при сорбции соединений жесткости из воды.

Теория объемного заполнения микропор, которую предложил М.М. Дубинин, предполагает, что весь объем пор радиусом менее 1 нм заполнен адсорбционным полем. Поэтому поры заполняются не послойно, а объемно. Адсорбируемое вещество при этом диспергировано в

сети пустот, имеющих размеры, соизмеримые с размерами самих адсорбируемых веществ, количество которых является линейной функцией объема пор. Поэтому ни в одной точке твердой матрицы микропористого сорбента нельзя пренебречь влиянием сил его взаимодействия с сорбатом. Однако данная модель может лишь формально применяться к описанию сорбции ионов металлов исследуемыми сорбентами, поскольку заполнение объема микропор ионами металлов невозможно из-за сил электростатического отталкивания между одноименно заряженными катионами.

При обработке полученных данных в линеаризованном виде по этой теории отмечено, что для изучаемого диапазона концентраций сорбция не может быть описана данной моделью (R^2 находится в диапазоне от 0,091 до 0,207).

Анализ данных математической обработки показал, что характер поглощения соединений жесткости лузгой гречихи с большей вероятностью описывается сорбционной моделью Фрейндлиха.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате исследования сорбционных свойств нативной и химически модифицированной различными растворами лузги гречихи по отношению к соединениям жесткости установлено, что эффективность умягчения воды составляет от 31 % для растворов с высокой концентрацией, и до 62 % – для слабо концентрированных. Отмечено, что изотермы сорбции относятся к первому типу S4 по классификации Гильса. Полученные изотермы адсорбции обработаны в рамках моделей Ленгмюра, Фрейндлиха, БЭТ и Дубинина – Радускевича; лучше всего сорбция описывается уравнением Фрейндлиха.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Вигдорович В.И., Цыганкова Л.Е., Морщина И.В. Закономерности сорбции катионов Ca(II) и Mg(II) концентратом глауконита ГБМТО // Сорбционные и хроматографические процессы. 2014. Т. 14. N 2. С. 286–295.
2. Вигдорович В.И., Есина М.Н., Шель Н.В., Цыганкова Л.Е., Попова А.Н. Сорбция катионов

кальция и магния глауконитом из проточных хлоридных растворов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2016. Т. 16. N 4. С. 533–543.

3. Сомин В.А., Куртукова Л.В., Комарова Л.Ф. Умягчение подземных вод с использованием нового сорбента на основе бентонито-

вых глин // Экология и промышленность России. 2015. Т. 19. N 1. С. 30–33.

4. Мосталыгина Л.В., Елизарова С.Н., Тихонова А.Ю., Костин А.В. Регуляция концентрации ионов кальция и магния природным сорбентом бентонитовой глиной // Известия Самарского научного центра РАН. 2010. Т. 2. N 1 (4). С. 1042–1045.

5. Сомин В.А., Бетц С.А., Комарова Л.Ф. Использование сорбентов на основе природного сырья для очистки фенолсодержащих вод // Экология и промышленность России. 2016. Т. 20. N 12. С. 14–17. <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2016-12-14-17>

6. Шилина А.С., Бахтин В.Д., Бурухин С.Б., Асхадуллин С.Р. Сорбция катионов тяжелых металлов и радионуклидов из водных сред новым синтетическим цеолитоподобным сорбентом // Известия вузов. Ядерная энергетика. 2017. N 1. С. 116–126. <https://doi.org/10.26583/nre.2017.1.11>

7. Wang B., Li F., Yang P., Yang Y., Hu J., Wei J., et al. In Situ Synthesis of Diatomite-Carbon Nanotube Composite Adsorbent and Its Adsorption Characteristics for Phenolic Compounds // Journal of Chemical and Engineering Data. 2019. Vol. 64. Issue 1. P. 360–371. <https://doi.org/10.1021/acs.iced.8b00874>

8. Ahsan A., Jabbari V., Islam M.T., Turley R.S., Dominguez N., Kim H., et al. Sustainable synthesis and remarkable adsorption capacity of MOF/graphene oxide and MOF/CNT based hybrid nanocomposites for the removal of Bisphenol A from water // Science of the Total Environment. 2019. Vol. 673. P. 306–317. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.219>

9. Смятская Ю.А., Политаева Н.А., Шайхиев И.Г., Свергузова С.В., Композиционные сорбционные материалы для очистки сточных вод от ионов тяжелых металлов // Вестник технологического университета. 2018. Т. 21. N 2. С. 215–219.

10. Смятская Ю.А., Фазуллина А.А., Политаева Н.А., Жажков В.В., Павлушкина Ю.Е., Долбня И.В. Использование и утилизация сорбентов хитозан – остаточная биомасса микроводорослей *Chlorella Sorokiniana* // Экология и промышленность России. 2019. Т. 23. N 9. С. 18–23. <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2019-9-18-23>

11. Шаймарданова А.Ш., Степанова С.В., Шайхиев И.Г. Исследование возможности многократного использования листового опада в качестве сорбционного материала по отношению к ионам железа // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7. N 2. С. 164–172. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-2-164-172>

12. Yuvaraja G., Munagapati V.S., Nauhad M., Abburi K. Removal of Ni(II) from aqueous

solution by *Lycopersicum esculentum* (Tomato) leaf powder as a low-cost biosorbent // Desalination and Water Treatment. 2015. Vol. 54. Issue 1. P. 200–208. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.880160>

13. Yuvaraja G., Krishnaiah N., Subbaiah M.V., Krishnaiah A. Biosorption of Pb(II) from aqueous solution by *Solanum melongena* leaf powder as a low-cost biosorbent prepared from agricultural waste // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2014. Vol. 114. P. 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.039>

14. Чернышева Е.А., Грабельных В.А., Леванова Е.П., Корчевин Н.А. Применение серосодержащего сорбента на основе лигнина для извлечения ртути из водных растворов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7. N 3. С. 169–177. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-3-169-177>

15. Асламова В.С., Чернышева Е.А., Грабельных В.А., Леванова Е.П., Руссавская Н.В. Регрессионный анализ закономерностей извлечения ионов цинка и кадмия из водных растворов серосодержащим сорбентом на основе лигнина // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8. N 4. С. 174–183. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-174-183>

16. Камалова Н.А., Галимова Р.З., Шайхиев И.Г., Садыкова С.В., Гречина А.С. Сорбция ионов меди и никеля иголками *Larix Sibirica* // Вестник технологического университета. 2017. Т. 20. N 19. С. 121–124.

17. Jeon C., Solis K.L., An H-R., Hong Y., Igalavithana A.D., Ok Y.S. Sustainable removal of Hg(II) by sulfur-modified pine-needle biochar // Journal of Hazardous Materials. 2020. Vol. 388. 122048. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122048>

18. Xu Y., Su Q., Shen H., Xu G. Physicochemical and sorption characteristics of poplar seed fiber as a natural oil sorbent // Textile Research Journal. 2019. Vol. 89. Issue 19-20. P. 4186–4194. <https://doi.org/10.1177/0040517519829001>

19. Adekola F.A., Hodonou D.S.S., Adegoke H.I. Thermodynamic and kinetic studies of biosorption of iron and manganese from aqueous medium using rice husk ash // Applied Water Science. 2016. Vol. 6. Issue 4. P. 319–330. <https://doi.org/10.1007/s13201-014-0227-1>

20. Pena J., Villot A., Gerente C. Pyrolysis chars and physically activated carbons prepared from buckwheat husks for catalytic purification of syngas // Biomass and Bioenergy. 2020. Vol. 132. 105435. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105435>

21. Politaeva N., Smyatskaya Y., Safonova E., Barsukova N. Influence of wheat husk modification on sorption properties of heavy metal ions //

IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2019. Vol. 288 (1). 012023. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/288/1/012023>

22. Cheng L., Sun L., Xue W., Zeng Z., Li S. Adsorption equilibrium and kinetics of Pb(II) from aqueous solution by modified walnut shell // *Environmental Progress and Sustainable Energy*. 2016. Vol. 35. Issue 6. P. 1724–1731. <https://doi.org/10.1002/ep.12424>

23. Sahibzada K.I., Saeed A., Kalim I., Iqbal M. Ion-exchange mechanism in biosorption of Pb²⁺ ions from contaminated water by banana stalk waste // *Environmental Engineering and Management Journal*. 2016. Vol. 15. Issue 12. P. 2741–2751.

24. Kibami D. Kinetics and adsorption studies of lead (II) onto activated carbon using low cost adsorbents // *Global NEST Journal*. 2018. Vol. 20. Issue 2. P. 381–388. <https://doi.org/10.30955/gnj.002532>

25. Yang F., Li W., Liu C., Wang M., Li Q., Sun Y. Impact of total carbon/sulfate on methane production and sulfate removal from co-digestion of sulfate-containing wastewater and corn stalk // *Journal of Environmental Management*. 2019. Vol. 243. P. 411–418. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.129>

26. Erdem M., Duran H., Şahin M., Ozdemir I. Kinetics, thermodynamics, and isotherms studies of Cd(II) adsorption onto grape stalk // *Desalination and Water Treatment*. 2015. Vol. 54. Issue 12. P. 3348–3357. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.907753>

27. Ali A., Saeed K., Mabood F. Removal of chromium (VI) from aqueous medium using chemically modified banana peels as efficient low-cost adsorbent // *Alexandria Engineering Journal (AEJ)*. 2016. Vol. 55. Issue 3. P. 2933–2942. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2016.05.011>

28. Abedi M., Salmani M.H., Mozaffari S.A. Adsorption of Cd ions from aqueous solutions by

iron modified pomegranate peel carbons: kinetic and thermodynamic studies // *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2016. Vol. 13. Issue 8. P. 2045–2056. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1002-7>

29. Yarusova S.B., Gordienko P.S., Panasenko A.E., Barinov N.N., Zemnukhova L.A. Sorption Properties of Sodium and Potassium Aluminosilicates from Alkaline Hydrolyzates of Rice Straw // *Russian Journal of Physical Chemistry*. 2019. Vol. 93. Issue 2. P. 333–337. <https://doi.org/10.1134/S003602441902033X>

30. Chen J., Yang P., Song D., Yang S., Zhou L., Han L., Lai B. Biosorption of Cr(VI) by carbonized Eupatorium adenophorum and Buckwheat straw: thermodynamics and mechanism // *Frontiers of Environmental Science and Engineering*. 2014. Vol. 8. Issue 6. P. 960–966. <https://doi.org/10.1007/s11783-013-0612-2>

31. Song D., Pan K., Tariq A., Li Z., Xiong Q. Adsorptive removal of toxic chromium from wastewater using wheat straw and Eupatorium adenophorum // *PLoS ONE*. 2016. Vol. 11. Issue 12. e0167037. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167037>

32. Li Y., Tsend N., Li T., Liu H., Yang R., Gai X., et al. Microwave assisted hydrothermal preparation of rice straw hydrochars for adsorption of organics and heavy metals // *Bioresource Technology*. 2019. Vol. 273. P. 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.056>

33. Somin V.A., Komarova L.F., Kutalova A.V. Protection of water objects against pollution with the use of sunflower growing waste // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019. Vol. 408. P. 012038. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/408/1/012038>

34. Сомин В.А., Бетц С.А., Комарова Л.Ф. Использование отходов растениеводства при очистке воды от фенола // *Вода: химия и экология*. 2016. N 4 (94). С. 48–53.

REFERENCES

1. Vigdorovich VI, Tsygankova LE, Morshinina IV. Regularities of Ca (II) and Mg (II) cations sorption by GBMTO glauconite concentrate. *Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protssesy = Sorption and Chromatography Processes*. 2014;14(2):286–295. (In Russian)

2. Vigdorovich VI, Esina MN, Shel NV, Tsygankova LE, Popova AN. Sorption of calcium and magnesium cations on glauconite from running chloride solutions. *Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protssesy = Sorption and Chromatography Processes*. 2016;16(4):533–543. (In Russian)

3. Somin VA, Kurtukova LV, Komarova LF. Groundwater softening using a new sorbent based on bentonite clays. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii = Ecology and Industry of Russia*. 2015;19(1):30–33. (In Russian)

4. Mostalygina LV, Elizarova SN, Tikhonova AYU, Kostin AV. Regulation of calcium and magnesium ions concentration by natural sorbent – bentonitic clay. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra RAN = Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2010;2(1):1042–1045. (In Russian)

5. Somin VA, Betz SA, Komarova LF. The Use of Sorbents Based on Natural Raw Materials for the Purification of Phenol-Containing Waters. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii = Ecology and Industry of Russia*. 2016;20(12):14–17. (In Russian) <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2016-12-14-17>

6. Shilina AS, Bakhtin VD, Burukhin SB, Askhadullin SR. Sorption of cations the heavy metals and radionuclides from the aqueous medium with new synthetic zeolite-similar sorbent.

Izvestiya vuzov. Yadernaya energetika. 2017;1:116–126. (In Russian) <https://doi.org/10.26583/npe.2017.1.11>

7. Wang B, Li F, Yang P, Yang Y, Hu J, Wei J, et al. In Situ Synthesis of Diatomite-Carbon Nanotube Composite Adsorbent and Its Adsorption Characteristics for Phenolic Compounds. *Journal of Chemical and Engineering Data.* 2019;64(1):360–371. <https://doi.org/10.1021/acs.iced.8b00874>

8. Ahsan A, Jabbari V, Islam MT, Turley RS, Dominguez N, Kim H, et al. Sustainable synthesis and remarkable adsorption capacity of MOF/graphene oxide and MOF/CNT based hybrid nanocomposites for the removal of Bisphenol A from water. *Science of the Total Environment.* 2019;673:306–317. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.219>

9. Smyatskaya YA, Politaeva NA, Shaikhiev IG, Sverguzova SV. Sorption composites cleaning waste water of heavy-metal ions. *Vestnik tekhnologicheskogo universiteta.* 2018;21(2):215–219. (In Russian)

10. Smyatskaya YuA, Fazullina AA, Politaeva NA, Zhazhkov VV, Pavlushkina YuE, Dolbnya IV. The Use and Utilization of Chitosan Sorbents – the Residual Biomass of Microalgae *Chlorella Sorokiniana.* *Ekologia i promyshlennost Rossii = Ecology and Industry of Russia.* 2019;23(9):18–23. (In Russian) <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2019-9-18-23>

11. Shaimardanova ASH, Stepanova SV, Shaikhiev IG. Study of reusability of leaf litter as a sorption material in relation to iron ions. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologia = Proceeding of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology.* 2017;7(2):164–172. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-2-164-172>

12. Yuvaraja G., Munagapati V.S., Nausahad M., Abburi K. Removal of Ni(II) from aqueous solution by *Lycopersicon esculentum* (Tomato) leaf powder as a low-cost biosorbent. *Desalination and Water Treatment.* 2015;54(1):200–208. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.880160>

13. Yuvaraja G., Krishnaiah N., Subbaiah M.V., Krishnaiah A. Biosorption of Pb(II) from aqueous solution by *Solanum melongena* leaf powder as a low-cost biosorbent prepared from agricultural waste. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2014;114:75–81. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.039>

14. Chernysheva EA, Grabelnykh VA, Levanova EP, Korchevin NA. The using of sulfur-containing lignin based sorbent for extraction of mercury from aqueous solutions. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologia = Proceeding of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology.* 2017;7(3):169–177. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-3-169-177>

15. Aslamova VS, Chernysheva EA, Grabelnykh VA, Levanova EP, Russavskaya NV. Regression analysis of zinc and cadmium ion extraction from aqueous solutions using a lignin-based sulphur-containing sorbent. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologia = Proceeding of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology.* 2018;8(4):174–183. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-174-183>

16. Kamalova NA, Galimova RZ, Shaykhiev IG, Sadykova SV, Grechina AS. Sorption of copper and nickel ions by *Larix Sibirica* needles. *Vestnik tekhnologicheskogo universiteta.* 2017;20(19):121–124. (In Russian)

17. Jeon C, Solis KL, An H-R, Hong Y, Igalavithana AD, Ok YS. Sustainable removal of Hg(II) by sulfur-modified pine-needle biochar. *Journal of Hazardous Materials.* 2020;388:122048. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122048>

18. Xu Y, Su Q, Shen H, Xu G. Physicochemical and sorption characteristics of poplar seed fiber as a natural oil sorbent. *Textile Research Journal.* 2019;89(19-20):4186–4194. <https://doi.org/10.1177/0040517519829001>

19. Adekola FA, Hodonou DSS, Adegoke HI. Thermodynamic and kinetic studies of biosorption of iron and manganese from aqueous medium using rice husk ash. *Applied Water Science.* 2016;6(4):319–330. <https://doi.org/10.1007/s13201-014-0227-1>

20. Pena J, Villot A, Gerente C. Pyrolysis chars and physically activated carbons prepared from buckwheat husks for catalytic purification of syngas. *Biomass and Bioenergy.* 2020;132:105435. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105435>

21. Politaeva N, Smyatskaya Y, Safonova E, Barsukova N. Influence of wheat husk modification on sorption properties of heavy metal ions. In: 10th International Scientific and Practical Conference: Water Power Energy Forum 2018, 29 October – 2 November 2018, Kazan: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science; 2019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/288/1/012023>

22. Cheng L, Sun L, Xue W, Zeng Z, Li S. Adsorption equilibrium and kinetics of Pb(II) from aqueous solution by modified walnut shell. *Environmental Progress and Sustainable Energy.* 2016;35(6):1724–1731. <https://doi.org/10.1002/ep.12424>

23. Sahibzada KI, Saeed A, Kalim I, Iqbal M. Ion-exchange mechanism in biosorption of Pb²⁺ ions from contaminated water by banana stalk waste. *Environmental Engineering and Management Journal.* 2016;15(12):2741–2751.

24. Kibami D. Kinetics and adsorption studies of lead (II) onto activated carbon using low cost adsorbents. *Global NEST Journal.* 2018;20(2):381–388. <https://doi.org/10.30955/gnj.002532>

25. Yang F, Li W, Liu C, Wang M, Li Q, Sun Y. Impact of total carbon/sulfate on methane production and sulfate removal from co-digestion of sulfate-containing wastewater and corn stalk. *Journal of Environmental Management*. 2019;243: 411–418. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.129>

26. Erdem M, Duran H, Şahin M, Ozdemir I. Kinetics, thermodynamics, and isotherms studies of Cd(II) adsorption onto grape stalk. *Desalination and Water Treatment*. 2015;54(12):3348–3357. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.907753>

27. Ali A, Saeed K, Mabood F. Removal of chromium (VI) from aqueous medium using chemically modified banana peels as efficient low-cost adsorbent. *Alexandria Engineering Journal (AEJ)*. 2016;55():2933–2942. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2016.05.011>

28. Abedi M, Salmani MH, Mozaffari SA. Adsorption of Cd ions from aqueous solutions by iron modified pomegranate peel carbons: kinetic and thermodynamic studies. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2016;13(8):2045–2056. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1002-7>

29. Yarusova SB, Gordienko PS, Panasenko AE, Barinov NN, Zemnukhova LA. Sorption Properties of Sodium and Potassium Aluminosilicates from Alkaline Hydrolyzates of Rice Straw. *Russian Journal of Physical Chemistry*. 2019;93(2):333–

337. <https://doi.org/10.1134/S003602441902033X>

30. Chen J, Yang P, Song D, Yang S, Zhou L, Han L, Lai B. Biosorption of Cr(VI) by carbonized Eupatorium adenophorum and Buckwheat straw: thermodynamics and mechanism. *Frontiers of Environmental Science and Engineering*. 2014;8(6):960–966. <https://doi.org/10.1007/s11783-013-0612-2>

31. Song D, Pan K, Tariq A, Li Z, Xiong Q. Adsorptive removal of toxic chromium from wastewater using wheat straw and Eupatorium adenophorum. *PLoS ONE*. 2016;11(12):e0167037. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167037>

32. Li Y, Tsend N, Li T, Liu H, Yang R, Gai X, et al. Microwave assisted hydrothermal preparation of rice straw hydrochars for adsorption of organics and heavy metals. *Bioresource Technology*. 2019;273:136–143. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.056>

33. Somin VA, Komarova LF, Kutalova AV. Protection of water objects against pollution with the use of sunflower growing waste. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019;408:012038. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/408/1/012038>

34. Somin VA, Betts SA, Komarova LF. Using of crop waste in the purification of water from phenol. *Voda: khimiya i ekologiya = Water: chemistry and ecology*. 2016;4:48–53. (In Russian)

Критерии авторства

Сомин В.А., Комарова Л.Ф., Куталова А.В. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, 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

Сомин Владимир Александрович, д.т.н., доцент, заведующий кафедрой химической техники и инженерной экологии, Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова, 656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, 46, Российская Федерация, e-mail: vladimir_somin@mail.ru

Contribution

Vladimir A. Somin, Larisa F. Komarova, Anastasiya V. Kutalova carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict 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.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Vladimir A. Somin, Dr. Sci. (Engineering), Associate Professor, Head of the Department of Chemical Technique and Environmental Engineering, Polzunov Altai State Technical University, 46, Lenin Ave., Barnaul, 656038, Russian Federation, e-mail: vladimir_somin@mail.ru

Комарова Лариса Федоровна,
д.т.н., профессор кафедры химической
техники и инженерной экологии,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, 46,
Российская Федерация,
e-mail: htie@mail.ru

Куталова Анастасия Вячеславна,
магистрант,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, 46,
Российская Федерация,
e-mail: nastyakotalova@yandex.ru

Larisa F. Komarova,
Dr. Sci. (Engineering), Professor
Department of Chemical Technique
and Environmental Engineering,
Polzunov Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
e-mail: htie@mail.ru

Anastasiya V. Kotalova,
Master Student,
Polzunov Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
e-mail: nastyakotalova@yandex.ru

Original article / Оригинальная статья

УДК 524.8

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-223-231>

On aggregation in binary biopolymer systems

© Yuri I. Matveev*, Elena V. Averyanova**

*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russian Federation

**Biysk Technological Institute (branch) of the Altay State Technical University,
Biysk, Russian Federation

Abstract: *The main structural protein of the human eye, which accounts for about 50 % of the mass of all water-soluble proteins comprising the lens, is α -crystallin. Alpha-crystallin functions as a molecular chaperone, preventing other lens crystallins from interfering in the vital activity. Alpha-crystallins partially or fully stabilise unfolded proteins, preventing the formation of deposits, helping to preserve the lens transparency and reducing the risk of a number of diseases, including cataracts. This biological phenomenon can be considered in the framework of materials science when considering the problem of slowing down the aging processes of polymers. In the present study, methods for slowing down the process of aggregation of α -lactalbumin in solution are considered, using the binary system α -lactalbumin– α A-crystallin as an example. To this end, experimental data on the rate of change of the aggregation process were formalised, i.e. expressed in terms of transition temperatures and plasticisation functions of the components. The proposed expressions make it possible to clarify the concentration dependence of the initial aggregation rate, its order, and also to quantify the effect of the dose of UV irradiation on the aging process of the system. The experimentally obtained result means that an increase in the content of α -crystallin leads to an additional blocking of hydrogen bonds in the surface layers of α -lactalbumin and, accordingly, to an increase in the plasticising effect. In addition, the obtained expression of the activation energy of polymer chain rearrangement helps to account for the influence of infrared radiation on the development of so-called thermal cataracts (usually occurring in glassblowers, steelmakers, blacksmiths, welders, etc.), when the etiological factor consist in infrared rays having wavelengths from 0.74 to 2.50 microns, which freely pass through the cornea and iris without damaging them, and are largely adsorbed by the lens, causing its overheating.*

Keywords: α -lactalbumin, crystallin, binary system, aggregation order, plasticisation functions, transition temperatures

Information about the article: Received August 16, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Matveev Yul, Averyanova EV. On aggregation in binary biopolymer systems. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):223–231. (In English) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-223-231>

Об агрегации в бинарных биополимерных системах

Ю.И. Матвеев*, Е.В. Аверьянова**

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН,
г. Москва, Российская Федерация

**Бийский технологический институт (филиал) ФГБОУ ВО «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова»,
г. Бийск, Российская Федерация

Резюме: *Основным структурным белком, на долю которого приходится около 50 % массы всех водорастворимых белков хрусталика человеческого глаза, является α -кристаллин. Одна из основных функций α -кристаллина – шаперонная, обуславливающая необновляемость белков в процессе жизнедеятельности. α -Кристаллины частично или полностью стабилизируют развернутые белки, препятствуя образованию осадка, что способствует сохранению прозрачности хрусталика и снижению риска возникновения ряда заболеваний, в том числе катаракты. С другой стороны, это явление можно рассматривать в рамках материаловедения при решении вопроса замедления процессов старения полимеров. В данном исследовании на примере бинарной системы α -лактальбумин– α A-кристаллин рассмотрены способы замедления процесса агрегации α -лактальбумина в растворе. С этой целью экспе-*

риментальные данные по скорости изменения процесса агрегации были формализованы, то есть выражены через температуры перехода и функции пластификации компонентов. Предложенные выражения позволяют уточнить концентрационную зависимость начальной скорости агрегации, ее порядок, а также количественно оценить влияние дозы УФ-облучения на процесс старения системы. Физически полученный результат означает, что повышение содержания α -кристаллина приводит к дополнительному блокированию водородных связей в поверхностных слоях α -лактальбумина и, соответственно, к увеличению пластифицирующего эффекта. Кроме того, полученное выражение энергии активации перестроения цепи полимера позволяет учесть влияние ИК-излучения на развитие так называемой тепловой катаракты (обычно имеет место у стеклодувов, сталеваров, кузнецов, сварщиков и людей других профессий), когда этиологическим фактором являются ИК-лучи с длиной волны от 0,74 до 2,50 мкм, которые свободно проходят через роговую и радужную оболочки, не повреждая их, и в значительной степени адсорбируются хрусталиком, что приводит к его перегреву.

Ключевые слова: α -лактальбумин, кристаллин, бинарная система, порядок агрегации, функции пластификации, температуры перехода

Информация о статье: Дата поступления 16 августа 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Матвеев Ю.И., Аверьянова Е.В. Об агрегации в бинарных биополимерных системах. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 2. С. 223–231. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-223-231>

INTRODUCTION

Binary biopolymer systems, such as protein-protein and protein-polysaccharide formations, are widespread in nature. Moreover, processes occurring in such systems under the influence of various external factors are of practical interest not only for the biological systems themselves as an example of self-regulation, but also for binary systems based on synthetic polymers.

An analytical description of such processes is of significant interest both in the case of medicine (for example, in the development of drugs to slow the development of cataracts), and in the case of polymer materials science when attempting to slow down processes leading to degradation of materials.

Typically, the development of aging processes is influenced by many factors (heat, light, penetrating radiation, oxygen, moisture, aggressive chemicals, mechanical stresses) that cause two types of irreversible chemical reactions in polymers: destruction, when bonds in the main chain of macromolecules break, and structuring when chain stitching occurs. A change in the molecular structure leads to changes in the properties of the polymeric material: elasticity is lost, rigidity increases, dielectric parameters deteriorate, etc. [1].

Here we will focus on the action of only one factor, namely light (photochemical destruction), when the destruction of macromolecules occurs under the influence of ultraviolet (UV) rays having a wavelength $\lambda < 400$ nm. Polymers containing atomic groups or individual polar groups capable of absorbing light are particularly intensively degraded. In the case of proteins, these are amino acids tryptophan (W) and tyrosine (Y) [2]. The choice of the protein-protein system of the eye lens as an example was motivated by the significant accumulation of experimental material ob-

tained during studies of the aging of this system (development of cataracts) [3, 4], which can be formalised in the framework of polymer physics.

One of the natural mechanisms of inhibition of cataract development in the human eye is associated with the presence of the α -crystallin protein in the lens, which performs a molecular chaperone role – in this case, preventing the aggregation of β -crystallin and thereby preventing the development of cataracts [4]. In this case, the α -crystallin molecules permeate into a β -crystallin structure that has denatured under the influence of UV radiation, permeating it and reducing the β -crystallin thermal aggregation rate.

The influence of infrared radiation can be seen in the development of so-called thermal cataracts typically occurring in glassblowers, steelmakers, blacksmiths, welders, etc. Here, the etiological factor consists in infrared rays having wavelengths from 0.74 to 2.50 microns, which freely pass through the cornea and iris without causing damage to them, but are then largely adsorbed by the lens, leading to overheating. An increase in the temperature of the lens in turn leads to an increase in the rate of thermal aggregation of β -crystallin.

EXPERIMENTAL PART

An analytical description of the effect of α A-crystallin on aggregation of β _L-crystallin and the effect of UV irradiation on initial adsorption ability of α -crystallin were examined in detail on the example of the α -lactalbumin– α A-crystallin model system. The results of experimental studies given in [5, 6] were used as the initial data together with information on the amino acid composition of the proteins of the system under consideration. α -Lactalbumin has a molecular weight of about 14 000 g/mol; its molecule is comprised of a sin-

gle polypeptide chain consisting of 123 amino acid residues and containing four disulphide bonds. The predominant amino acids of α -lactalbumin are, mg / g: aspartic acid – 18.7; glutamic acid – 12.9; leucine – 11.5; lysine – 11.5; tryptophan – 7.0; isoleucine – 6.8; cystine – 6.4 etc. The eye lens protein αA -crystallin, consisting of 173 amino acid residues (AAR), belongs to the family of small heat shock proteins (*sHSPs*), having a molecular weight of about 20 000 g/mol.

RESULTS AND DISCUSSION

Refinement of the concentration dependence of the initial aggregation rate and the physical meaning of the parameters included therein

An empirical expression for determining the initial aggregation rate of v as a function of x (phase concentration ratios of α -crystallin and α -lactalbumin) was proposed in [5]:

$$\left(\frac{v}{v_o}\right)^{1/n} = 1 - AC_o x, \quad (1)$$

where v_o – is the initial aggregation rate when $x = 0$; n – the aggregation order, which according to [7] is equal to 5.3 ± 0.3 ; AC_o – initial chaperone adsorption capacity; $x = [\alpha\text{-crystallin}]/[\alpha\text{-lactalbumin}]$, $[\alpha\text{-crystallin}]$ and $[\alpha\text{-lactalbumin}]$ – molar concentrations of αA -crystallin and α -lactalbumin in a solution. In the study of anti-aggregation activity of αA -crystallin the authors of [6] obtained the value $AC_o = 1.18$ with $[\alpha\text{-lactalbumin}] = 0.5$ mg/ml.

In order to establish the dependence of the coefficient AC_o on the characteristic temperatures of the polypeptides of the system αA -crystallin and α -lactalbumin, we use the theory of absolute reaction rates [8] in calculating v :

$$v = \frac{kT}{2\pi\hbar} \exp\left(\frac{\Delta S^*}{k}\right) \exp\left(-\frac{\Delta H^*}{kT}\right). \quad (2)$$

The values of ΔS^* and ΔH^* represent changes in the system's entropy and enthalpy during the transition of the rotational polymer isomers (α -lactalbumin and αA -crystallin) into an activated state.

Let us determine the relative concentration of α -crystallin $C_{\alpha\text{-cryst}}$ in the original system as

$$C_{\alpha\text{-cryst}} = \frac{[\alpha\text{-cryst}]}{[\alpha\text{-cryst}] + [\alpha\text{-lact}]} = \frac{x}{1+x}, \quad (3)$$

and $C_{\alpha\text{-lact}}$ – like

$$C_{\alpha\text{-lact}} = \frac{1}{1+x}. \quad (4)$$

Then the activation enthalpy of the complex α -crystallin and α -lactalbumin ΔH^*_{cpl} can be represented as

$$\Delta H^*_{cpl} = \frac{1}{1+x} \Delta H^*_{\alpha\text{-lact}} + \frac{x}{1+x} \Delta H^*_{\alpha\text{-cryst}}. \quad (5)$$

Assuming that the changes in the activation entropy of α -crystallin and α -lactalbumin are the same and using expression (2), equation (1) in general form can be written as follows:

$$(v/v_o)^{1/n} = \exp\left(-\frac{\Delta H^*_{cpl} - \Delta H^*_{\alpha\text{-lact}}}{nkT}\right), \quad (6)$$

or

$$(v/v_o)^{1/n} = \exp\left(\gamma \frac{x}{1+x} (1-y)\right), \quad (7)$$

where $\gamma = \frac{\Delta H^*_{\alpha\text{-cryst}}}{nkT}$; $y = \Delta H^*_{\alpha\text{-lact}} / \Delta H^*_{\alpha\text{-cryst}}$.

Given that $1 - y \ll 1$, the dependence of $(v/v_o)^{1/n}$ from x will be non-linear:

$$\left(\frac{v}{v_o}\right)^{1/n} = 1 - AC_o \frac{x}{1+x}, \quad (8)$$

where

$$AC_o = \gamma (1 - y). \quad (9)$$

From expression (9) it follows that for $x_{max} \sim 5.5$ $AC_o = 1.18$, $(v/v_o)^{1/n} \sim 0$, i.e. the aggregation process is completely stopped. Accordingly, the dependence $(v/v_o)^{1/n} = f(x)$ will differ from the linear (1) already for $x = 0.35$ and 0.5 (see. Fig. 6 in [5]). Dependence (1) can be obtained from expression (9) when $x \ll 1$.

Unfortunately, in [5], measurements for $x = 0.5$ and $x = 0.6$ were not performed; however, measurements for $x = 0.7$ show that in this case $(v/v_o)^{1/n} = 0$, i.e. the aggregation process ends earlier. Approximating the function $(v/v_o)^{1/n} = f(x)$ at three points (for $x = 0.14$, $x = 0.35$ and $x = 0.7$), estimate its values at the points $x = 0.5$ and $x = 0.6$. The obtained values are given in Table 1. The experimental values are shown in bold type and the corrected corresponding values are indicated in brackets (for $x = 0.6$) when approximating the $PI(W, x)$ quadratic parabola.

To identify the causes of the discrepancy of function (9) with constant AC_o from the experimental dependence, we will dwell in more detail on expression (8). It was shown in the work [9] that the activation energy of the rearrangement of the polymer chain can be expressed in terms of its glass transition temperature. In this case,

Table 1

Values of the plasticisation function $PI(W)$ for $0.35 < x \leq 0.7$

Таблица 1

Значения функции пластификации $PI(W)$ при $0,35 < x \leq 0,7$

x	0.140	0.349	0.500	0.600	0.701
$(v/v_o)^{1/n}$	0.840	0.661	0.520	0.400 (0.467)	0.002
$PI(W, x)$	1.000	1.000	0.989	0.982 (0.971)	0.947

$y = \frac{const \cdot (T_g)_{\alpha-cryst}}{nT}$, and $y = (T_g)_{\alpha-lact} / (T_g)_{\alpha-cryst}$
 and the expression (8) takes the following form:

$$AC_o = \frac{const \cdot (T_g)_{\alpha-cryst}}{nT} (1 - (T_g)_{\alpha-lact} / (T_g)_{\alpha-cryst}) \quad (10)$$

It follows from expression (10) that, in the case of the model system under consideration, $y = const$. However, y may change when switching from a model system to a real one. If in the model system a decrease $(T_{dn})_{\alpha-lact}$ is achieved due to the plasticising effect of dithiothreitol (DTT) [6], then with UV irradiation of β_L -crystallin, plasticising effect is driven by the destruction of tyrosine and tryptophan due to photoionisation and subsequent formation of radicals and solvated electron. Therefore, in the case of a model system

$$y = (T_{go})_{\alpha-lact} PI(W) / (T_g)_{\alpha-cryst},$$

where $PI(W)$ – is the plasticisation function, which depends on the content of DTT in the solution – W ; $PI(W) = (T_g)_{\alpha-lact} / (T_{go})_{\alpha-lact}$, $(T_{go})_{\alpha-lact}$ – glass transition temperature of α -lactalbumin when DTT is absent; $(T_g)_{\alpha-lact}$ – glass transition temperature of α -lactalbumin at a concentration of DTT – W . In the case of a real system, the plasticisation function will depend on W and radiation doses D , i.e. $PI(W, D)$.

From the work [10] it follows that in the case of egg and milk proteins, which include the protein system studied in [5], the ratio T_g / T_{dn} can be considered as a constant value, slightly dependent on protein type. Therefore, in expression (10), the ratio $(T_g)_{\alpha-lact} / (T_g)_{\alpha-cryst}$ can be written as $(T_g)_{\alpha-lact} / (T_g)_{\alpha-cryst} = (T_{dn})_{\alpha-lact} / (T_{dn})_{\alpha-cryst}$.

Below, we perform a series of numerical estimates for the model system α -lactalbumin– αA -crystallin in order to determine constants in expression (10). In Table 2 and 3 amino acid compositions of αA -crystallin and α -lactalbumin and the expressions used to evaluate their denaturation temperatures are presented. Since the considered proteins have a below-critical degree of polymerisation, this fact was considered using the expressions proposed in [11]. The performed estimates give $(T_{dn})_{exp} = 63$ °C, $T_g = 46$ °C for αA -crystallin, $(T_{dn})_{cal} = 47$ °C – for α -lactalbumin,

and $const = 121.5$ for $n = -5$ (it will be shown below that for the systems under consideration $n = 5.5$). However, for calculating $(v/v_o)^{1/n}$ the main thing to know is the ratio $const / n$ in expression (10).

Thus, in the case of the considered model system, expression (9) will take the following form:

$$\left(\frac{v}{v_o}\right)^{1/n} = 1 - 24.85(1 - 0.9525PI(W, x)) \frac{x}{1+x} \quad (11)$$

Using expression (11) and the values $(v/v_o)^{1/n}$ and x given in the table 1, we obtain the values of the plasticisation function $PI(W)$ with the corresponding values of x (see Table 1). The function $PI(W, x)$ will be approximated by a quadratic parabola: $PI(W, x) = 1 - ax - bx^2$. The coefficients a and b can be found from the values of $PI(W, x)$ for $x = 0.5$ and $x = 0.7$. As a result, the dependence $PI(W, x)$ will take the following form:

$$PI(W, x) = 1 + 0.113x - 0.27x^2.$$

Correction $PI(W, x)$ for $x = 0.6$ gives $PI(W, x) = 0.971$.

The empirically-obtained result means that an increase in the content of α -crystallin leads to an additional blocking of hydrogen bonds in the surface layers of α -lactalbumin and, accordingly, to an increase in the plasticising effect. In this case, plasticisation occurs in the area of action of the Zhurkov mechanism [12], i.e. due to blocking of hydrogen bonds.

Similarly, if the dependence $(v/v_o)^{1/n} = f(x)$ it is possible to perform estimates for the system α - and β_L -crystallins irradiated with UV. It should be noted that $x = 0.7$ is the limit value x_{lim} , which does not depend on the model substance, since all measurements are carried out at physiological temperature, the molecular chaperone properties of α -crystallin are studied.

On the reason of the temperature decrease of β -crystallin denaturation and the initial adsorption ability of the chaperone AC_o under UV irradiation Under UV irradiation of β -crystallin, two amino acids (tryptophan and tyrosine) are exposed, which β -crystallin contains significantly more than α -crystallin. The resulting amino acid radical interacts with neighbouring peptide chains of the

Table 2

Parameters of α A-crystallin

Таблица 2

Параметры α A-кристаллина

AAR	n_i	$\Delta V_i, \text{Å}^3$	$n\Delta V_i, \text{Å}^3$	φ_i	T_{dni}, K	φ_i / T_{dni}
M	2	117.1	234.2	0.0132	527	$2.500 \cdot 10^{-5}$
S	19	72.1	1369.9	0.0772	667	$11.570 \cdot 10^{-5}$
Q	5	111.9	559.5	0.0315	408	$7.720 \cdot 10^{-5}$
A	6	64.7	388.2	0.0219	1141	$1.920 \cdot 10^{-5}$
K	8	127.4	1019.2	0.0574	282	$20.350 \cdot 10^{-5}$
T	9	89.1	801.9	0.0452	447	$10.110 \cdot 10^{-5}$
V	10	98.8	988.0	0.0557	410	$13.584 \cdot 10^{-5}$
P	10	87.2	872.0	0.0492	452	$10.880 \cdot 10^{-5}$
G	9	47.6	428.4	0.0242	898	$2.690 \cdot 10^{-5}$
D	15	90.7	1360.5	0.0767	814	$9.420 \cdot 10^{-5}$
L	14	115.9	1622.6	0.0915	347	$26.370 \cdot 10^{-5}$
I	9	115.9	1043.1	0.0588	347	$16.940 \cdot 10^{-5}$
E	10	107.8	1078.0	0.0608	529	$11.490 \cdot 10^{-5}$
F	14	140.4	1965.6	0.1108	519	$21.350 \cdot 10^{-5}$
W	1	170.1	170.1	0.0096	432	$2.220 \cdot 10^{-5}$
N	2	94.8	189.6	0.0107	521	$2.050 \cdot 10^{-5}$
H	7	119.5	836.5	0.0472	670	$7.045 \cdot 10^{-5}$
R	12	146.6	1759.2	0.0992	277	$35.810 \cdot 10^{-5}$
Y	6	147.0	882.0	0.0497	457	$10.870 \cdot 10^{-5}$
C	2	82.2	164.4	0.0093	1147	$0.811 \cdot 10^{-5}$

Note. $\sum n\Delta V_i = 17532,9\text{Å}^3$; ΔV_i – van der Waals volume of the i -th amino acid residue; n_i – the number of amino acid residues of the i -th type; $\varphi_i = n\Delta V_i / \sum n\Delta V_i$; $T_{dn}^{-1} = \sum \varphi_i T_{dni}^{-1}$; $T_{dn} = T_{m,\infty} = 443 \text{ K} = 170^\circ\text{C}$; $N = \sum n_i = 174$ – degree of polymerisation; critical degree of polymerisation $N_c = 346$. $(T_{dn})_{\text{exp}} = 63^\circ\text{C}$. If using the expression $T_{dn} = T_{m,\infty} - k \cdot N_c / N_{nuc}$, where $k = 20,8$, we define N_{nuc} globules α A-crystallin, $N_{nuc} = 67$, and accordingly the degree of polymerisation of the edge $N_{con} = 107$.

Примечание. $\sum n\Delta V_i = 17532,9\text{Å}^3$; ΔV_i – ван-дер-ваальсовый объем i -го аминокислотного остатка; n_i – число аминокислотных остатков i -го типа; $\varphi_i = n\Delta V_i / \sum n\Delta V_i$; $T_{dn}^{-1} = \sum \varphi_i T_{dni}^{-1}$; $T_{dn} = T_{m,\infty} = 443 \text{ K} = 170^\circ\text{C}$; $N = \sum n_i = 174$ – степень полимеризации; критическая степень полимеризации $N_c = 346$. $(T_{dn})_{\text{exp}} = 63^\circ\text{C}$. Если с помощью выражения $T_{dn} = T_{m,\infty} - k \cdot N_c / N_{nuc}$, где $k = 20,8$, определим N_{nuc} глобулы α A-кристаллина, $N_{nuc} = 67$, и соответственно степень полимеризации опушки $N_{con} = 107$.

Table 3

Parameters of α -lactalbumin

Таблица 3

Параметры α -лактальбумина

AAR	n_i	$\Delta V_i, \text{Å}^3$	$n\Delta V_i, \text{Å}^3$	φ_i	T_{dni}, K	φ_i / T_{dni}
M	3	117.1	234.2	0.0132	527	$2.500 \cdot 10^{-5}$
S	9	72.1	1369.9	0.0772	667	$11.570 \cdot 10^{-5}$
Q	7	111.9	559.5	0.0315	408	$7.720 \cdot 10^{-5}$
A	5	64.7	388.2	0.0219	1141	$1.920 \cdot 10^{-5}$
K	12	127.4	1019.2	0.0574	282	$20.350 \cdot 10^{-5}$
T	8	89.1	801.9	0.0452	447	$10.110 \cdot 10^{-5}$
V	8	98.8	988.0	0.0557	410	$13.584 \cdot 10^{-5}$
P	2	87.2	872.0	0.0492	452	$10.880 \cdot 10^{-5}$
G	7	47.6	428.4	0.0242	898	$2.690 \cdot 10^{-5}$
D	13	90.7	1360.5	0.0767	814	$9.420 \cdot 10^{-5}$
L	17	115.9	1622.6	0.0915	347	$26.370 \cdot 10^{-5}$
I	9	115.9	1043.1	0.0588	347	$16.940 \cdot 10^{-5}$
E	7	107.8	1078.0	0.0608	529	$11.490 \cdot 10^{-5}$
F	6	140.4	1965.6	0.1108	519	$21.350 \cdot 10^{-5}$
W	4	170.1	170.1	0.0096	432	$2.220 \cdot 10^{-5}$
N	8	94.8	189.6	0.0107	521	$2.050 \cdot 10^{-5}$
H	4	119.5	836.5	0.0472	670	$7.045 \cdot 10^{-5}$
R	1	146,6	1759.2	0.0992	277	$35.810 \cdot 10^{-5}$
Y	4	147.0	882.0	0.0497	457	$10.870 \cdot 10^{-5}$
C	8	82.2	164.4	0.0093	1147	$0.811 \cdot 10^{-5}$

Note. $\sum n\Delta V_i = 17732,7\text{Å}^3$; $T_{dn} = T_{m,\infty} = 457 \text{ K} = 184^\circ\text{C}$; $N = \sum n_i = 142$ – degree of polymerisation; $N_c = 360$; $N_{nuc} = (N_{nuc})_{\alpha A-crys} \cdot (N)_{\alpha-lact} / (N)_{\alpha A-crys} = 54$; $N_{con} = 88$. If using the expression $T_{dn} = T_{m,\infty} - k \cdot N_c / N_{nuc}$, where $k = 20,8$, we define $(T_{dn})_{cal}$ globules α -lactalbumin, $(T_{dn})_{cal} = 47^\circ\text{C}$.

Примечание. $\sum n\Delta V_i = 17732,7\text{Å}^3$; $T_{dn} = T_{m,\infty} = 457 \text{ K} = 184^\circ\text{C}$; $N = \sum n_i = 142$ – степень полимеризации; $N_c = 360$; $N_{nuc} = (N_{nuc})_{\alpha A-crys} \cdot (N)_{\alpha-lact} / (N)_{\alpha A-crys} = 54$; $N_{con} = 88$. Если с помощью выражения $T_{dn} = T_{m,\infty} - k \cdot N_c / N_{nuc}$, где $k = 20,8$, определим $(T_{dn})_{cal}$ глобулы α -лактальбумина, $(T_{dn})_{cal} = 47^\circ\text{C}$.

protein molecule¹. As a result, it is possible to form ring structures along the macromolecule chain, which will be a mixture of ring and linear sections with a significantly lower degree of polymerisation (the number of amino acid residues) than the initial chain. The latter will lead to the temperature of denaturation of such a chain decreasing. Therefore, by selecting a dose of radiation, it is possible to achieve the transition of β -crystallin to a disordered state at physiological temperature. This is the difference between the conversion of α -lactalbumin to a disordered state (this occurs due to plasticisation of DTT) from β -crystallin.

Moreover, since α -crystallin also contains tryptophan and tyrosine, although in smaller quantities than β -crystallin, UV radiation can affect $(T_g)_{\alpha\text{-cryst}}$ through its decline on the basis of the mechanism mentioned above. The latter is confirmed by the data given in [5]. The dependence found in [5] is well-described using equation (10) if instead of $(T_g)_{\alpha\text{-cryst}}$ write $(T_g)_{\alpha\text{-cryst}} PI(D)$ (hereinafter the meaning of $PI(D)$ will be clarified).

The value of $AC_o/AC_{o,inact} = 0$ corresponds to the condition $(T_g)_{\alpha\text{-lact}}/(T_g)_{\alpha\text{-cryst}} = 1$. From this the glass transition temperature of irradiated α -crystallin can be determined, which helps to calculate the change in its effective degree of polymerisation upon the formation of ring structures [11].

Since, upon irradiation, there is a decrease in $(T_g)_{\alpha\text{-cryst}}$, then introducing the plasticisation function $PI(D) = (T_g)_{\alpha\text{-cryst}}/(T_g)_{\alpha\text{-cryst},inact}$, where D is the dose of UV irradiation; $PI(D) \leq 1$, and using expression (10), $AC_o/AC_{o,inact}$ can be written as follows:

$$AC_o/AC_{o,inact} = PI(D) \left(\frac{1 - 0.9525 PI(W, x) / PI(D)}{1 - 0.9525 PI(W, x)} \right). \quad (11a)$$

From expression (11a), the dependence $PI(D)$ can be determined from the experimental values of $AC_o/AC_{o,inact}$ given in [4]. In Table 4 the calculated values of $PI(D)$ are given. For $PI(D^*) = 0.9525$, where $D^* = 32.5 \text{ J/cm}^2$, $PI(W, x) = 1$, the value $AC_o/AC_{o,inact} = 0$, a change in the effective degree of polymerisation of the chain of α -crystallin ΔN under UV irradiation will be ~ 4 units (per 4 amino acid residues). When evaluating ΔN , the Fox – Flory equation was used, which is usually used to calculate T_g polymers with a degree of polymerisation below critical. Most of the proteins are polymers of this kind, including α - and β -crystallin.

Approximation of the data presented in Table 4 gives the following dependency:

$$P(\bar{D}) = 1 - 0.244\bar{D} + 0.169\bar{D}^2.$$

It should be noted that while an increase in the content of α -crystallin leads to a decrease in the rate of aggregation, then UV irradiation leads to inhibition of this process (an increase in the aggregation rate). Thus, considering the effect of irradiation, equation (11) can be written as follows:

$$\left(\frac{v}{v_o} \right)^{1/n} = 1 - 24.85 PI(\bar{D}) (1 - 0.9525 \frac{PI(W, x)}{PI(\bar{D})} \frac{x}{1+x}). \quad (11b)$$

Determination of the aggregation order by calculation

Equation (1) includes the aggregation order parameter n , which, according to [7], is equal to $n = 5.3 \pm 0.3$. Show that the found value n can be estimated using the data of A.N. Kolmogorov cited in [13], where was first proposed the equation that describes the kinetics of crystallisation of metals, which later became widely used in the description

Table 4

The values of the plasticisation function $PI(\bar{D})$ for α -crystallin depending on the dose of UV-irradiation at $0 < x \leq 0,15$

Таблица 4

Значения функции пластификации $PI(\bar{D})$ для α -кристаллина в зависимости от дозы \bar{D} УФ-облучения при $0 < x \leq 0,15$

Parameter	Value					
\bar{D}	0.038	0.077	0.154	0.231	0.308	0.407
$AC_o/AC_{o,inact}$	0.83	0.70	0.35	0.40	0.20	0.06
$PI(\bar{D})$	0.987	0.977	0.951	0.955	0.940	0.929

Note In the considered range of x , the function $PI(W, x) = 1$, $\bar{D} = D/D^*$.

Примечание. В рассматриваемом диапазоне изменения x функция $PI(W, x) = 1$, $\bar{D} = D/D^*$.

¹Владимиров Ю.А., Потапенко А.Я. Физико-химические основы фото-биологических процессов: учеб. пособие для мед. и биол. спец. вузов. М.: Высш. шк., 1989. 199 с.

of nucleation processes of various structures in food, biological and pharmaceutical materials [14].

Usually in the modern notation [14] the equation of A.N. Kolmogorov, which abroad is called the Avrami equation, has the following form:

$$1 - \alpha = \exp(-K_c t^n), \quad (12)$$

where α is the degree of structural order (crystallinity) of the solution; K_c is speed constant; n is a parameter characterising nucleation (in our case, the aggregation parameter).

A.N. Kolmogorov wrote the right side of equation (12) as $\exp(-\frac{4\pi}{3} c^3 \Omega)$, while

$$\Omega = \int_0^t \alpha(t') \left(\int_0^{t'} k(\tau) d\tau \right)^3 dt', \quad (13)$$

where $k(t)$ is the rate of increase of the crystallised mass; $\alpha(t)$ is the probability of formation per unit volume unit time interval of one crystallisation centre [13].

A.N. Kolmogorov showed that, given the various functions $\alpha(t)$ and $k(t)$, one can obtain $\Omega = \text{const} \cdot t^n$. Two cases were considered:

- when $\alpha(t)$ and $k(t)$ do not depend on time, i.e. $\alpha(t) = \alpha = \text{const}$, and $k(t) = 1$, and then $t^n \sim t^4$;
- when all crystallisation centres are formed at the beginning, and then $t^n \sim t^3$.

In our case, the decrease in the rate of aggregation of α -lactalbumin occurs due to the capture of molecules of α -lactalbumin by molecules of α -crystallin when they converge and mutually penetrate each other. In this case, $k(t)$ will be

proportional to the size of the diffusion zone of their mixing, i.e. $t^{1/2}$ [15].

For $\alpha(t) = \alpha = \text{const}$, and $k(t) \sim t^{1/2}$ from equation (13) we obtain $t^n \sim t^{5.5}$, i.e. in equation (1) $n = 5.5$, which, within the limits of measurement accuracy, corresponds to the data of [7].

CONCLUSIONS

Thus, as a result of the transformations of the equation for calculating the initial aggregation rate of α -crystallin, the physical meaning of the coefficients included in it was revealed, which allows us to determine ways to slow down the aggregation process in the binary system α -lactalbumin- α -crystallin.

Due to the fact that α -crystallin has a high degree of polydispersity, both aggregates of various sizes and individual molecules of α -crystallin will be present in its solution. It was shown that the enhancement of the chaperone-like action of α -crystallin is achieved either by increasing the concentration of individual molecules with an increase in its total content in the system, or by external action on aggregates of α -crystallin, causing them to decompose into individual molecules. This property can be used in the development of drugs that slow cataract development, either by selecting substances that contribute to the decomposition of α -crystallin aggregates, or by causing plasticisation of β -crystallin and increasing initial adsorption capacity of chaperone.

The calculation equation of the initial molecular chaperone adsorption capacity (10) also allows us to consider the influence of infrared radiation on the development of the so-called thermal cataract typically occurring in glassblowers, steelmakers, blacksmiths, welders, etc.

REFERENCES

1. Pavlov NR, Nikolaev EV, Andreeva NP, Barbotko SL. To the question of methodology for testing of polymer materials on resistance to solar radiations effect (review). *Trudy VIAM = Proceedings of VIAM*. 2016;7:98–112. Available from: <http://viam-works.ru/plugins/content/journal/uploads/articles/pdf/987.pdf> [Accessed 22th March 2020]. (In Russian)
2. Tweeddale HJ, Hawkins CL, Janmie JF, Truscott RJ, Davies MJ. Cross-linking of lens crystallin proteins induced by tryptophan metabolites and metal ions: implications for cataract development. *Free Radical Research*. 2016;50(10):1116–1130. <https://doi.org/10.1080/10715762.2016.1210802>
3. Koroleva IA, Egorov AE. Crystalline lens metabolism: features and ways of correction. *RMZh. Klinicheskaya oftalmologiya = Russian Journal of Clinical ophthalmology*. 2015;4:191–195. (In Russian)
4. Muranov KO, Ostrovskii MA. *Molecular physiology and pathology of the lens*. Moscow: Torus Press; 2013. 295 p. (In Russian)
5. Borzova VA, Markossian KA, Muranov KO, Polyansky NB, Kleymenov SYu, Kurganov BI. Quantification of anti-aggregation activity of UV-irradiated alpha-crystallin. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015;73:84–91. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.060>
6. Bumagina ZM, Gurvits BY, Artemova NV, Muranov KO, Yudin IK, Kurganov BI. Mechanism of suppression of dithiothreitol-induced aggregation of bovine alpha-lactalbumin by alpha-crystallin. *Biophysical chemistry*. 2010;146:108–117. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2009.11.002>
7. Borzova VA, Markossian KA, Kurganov BI. Relationship between the initial rate of protein aggregation and the lag period for amorphous aggregation. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014;68:144–150. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.04.046>

8. Glasstone S, Laidler KJ, Eyrino H. Theory of rate processes. New York and London: Frick Chemical Laboratory, Princeton University, 1941. 583 p. (Russ. ed.: Glesston S, Leidler K, Eiring G. Teoriya absolyutnykh skorostei reaktsii. Moscow: Gosudarstvennoe izdatel'stvo inostranoi literatury: 1948. 583 p.)

9. Matveyev YI, Askadskii AA. Additive scheme for determining the activation energy of low temperature transitions in polymers. *Polymer Science U.S.S.R.* 1991;33(6):1154–1161. [https://doi.org/10.1016/0032-3950\(91\)90221-B](https://doi.org/10.1016/0032-3950(91)90221-B)

10. Matveev Yul. Determination of the temperatures of transition into the state of viscous flow, denaturation, and the onset of intensive destruction of proteins with various structures. *Polymer Science. Series A.* 1997;39(4):476–484.

11. Matveev Yul, Plashchina IG. Effect of the degrees of polymerization of an enzyme and a substrate on the catalytic activity of the enzyme *Polymer Science. Series A.* 2012;54(9):718–723.

<https://doi.org/10.1134/S0965545X1208007X>

12. Matveev YI, Grinberg VY, Tolstoguzov VB. The plasticizing effect of water on proteins, polysaccharides and their mixtures. Glassy state of biopolymers food and seeds. *Food Hydrocolloid.* 2000;14(5):425–437. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00020-5)

13. Kolmogorov AN. To the statistical theory of crystallization of metals. *Izvestiya Akademii Nauk SSSR. Seriya Matematicheskaya.* 1937;3:355–359. (In Russian)

14. Buera MP, Roos Y, Levine H, Slade L, Corti HR, Reid DS, et al. State diagrams for improving processing and storage of foods, biological materials, and pharmaceuticals (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry.* 2011;83(8):1567–1617.

15. Chalykh AE. Diffusion as an investigation tool for polymer systems. *Vysokomolekulyarnye soedineniya. Seriya S = Polymer Science.* 2001;43(12):2304–2328. (In Russian)

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Павлов М.Р., Николаев Е.В., Андреева Н.П., Барботько С.Л. К вопросу о методике оценки стойкости полимерных материалов к воздействию солнечного излучения (обзор) // Труды ВИАМ. 2016. N 7 (43). С. 98–112. <https://doi.org/10.18577/2307-6046-2016-0-7-11-11> [Электронный ресурс]. URL: <http://viam-works.ru/plugins/content/journal/uploads/articles/pdf/987.pdf>

2. Tweeddale H.J., Hawkins C.L., Janmie J.F., Truscott R.J., Davies M.J. Cross-linking of lens crystallin proteins induced by tryptophan metabolites and metal ions: implications for cataract development // *Free Radical Research.* 2016. Vol. 50. Issue 10. P. 1116–1130. <https://doi.org/10.1080/10715762.2016.1210802>

3. Королева И.А., Егоров А.Е. Метаболизм хрусталика: особенности и пути коррекции // РМЖ. Клиническая офтальмология. 2015. Т. 15. N 4. С. 191–195.

4. Муранов К.О., Островский М.А. Молекулярная физиология и патология хрусталика глаза. М.: Торус Пресс, 2013. 295 с.

5. Borzova V.A., Markossian K.A., Muranov K.O., Polyansky N.B., Kleymenov S.Yu., Kurganov B.I. Quantification of anti-aggregation activity of UV-irradiated alpha-crystallin // *International Journal of Biological Macromolecules.* 2015;73:84–91. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.060>

6. Bumagina Z.M., Gurvits B.Y., Artemova N.V., Muranov K.O., Yudin I.K., Kurganov B.I. Mechanism of suppression of dithiothreitol-induced aggregation of bovine alpha-lactalbumin by alpha-crystallin // *Biophysical chemistry.* 2010. Vol. 146. P. 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2009.11.002>

7. Borzova V.A., Markossian K.A., Kurganov B.I. Relationship between the initial rate of protein aggregation and the lag period for amorphous aggregation // *International Journal of Biological Macromolecules.* 2014. Vol. 68. P. 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.04.046>

8. Глестон С, Лейдлер К., Эйринг Г. Теория абсолютных скоростей реакций / пер. с англ. М.: Государственное издательство иностранной литературы, 1948. 584 с.

9. Matveyev Y.I., Askadskii A.A. Additive scheme for determining the activation energy of low temperature transitions in polymers // *Polymer Science U.S.S.R.* 1991. Vol. 33. Issue 6. P. 1154–1161. [https://doi.org/10.1016/0032-3950\(91\)90221-B](https://doi.org/10.1016/0032-3950(91)90221-B)

10. Matveev Yu.I. Determination of the temperatures of transition into the state of viscous flow, denaturation, and the onset of intensive destruction of proteins with various structures // *Polymer Science. Series A.* 1997. Vol. 39. Issue 4. P. 476–484.

11. Matveev Yu.I., Plashchina I.G. Effect of the degrees of polymerization of an enzyme and a substrate on the catalytic activity of the enzyme *Polymer Science. Series A.* 2012. Vol. 54. Issue 9. P. 718–723. <https://doi.org/10.1134/S0965545X1208007X>

12. Matveev Y.I., Grinberg V.Y., Tolstoguzov V.B. The plasticizing effect of water on proteins, polysaccharides and their mixtures. Glassy state of biopolymers food and seeds // *Food Hydrocolloid.* 2000. Vol. 14. Issue 5. P. 425–437. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00020-5)

13. Колмогоров А.Н. К статистической теории кристаллизации металлов // *Известия АН*

СССР. Серия математическая. 1937. Вып. 3. С. 355–359.

14. Buera M.P., Roos Y., Levine H., Slade L., Corti H.R., Reid D.S., et al. State diagrams for improving processing and storage of foods, biological materials, and pharmaceuticals (IUPAC

Technical Report) // Pure and Applied Chemistry. 2011. Vol. 83. Issue 8. P. 1567–1617.

15. Чалых А.Е. Диффузия – метод исследования полимерных систем // Высокомолекулярные соединения. Серия С. 2001. Т. 43. N 12. С. 2304–2328.

Contribution

Yuri I. Matveev, Elena V. Averyanova carried out the experimental work, analyzed the experimental results and prepared the text of the manuscript. Yuri I. Matveev, Elena V. Averyanova 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.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Yuri I. Matveev,
Cand. Sci. (Physics and Mathematics),
Senior Scientist,
Emanuel Institute of Biochemical Physics
Russian Academy of Sciences,
4, Kosygin St., Moscow, 119334,
Russian Federation,
e-mail: yu.matveev@mail.ru

Elena V. Averyanova,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Department of Biotechnology,
Biysk Technological Institute (branch)
of the Altay State Technical University,
27, Geroi Sovetskogo Soyuza Trofimov St.,
Biysk, 659305,
Russian Federation,
e-mail: lena@bti.secna.ru

Критерии авторства

Матвеев Ю.И., Аверьянова Е.В. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Матвеев Ю.И., Аверьянова Е.В. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Матвеев Юрий Игнатьевич,
к.ф.-м.н., старший научный сотрудник,
Институт биохимической физики
им. Н.М. Эммануэля РАН,
119334, г. Москва, ул. Косыгина, 4,
Российская Федерация,
e-mail: yu.matveev@mail.ru

Аверьянова Елена Витальевна,
к.х.н., доцент кафедры биотехнологии,
Бийский технологический институт (филиал)
ФГБОУ ВО «Алтайский государственный
технический университет
им. И.И. Ползунова»,
659305, г. Бийск, ул. им. Героя
Советского Союза Трофимова, 27,
Российская Федерация,
e-mail: lena@bti.secna.ru

Original article / Оригинальная статья

УДК 577.152.54:661.746.5

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-232-239>

Phytate hydrolysing activity of the *Aspergillus niger* L-4 micromycete strain

© Nargul M. Musta Ogly*, Natalya Yu. Sharova***

*University of Information Technology, Mechanics and Optics,
St. Petersburg, Russian Federation

**All-Russian Research Institute of Food Additives – a branch
of the Federal Scientific Center named after V.M. Gorbatov,
St. Petersburg, Russian Federation

Abstract: The aim of the study was to study the phytase synthesis capability of *Aspergillus niger* L-4 strain. The method for determining phytase activity is based on establishing the content of inorganic phosphates as a result of the action of phytase on the substrate under certain standard conditions by binding them with a vanadium-molybdenum reagent to form a coloured complex. The use of phytases for the hydrolysis of phytates in animal feed is important from the point of view of preserving the environment: when phytate complexes are destroyed, phosphorus is released, which performs an important structural and regulatory function, ensuring the normal development of bone and dental tissues and supporting their safety and integrity. Phosphoric acid is involved in the synthesis of kinases responsible for the normal course of chemical reactions in cells, in fat metabolism, as well as in the synthesis and breakdown of starch and glycogen. This reduces the release of undigested phosphorus into the environment. The object of the study consisted of native solutions obtained by culturing an industrial strain of acid-forming *A. niger* L-4 on various carbohydrate-containing media. The *A. niger* L-4 strain, previously selected at the All-Russian Scientific Research Institute of Food Additives for fermentation of molasses, has the ability to synthesise extracellular phytase. This paper presents the results of studies of phytase activity during the cultivation of *A. niger* L-4 on carbohydrate-containing media. It was found that in order components of the sucrose-mineral medium provide an elevated level of low-molecular-weight sugars necessary for increasing the productivity of phytase biosynthesis. Phytase activity in the native solution was shown to increase over 72 hours of fermentation to reach a value of 25.8 ± 0.1 units/cm³. The phytase activity was 1.5 times higher than the fermentation process of a corn starch hydrolysate with a dextrose equivalent DE = 21 ± 1 %, ensuring the productive biosynthesis of citric acid.

Keywords: phytase, *A. niger* L-4, corn starch, sucrose

Information about the article: Received November 14, 2019; accepted for publication May 29, 2020 ; available online June 30, 2020.

For citation: Musta Ogly NM, Sharova NYu. Phytate hydrolysing activity of the *Aspergillus niger* L-4 micromycete strain. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):232–239. (In English) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-232-239>

Фитатгидролизирующая активность штамма *Aspergillus niger* Л-4

Н.М. Муста Оглы*, Н.Ю. Шарова***

*Университет информационных технологий механики и оптики,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр им. В.М. Горбатова»,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Резюме: Целью исследования являлось изучение способности штамма *Aspergillus niger* Л-4 синтезировать фитазу. Метод определения фитазной активности основан на определении содержания неорганических фосфатов в результате воздействия фитазы на субстрат при определенных

стандартных условиях путем связывания их ванадий-молибденовым реагентом с образованием окрашенного комплекса. Использование фитаз для гидролиза фитатов в кормах для животных важно с точки зрения сохранения окружающей среды: при разрушении фитатных комплексов высвобождается важный элемент – фосфор, который выполняет структурную и регуляторную функцию, обеспечивает нормальное развитие костных и зубных тканей, поддерживает их прочность и целостность. Фосфорная кислота участвует в синтезе киназ, ответственных за нормальное течение химических реакций в клетках, метаболизм жиров, а также синтез и расщепление крахмала и гликогена. Это уменьшает выброс неусвоенного фосфора в окружающую среду. Объектом исследования являлись нативные растворы, полученные при культивировании промышленного штамма-кислотообразователя *A. niger* Л-4 на различных углеводсодержащих средах. Штамм *A. niger* Л-4, ранее селекционированный во Всероссийском научно-исследовательском институте пищевых добавок для ферментации мелассы, обладает способностью синтезировать внеклеточную фитазу. В данной работе представлены результаты исследований фитазной активности при культивировании штамма *A. niger* Л-4 на углеводсодержащих средах. Установлено, что для повышения продуктивности биосинтеза фитазы необходимо более высокое содержание низкомолекулярных сахаров. Установлено, что компоненты сахарозоминеральной среды обеспечивают повышенный уровень фитазной активности ферментов синтезируемых микромицетом *A. niger* Л-4. Выявлено, что фитазная активность в нативном растворе увеличивается в течение 72 ч ферментации и достигает значения $25,8 \pm 0,1$ ед/см³. По сравнению с процессом ферментации гидролизата кукурузного крахмала с декстрозным эквивалентом $DE = 20,9 \pm 0,5$ %, который обеспечивал продуктивный биосинтез основного метаболита – лимонной кислоты, фитазная активность была в 1,5 раза выше.

Ключевые слова: фитаза, *Aspergillus niger* Л-4, гидролизат кукурузного крахмала, сахароза

Информация о статье: Дата поступления 14 ноября 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Муста Оглы Н.М., Шарова Н.Ю. Фитатгидролизующая активность штамма *Aspergillus niger* Л-4. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 2. С. 232–239. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-232-239>

INTRODUCTION

Micromycete *A. niger* synthesises enzymes (amylases, phytases, invertases, cellulases, etc.) and organic acids (citric, gluconic, itaconic, and kojic acids). By isolating acids and enzymes in the environment, aspergillus breaks down polymers into simple molecules that are absorbed back into micromycete cells [1–3].

A significant quantity (more than 80 %) of phytic acid salts (phytates), which bind divalent metal cations, were found in the soil, along with peptides and low molecular weight metabolites associated with the formation of inaccessible and difficult to assimilate compounds [4–5].

Phytates are mainly localised in the seeds and bran of crops. When phytate complexes are broken down, phosphorus is released. This element performs a vital structural and regulatory function, ensuring the normal development of bone and dental tissues, as well as helping maintain their safety and integrity throughout life [6–8]. Phosphoric acid is involved in the synthesis of kinases responsible for the normal course of chemical reactions in cells, fat metabolism, as well as the synthesis and breakdown of starch and glycogen [9–11]. In the absence of phosphoric acid, fermentation and respiration – both of which are vital for all living things – are inhibited [12, 13].

For the effective hydrolysis of phytates, phytases are used to catalyse the cleavage of

phytate complexes to residues of myo-inositol and phosphoric acid, the latter representing a convenient source of phosphorus. The use of phytases is important for increasing the availability of phosphorus from phytates in compound feeds for farm animals [14, 15]. This is also important from the point of view of preserving the environment, since it allows the release of undigested phosphorus into the environment to be reduced.

The importance of phosphorus and other elements associated with phytates poses a challenge for biotechnologists to find new sources of phytate-hydrolysing enzymes to increase the biological value of plant materials.

The aim of the study was to investigate the ability of *Aspergillus niger* L-4 to hydrolyse extracellular phytase, as well as to inform the selection of optimal cultivation conditions for *Aspergillus niger* micromycete for highly productive phytase biosynthesis.

EXPERIMENTAL PART

The object of the study are native solutions obtained by culturing *A. niger* L-4 micromycetic acid-forming agent on various carbohydrate-containing media. The strain of micromycete, a producer of citric acid, was previously selected at the All-Russian Scientific Research Institute of Food Additives for the fermentation of molasses. For the study, crystalline sugar (STATE STAND-

ARD 33222-2015) and a corn starch hydrolysate with DE = 21 ± 1% (STATE STANDARD 32159-2013) were used as a carbohydrate source. The source of nitrogen was ammonium nitrate (STATE STANDARD 22867-77), the source of phosphorus was potassium phosphate monosubstituted (STATE STANDARD 4198-75).

The composition of the fermentation medium, g/dm³: carbohydrate substrate (conversion to glucose) – 150; ammonium nitrate (NH₄NO₃) – 2.5; magnesium sulphate seven-water (MgSO₄·7H₂O) – 0.25; potassium phosphate monosubstituted (KH₂PO₄) – 0.16; pH 6.5 [16].

The process was carried out at a temperature of:

- at the stage of inoculum mycelium production – (36±1) °C for sugar-mineral medium, (32±1) °C – for hydrolysis of starch;

- at the fermentation stage – from (29±1) °C to (34±1) °C for the sugar-mineral medium and starch hydrolysate.

The duration of the process was 120 hours.

The ages of inoculum mycelium were 24, 36, and 48 hours. The amount of inoculum mycelium to the volume of the initial nutrient medium was 15 %.

Phytase activity (PhA) was evaluated by the

colorimetric method according to GOST (RF state standard) 31487-2012. The acid content was determined by titration. The protein content was determined according to the Lowry method. The biomass content with a residual moisture content of 10 % was determined by drying at a temperature of 105±5 °C for 24 hours.

The experimental data were processed using mathematical statistics methods and Excel XP programs.

RESULTS

Productive biosynthesis of target metabolites is affected by conditions such as age and amount of seed mycelium, fermentation temperature.

Previous studies have shown that the productive biosynthesis of amylolytic enzymes by *A. niger* micromycetic acid-forming strains is achieved using seed mycelium in an amount of 15 % of the volume of the nutrient medium having ages of 24–36 h at a fermentation temperature of 32±1 °C regardless of the carbohydrate source [17, 18].

Figure 1 show the dynamics of changes in extracellular PhA for inoculum mycelium at ages of 24 hours, 36 hours and 48 hours.

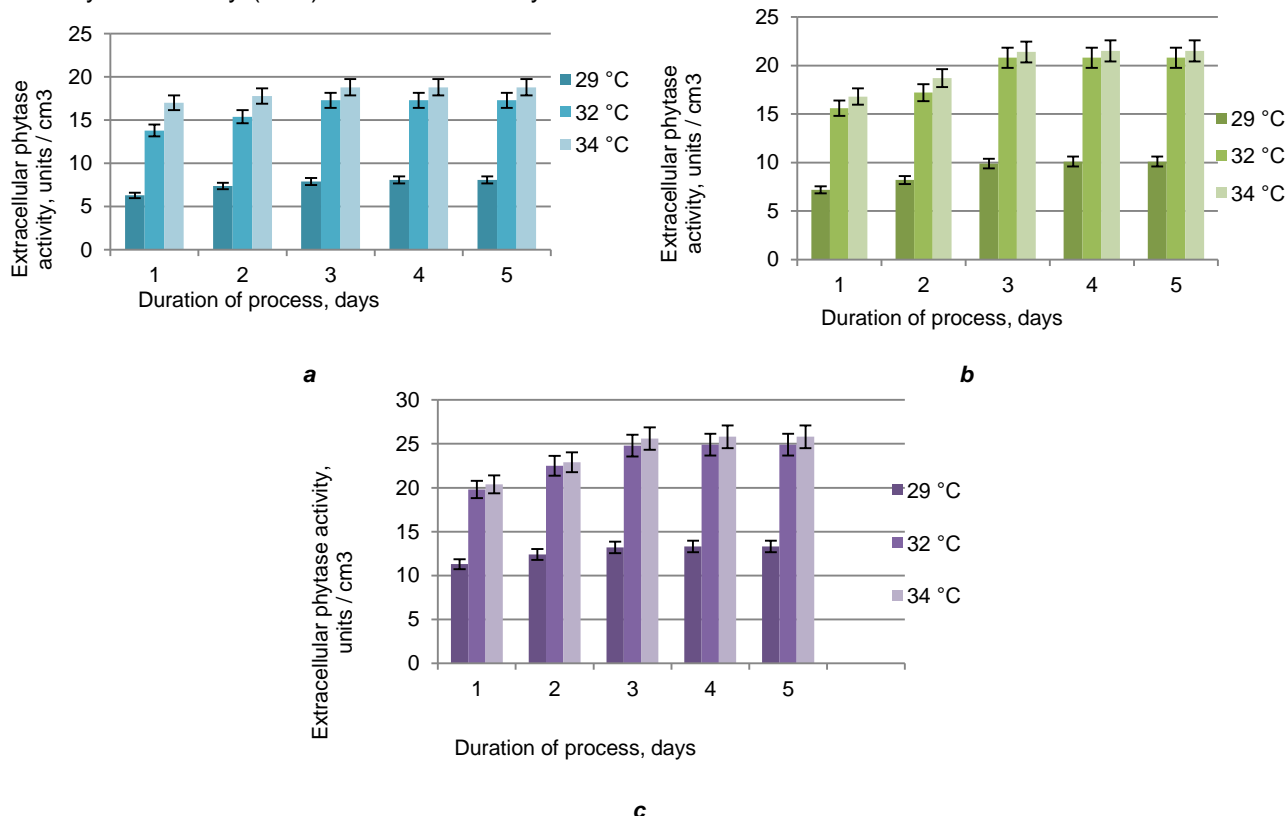


Fig. 1. Dependence of extracellular phytase activity during the cultivation of the strain *A. niger* L-4 on sucrose-mineral medium.

Seed mycelium: a – 48 hours; b – 36 hours; c – 48 hours

Рис. 1. Зависимость экстрацеллюлярной фитазной активности от времени культивирования штамма *A. niger* Л-4 на сахарозоминаральной среде.

Возраст посевного мицелия, ч: а – 24; б – 36; в – 48

Increased extracellular phytase activity detected at temperatures 32 °C and 34 °C. Regardless of the age of the seed mycelium at a temperature of 29 °C, the extracellular phytase activity was low. The level of PhA for seed mycelium at the age of 24 and 36 hours at a given temperature differed from the level of PhA at temperatures of 32 °C and 34 °C by more than 1.5 times. Phytase activity was observed to increase within 3 days, followed by a slowdown in activity growth. This

phenomenon was noticeable for both 24-hour and 36- and 48-hour seed mycelium at all studied fermentation temperatures of the sugar-mineral medium. It is possible that phytase biosynthesis is inhibited due to an increase in the accumulation of acid in the culture fluid by the end of the process.

Table 1 shows the experimental data obtained at the final stage of the fermentation process (120 h).

Table 1

**Results of fermentation of the sucrose-mineral medium
(native solution, end of the process 120 h)**

Таблица 1

**Результаты по ферментации сахарозо-минеральной среды
(нативный раствор, конец процесса, 120 ч)**

Cultivation conditions		Main characteristics			
The age of seed mycelium, h	Temperature, °C	Protein content, mg/cm ³	The amount of synthesised acid, g	Phytase activity	
				u/cm ³	u/mg protein
24	29	3.8±0.1	5.8±0.1	8.1±0.1	2.1±0.1
	32	3.5±0.1	6.1±0.1	17.3±0.1	4.9±0.1
	34	3.3±0.2	5.3±0.1	18.8±0.1	5.7±0.2
36	29	2.1±0.1	5.9±0.1	10.1±0.1	4.8±0.1
	32	2.2±0.1	6.3±0.1	20.8±0.1	9.5±0.1
	34	2.1±0.1	5.4±0.1	21.5±0.1	10.2±0.2
48	29	2.0±0.1	6.1±0.1	13.3±0.1	6.7±0.2
	32	1.8±0.2	6.5±0.1	24.9±0.1	13.8±0.2
	34	1.1±0.1	5.6±0.1	25.8±0.1	23.4±0.1

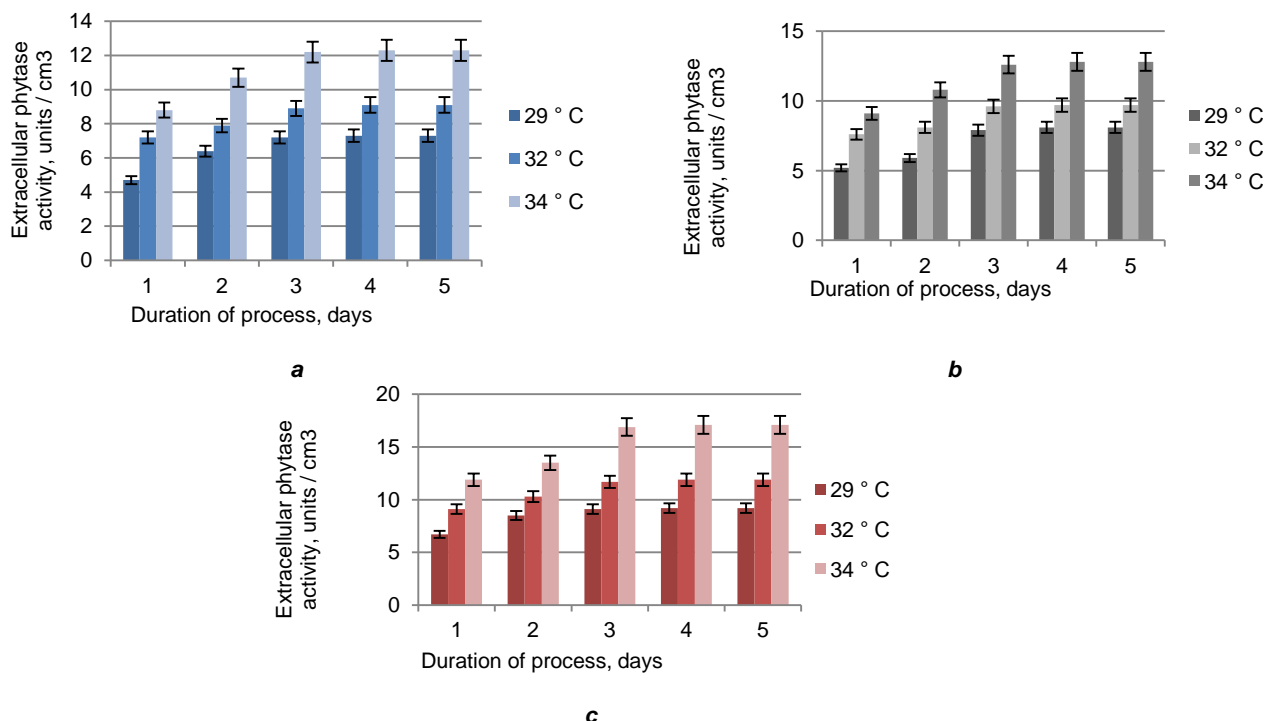


Fig. 2. Dynamics of changes in extracellular phytase activity during cultivation of the *A. niger* L-4 strain on a starch hydrolysate with DE=21±1%. The age of the seed mycelium: a – 24 hours; b – 36 hours; c – 48 hours

Рис. 2. Динамика изменения внеклеточной фитазной активности при культивировании продуцента лимонной кислоты – штамма *A. niger* Л-4 на гидролизате крахмала с DE = 21±1%. Возраст посевного мицелия, ч: а – 24; б – 36; с – 48

Table 2

Fermentation results of corn starch hydrolysate with DE = 21±1%
(native solution, end of process, 120 h)

Таблица 2

Результаты по ферментации гидролизата кукурузного крахмала с ДЕ = 21±1 %
(нативный раствор, конец процесса, 120 ч)

Name of substrate	Enzymatic activity, u/cm ³	pH	Amount of synthesised acid, g	Protein content, mg / cm ³
Starch Hydrolysate	17.3±0.2	1.6	6.8±0.1	0.8±0.1
Crystalline sugar (sucrose mineral medium)	25.8±0.1	1.9	5.6±0.1	1.1±0.1

The research results showed that the maximum level of extracellular PhA is achieved using a 48-hour seed mycelium at a process temperature of 34 °C. The specific PhA (23.4±0.1 u/mg protein) exceeded that for the process proceeding at a temperature of 32 °C by 1.5–1.7 times.

Figure 2 show the dynamics of changes in PhA during cultivation of *A. niger* L-4 micromycete on a corn starch hydrolysate with DE=20.9±0.5 %.

The results of the studies showed that the phytase activity taking place during the fermentation of starch hydrolysate with DE=20.9±0.5 %, as well as during fermentation of the sugar-mineral medium, increased throughout the process, becoming most prominent at a process temperature of 34 °C with the use of seed mycelium having an age of 48 hours

The protein concentration at the end of the fermentation process of both the sucrose mineral medium and the starch hydrolysate decreased, which may be due to the synthesis of proteinases, as was revealed in other works [19]. The protein content during the fermentation of starch hydrolysate and of the sucrose-mineral medium was at the same level (Table 2).

A comparative analysis of the data showed that, in order to increase the productivity of phytase biosynthesis, a higher content of low molecular weight sugars is necessary. The studied starch hydrolysate contains glucose in an amount of 3±1 %, maltose 20±1 % and dextrans 77±1 % in

the total amount of carbohydrates. When cultivating an *Aspergillus* strain, maltose and dextrans are hydrolysed by their own amylolytic enzymes into glucose, which is involved in the process of acid formation. Sucrose-mineral medium contains only sucrose, which in the process of fermentation, under the influence of its own enzymes, hydrolyses to glucose and fructose. It is of interest to study the process of phytase biosynthesis during the fermentation of a corn starch hydrolysate with a deeper degree of hydrolysis.

Taking a comparative approach, the authors of [20] established the following parameters for productive phytase biosynthesis by means of *A. niger* micromycete-acid former: carbon source – sucrose (1.0 %); nitrogen source – ammonium nitrate (0.5 %); temperature – 30 °C; pH = 5.5.

CONCLUSION

The *Aspergillus niger* L-4 micromycete strain shows a high extracellular phytate hydrolysis activity. The above results allow us to conclude that the sucrose-mineral medium is an advantageous medium for productive phytase biosynthesis using *A. niger* L-4. To increase phytase activity, it is necessary to conduct studies to optimise cultivation parameters: concentration of carbohydrate and nitrogen-containing sources, macro- and microelements, pH and temperature, oxygen concentration, etc.

REFERENCES

1. Fugthong A, Boonyapakron K, Sornlek W, Tanapongpipat S, Eurwilaichitr L, Pootanakit K. Biochemical characterization and *in vitro* digestibility assay of *Eupenicillium parvum* (BCC17694) phytase expressed in *Pichia pastoris*. *Protein Expression and Purification*. 2010;70(1):60–67. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2009.10.001>
2. Hamad HO, Alma MH, Ismael HM, Göçeri A. The effect of some sugars on the growth of *Aspergillus niger*. *Doga Bilimleri Dergisi = Journal of Natural Sciences*. 2014;17(4):7–11. <https://doi.org/10.18016/ksu-jns.28479>
3. Greiner R, Da Silva LG, Couri S. Purification and characterisation of an extracellular phytase from *Aspergillus niger* 11T53A9. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2009;40(4):795–807. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000400010>
4. Gargova S., Sariyska M. Effect of culture conditions on the biosynthesis of *Aspergillus niger* phytase and acid phosphatase. *Enzyme and Microbial Technology*. 2003;32(2):231–235. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00247-8](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00247-8)
5. Da Silva LG, Trugo LC, Da Costa Terzi S, Couri S. Low phytate lupin flour based bio-

mass obtained by fermentation with a mutant of *Aspergillus niger*. *Process Biochemistry*. 2005;40(2):951–954. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.02.016>

6. Casey A, Walsh G. Purification and characterization of extracellular phytase from *Aspergillus niger* ATCC 9142. *Bioresource Technology*. 2003;86(2):183–188. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00145-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00145-1)

7. Ptak A, Bedford MR, Świątkiewicz S, Żyła K, Józefiak D. Phytase modulates ileal microbiota and enhances growth performance of the broiler chickens. *PLoS One*. 2015;10(3). 15 p. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119770>

8. Vucenik I, Shamsuddin AKM. Cancer inhibition by inositol hexaphosphate (IP6) and inositol: from laboratory to clinic. *Journal of Nutrition*. 2003;133(11):3778S–3784S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.11.3778S>

9. Coban HB, Demirci A. Screening of phytase producers and optimization of culture conditions for submerged fermentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2014;37(4):609–616. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-1028-x>

10. Jariwalla RJ. Rice-bran products: phytonutrients with potential applications in preventive and clinical medicine. *Drugs Experimental and Clinical Research*. 2001;17(1):17–26.

11. Grases F, Simonet BM, Prieto RM, March JG. Variation of InsP4, InsP5 and InsP6 levels in tissues and biological fluids depending on dietary phytate. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2001;12(10):595–601. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(01\)00178-4](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(01)00178-4)

12. Niu J, Arentshorst MP, Deepa SN, Dai Z, Baker SE, Frisvad JC, et al. Identification of a classical mutant in the industrial host *Aspergillus niger* by systems genetics: LaeA is required for citric acid production and regulates the formation of some secondary metabolites. *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 2016;6(1):193–204. <https://doi.org/10.1534/g3.115.024067>

13. Shivanna GB, Venkateswaran G. Phytase production by *Aspergillus niger* CFR 335 and *Aspergillus ficuum* SGA 01 through submerged and solid-state fermentation. *The Scientific World Journal*. 2014;29. Article ID 392615, 6 p. <https://doi.org/10.1155/2014/392615>

14. Mitchinson C, Solheim LP. *Method for liquefying starch*. US patent, no. 5652127, 1997.

15. Kvist S., Carlsson T., Lawther J.M., DeCastro F.B. Process for the fractionation of cereal brans. US patent, no. 20050089602, 2005.

16. Sharova NYu. Producing the inhibitor of amylase during fermentation of starch with acid-forming strain *Aspergillus niger* n-4. *Vestnik Rossijskoi akademii sel'skohozyajstvennyh nauk = Vestnik of the Russian agricultural science*. 2013;3:45–47. (In Russian)

17. Sharova NYu, Safronova VI. Alfp-fingerprinting for passportization of *Aspergillus niger* L-4, the citric acid commercial producer. *Sel'skohozyajstvennaya biologiya*. 2016;51(2):204–212. (In Russian) <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2016.2.204rus>

18. Sharova NYu, Pozdnyakova TA, Vybornova TV, Kulev DH. *Method for producing citric acid, alpha-amylase and glucoamylase*. Patent RF, no. 2366712; 2007. (In Russian)

19. Sharova NYu, Nikivorova TA. Regulation of an orientation in biosynthesis of the citric acid during bioconversion of starch hydrolysates with mould fungus *Aspergillus niger*. *Vestnik Rossijskoi akademii sel'skohozyajstvennyh nauk = Vestnik of the Russian agricultural science*. 2007;6:19–21. (In Russian)

20. Suleimenova Zh, Akhmetsadykov N, Kallieva A, Mustafin K, Saduyeva Zh. Effect of different cultural conditions for phytase production by *Aspergillus niger* in submerged fermentation. *Advances in Enzyme Research*. 2016;4(2):62–67. <https://doi.org/10.4236/aer.2016.42007>

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Fugthong A., Boonyapakron K., Sornlek W., Tanapongpipat S., Eurwilaichitr L., Pootanakit K. Biochemical characterization and *in vitro* digestibility assay of *Eupenicillium parvum* (BCC17694) phytase expressed in *Pichia pastoris* // Protein Expression and Purification. 2010. Vol. 70. Issue 1. P. 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2009.10.001>

2. Hamad H.O., Alma M.H., Ismael H.M., Göçeri A. The effect of some sugars on the growth of *Aspergillus niger* // Doga Bilimleri Dergisi. 2014. Vol. 17. Issue 4. P. 7–11. <https://doi.org/10.18016/ksujns.28479>

3. Greiner R., Da Silva L.G., Couri S. Purification and characterisation of an extracellular phytase from *Aspergillus niger* 11T53A9 // Brazi-

lian Journal of Microbiology. 2009. Vol. 40. Issue 4. P. 795–807. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000400010>

4. Gargova S., Sariyska M. Effect of culture conditions on the biosynthesis of *Aspergillus niger* phytase and acid phosphatase // Enzyme and Microbial Technology. 2003. Vol. 32. Issue 2. P. 231–235. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00247-8](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00247-8)

5. Da Silva L.G., Trugo L.C., Da Costa Terzi S., Couri S. Low phytate lupin flour based biomass obtained by fermentation with a mutant of *Aspergillus niger* // Process Biochemistry. 2005. Vol. 40. Issue 2. P. 951–954. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.02.016>

6. Casey A., Walsh G. Purification and cha-

racterization of extracellular phytase from *Aspergillus niger* ATCC 9142 // *Bioresource Technology*. 2003. Vol. 86. Issue 2. P. 183–188. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00145-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00145-1)

7. Ptak A., Bedford M.R., Świątkiewicz S., Żyła K., Józefiak D. Phytase modulates ileal microbiota and enhances growth performance of the broiler chickens // *PLoS One*. 2015. Vol. 10. Issue 3. 15 p. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119770>

8. Vucenik I., Shamsuddin A.K.M. Cancer inhibition by inositol hexaphosphate (IP6) and inositol: from laboratory to clinic // *Journal of Nutrition*. 2003. Vol. 133. Issue 11. P. 3778S–3784S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.11.3778S>

9. Coban H.B., Demirci A. Screening of phytase producers and optimization of culture conditions for submerged fermentation // *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2014. Vol. 37. Issue 4. P. 609–616. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-1028-x>

10. Jariwalla R.J. Rice-bran products: phytonutrients with potential applications in preventive and clinical medicine // *Drugs Experimental and Clinical Research*. 2001. Vol. 17. Issue 1. P. 17–26.

11. Grases F., Simonet B.M., Prieto R.M., March J.G. Variation of InsP4, InsP5 and InsP6 levels in tissues and biological fluids depending on dietary phytate // *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2001. Vol. 12. Issue 10. P. 595–601. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(01\)00178-4](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(01)00178-4)

12. Niu J., Arentshorst M.P., Deepa S.N., Dai Z., Baker S.E., Frisvad J.C., et al. Identification of a classical mutant in the industrial host *Aspergillus niger* by systems genetics: LaeA is required for citric acid production and regulates the formation of some secondary metabolites // *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 2016. Vol. 6. Issue 1. P. 193–204. <https://doi.org/10.1534/g3.115.024067>

13. Shivanna G.B., Venkateswaran G. Phytase production by *Aspergillus niger* CFR 335

and *Aspergillus ficuum* SGA 01 through submerged and solid-state fermentation // *The Scientific World Journal*. 2014. Vol. 29. Article ID 392615, 6 p. <https://doi.org/10.1155/2014/392615>

14. Mitchinson C., Solheim L.P. Method for liquefying starch. US patent no. 5652127, 1997.

15. Kvist S., Carlsson T., Lawther J.M., DeCastro F.B. Process for the fractionation of cereal brans. US patent no. 20050089602, 2005.

16. Шарова Н.Ю. Продуцирование ингибитора амилазы при ферментации гидролизатов крахмала кислотообразующим штаммом *Aspergillus niger* Л-4 // *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*. 2013. N 3. С. 45–47.

17. Шарова Н.Ю., Сафронова В.И. Генетическая паспортизация штамма *Aspergillus niger* Л-4 – промышленного продуцента лимонной кислоты, с помощью геномного AFLP-фингерпринтинга // *Сельскохозяйственная биология*. 2016. Т. 51. N 2. С. 204–212. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2016.2.204rus>

18. Патент № 2366712, Российская Федерация. Способ получения лимонной кислоты, альфа-амилазы и глюкоамилазы / Н.Ю. Шарова, Т.А. Позднякова, Т.В. Выборнова, Д.Х. Кулев.; патентообладатель ВНИИ пищевых ароматизаторов, кислот и красителей РАСХН; заявл. 06.07.2007; опубл. 10.09.2009.

19. Шарова Н.Ю., Никифорова Т.А. Регуляция направленности биосинтеза лимонной кислоты при биоконверсии гидролизатов крахмала плесневым грибом *Aspergillus niger* // *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*. 2007. N 6. С. 19–21

20. Suleimenova Zh., Akhmetadykov N., Kallieva A., Mustafin K., Saduyeva Zh. Effect of different cultural conditions for phytase production by *Aspergillus niger* in submerged fermentation // *Advances in Enzyme Research*. 2016. Vol. 4. Issue 2. P. 62–67. <https://doi.org/10.4236/aer.2016.42007>

Contribution

Nargul M. Musta Ogly, Natalya Yu. Sharova carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict 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.

Критерии авторства

Муста Оглы Н.М. и Шарова Н.Ю. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nargul M. Musta Ogly,
Postgraduate Student,
University of Information Technology,
Mechanics and Optics,
9, Lomonosov St., St. Petersburg, 191002,
Russian Federation,
e-mail: nargul_m@mail.ru

Natalya Yu. Sharova,
Dr. Sci. (Engineering), Professor,
University of Information Technology,
Mechanics and Optics,
9, Lomonosov St., St. Petersburg, 191002,
Russian Federation;
Chief Researcher,
All-Russian Research Institute
of Food Additives – a branch of the
Federal Scientific Center
named after V.M. Gorbатов,
55, Liteinyi Ave., St. Petersburg, 191014,
Russian Federation,
e-mail: natalya_sharova1@mail.ru

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Муста Оглы Наргуль Маматовна,
аспирант,
Университет информационных технологий
механики и оптики,
191002, г. Санкт-Петербург,
ул. Ломоносова, 9,
Российская Федерация,
e-mail: nargul_m@mail.ru

Шарова Наталья Юрьевна,
д.т.н., профессор,
Университет информационных технологий
механики и оптики,
191002, г. Санкт-Петербург,
ул. Ломоносова, 9,
Российская Федерация;
главный научный сотрудник,
ВНИИ пищевых добавок – филиал ФГБНУ
«Федеральный научный центр
Им. В.М. Горбатова»,
191014, г. Санкт-Петербург,
Литейный пр-т, 55,
Российская Федерация,
e-mail: natalya_sharova1@mail.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 577.13:577.19

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-240-250>

Поиск биологически активных веществ природного происхождения на основе малополярных экстрактов хвойных

© Д.В. Пятрикас*, Е.Л. Горбылева*, А.В. Федяева*, С.С. Захарова***, А.В. Шпатов** С.А. Попов**, Г.Б. Боровский*

*Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск, Российская Федерация

**Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Российская Федерация

***Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, г. Новосибирск, Российская Федерация

Резюме: Применение биологически активных веществ – один из путей повышения урожайности и устойчивости сельскохозяйственных растений, который активно развивается в последние годы. Преимуществами природных веществ являются их экологическая безопасность, многофункциональность действия, в том числе способность снижать разнообразные стрессовые воздействия окружающей среды на растения, что определяет перспективность их использования в современных агротехнологиях. Одним из источников получения биологически активных веществ являются хвойные деревья, что оправдано как с экономической, так и с экологической точки зрения. Важной задачей является поиск новых соединений из хвойных, обладающих рострегулирующей и стрессзащитной активностью в отношении растений. Для решения данной задачи на модели, использующей в качестве показателя рост корней и листовой розетки арабидопсиса, была протестирована ростмодулирующая и антистрессовая биологическая активность восьми экстрактов, содержащих малополярные соединения из хвои и ветвей трех видов сосны (род *Pinus*). Полученные данные подтвердили возможность применения используемой растительной модели для выявления биологической активности экстрактов малополярных метаболитов. Показано подавление роста главного корня, боковых корней и листовых розеток арабидопсиса экстрактами и фракциями малополярных веществ хвойных рода *Pinus*. Наибольшую подавляющую рост главного корня активность продемонстрировал гексановый экстракт хвои *P. koraiensis* (НИОХ-28/1), нейтральные вещества гексанового экстракта хвои *P. sibirica* (НИОХ-32/1) подавляли рост не только главного корня, но и придаточных корней. Показанное аллелопатическое подавление роста корней и листовых розеток арабидопсиса экстрактами и фракциями малополярных веществ рода *Pinus* ставит задачу дальнейшего изучения наиболее активных экстрактов для возможного использования их в качестве гербицидов. Установлено отсутствие положительного влияния исследованных экстрактов на устойчивость роста корня арабидопсиса к тепловому шоку.

Ключевые слова: хвойные рода *Pinus*, биологическая активность, стресс-устойчивость, гербициды природного происхождения, арабидопсис

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке проекта «Трансляционная химическая геномика растений: реконструкция генных сетей и выход за видовые границы продуктивности и стрессоустойчивости» (проект 54.2 в Комплексной программе фундаментальных исследований Сибирского отделения Российской академии наук «Междисциплинарные интеграционные исследования» на 2018–2020 гг.).

Авторы выражают признательность к.б.н. Л.М. Пшенниковой (Ботанический сад-институт ДВО РАН, г. Владивосток), к.б.н. Е.А. Королюк (Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск) за сбор и видовую идентификацию образцов сосен.

Информация о статье: Дата поступления 21 ноября 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Пятрикас Д.В., Горбылева Е.Л., Федяева А.В., Захарова С.С., Шпатов А.В., Попов С.А., Боровский Г.Б. Поиск биологически активных веществ природного происхождения на основе малополярных экстрактов хвойных. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 240–250. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-240-250>

Search for biologically active substances of natural origin based on low-polar conifer extracts

Darya V. Pyatrikas*, Elena L. Gorbyleva*, Anna V. Fedyaeva*, Sofia S. Zakharova*****, Alexander V. Shpatov**, Sergey A. Popov**, Gennadii B. Borovskii*

* Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

**N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

***Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract: In recent years, research interest in the application of biologically active substances as a means of increasing the yield and stability of agricultural plants has been increasing. The main advantages of natural substances, which determines the prospects of their application in contemporary agricultural technologies, are seen in terms of their environmental safety and multifunctionality of action, including the ability to reduce various environmental stresses on plants. For both economic and ecological reasons, one of the main sources of biologically active substances consists of coniferous trees. Thus, an important task is presented in the search for new compounds from coniferous trees having growth-regulating and stress-protective properties as applied to various plants of commercial interest. In order to solve this problem, the growth-modulating and anti-stress biological activity of eight extracts containing compounds from needles and branches of three low-polar pine species (*Pinus* gen.) was tested using a model based on the *Arabidopsis* (thale cress) root and leaf rosette growth indicator. The obtained data confirmed the possibility of using the studied plant model for identifying the biological activity of low-polar metabolite extracts. Growth inhibition of the *Arabidopsis* main root, lateral roots and leaf rosettes by extracts and fractions of low-polar substances of the *Pinus* coniferous trees was demonstrated. The most significant growth inhibition of the main root was characteristic of the *P. koraiensis* (NIOC-28/1) needle hexane extract, while the neutral substances of the *P. sibirica* (NIOC-32/1) needle hexane extract suppressed the growth of both the main and accessory roots. The demonstrated allelopathic growth inhibition for *Arabidopsis* roots and leaf rosettes caused by extracts and fractions of low-polar substances of the *Pinus* coniferous trees shows the relevance of further study into the most active extracts for their possible application as herbicides. The absence of a positive effect for the studied extracts on the growth stability of the *Arabidopsis* root to heat shock was established.

Keywords: *Pinus* coniferous trees, biological activity, stress resistance, herbicides of natural origin, *Arabidopsis*

Acknowledgement: This work was supported by the project "Translational chemical genomics of plants: reconstruction of gene networks and moving beyond the species boundaries of productivity and stress tolerance" (project 54.2 in the Comprehensive Program for Basic Research of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences "Interdisciplinary Integration Studies" for 2018–2020).

The authors are grateful to Ph. D. L.M. Pshennikova (Botanical Garden Institute of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok) and Ph. D. E.A. Korolyuk (Central Siberian Botanical Garden of the SB RAS, Novosibirsk) for the collection and species identification of pine samples.

Information about the article: Received November 21, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Pyatrikas DV, Gorbyleva EL, Fedyaeva AV, Zakharova SS, Shpatov AV, Popov SA, Borovskii GB. Search for biologically active substances of natural origin based on low-polar conifer extracts. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):240–250. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-240-250>

ВВЕДЕНИЕ

Современные сорта сельскохозяйственных растений по ряду ключевых параметров достигли границ природной генетической изменчивости, и дальнейшее значительное увеличение их продуктивности и стрессоустойчивости с помощью традиционных подходов крайне сложно. Так, применение пестицидов в сельском хозяйстве неизбежно приводит к их накоплению в

почве, посредством подземных вод происходит их распространение на обширные территории, попадание в реки, озера, что угрожает не только всей водной биоте, но и здоровью человека [1]. Использование биостимуляторов различной природы рассматривается как перспективный путь устойчивого развития, позволяющий увеличивать урожаи без вредного влияния на окружающую среду [2–6].

Преимуществами природных стимуляторов роста растений являются их экологическая безопасность, многофункциональность действия, в том числе способность снижать разнообразные стрессовые воздействия окружающей среды на растения, что определяет перспективность их использования в современных агротехнологиях. В органическом земледелии они успешно заменяют синтетические пестициды и агрохимикаты, а достигаемое при их применении увеличение урожайности растений в значительной степени компенсирует потери от комплекса вредных организмов [7]. Получение различных биологически активных веществ (БАВ) из хвойных является экономически перспективным, поскольку хвойные деревья имеют очень высокую распространенность и широко используются в лесозаготовке и лесопереработке. Важным аргументом в пользу получения БАВ из хвойных также является экологичность такого решения, поскольку в процессе лесозаготовки образуется много неиспользуемых отходов (хвоя, кора, ветки, опилки, щепа). Ранее более подробно о биопрепаратах из хвойных пород было написано в обзоре [8]. В качестве примера успешного применения БАВ из хвойных можно привести ряд препаратов, разработанных на основе суммы тритерпеновых кислот, выделяемых из пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.), – «Силк», «Биосил», «Новосил», которые проявляют рострегулирующую активность [9]. Использование этих препаратов повышает устойчивость растений к различным заболеваниям, при этом повышается активность генов стрессоустойчивости. Так, показано, что препарат «Новосил» в небольших дозах (0,3 мл/л) повышает стрессоустойчивость растений картофеля (на примере изменения активности пероксидазы) и в высокой концентрации подавляет рост возбудителя кольцевой гнили картофеля. Хозяйственно ценным результатом действия препарата в этих экспериментах стало увеличение урожайности картофеля [10]. В других экспериментах выявлена высокая ростостимулирующая активность гексановых экстрактов коры сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) при укоренении черенков фасоли. Прибавки общей биомассы корней к контролю составляли от 143 до 186 % [11].

Важной задачей является поиск новых соединений из хвойных, обладающих рострегулирующей и стресс-защитной активностью в отношении растений. В рамках решения данной задачи на живой модели, использующей в качестве показателя биологической активности рост корней и розеток арабидопсиса, протестировали ростмодулирующую и антистрессовую биологическую активность восьми экстрактов, содержащих малополярные соединения из хвои и ветвей трех видов рода *Pinus*,

при концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ %. Более высокую концентрацию веществ ($5 \cdot 10^{-3}$ %) протестировали в предварительных экспериментах, где было обнаружено, что действие экстрактов прекращало рост корней. При этом использованный в качестве эмульгатора Tween 80 также вызывал торможение роста главного корня на 70–80 % (данные не представлены). Поскольку длина корня в проведенных экспериментах являлась одним из основных показателей величины биологической активности экстрактов, использовать такую концентрацию для работы было невозможно. Поэтому для описанных ниже экспериментов выбрали концентрацию $5 \cdot 10^{-4}$ % как наиболее высокую из приемлемых для проведения исследований.

Во всем мире тепловой стресс является одной из главных проблем для сельского хозяйства. Как сезонные, так и суточные колебания температуры могут привести к снижению урожайности культурных растений [12, 13]. С другой стороны, высокая температура является удобным, простым и универсальным стрессором, который индуцирует множество систем защиты растений и индуцирует кросс-толерантность к другим абиотическим стрессам [14], а термотолерантность может использоваться в качестве индикатора общей устойчивости растений. Поэтому в качестве стрессового агента в данном исследовании выбрали тепловую обработку проростков арабидопсиса. Таким образом, цель настоящей работы состояла в исследовании биологической активности восьми экстрактов из хвои и ветвей трех видов рода *Pinus*, содержащих малополярные соединения, и их влияния на проростки арабидопсиса в обычных условиях и при повреждающем тепловом воздействии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали семена *Arabidopsis thaliana* (Columbia). Семена стерилизовали и помещали в каждую секцию четырех-секционной чашки Петри по 4 шт. на твердую питательную среду $\frac{1}{2}$ Мурасиге – Скуга, содержащую 0,7 % фитогеля и 2 % сахарозы. В секцию с контролем ничего не добавляли. В остальные секции добавляли в разведении 1:10000 Tween 80 и различные БАВ (таблица).

Чашки с семенами подвергали стратификации в течение 3 дней в темноте при температуре 4 °С. Затем семена проращивались в климатической камере Binder KBWF 720 в условиях 50–70 % относительной влажности при температуре 22 °С и 16-часовом световом дне в течение 2–3-х суток.

4-дневные проростки *A. thaliana* подвергали тепловому шоку при 45 °С в климатической камере Binder KBW 720 в течение часа. Процедура теплового воздействия подбира-

Название и характеристика экстрактов малополярных веществ
из частей исследуемых хвойных рода *Pinus*
Name and characteristics of extracts of low-polar substances from parts
of the studied conifers of the genus *Pinus*

Экстракт	Описание
НИОХ16/1	Экстракт хвои <i>P. pumila</i> метил-трет-бутиловым эфиром (эфирный экстракт) после экстракции гексаном.
НИОХ22/1	Гексановый экстракт обесхвоенных ветвей <i>P. pumila</i>
НИОХ28/1	Гексановый экстракт хвои <i>P. koraiensis</i>
НИОХ29/1	Гексановый экстракт обесхвоенных ветвей <i>P. koraiensis</i>
НИОХ31/1	Кислоты гексанового экстракта хвои <i>P. sibirica</i>
НИОХ32/1	Нейтральные вещества гексанового экстракта хвои <i>P. sibirica</i>
НИОХ35/1	Гексановый экстракт обесхвоенных ветвей <i>P. sibirica</i>
НИОХ42/1	Гексановый экстракт однолетних вегетативных побегов <i>P. sibirica</i> в фазе появления хвои из чехликов

лась таким образом, чтобы растения получили существенную задержку роста, но не погибли совсем. Длина корней оценивалась на 5-е сутки после теплового воздействия с помощью программы ImageJ со сканированных изображений.

Для получения экстрактов и их фракций в работе использовали следующий растительный материал. Охвоенные ветви кедра корейского (*Pinus koraiensis* Siebold & Zucc.) собраны 14.04.2017 г. в окрестностях г. Владивосток (Приморский край, Россия), идентифицированы к.б.н. Л.М. Пшенниковой (Ботанический сад-институт Дальневосточного отделения РАН, г. Владивосток). Охвоенные ветви кедра сибирского (*P. sibirica* Du Tour) собраны 08.06.2016 г. в окрестностях с. Иогач (Республика Алтай, Россия), идентифицированы к.б.н. Е.А. Королюк (Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск – ЦСБС СО РАН). Охвоенные ветви кедрового стланика (*P. pumila* (Pall.) Regel) собраны 10.04.2017 г. в окрестностях с. Оротук (Магаданская обл., Россия), идентифицированы к.б.н. Е.А. Королюк (ЦСБС СО РАН).

Охвоенные побеги были высушены при комнатной температуре в течение 5–7 дней до постоянного веса и разделены на хвою и обесхвоенные побеги. Высушенный растительный материал измельчали на части размером 10–15 мм и последовательно экстрагировали гексаном и метил-трет-бутиловым эфиром (МТБЭ) в аппарате Сокслета в течение 24 ч. Экстракты концентрировали в вакууме, гексановые экстракты разбавляли МТБЭ. Обрабатывая полученные растворы 1 %-м водным раствором NaOH, разделяли их на фракции свободных кислот (К) и нейтральных веществ (Н) [15].

Экстракты хвои и обесхвоенных побегов представляют собой сложные по составу смеси веществ различной химической природы, которые невозможно напрямую анализировать методом газовой хромато-масс-спектрометрии

(ГХ-МС). Поэтому фракции Н омыляли кипячением в 5 %-м водно-этанольном растворе KOH и разделяли на фракции кислот, образовавшихся после омыления связанных кислот (СК) и неомыляемых нейтральных веществ (НВ) [16]. Фракции кислот (К, СК) превращали в метиловые эфиры обработкой раствором диазометана в диэтиловом эфире [17]. Подробное описание использованных для анализа ГХ-МС оборудования и методик приведены в статье [18]. Составы фракций К, СК, Н, НВ гексановых экстрактов были подобны описанным ранее в работах [18] (для *P. koraiensis* и *P. sibirica*) и [19] (для *P. pumila* см. данные для сахалинской популяции). Препаративные формы экстрактов и их фракций готовили следующим образом. К 0,5 массовым частям экстракта или фракции экстракта добавляли 0,5 массовых частей эмульгатора Tween 80. Смесь перемешивали до образования однородной массы при нагревании до 40–70 °С. Затем добавляли по каплям при перемешивании 99 массовых частей автоклавированной воды при 40–50 °С с охлаждением до комнатной температуры. Смесь перемешивали до образования гомогенной эмульсии. Аналогично получены 0,5 % эмульсии экстрактов или их фракций (см. таблицу).

Все биологические эксперименты повторяли минимум четыре раза. Полученные данные проанализированы статистически, т.е. определены средние арифметические и стандартные ошибки. Для сравнения контрольного образца с каждым из полученных экстрактов использовался критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обработка проростков арабидопсиса всеми исследуемыми экстрактами при нормальной температуре инкубации приводила к подавлению роста главного корня по отношению к контролю (рис. 1, а).

При тепловой обработке различий в длине корня у контрольных проростков и проростков,

выращенных с добавлением Tween 80 и всех исследуемых экстрактов, не наблюдалось (рис. 1, b). По нашему мнению, это связано с подавлением роста главного корня после теплового шока, что нивелирует тормозящее рост действие экстрактов. У проростков, выращенных с добавлением только Tween 80, изменение длины главного корня не наблюдалось как при нормальной температуре инкубации, так и после тепловой обработки.

Подавление роста боковых корней при нормальной температуре инкубации наблюдалось у проростков, выращенных с добавлением экстракта хвой (НИОХ-16/1) и обесхвоенных ветвей (НИОХ-22/1) *P. pumila*, а также нейтральных веществ хвой *P. sibirica* (НИОХ-32/1) (рис. 2, a).

Кислоты гексанового экстракта (НИОХ-31/1) вызывали хотя и небольшое, но значимое увеличение суммарной длины боковых корней. Остальные исследуемые экстракты не приводили к какому-либо значимому эффекту. В то же время при тепловом шоке наблюдалась другая картина: экстракт обесхвоенных ветвей (НИОХ-22/1) *P. pumila* и экстракт хвой *P. koraiensis* (НИОХ-28/1) не влияли на рост боковых корней. Однако обработка проростков арабидопсиса экстрактами НИОХ-16/1, НИОХ-29/1, НИОХ-31/1, НИОХ-32/1, НИОХ-35/1 или НИОХ-42/1 сопровождалась подавлением роста боковых корней (рис. 2, b). Таким образом, тепловой шок усиливал ростингибирующий эффект большинства экстрактов либо не оказывал значимого воздействия.

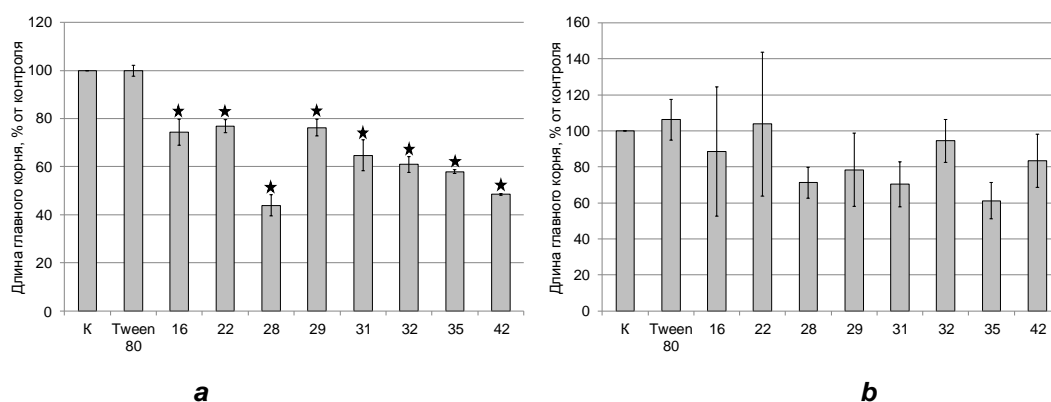


Рис. 1. Влияние исследуемых экстрактов на рост главного корня у проростков *A. thaliana* при обычной температуре (a) и при тепловом шоке 45 °C 1 ч (b):

16 – НИОХ-16/1; 22 – НИОХ-22/1; 28 – НИОХ-28/1; 29 – НИОХ-29/1; 31 – НИОХ-31/1; 32 – НИОХ-32/1; 35 – НИОХ-35/1; 42 – НИОХ-42/1. Представлены средние четырех независимых экспериментов ±SE. *p < 0,05 (парный t-критерий Стьюдента)

Fig. 1. The effect of the studied extracts on the growth of the main root in *A. thaliana* seedlings at the normal temperature (a) and heat shock 45 °C 1 h (b):

16 – NIOC-16/1; 22 – NIOC-22/1; 28 – NIOC-28/1; 29 – NIOC-29/1; 31 – NIOC-31/1; 32 – NIOC-32/1; 35 – NIOC-35/1; 42 – NIOC-42/1. The data are the means of four independent experiments ±SE. *p < 0,05 (Student's two-tailed t-test)

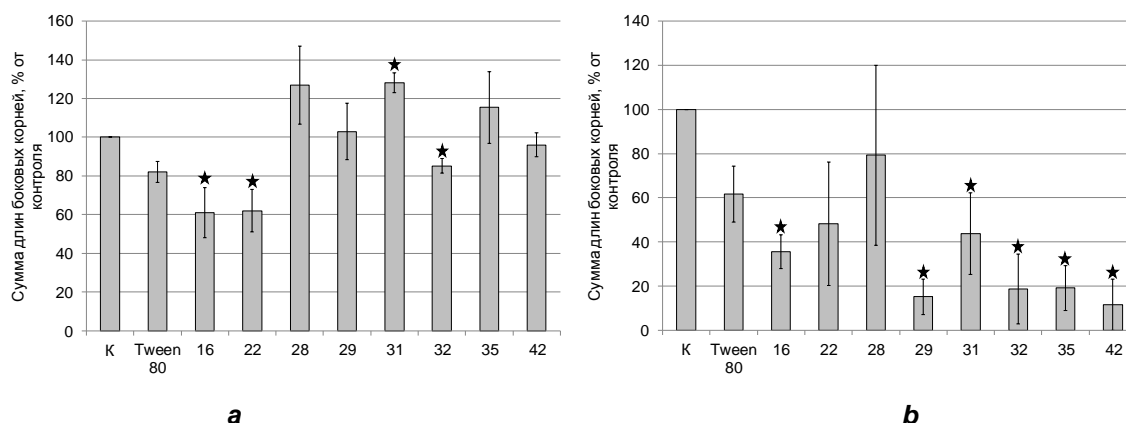


Рис. 2. Влияние исследуемых БАВ на рост боковых корней у проростков *A. thaliana*

при обычной температуре (a) и при тепловом шоке 45 °C 1 ч (b) (обозначения БАВ те же, что и на рис. 1. Представлены средние четырех независимых экспериментов ±SE. *p < 0,05 (парный t-критерий Стьюдента)

Fig. 2. The effect of the studied extracts on the growth of the lateral roots in *A. thaliana* Seedlings at the normal temperature (a) and heat shock 45 °C 1 h (b) (Designations of biologically active substances are the same as in fig. 1. The data are the means of four independent experiments ±SE. *p < 0,05 (Student's two-tailed t-test))

Выращивание проростков арабидопсиса в присутствии исследуемых экстрактов сопровождалось подавлением роста листовых розетки при нормальной температуре инкубации (рис. 3, а). При тепловой обработке подавляющий эффект проявлялся только в присутствии НИОХ-16/1, НИОХ-29/1, либо НИОХ-32/1 (рис. 3, б). Остальные экстракты не влияли на данный параметр, хотя стоит отметить возрастание размаха отклонений от среднего значения при тепловом шоке.

Все шире применяемым подходом для повышения урожайности сельскохозяйственных растений является использование препаратов, полученных биологическим путем. Одним из направлений изучения этого вопроса является исследование влияния вторичных метаболитов одних растений на другие растения, так называемого аллелопатического эффекта [20, 21]. Экстракты, полученные из растений, могут как активировать рост культурных растений, так и подавлять рост сорняков. Например, авторами работы [22] показано, что водный экстракт, полученный из *P. roxburghii*, приводил к ингибированию роста корня сорняков на 30–50 %. В наших экспериментах использование экстрактов хвои и обесхвоенных ветвей представителем рода *Pinus* приводило к ингибированию примерно на 25–55 % роста главного корня растений арабидопсиса. При этом для ряда экстрактов (НИОХ-16/1, НИОХ-22/1, НИОХ-32/1)

также наблюдалось подавление роста боковых корней. Рост листовых розеток подавляли все экстракты (см. рис. 3). Опубликован ряд работ, посвященных изучению аллелопатического эффекта экстрактов сосен на другие растения [18, 23, 24]. Дитерпеновые и другие кислоты, содержащиеся в растениях семейства *Pinaceae*, являются известными аллелопатическими агентами. Так, бензойная кислота и другие гидроксикислоты, находящиеся в хвое сосен разных видов, например, *P. pumila* и *P. koraiensis*, и извлекаемые неполярными и малополярными экстрагентами (углеводородами, простыми эфирами), вместе с липофильными метаболитами [15, 18] эффективно ингибировали прорастание семян и рост побегов многих других растений в нижнем ярусе сосновых лесов [25]. Присутствующая в хвое *P. densiflora* 9 α ,13 β -эпидиоксиабьет-8(14)-ен-18-овая кислота подавляла рост корней и побегов кресс-салата и проростков *Echinochloa crus-galli* в концентрациях более 0,1 мМ [26]. Следует отметить, что аллелопатический потенциал древесных растений все еще слабо изучен, хотя ему уделяется в последнее время все большее внимание [27–29]. В связи с этим любая дополнительная информация об активности или отсутствии действия экстрактов из древесных пород на растения очень важна для исследований в этом направлении.

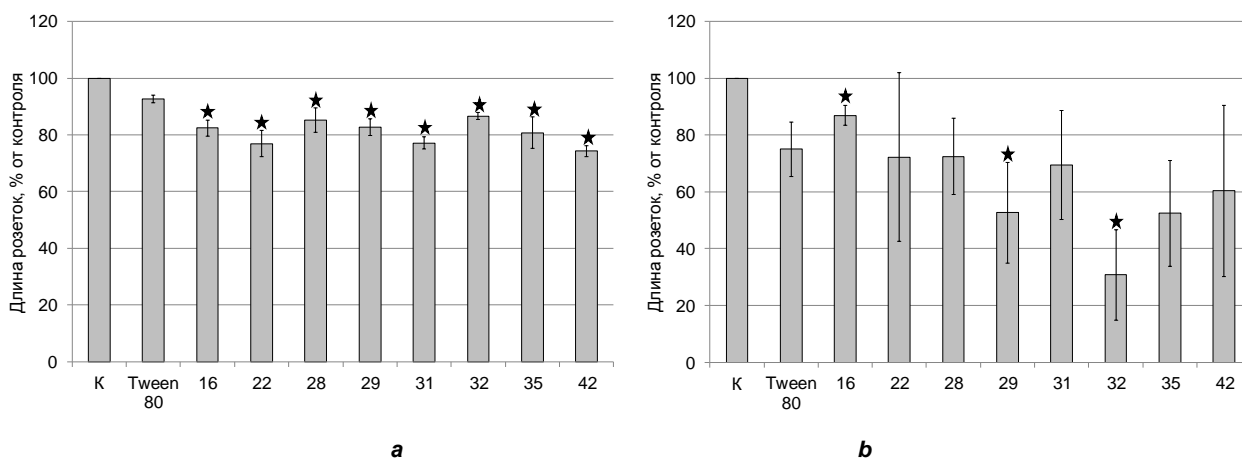


Рис. 3. Влияние исследуемых веществ на рост розеток у проростков *A. thaliana* при обычной температуре (а) и при тепловом шоке 45 °С 1 ч (б). Обозначения БАВ те же, что на рис.1. Представлены средние четырех независимых экспериментов \pm SE. * $p < 0,05$ (парный t -критерий Стьюдента)

Fig. 3. The effect of the studied extracts on the growth of rosettes in *A. thaliana* seedlings at the normal temperature (a) and heat shock 45 °C 1 h (b). Designations of biologically active substances are the same as in fig. 1. The data are the means of four independent experiments \pm SE. * $p < 0,05$ (Student's two-tailed t -test)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что наибольшую подавляющую рост главного корня активность продемонстрировал гексановый экстракт хвои *P. koraiensis* (НИОХ-28/1), нейтральные вещества гексанового экстракта хвои *P. sibirica*

(НИОХ-32/1) подавляли рост не только главного корня, но и придаточных корней. Показанное аллелопатическое подавление роста корней и листовых розеток арабидопсиса экстрактами и фракциями малополярных веществ рода *Pinus* ставит задачу дальнейшего изучения наиболее активных экстрактов НИОХ-16/1,

НАОХ-22/1, НАОХ-28/1 и НАОХ-32/1 для возможного использования их в качестве гербицидов. Действие экстрактов не предотвращало

ингибирующий эффект стрессового температурного воздействия, а, напротив, усиливало его почти у всех исследованных экстрактов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Jurado A.S., Fernandes M.A.S., Videira R.A., Peixoto F.P., Vicente J.A.F. Herbicides: the face and reverse of the coin. An *in vitro* approach to the toxicity of herbicides in non-target organisms. In: Kortekamp A.E. (eds.) *Herbicides and Environment*. IntechOpen. 2011. P. 3–44. <https://doi.org/10.5772/12976>
2. Jayaraj J., Wan A., Rahman M., Punja Z.K. Seaweed extract reduces foliar fungal diseases on carrot // *Crop Protection*. 2008. Vol. 27. Issue 10. P. 1360–1366. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.05.005>
3. Khan W., Rayirath U.P., Subramanian S., Jithesh M.N., Rayorath P., Hodges D.M., et al. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development // *Journal of Plant Growth Regulation*. 2009. Vol. 28. P. 386–399. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>
4. Du Jardin P. The science of plant biostimulants – A bibliographic analysis: Ad hoc study report to the European Commission (contract 30-CE0455515/00-96), 2012. Available from: https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/169257/1/Plant_Biostimulants_final_report_bio_2012_en.pdf [Accessed 20th April 2020].
5. Hernandez-Herrera R.M., Santacruz-Ruvalcaba F., Ruiz-Lopez M.A., Norrie J., Hernandez-Carmona G. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.) // *Journal of Applied Phycology*. 2014. Vol. 26. Issue 1. P. 619–628. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0078-4>
6. Du Jardin P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation // *Scientia Horticulturae*. 2015. Vol. 196. P. 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
7. Шаповал О.А., Можарова И.П., Коршунов А.А. Регуляторы роста растений в агротехнологиях // *Защита и карантин растений*. 2014. N 6. С. 16–20.
8. Горбылева Е.Л., Боровский Г.Б. Биостимуляторы роста и устойчивости растений терпеноидной природы и другие биологически активные соединения, полученные из хвойных пород // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2018. Т. 8. N 4. С. 80–89. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-32-41>
9. Пат. № 2108803, Российская Федерация. Способ получения биологически активной суммы тритерпеновых кислот / В.А. Ралдугин, А.Г. Друганов, В.П. Климов, А.Н. Шубин, В.М. Чекуров; заявл. 08.04.1998; опубл. 20.04.1998/
10. Graskova I.A., Kuznetsova E.V., Zhivetiev M.A., Chekurov V.M., Voinikov V.K. Effect of coniferous extract on potato plants // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 2009. Vol. 5. Issue 1-2. P. 38–44.
11. Тарабанько В.Е., Ульянова О.А., Калачева Г.С. Исследование динамики содержания терпеновых соединений в компостах на основе сосновой коры и их ростостимулирующей активности // *Химия растительного сырья*. 2010. N 1. С. 121–126.
12. Battisti D.S., Naylor R.L. Historical warnings of future food insecurity with unprecedented seasonal heat // *Science*. 2009. Vol. 323. Issue 5911. P. 240–244. <https://doi.org/10.1126/science.1164363>
13. Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M. Heat tolerance in plants: An overview // *Environmental and Experimental Botany*. 2007. Vol. 61. Issue 3. P. 199–223. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.011>
14. Obata T., Fernie A.R. The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses // *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2012. Vol. 69. P. 3225–3243. <https://doi.org/10.1007/s0018-012-1091-5>
15. Raldugin V.A., Demenkova L.I., Pentegova V.A. Labdane acids and other components of the needles of *Pinus pumila* // *Chemistry of Natural Compounds*. 1985. Vol. 21. Issue 2. P. 192–197. <https://doi.org/10.1007/BF00714911>
16. Гришко В.В., Шевцов С.А., Деменкова Л.И., Ралдугин В.А., Ляндрес Г.В. Групповой химический состав и основные компоненты экстракта обесхвоенных побегов кедров сибирского // *Сибирский химический журнал*. 1991. N 2. С. 94–97.
17. Zinkel D.F., Han J.S. GLC determination of the resin acid composition in rosins and oleoresins: state of the art // *Naval Stores Review*. 1986. Vol. 96. Issue 2. P. 14–19.
18. Shpatov A.V., Popov S.A., Salnikova O.I., Kukina T.P., Shmidt E.N., Um A.B.-H. Composition and Bioactivity of Lipophilic Metabolites from Needles and Twigs of Korean and Siberian Pines (*Pinus koraiensis* Siebold & Zucc. and *Pinus sibirica* Du Tour) // *Chemistry & Biodiversity*. 2017. Vol. 14. Issue 2. e1600203. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600203>
19. Shpatov A.V., Popov S.A., Salnikova O.I., Shmidt E.N., Kang S.W., Kim S.M., et al. Lipophilic Extracts from Needles and Defoliated Twigs of *Pinus pumila* from Two Different Populations // *Chemistry & Biodiversity*. 2013. Vol. 10. Issue 2. P. 198–208. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201200009>
20. Mallik A.U. Allelopathy in Forested Ecosystems. In: Zeng R.S., Mallik A.U., Luo S.M. (eds). *Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry*. New York: Springer, 2008. P. 363–386. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77337-7_19

21. Scognamiglio M., D'Abrosca B., Esposito A., Pacifico S., Monaco P., Fiorentino A. Plant growth inhibitors: allelopathic role or phytotoxic effects? Focus on Mediterranean biomes // *Phytochemistry Review*. 2013. Vol. 12. Issue 4. P. 803–830. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9281-9>

22. Anwar T., Qureshi R., Qureshi H., Khan S., Khan S.A., Fatimah N., et al. Natural herbicidal potential of selected plants on germination and seedling growth of weeds // *Applied Ecology and Environmental Research*. 2019. Vol. 17. Issue 4. P. 9679–9689. http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1704_96799689

23. Fernandez C., Santonja M., Gros R., Monnier Y., Chomel M., Baldy V., et al. Allelochemicals of *Pinus halepensis* as Drivers of Biodiversity in Mediterranean Open Mosaic Habitats During the Colonization Stage of Secondary Succession // *Journal of Chemical Ecology*. 2013. Vol. 39. Issue 2. P. 298–311. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0239-6>

24. Li B., Shen Y.-H., He Y.-R., Zhang W.-D. Chemical Constituents and Biological Activities of *Pinus* Species // *Chemistry & Biodiversity*. 2013. Vol. 10. Issue 12. P. 2133–2160. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201100373>

1002/cbdv.201100373

25. Kil B.S., Yim Y.-J. Allelopathic effects of *Pinus densiflora* on undergrowth of red pine forest // *Journal of Chemical Ecology*. 1983. Vol. 9. Issue 8. P. 1135–1151. <https://doi.org/10.1007/BF0098217>

26. Kato-Noguchi H., Fushimi Y., Shigemori H. An allelopathic substance in red pine needles (*Pinus densiflora*) // *Journal of Plant Physiology*. 2009. Vol. 166. Issue 4. P. 442–446. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.06.012>

27. Lebedev V.G., Krutovsky K.V., Shestibratov K.A. ...Fell upas sits, the hydra-tree of death, or the phytotoxicity of trees // *Molecules*. 2019. Vol. 24. Issue 8. P. 1636. <https://doi.org/10.3390/molecules24081636>

28. Уфимцев В.И., Беланов И.П. Аллелопатический режим в фитогенном поле сосны обыкновенной на техногенных элювиях Кузбасса // *Вестник КрасГАУ*. 2016. N 2 (113). С. 8–13.

29. Лебедев В.М., Лебедев Е.В. Вопросы аллелопатии в лесных фитоценозах – состояние и перспективы // *Агрохимия*. 2015. N 4. С. 85–91.

REFERENCES

1. Jurado AS, Fernandes MAS, Videira RA, Peixoto FP, Vicente JAF. Herbicides: the face and reverse of the coin. An *in vitro* approach to the toxicity of herbicides in non-target organisms. In: Kortekamp AE. (ed.) *Herbicides and Environment. IntechOpen*. 2011:3–44. <https://doi.org/10.5772/12976>

2. Jayaraj J, Wan A, Rahman M, Punja ZK. Seaweed extract reduces foliar fungal diseases on carrot. *Crop Protection*. 2008;27(10):1360–1366. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.05.005>

3. Khan W, Rayirath UP, Subramanian S, Jithesh MN, Rayorath P, Hodges DM, et al. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2009;28:386–399. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>

4. Du Jardin P. The science of plant biostimulants – A bibliographic analysis: Ad hoc study report to the European Commission (contract 30-CE0455515/00-96), 2012. Available from: https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/169257/1/Plant_Biostimulants_final_report_bio_2012_en.pdf [Accessed 20th April 2020].

5. Hernandez-Herrera RM, Santacruz-Ruvalcaba F, Ruiz-Lopez MA, Norrie J, Hernandez-Carmona G. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Applied Phycology*. 2014;26(1):619–628. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0078-4>

6. Du Jardin P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation // *Scientia Horticulturae*. 2015;196:3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>

16/j.scienta.2015.09.021

7. Shapoval OA, Mozharova IP, Korshunov AA. Plant growth regulators in agrotechnologies. *Zashchita i karantin rastenii*. 2014;6:16–20. (In Russian)

8. Gorbyleva EL, Borovskii GB. Growth and stability biostimulators for plants containing terpenoids and other biologically-active compounds. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2018;8(4):80–89. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-32-41>

9. Raldugin VA, Druganov AG, Klimov VP, Shubin AN, Chekurov VM. Method of preparing triterpenic acid biologically active content. Patent RF, no. 2108803;1998. (In Russian)

10. Graskova IA, Kuznetsova EV, Zhivetiev MA, Chekurov VM, Voinikov VK. Effect of coniferous extract on potato plants. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 2009;5(1-2):38–44.

11. Tarabanko VE, Ul'yanova OA, Kalacheva GS. Study of the dynamics of the terpene compounds content in composts based on pine bark and their growth-promoting activity. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ya* = Chemistry of plant raw material. 2010;1:121–126 (In Russian)

12. Battisti DS, Naylor RL. Historical warnings of future food insecurity with unprecedented seasonal heat. *Science*. 2009;323(5911):240–244. <https://doi.org/10.1126/science.1164363>

13. Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad M. Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*. 2007;61(3):199–

223. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.011>

14. Obata T, Fernie AR. The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2012;69:3225–3243. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1091-5>

15. Raldugin VA, Demenkova LI, Pentegova VA. Labdane acids and other components of the needles of *Pinus pumila*. *Chemistry of Natural Compounds*. 1985;21(2):192–197. <https://doi.org/10.1007/BF00714911>

16. Grishko VV, Shevtsov SA, Demenkova LI, Raldugin VA, Lyandres GV. Group chemical composition and the main components of the extract of Siberian cedar decanted shoots. *Sibirskii khimicheskii zhurnal*. 1991;2:94–97. (In Russian)

17. Zinkel DF, Han JS. GLC determination of the resin acid composition in rosins and oleoresins: state of the art. *Naval Stores Review*. 1986;96(2):14–19.

18. Shpatov AV, Popov SA, Salnikova OI, Kukina TP, Shmidt EN, Um AB-H. Composition and Bioactivity of Lipophilic Metabolites from Needles and Twigs of Korean and Siberian Pines (*Pinus koraiensis* Siebold & Zucc. and *Pinus sibirica* Du Tour). *Chemistry & Biodiversity*. 2017;14(2):e1600203. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600203>

19. Shpatov AV, Popov SA, Salnikova OI, Shmidt EN, Kang SW, Kim SM, et al. Lipophilic Extracts from Needles and Defoliated Twigs of *Pinus pumila* from Two Different Populations. *Chemistry & Biodiversity*. 2013;10(2):198–208. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201200009>

20. Mallik AU. Allelopathy in Forested Ecosystems. In: Zeng RS, Mallik AU, Luo S.M. (eds). *Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry*. New York: Springer, 2008:363–386. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77337-7_19

21. Scognamiglio M, D'Abrosca B, Esposito A, Pacifico S, Monaco P, Fiorentino A. Plant growth inhibitors: allelopathic role or phytotoxic

effects? Focus on Mediterranean biomes. *Phytochemistry Review*. 2013;12(4):803–830. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9281-9>

22. Anwar T, Qureshi R, Qureshi H, Khan S, Khan SA, Fatimah N, et al. Natural herbicidal potential of selected plants on germination and seedling growth of weeds. *Applied Ecology and Environmental Research*. 2019;17(4):9679–9689. http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1704_96799689

23. Fernandez C, Santonja M, Gros R, Monnier Y, Chomel M, Baldy V, et al. Allelochemicals of *Pinus halepensis* as Drivers of Biodiversity in Mediterranean Open Mosaic Habitats During the Colonization Stage of Secondary Succession. *Journal of Chemical Ecology*. 2013;39(2):298–311. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0239-6>

24. Li B, Shen Y-H, He Y-R, Zhang W-D. Chemical Constituents and Biological Activities of *Pinus* Species. *Chemistry & Biodiversity*. 2013;10(12):2133–2160. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201100373>

25. Kil BS, Yim Y-J. Allelopathic effects of *Pinus densiflora* on undergrowth of red pine forest. *Journal of Chemical Ecology*. 1983;9(8):1135–1151. <https://doi.org/10.1007/BF0098217>

26. Kato-Noguchi H, Fushimi Y, Shigemori H. An allelopathic substance in red pine needles (*Pinus densiflora*). *Journal of Plant Physiology*. 2009;166(4):442–446. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.06.012>

27. Lebedev VG, Krutovsky KV, Shestibratov KA. ...Fell upas sits, the hydra-tree of death, or the phytotoxicity of trees. *Molecules*. 2019;24(8):1636. <https://doi.org/10.3390/molecules24081636>

28. Ufimtsev VP, Belanov IP. The allelopathic mode in the phytogenous field of the scots pine on technogenic eluviums of Kuzbass. *Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* = Bulletin of KrasGAU. 2016;2:8–13. (In Russian)

29. Lebedev VM, Lebedev EV. Questions of allelopathy in forest phytocenoses – state and prospects. *Agrokimiya*. 2015;4:85-91. (In Russian)

Критерии авторства

Пятрикас Д.В., Горбылева Е.Л., Федяева А.В., Захарова С.С., Шпатов А.В., Попов С.А., Боровский Г.Б. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

Darya V. Pyatrikas, Elena L. Gorbyleva, Anna V. Fedyaeva, Sofia S. Zakharova, Alexander V. Shpatov, Sergey A. Popov, Gennadii B. Borovskii carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict 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

Пятрикас Дарья Валерьевна,
к.б.н., научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
e-mail: galdasova@sifibr.irk.ru

Горбылева Елена Леонидовна,
к.б.н., младший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
e-mail: dzubina@sifibr.irk.ru

Федяева Анна Валерьевна,
к.б.н., научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
e-mail: fedyayeva.anna@mail.ru

Захарова Софья Сергеевна,
магистрант,
Новосибирский институт органической химии
им. Н.Н. Ворожцова СО РАН,
630090, г. Новосибирск,
пр-т Акад. Лаврентьева, 9,
Российская Федерация;
лаборант,
Новосибирский национальный
исследовательский государственный
университет
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1,
Российская Федерация,
e-mail: zakhsf@nioch.nsc.ru

Шпатов Александр Владимирович,
к.х.н., научный сотрудник,
Новосибирский институт органической
химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН,
630090, г. Новосибирск,
пр-т Акад. Лаврентьева, 9,
Российская Федерация,
e-mail: shpatov@nioch.nsc.ru

Попов Сергей Александрович,
к.т.н., старший научный сотрудник,
Новосибирский институт органической
химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН,
630090, г. Новосибирск,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Darya V. Pyatrikas,
Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
e-mail: galdasova@sifibr.irk.ru

Elena L. Gorbyleva,
Cand. Sci. (Biology), Junior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
e-mail: dzubina@sifibr.irk.ru

Anna V. Fedyayeva,
Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
e-mail: fedyayeva.anna@mail.ru

Sofia S. Zakharova,
Undergraduate,
N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute
of Organic Chemistry of SB RAS,
9, Acad. Lavrentiev Av., Novosibirsk, 630090,
Russian Federation,
laboratory Assistant,
Novosibirsk National Research State University
1 Pirogov St., Novosibirsk 630090,
Russian Federation,
e-mail: zakhsf@nioch.nsc.ru

Alexander V. Shpatov,
Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute
of Organic Chemistry of SB RAS,
9, Acad. Lavrentiev Av., Novosibirsk, 630090,
Russian Federation,
e-mail: shpatov@nioch.nsc.ru

Sergey A. Popov,
Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher,
N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute
of Organic Chemistry of SB RAS,
9, Acad. Lavrentiev Av., Novosibirsk, 630090,

пр-т Акад. Лаврентьева, 9,
Российская Федерация,
e-mail: spopov@nioch.nsc.ru

Russian Federation,
e-mail: spopov@nioch.nsc.ru

Боровский Геннадий Борисович,
д.б.н., профессор,
заместитель директора по научной работе,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
e-mail: borovskii@sifibr.irk.ru

Gennadii B. Borovskii,
Dr. Sci. (Biology), Professor,
Vice-Director on Science,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
e-mail: borovskii@sifibr.irk

Оригинальная статья / Original article

УДК 663.257.9

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-251-260>

Влияние ферментных препаратов на ароматобразующие компоненты красных столовых вин

© Н.М. Агеева, А.Н. Тихонова, А.П. Бирюков

Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, г. Краснодар, Российская Федерация

Резюме: Целью настоящей работы являлась оценка влияния ферментных препаратов, применяемых в виноделии, на концентрацию ароматобразующих компонентов. Установлено, что применение таких ферментных препаратов, как тренолин руж, тренолин рот, лаффаза 60, лаффазим экстракт и экстразим терруар, вызывает изменение концентраций альдегидов, эфиров, высших спиртов, кетонов, кислот, терпеновых соединений в сравнении с контрольным вариантом вина, произведенным по классической технологии. Наибольшее количество ацетальдегида и кетонов выявлено в вариантах столовых вин, полученных с применением ферментных препаратов лаффазим экстракт, лаффаза 60 и экстразим терруар. Внесение в виноградную мезгу ферментных препаратов способствовало расщеплению комплекса норизопреноидов с углеводами с высвобождением иона и проявлению в аромате и вкусе вина тонов фиалки и даже розы (лаффаза 60, экстразим терруар, лаффазим экстракт). В исследуемых образцах Каберне-Совиньон выявлено наличие различных терпеновых соединений, обуславливающих формирование в вине различных цветочных (сирени, липы, акации, жасмина) и цитрусовых оттенков. Применение ферментных препаратов, прежде всего лаффаза, экстразима терруар, привело к увеличению массовой концентрации терпеновых соединений в сравнении с традиционной технологией, особенно линолола, гераниола, нерола, лимонена, α -терпинолена и 3-окси- β -дамаскона. Массовая концентрация высших спиртов не претерпела существенных изменений, а метанола – снижалась. Отмечено заметное увеличение концентрации β -фенилэтанола, фенолокислот (особенно галловой и ванилиновой), а также этиловых эфиров капроновой, каприловой, миристиновой, линолевой, стеариновой, пеларгоновой кислот. Ферментные препараты, особенно лаффазим экстракт, лаффаза 60 и экстразим терруар, рекомендованы в технологии производства красных столовых вин с целью улучшения их аромата.

Ключевые слова: красное столовое вино, ферментные препараты, ароматобразующие компоненты

Информация о статье: Дата поступления 18 января 2020 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Агеева Н.М., Тихонова А.Н., Бирюков А.П. Влияние ферментных препаратов на ароматобразующие компоненты красных столовых вин. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 251–260. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-251-260>

Effect of enzyme preparations on the aroma-forming components of red table wines

Natalia M. Ageeva, Anastasia N. Tichonova, Aleksandr P. Biryukov

North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, Krasnodar, Russian Federation

Abstract: The present study was focused at the effect of enzyme preparations applied in winemaking on the concentration of aroma-forming components. In this study, the application of enzyme preparations – including trenolin rouge, trenolin rote, laffasa 60, lafazyne extract and extrazyme terroir – was shown to cause a change in the concentration of aldehydes, esters, higher alcohols, ketones, acids and terpene compounds in

comparison with a control sample of wine produced by classic technology. The greatest amount of acetaldehyde and ketones was detected in table wines produced using enzyme preparations of lafazyme extract, laffasa 60 and extrazyme terroir. The introduction of enzyme preparations into the grape pulp contributed to the decomposition of the norisoprenoid and carbohydrate complex with the release of ionone and the appearance of violet and rose tones in the aroma and taste of wine (laffasa 60, extrazyme terroir, lafazyme extract). In the studied Cabernet-Sauvignon samples, the presence of various terpene compounds causing the formation of various flower (lilac, linden, acacia, jasmine) and citrus shades in wine was demonstrated. The application of enzyme preparations – in particular, laffasa and extrazyme terroir – resulted in an increase in the mass concentration of terpene compounds in comparison with the traditional technology, especially for linalool, geraniol, nerol, limonene, α -terpinolene and 3-hydroxy- β -damascone. No significant changes were observed in the mass concentration of higher alcohols against the background of decreased methanol concentration. A marked increase in the concentration of β -phenylethanol, phenolic acids (especially gallic and vanillic), as well as ethyl esters of caproic, caprylic, myristic, linoleic, stearic and pelargonic acids, was noted. Therefore, enzyme preparations – especially lafazyme extract, laffasa 60 and extrazyme terroir – are recommended in the production technology of red table wines in order to improve their aroma.

Keywords: red table wine, enzyme preparations, aroma-forming components

Information about the article: Received January 18, 2020; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Ageeva NM, Tichonova AN, Biryukov AP. Effect of enzyme preparations on the aroma-forming components of red table wines. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):251–260. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-251-260>

ВВЕДЕНИЕ

Производство виноградного вина – сложный биохимический и биотехнологический процесс, заключающийся в преобразовании сахаров до этилового спирта с помощью различных ферментных систем винных дрожжей. При этом в качестве вторичных продуктов образуется большое количество органических соединений, обуславливающих формирование качества вина, в том числе его аромат. На протяжении всего технологического процесса производства вина с различной целью используются ферментные препараты, позволяющие интенсифицировать процесс отделения суслу от виноградной ягоды, улучшить качество осветления суслу, ускорить сбраживание сахаров, гидролизовать сложные высокомолекулярные соединения, нарушающие товарный вид вина при его хранении [1, 2]. Для этого применяются промышленные партии пектпротеолитических ферментных препаратов преимущественно импортного производства. Изучению их гидролитической функции относительно белков, их комплексных соединений с полифенолами и полисахаридами посвящено большое количество публикаций отечественных и зарубежных ученых [3; 4; 5, с. 495–523; 6]. Однако исследованию влияния ферментных препаратов на состав ароматобразующих компонентов вина не уделялось достаточного внимания. Между тем многие промышленные ферментные препараты имеют побочную ферментативную активность – действие β -глюкозидазы. Этот фермент разрывает связь между ароматическими молекулами и сахарами, которые связывают их в комплексы, не об-

ладающие ароматом. Поэтому многие специалисты отрасли считают, что применение ферментных препаратов приводит к нарушению органолептических достоинств обрабатываемых напитков. В связи с этим исследование влияния ферментных препаратов на изменение ароматобразующих компонентов вина имеет научное и практическое значение.

Целью работы являлось исследование влияния промышленных ферментных препаратов на накопление ароматобразующих компонентов в красных столовых винах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для получения красного столового вина в мезгу (сусло с твердыми элементами виноградной ягоды – косточки, мякоть) красного винограда сорта Каберне-Совиньон вносили пектолитические ферментные препараты (получены из *Aspergillus niger*) высокой степени очистки (2 г/100 кг мезги): тренолин руж и тренолин рот (оба производства Ербсле Гайзенхайм, Германия), лафазим экстракт (Laffort sepogie, Франция), экстразим терруар (Институт энологии Шампани, Франция) и лаффаза 60 (Лафпорт, Франция). В состав препаратов кроме пектиназы входили также протеиназы, пектин-трансэлиминаза, полигалактуроназа, пектинэстераза, гемицеллюлаза. Ферментирование мезги проводили в течение 4 ч при температуре 14–16 °С, после чего в мезгу вносили дрожжи рода *Saccharomyces cerevisiae*, раса ИОС Терруар (Институт энологии Шампани, Франция) в количестве 2 г/100 кг мезги. Брожение проводили при температуре 24–26 °С до полного выбраживания сахаров, после чего

виноматериал отделяли от мезги прессованием и анализировали состав и концентрации ароматобразующих компонентов методом газожидкостной хроматографии (хроматограф Agilent Technologies 6890 Network с пламенно-ионизационным и масселективным детектором). Для разделения использовали хроматографическую кварцевую колонку Zorbax SB-18 длиной 50 м, внутренним диаметром 0,32 мм, неподвижная фаза FFAP; температура термостата колонок – 50 °С, изотерма – 7 мин. Затем программирование температуры со скоростью 5 °С/мин до 140°С и выдержка до конца анализа; поток газа-носителя (азот) через колонку – 1,21 см³/мин; объем пробы – 1 мм³; расход водорода – 25 см³/мин; расход воздуха – 250 см³/мин; время анализа – 60 мин. Для ко-

личественных расчетов содержания компонентов в пробе применяли метод абсолютной калибровки.

Подготовку проб проводили путем экстракции образцов [7]. Вывод результатов и их обработка проведены с помощью компьютерных программ.

В качестве контроля использовали вино из того же сорта винограда, полученное в тех же условиях, но без применения ферментных препаратов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ полученных данных показал, что применение ферментных препаратов оказало существенное влияние на состав ароматобразующего комплекса вина (таблица).

Влияние ферментных препаратов на концентрацию ароматобразующих компонентов вина из сорта винограда Каберне-Совиньон

Effect of enzyme preparations on the concentration of aroma-forming components of wine from Cabernet Sauvignon

Наименование	Массовая концентрация ароматических компонентов, мг/дм ³ .					
	контроль	тренолин руж	тренолин рот	лафазим экстракт	экстразим терруар	лаффаза 60
Альдегиды						
ацетальдегид	45,23	41,81	43,56	47,32	48,04	51,76
каприновый	3,85	3,67	7,34	7,88	9,27	12,42
фурфурол	12,3	0,17	нет	нет	нет	нет
бензальдегид	0,034	нет	0,012	0,082	0,108	0,102
Кетоны						
ацетоин	3,45	2,12	3,25	2,95	2,83	2,75
ионон	0,045	0,073	0,165	0,258	0,306	0,312
диацетил	2,32	1,12	1,86	3,46	4,05	2,53
Ацетали:						
этилацеталь	1,39	0,56	1,38	1,48	1,50	1,47
гексаналь	0,024	0,065	0,23	0,18	0,26	0,22
нонаналь	0,021	0,034	0,042	0,031	0,038	0,053
Сложные эфиры						
этилформиат	0,35	0,28	0,51	0,44	0,55	0,44
этилацетат	41,5	36,8	40,1	34,2	39,5	34,2
этилвалериат	0,05	нет	0,09	0,06	0,09	0,07
изоамилацетат	1,65	1,65	1,97	1,87	1,98	1,67
метилкаприлат	0,30	0,15	0,24	0,15	0,14	0,25
этиллактат	1,25	1,12	1,32	1,28	1,44	1,23
этилкапринат	1,12	0,64	2,34	1,87	2,56	1,77
этилкаприлат	0,67	0,58	2,31	3,68	3,34	2,88
этиллаурат	0,073	0,085	0,135	0,138	0,135	0,137
этилмирилат	0,012	нет	0,022	0,047	0,044	0,043
этиллиналоат	нет	нет	0,012	0,016	0,015	0,017
этилстеарат	нет	нет	0,007	0,012	0,023	0,015
этилпеларгонат	0,008	нет	0,010	0,018	0,022	0,023
этилфенилацетат	0,051	0,068	0,084	0,046	0,040	0,037
этилванилат	1,02	3,08	4,43	4,34	4,67	4,15
этилгексаноат	нет	0,004	0,008	0,006	0,006	0,008
диэтилмалат	1,25	2,34	3,00	1,67	1,85	1,74
триэтилцитрат	0,102	0,112	0,120	0,065	0,056	0,087
диэтилсукцинат	6,82	4,52	6,63	7,22	9,46	7,34

фенилацетат	0,24	0,18	0,28	0,21	0,32	0,31
фенилэтилкапронат	0,075	0,054	0,102	0,058	0,082	0,078
Метанол						
метанол	44,53	35,72	43,17	38,85	35,54	38,32
Высшие спирты						
1-пропанол	35,23	26,35	24,92	20,54	21,27	22,61
1-бутанол	0,74	0,57	0,63	0,52	0,45	0,56
1-амилол	0,42	0,36	0,39	0,37	0,35	0,35
1-гексанол	4,35	3,65	5,02	4,93	5,30	5,41
изобутанол	60,55	48,58	55,5	52,62	56,66	54,14
изоамиловый	232,5	225,8	198,5	182,8	175,7	178,4
2-метилокси-фенол (гваякол)	3,64	2,18	3,04	3,45	3,34	3,22
β-фенилэтанол	43,2	38,6	52,5	46,4	55,7	53,8
бензиловый	0,52	0,36	0,42	0,51	0,52	0,53
тирозол	6,26	6,35	7,58	11,43	8,67	8,38
Кислоты						
пропионовая	0,23	0,14	0,12	0,11	0,08	0,08
изомасляная	1,52	1,34	1,41	1,39	1,38	1,29
масляная	0,45	0,36	0,41	0,37	0,38	0,35
изовалериановая	1,42	1,26	1,45	1,35	1,35	1,27
валериановая	1,36	1,27	1,28	1,26	1,23	1,24
галловая	15,54	27,31	36,44	30,81	37,27	34,45
сиреневая	23,61	42,43	46,85	38,43	45,96	38,20
ванилиновая	4,82	12,6	18,42	24,21	19,65	18,74
оксикоричная	0,38	0,62	2,24	1,56	1,48	1,32
Терпеновые соединения						
линолоол	2,12	2,64	3,86	2,86	3,61	3,15
линалилацетат	0,010	0,008	0,012	0,007	0,010	0,008
гераниол	0,11	0,34	0,41	0,33	0,47	0,44
нерол	0,042	0,088	0,088	0,076	0,082	0,075
фарнезол	0,104	0,128	0,123	0,106	0,110	0,106
β-цитронелол	0,006	0,013	0,016	0,003	0,006	0,008
терпениол	0,16	0,34	0,42	0,23	0,28	0,25
лимонен	0,003	0,015	0,018	0,021	0,016	0,021
α-терпинолен	нет	0,006	0,008	0,011	0,017	0,015
3-окси-β-дамаскон	0,012	0,031	0,056	0,018	0,018	0,021

Альдегиды вина – это вторичные продукты спиртового брожения. Среди идентифицированных альдегидов превалировал ацетальдегид, участвующий в окислительных процессах при формировании и созревании вина. Согласно данным, представленным в работах [1; 8, с. 339; 9], с увеличением концентрации ацетальдегида ускоряется окисление антоцианов красных вин, что проявляется в снижении интенсивности их окраски. Анализ экспериментальных данных показал, что большее количество ацетальдегида выявлено в вариантах столовых вин, полученных с применением ферментных препаратов лафазим экстракт, лаффаза 60 и экстразим терруар. Возможно, это связано с присутствием небольших количеств оксидоредуктаз в промышленных партиях ферментных препаратов. Однако незначительное увеличение количества ацетальдегида в присутствии ферментных препаратов не оказало отрицательного влияния на органолептические характеристики вин.

Существенно различается концентрация капринового альдегида, участвующего в формировании разнообразных тонов в зависимости от его концентрации в вине – от citrusовых тонов до тонов каленого орешка. Применение ферментативного катализа, особенно препаратов лаффаза 60 и экстразим терруар, приводит к увеличению концентрации капринового альдегида в 2–3 раза в сравнении с контролем. Аналогично изменяется и количество бензальдегида, приносящего в вино оттенки горького миндаля.

Присутствие фурфурола (альдегида фуранового ряда) в виноградных столовых винах нежелательно, он придает напитку пригорелые тона. Основным источником фурфурола в вине – пентозы и гексозы. Между тем механизм его образования еще недостаточно изучен. Считается [10, 11], что контакт дрожжей с твердыми элементами виноградной ягоды при брожении мезги способствует накоплению в вине до 20–30 мг/дм³ фурфурола (контрольный вари-

ант). Применение ферментных препаратов обеспечило практически полное отсутствие фурфурола в экспериментальных образцах вин.

Следует отметить существенное увеличение концентрации иона в вариантах с ферментными препаратами. Известно [10, 12], что предшественниками иона являются норизопреноиды, которые обычно находятся в связанной гликозидной форме с одной или более молекулами углеводов, в том числе высокомолекулярных. Ферментных систем винных дрожжей достаточно лишь для частичного гидролиза этих связей, поэтому концентрация иона в контрольном варианте невелика, а фиалковый тон при дегустации не обнаруживается. Применение ферментных препаратов расщепляет указанные комплексы с высвобождением иона и проявлением в аромате и вкусе вина тонов фиалки и даже розы (лаффаза 60, экстразим терруар, лафазим экстракт).

Образование и наличие в вине диацетила – побочного продукта синтеза валина и ацетона, связывают с жизнедеятельностью винных дрожжей [10, 13–15]. Под действием их ферментных систем происходит декарбоксилирование ацетомолочной кислоты с образованием диацетила. Механизм образования ацетона по-прежнему остается неизученным. Проведенные исследования показали, что применение всех исследованных ферментных препаратов приводило к снижению концентрации ацетона. Концентрация диацетила уменьшалась при внесении в мезгу препаратов серии тренолин. В остальных вариантах применение ферментных препаратов привело к увеличению количества диацетила, участвующего в образовании сливочных тонов в аромате вина и мягкости его вкуса.

В кислой среде вина ацетали образуются при взаимодействии этилового спирта с соответствующими альдегидами. Основным представителем группы ацеталей является этилацеталь, концентрация которого при внесении ферментов группы тренолин снижалась. Применение остальных ферментных препаратов приводило к увеличению концентрации этилацетала. Концентрация гексанала и нонанала возрастала независимо от наименования ферментного препарата

Предшественниками пряных тонов, в том числе паприки, душистого перца, специй, являются метоксипиразины – достаточно устойчивые с химической точки зрения вещества. Их разрушение с образованием указанных ароматов протекает под действием ферментов дрожжей, но наиболее активно – в случае применения ферментных препаратов, что приводит к увеличению концентрации компонентов, особенно эфиров и терпеновых соединений,

ответственных за формирование тонов специй, паприки, свежести, сухофруктов, масляно-цветочных оттенков.

В исследуемых образцах Каберне-Совиньон выявлено наличие различных терпеновых соединений, обуславливающих формирование в вине цветочных тонов (сирени, липы, акации, жасмина) и цитрусовых оттенков. Проведенные исследования показали, что при традиционном способе производства красного столового вина (контрольный вариант) идентифицированы те же терпеновые соединения, что и при использовании ферментативного катализа. Применение ферментных препаратов способствовало увеличению концентрации большинства эфиров, терпеновых спиртов. Возможно, это связано с активностью гемицеллюлоз и пектиназ, под действием которых протекают гидролитические процессы, приводящие к высвобождению и последующему гидролизу связанных монотерпенов и гликозидов с образованием перечисленных в таблице терпеновых соединений [1, 10, 13]. Установлено, что применение ферментных препаратов, прежде всего лаффаза, экстразима терруар, в целом привело к увеличению концентрации терпеновых соединений в сравнении с традиционной технологией, особенно линолола, гераниола, нерола, лимонена, α -тер-пинолена и 3-окси- β -дамаскона. Концентрация остальных терпеновых соединений не претерпевала существенных изменений. Одновременно наблюдалось некоторое снижение массовой концентрации высших спиртов, что связано с более высокой степенью гидролиза компонентов вина, ответственных за образование высших спиртов.

Следует отметить существенное варьирование концентрации β -фенилэтанола, создающего неповторимую гамму аромата красных столовых вин (нежные цветочные тона, в том числе розы, шиповника, цветущей яблони, липы и тона винограда). Он синтезируется дрожжами из β -фенилаланина при брожении виноградного сусла, хотя может образовываться и другими путями, в частности, в результате гидролиза ряда гликозидов и каротиноидов [15, 16]. Возможно, увеличение концентрации β -фенилэтанола, а вместе с ним и его эфиров в экспериментальных вариантах связано с гидролитической активностью ферментных препаратов, обеспечивающих гидролиз высокомолекулярных белков до аминокислоты фенилаланин – предшественника β -фенилэтанола.

Присутствие высших спиртов в красных столовых винах придает их вкусу и аромату многообразие оттенков – от свежести и травянистости до резкости и сивушных тонов. Кроме того, высшие спирты вступают в реакции с кислотами, образуя большое количество эфиров. Так, в присутствии алкоголь-ацетил-транс-

феразы из высших спиртов формируются эфиры, имеющие яркие фруктовые, плодовые, а также цветочные ароматы. Образование самих высших спиртов в вине связывают с переаминованием или синтезом аминокислот [10, 17–19]. Так, предшественниками изобутанола и изоамилового спирта являются валин и лейцин, пропанол из треонина. Участие пировиноградной кислоты в биосинтезе высших спиртов и аминокислот свидетельствует о неразрывной связи углеводного и азотистого обменов при брожении виноградного суслу. Имеются литературные данные, свидетельствующие о том, что повышение количества высших спиртов до 300–400 мг/дм³ нежелательно для красных столовых сухих вин: именно при этих концентрациях сивушный тон преобладает над другими ароматами [1, 7, 10].

Проведенные исследования показали, что ферментативный катализ не привел к существенному снижению концентрации высших спиртов. Однако в сравнении с контрольным вариантом отмечено увеличение концентрации гексанола, фенилэтанола и тирозола, а также небольшое уменьшение концентрации изо-

амилола, пропанола, бутанола и амилола.

Метанол спонтанно образуется в процессе энзиматических преобразований пектиновых веществ. В связи с этим можно было предположить увеличение концентрации метанола в экспериментальных вариантах. Однако, напротив, выявлено небольшое снижение его содержания. Это позволяет предположить, что примененные ферментные препараты способствуют глубокому гидролизу полисахаридов, включая пектины, до олиго- и моносахаров, превращения которых в вине не приводят к образованию метилового спирта [3, 9].

Ароматические фенолокси кислоты (галловая, ванилиновая, сиреневая, оксикоричная и др.) представляют особую группу простейших фенольных соединений, сочетающих свойства кислот и ароматических соединений [20–22]. Ароматические фенолокси кислоты, извлекаемые из твердых частей виноградной грозди, в том числе косточек, при брожении мезги придают красным винам своеобразный оттенок аромата – тона паслена, зеленых томатов, ягод ежевики, красной и черной смородины. Ферментативный катализ в сравнении с классической



Ароматограмма красного столового виноматериала Каберне-Совиньон, приготовленного с применением различных ферментных препаратов

Aroma of red table wine material Cabernet Sauvignon cooked using various enzyme preparations

технологией способствовал активации гидролитических процессов твердых элементов и увеличению концентрации фенолоксилов, в результате чего органолептическое ощущение ароматов при использовании ферментных препаратов увеличивается (см. рисунок).

Необходимо отметить существенное различие в концентрации эфиров, особенно высокомолекулярных жирных кислот, имеющих приятный фруктовый запах с оттенками различных фруктов и ягод. Обычно образование таких эфиров связывают с жизнедеятельностью дрожжей в период брожения и протекаемых реакций этерификации. При этом важную роль играют механизмы синтеза их кислотных предшественников, согласно которым прогрессивное удлинение ацильных производных (т.е. добавление к молекуле атомов углерода) происходит за счет конденсации молекул с ацетилкоферментом А. Согласно полученным данным, применение ферментативного катализа способствует заметному увеличению в виноматериале этиловых эфиров капроновой, каприловой, миристиновой, линолевой, стеариновой, пеларгоновой кислот. О важной роли эфиров этих кислот в сложении органолептической характеристики вина свидетельствует величина коэффициентов корреляции с дегу-

стационарной оценкой, варьирующая от 0,72 до 0,84.

Совокупным показателем оценки влияния ферментных препаратов на ароматообразующие компоненты вина является органолептическая характеристика, представленная в виде аромограммы (см. рисунок).

Анализ аромограммы наглядно свидетельствует о том, что применение ферментативного катализа (за исключением препарата тренолин руж) приводит к усилению проявления ароматов, наиболее характерных для вина из сорта винограда Каберне-Совиньон: пасленового, фруктового,пряного, тонов молочных сливок и сафьяна, обусловленных не только совокупным влиянием всех исследованных ароматообразующих компонентов, но и отдельными веществами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных экспериментальных данных можно сделать вывод о целесообразности применения ферментных препаратов, особенно лафазим экстракт, лаффаза 60 и экстразим терруар, в производстве красных столовых вин с целью обеспечения их типичного аромата за счет увеличения концентрации ароматообразующих компонентов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Валушко Г.Г. Стабилизация виноградных вин. Симферополь: Таврида. 2002. 208 с.
2. Wang X.-J., Bai J.-G., Liang Y.-X. Optimization of multienzyme production by two mixed strains in solid-state fermentation // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006. Vol. 73. Issue 3. P. 533–540. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0496-1>
3. Агеева Н.М., Аванесьянц Р.В. Влияние ферментных препаратов на биополимеры вина / *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2017. N 46 (04). С. 129–140.
4. Berger R.G. *Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Berlin: Springer. 2006. 648 p.
5. Wijffels R.H., Buitelaar R.M., Bucke C., Tramper J. (eds.). *Progress in Biotechnology*. Vol. 11. *Immobilized cells: basics and applications*. Elsevier Science, 1996. 842 p.
6. Francis I.L., Newton J.L. Determining wine aroma from compositional data // *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 2005. Vol. 11. Issue 2. P. 114–126. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00283.x>
7. Остроухова Е.В., Пескова И.В., Пробейголова П.А., Виноградов Б.А. Сравнительный анализ ароматообразующего комплекса красных сортов винограда // *Виноградарство и виноделие*. 2011. Т. 41. N 1. С. 77–80.
8. Clarke R.J., Bakker J. *Wine Flavour Chemistry*. Blackwell Publishing, 2012. 339 p.
9. Peinado R.A., Mauricio J.C. Biologically Aged Wines. In: Moreno-Arribas M.V., Polo M.C. (edc.). *Wine chemistry and biochemistry*. Springer Science+Business Media. LLC. 2009. Chapter 3B. P. 81–101. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-74118-5>
10. Родопуло А.К. Ароматообразующие вещества винограда // *Прикладная биохимия и микробиология*. 1990. Т. 26. N 5. С. 579–590.
11. Nogueroles-Pato R., González-Álvarez M., González-Barreiro C., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J. Aroma profile of Garnacha Tintorera-based sweet wines by chromatographic and sensorial analyses // *Food Chemistry*. 2012. Vol. 134. Issue 4. P. 2313–2325. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.105>
12. Nedelkovski D., Dimitrov D., Beleski K., Milanov G., Korunovska B., Trajanovska F., et al. Aroma compounds in wines from Macedonian autochthonous variety Stanusina // *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*. 2017. Vol. 20. No. 3. P. 128–138.
13. Пескова И.В., Луткова Н.Ю., Остроухова Е.В. Влияние рас дрожжей на формирование ароматообразующего комплекса столовых виноматериалов из винограда сорта Мускат белый // *Магарач. Виноградарство и виноделие*. 2016. N 3. С. 21–24.
14. Moreno-Arriba M.V., Polo M.C. *Winema-*

king biochemistry and microbiology: current knowledge and future trends // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2005. Vol. 45. Issue 4. P. 265–286. <https://doi.org/10.1080/10408690478118>

15. Bartowsky E.J., Henschke P.A. The “buttery” attribute of wine diacetyl – desirability, spoilage and beyond // *International Journal of Food Microbiology*. 2004. Vol. 96. Issue 3. P. 235–252. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.013>

16. De La Fuente-Blanco A., Sáenz-Navajas M.P., Ferreira V. On the effects of higher alcohols on red wine aroma // *Food Chemistry*. 2016. Vol. 210. P. 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.021>

17. Ciani M., Maccarelli F. Oenological properties of non-*Saccharomyces* yeasts associated with wine-making // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1998. Vol. 14. P. 199–203. <https://doi.org/10.1023/A:1008825928354>

18. Cortés-Diéguez S., Rodríguez-Solana R., Domínguez J.M., Díaz E. Impact odorants and sensory profile of young red wines from four Galician (NW of Spain) traditional cultivars // *Journal of the Institute of Brewing*. 2015. Vol. 121. Issue 4. P. 628–635. <https://doi.org/10.1002/jib.252>

19. Vilanova M., Cortés S., Santiago J.L., Martínez M.-C., Fernández E. Aromatic Com-

pounds in Wines Produced During Fermentation: Effect of Three Red Cultivars // *International Journal of Food Properties*. 2007. Vol. 10. Issue 4. P. 867–875. <https://doi.org/10.1080/10942910601161615>

20. Гонтарева Е.Н., Агеева Н.М., Гугучкина Т.И. Современные технологические приемы винификации красных вин // *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2015. N 34 (4). С. 86–102.

21. Câmara J.S., Herbert P., Marques J.C., Alves M.A. Varietal flavour compounds of four grape varieties producing madeira wines // *Analytica Chimica Acta*. 2004. Vol. 513. Issue 1. P. 203–207. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.01.024>

22. Пескова И.В., Остроухова И.В., Пробейголова П.А., Варик Г.Н. Влияние технологических приемов на формирование аромата красных столовых виноматериалов из винограда сорта Саперави северный // *Магарач. Виноградарство и виноделие*. 2009. N 1. С. 27–29.

23. Santiago J.L., Boso S., Martín J.P., Ortiz J.M., Martínez M.C. Characterization and identification of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) from northwestern Spain using microsatellite markers and ampelometric methods // *Vitis – Journal of Grapevine Research*. 2005. Vol. 44. Issue 2. P. 67–72. <https://doi.org/10.5073/vitis.2005.44.67-72>

REFERENCES

1. Valuiko GG. *Stabilization of grape wines*. Simferopol: Tavrida: 2002. 208 p. (In Russian)

2. Wang X-J, Bai J-G, Liang Y-X. Optimization of multienzyme production by two mixed strains in solid-state fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006;73(3):533–540. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0496-1>

3. Ageyeva NM, Avanesyants RV. Influence of ferment preparations of new generation the wine biopolymer. *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii = Fruit growing and viticulture of South Russia*. 2017;46:129–140. (In Russian)

4. Berger RG. *Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Berlin: Springer; 2006. 648 p.

5. Wijffels RH, Buitelaar RM, Bucke C, Tramper J. (eds.). *Progress in Biotechnology. Vol. 11. Immobilized cells: basics and applications*. Elsevier Science; 1996. 842 p.

6. Francis IL, Newton JL. Determining wine aroma from compositional data. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 2005;11(2):114–126. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00283.x>

7. Ostroukhova EV, Peskova IV, Probeigolova PA, Vinogradov BA. Comparative analysis of the aroma-forming complex of red grape varieties. *Vinogradarstvo i vinodelie* 2011;41(1):77–80. (In

Russian)

8. Clarke RJ, Bakker J. *Wine Flavour Chemistry*. Blackwell Publishing; 2012. 339 p.

9. Peinado RA, Mauricio JC. Biologically Aged Wines. In: Moreno-Arribas MV, Polo MC. (edc.). *Wine chemistry and biochemistry*. Springer Science+Business Media. LLC. 2009. Chapter 3B. P. 81–101. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-74118-5>

10. Rodopulo AK. Aroma-forming substances of grapes. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 1990;26(5):579–590. (In Russian)

11. Nogueroles-Pato R, González-Álvarez M, González-Barreiro C, Cancho-Grande B, Simal-Gándara J. Aroma profile of Garnacha Tintorerabased sweet wines by chromatographic and sensorial analyses. *Food Chemistry*. 2012;134(4):2313–2325. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.105>

12. Nedelkovski D, Dimitrov D, Beleski K, Milanov G, Korunovska B, Trajanovska F, et al. Aroma compounds in wines from Macedonian autochthonous variety Stanusina. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*. 2017;2(3):128–138. (In Bulgaria)

13. Peskova IV, Lutkova NY, Ostroukhova EV. The influence of yeast races on the formation of flavour-building complex in nable base wines of

muscat white variety. *Magarach. Vinogradarstvo i vinodelie* = *Magarach. Viticulture and winemaking*. 2016;3:21–24. (In Russian)

14. Moreno-Arriba MV, Polo MC. Winemaking biochemistry and microbiology: current knowledge and future trends. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2005;45(4):265–286. <https://doi.org/10.1080/10408690478118>

15. Bartowsky EJ, Henschke PA. The “buttery” attribute of wine diacetyl – desirability, spoilage and beyond. *International Journal of Food Microbiology*. 2004;96(3):235–252. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.013>

16. De La Fuente-Blanco A, Sáenz-Navajas MP, Ferreira V. On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry*. 2016;210:107–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.021>

17. Ciani M, Maccarelli F. Oenological properties of non-*Saccharomyces* yeasts associated with wine-making. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1998;14:199–203. <https://doi.org/10.1023/A:1008825928354>

18. Cortés-Diéguez S, Rodríguez-Solana R, Domínguez JM, Díaz E. Impact odorants and sensory profile of young red wines from four Galician (NW of Spain) traditional cultivars. *Journal of the Institute of Brewing*. 2015;121(4):628–635. <https://doi.org/10.1002/jib.252>

19. Vilanova M, Cortés S, Santiago JL, Martínez M-C, Fernández E. Aromatic Compounds in Wines Produced During Fermentation: Effect of Three Red Cultivars. *International Journal of Food Properties*. 2007;10(4):867–875. <https://doi.org/10.1080/10942910601161615>

20. Gontareva EN, Ageeva NM, Guguchkina TI. Modern technological methods of vinification of red wines. *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii* = *Fruit growing and viticulture of South Russia*. 2015;34:86–102. (In Russian)

21. Câmara JS, Herbert P, Marques JC, Alves MA. Varietal flavour compounds of four grape varieties producing madeira wines. *Analytica Chimica Acta*. 2004;513(1):203–207. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.01.024>

22. Peskova IV, Ostroukhova EV, Probelgolova PA, Verik GN. The effects of process technologies on the varietal aroma formation of red table wine materials. *Magarach. Vinogradarstvo i vinodelie* = *Magarach. Viticulture and winemaking*. 2009;1:27–29. (In Russian)

23. Santiago JL, Boso S, Martín JP, Ortiz JM, Martínez MC. Characterization and identification of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) from northwestern Spain using microsatellite markers and ampelometric methods. *Vitis – Journal of Grapevine Research*. 2005;44(2):67–72. <https://doi.org/10.5073/vitis.2005.44.67-72>

Критерии авторства

Агеева Н.М., Тихонова А.Н., Бирюков А.П. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, 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

Агеева Наталья Михайловна,
д.т.н., профессор;
главный научный сотрудник,
Северо-Кавказский федеральный научный
центр садоводства, виноградарства,
виноделия,
350901, г. Краснодар,
ул. им. 40-летия Победы, 39,
Российская Федерация,
e-mail: ageyeva@inbox.ru

Contribution

Natalia M. Ageeva, Anastasia N. Tichonova, Aleksandr P. Biryukov carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism..

Conflict 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.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Natalia M. Ageeva,
Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Chief Researcher,
North Caucasian Federal Scientific Center
of Horticulture, Viticulture, Wine-making,
39, 40-letiya Pobedy St., Krasnodar, 350901,
Russian Federation,
e-mail: ageyeva@inbox.ru

Тихонова Анастасия Николаевна,
к.т.н., старший научный сотрудник,
Северо-Кавказский федеральный научный
центр садоводства, виноградарства,
виноделия,
350901, г. Краснодар,
ул. им. 40-летия Победы, 39,
Российская Федерация,
e-mail: Anastasia.he@yandex.ru

Бирюков Александр Петрович,
д.т.н., заведующий кафедрой технологии
бродильных производств и виноделия,
Кубанский государственный
технологический университет,
350072, г. Краснодар, ул. Московская, 2,
Российская Федерация;
старший научный сотрудник,
Северо-Кавказский федеральный научный
центр садоводства, виноградарства,
виноделия,
350901, г. Краснодар,
ул. им. 40-летия Победы, 39,
Российская Федерация
e-mail: abiryucow@yandex.ru

Anastasia N. Tichonova,
Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher,
North Caucasian Federal Scientific Center
of Horticulture, Viticulture, Wine-making,
39, 40-letiya Pobedy St., Krasnodar, 350901,
Russian Federation,
e-mail: Anastasia.he@yandex.ru

Aleksandr P. Biryukov,
Dr. Sci. (Engineering),
Head of the Department of Technology
of Fermentation and Winemaking,
Kuban State Technological University,
2, Moskovskaya St., Krasnodar, 350072,
Russian Federation;
Senior Researcher,
North Caucasian Federal Scientific Center
of Horticulture, Viticulture, Wine-making,
39, 40-letiya Pobedy St., Krasnodar, 350901,
Russian Federation,
e-mail: abiryucow@yandex.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 577.152.321+579.26

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-261-273>

Гидролиз целлюлозы ферментным комплексом *Trichoderma viride* в присутствии фторида натрия: влияние структуры субстрата и сорбционной активности целлюлаз

© Е.Р. Чашина, З.А. Ефременко, В.П. Саловарова,
Д.Е. Гавриков, А.А. Приставка

Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Российская Федерация

Резюме: Исследована зависимость активности целлюлаз *Trichoderma viride* от трех факторов – вида субстрата, сорбционных свойств ферментов и концентрации фторида натрия (NaF). Изучено влияние четырех водонерастворимых субстратов: два нативных (древесина березы и пшеничная солома) и два модельных (микрористаллическая целлюлоза и фильтровальная бумага). Дополнительно исследован водорастворимый субстрат – Na-карбоксиметил-целлюлоза, специфичный к эндоглюканазной активности. Целлюлазный комплекс *T. viride* из препарата «Целловирин ГЗх» был разделен методом аффинной хроматографии на фракции, различающиеся сорбционными свойствами. Измерена целлюлазная активность исходного комплекса и полученных фракций по отношению ко всем субстратам при разной концентрации NaF – от 0 до 1000 мг/л. Качественные различия в белковом составе препарата и фракций исследованы методом SDS-дискелектрофореза. При внесении NaF (100–500 мг/л) активность исходного целлюлазного комплекса возрастала по отношению ко всем субстратам, особенно повысилась скорость гидролиза модельных образцов (до 100 %). Сравнение активности хроматографических фракций относительно модельных субстратов показало, что NaF оказывает противоположное действие на каталитические и сорбционные свойства целлюлаз: активность высокоаффинных фракций, содержащих целлобиогидролазы и низкомолекулярные эндоглюканазы, в присутствии фторида снижалась по отношению ко всем субстратам на 35–90 %. Слабосорбирующиеся фракции (эндоглюканазы I, II + целлобиаза) в этих же условиях ингибировались на 15–20 % по отношению к целлюлозе с высокой степенью кристалличности (МКЦ), но активировались в 1,3–3 раза относительно водорастворимого субстрата (Na-КМЦ) и субстрата с меньшей кристалличностью (фильтровальная бумага). Таким образом, суммарное действие фторидов на ферментативный гидролиз растительного субстрата определяется степенью кристалличности целлюлозы, а также соотношением сильно- и слабосорбирующихся компонентов в целлюлазном комплексе. Рассмотрены возможные молекулярные механизмы этих эффектов.

Ключевые слова: *Trichoderma viride*, целлюлазный комплекс, эндоглюканазы, целлобиогидролазы, фториды, цветная металлургия

Информация о статье: Дата поступления 20 декабря 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Чашина Е.Р., Ефременко З.А., Саловарова В.П., Гавриков Д.Е., Приставка А.А. Гидролиз целлюлозы ферментным комплексом *Trichoderma viride* в присутствии фторида натрия: влияние структуры субстрата и сорбционной активности целлюлаз / Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 2. С. 261–273. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-261-273>

Cellulose hydrolysis by *Trichoderma viride* enzyme complex in the presence of sodium fluoride: effect of substrate structure and cellulase sorption activity

Ekaterina R. Chashina, Zinaida A. Efremenko, Valentina P. Salovarova,
Dmitrii E. Gavrikov, Aleksey A. Pristavka

Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: The dependence of cellulase activity of the *Trichoderma viride* fungus on three factors – substrate type, enzyme sorption properties and sodium fluoride (NaF) concentration – was studied. The four studied water-insoluble substrates were based on two native (birch wood and wheat straw) and two model (micro-crystalline cellulose and filter paper) materials. In addition, a water-soluble Na-carboxymethyl-cellulose substrate specific for endoglucanase activity was studied. The *T. viride* cellulase complex from the “Celloviridin G3x” preparation was separated into fractions differing in sorption properties using the affinity chromatography method. The cellulase activity of the initial complex and obtained fractions was measured with respect to all substrates at different concentrations of NaF ranging from 0 to 1000 mg/L. Qualitative differences in the protein composition of the preparation and fractions were studied by SDS electrophoresis. With the introduction of NaF (100–500 mg/L), the initial cellulase complex activity increased with respect to all substrates. The hydrolysis rate of model samples was observed to increase by up to 100 %. Comparison of chromatographic fraction activity relative to model substrates demonstrated the NaF to have the opposite effect on the catalytic and sorption properties of cellulases. The activity of high affinity fractions containing cellobiohydrolases and low molecular weight endoglucanases in the presence of fluoride decreased by 35–90 % in relation to all substrates. Although weakly adsorbing fractions (endoglucanases I, II + cellobiasis) under the same conditions were inhibited by 15–20 % with respect to cellulose with a high degree of crystallinity (MCC), these were activated 1.3–3 times slower with respect to a water-soluble substrate (Na-CMC) and a substrate with less crystallinity (filter paper). Thus, the total effect of fluorides on the enzymatic hydrolysis of the plant substrate is determined by the crystallinity degree of the cellulose substrate, as well as by the ratio of strongly- and weakly-sorbed components in the cellulase complex. Possible molecular mechanisms of these effects are additionally proposed.

Keywords: *Trichoderma viride*, cellulase complex, endoglucanases, cellobiohydrolases, fluorides, non-ferrous metallurgy

Information about the article: Received December 20, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Chashina ER, Efremenko ZA, Salovarova VP, Gavrikov DE, Pristavka AA. Cellulose hydrolysis by *Trichoderma viride* enzyme complex in the presence of sodium fluoride: effect of substrate structure and cellulase sorption activity. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):261–273. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-261-273>

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение экосистем аэровыбросами промышленных предприятий представляет собой серьезную экологическую проблему. Одним из мощнейших источников эмиссии поллютантов в ряде регионов России, включая Прибайкалье, являются предприятия алюминиевой промышленности, выбросы которых содержат разнообразные токсичные вещества (тяжелые металлы, полициклические ароматические углеводороды, фториды и др.), оказывающие негативное воздействие на разные компоненты биогеоценозов [1, 2].

Важнейшим звеном биотического круговорота углерода являются почвенные микроорганизмы, разлагающие растительные полимеры, в том числе целлюлозу. В результате накопления поллютантов в почве нарушается структура почвенных микроценозов, снижается видовое богатство микроорганизмов, меняется их ферментативная активность, угнетается жизнедеятельность даже наиболее толерантных видов [3–6]. Вследствие этого нарушается процесс редукции растительных остатков, что

сопровождается негативными экологическими последствиями как минимум на уровне региональных экосистем.

Среди поллютантов, характерных для алюминиевой промышленности, серьезную опасность представляет фторид, соли которого используются в технологическом цикле производства металла [7–9]. Эффекты и механизмы токсического действия фторидов на живые организмы неоднократно обсуждались в научной литературе, однако, данные о непосредственном влиянии фторидов на активность целлюлазных комплексов, продуцируемых конкретными видами микромицетов, были впервые получены авторами работы [10], где были описаны и обсуждены эффекты, которые фторид оказывает на каталитические и сорбционные свойства целлюлаз, продуцируемых грибами рр. *Trichoderma* и *Aspergillus*, и высказано предположение, что суммарное влияние фторида на целлюлазный комплекс определяется, с одной стороны, соотношением прочно- и слабосорбирующихся ферментов в целлюлазном комплексе, а с другой – соотношением

аморфных и кристаллических участков целлюлозы в субстрате. Однако эти эффекты были показаны, во-первых, при использовании модельных субстратов, состоящих из чистой целлюлозы, в то время как в природных условиях субстратом для микробных целлюлаз являются лигноцеллюлозные комплексы; во-вторых, для объединенных целлюлазных комплексов, которые на самом деле состоят из карбогидраз четырех типов – эндоглюканаза (EG), целлюбиогидролаза (CBH), целлюбиаз (β -глюкозидаз) и экзоглюкозидаз, различающихся молекулярными характеристиками, каталитической активностью, константой адсорбции и субстратной специфичностью [11–13].

Целью настоящей работы являлось изучение влияния фторида натрия на активность отдельных компонентов целлюлазного комплекса, продуцируемого грибом *Trichoderma viride*, по отношению к целлюлозосодержащим субстратам с различной устойчивостью к ферментативному гидролизу.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве модельного целлюлазного комплекса использовался коммерческий ферментный препарат «Целловиридин ГЗх» на основе целлюлаз, продуцируемых *Trichoderma viride* (производство ОАО «ВОСТОК», Москва) с остаточной общей целлюлазной активностью 14,5 МЕ/г а.с.в.

На первом этапе была изучена ферментативная активность препарата по отношению к нескольким целлюлозосодержащим субстратам при различной концентрации фторида натрия, которую варьировали в диапазоне от 10 до 1000 мг/л в зависимости от задач исследования.

Всего было исследовано четыре не растворимых в воде субстрата: два нативных, измельченных до мелкодисперсного состояния и содержащих, помимо углеводных компонентов, лигнин в разных соотношениях; два модельных субстрата, состоящих только из полисахаридов. Каждая пара субстратов различалась соотношением кристаллической и аморфной целлюлозы. Также была измерена эндоглюканазная активность по водорастворимому субстрату Na-карбоксиметилцеллюлозе (Na-KMЦ) (таблица).

Содержание лигнина в нативных субстратах определяли весовым методом после кислотного гидролиза и отделения углеводного компонента².

Далее, в соответствии с рабочей гипотезой о связи сорбционных свойств целлюлаз с эффектами, которые фторид оказывает на их активность, было проведено хроматографическое разделение ферментов целлюлазного комплекса по их аффинным свойствам. Компоненты, различающиеся по степени адсорбции на целлюлозе, были исследованы на общую целлюлазную и эндоглюканазную активности в тех же условиях, что и исходный препарат.

Качественные различия в составе полученных аффинных комплексов были исследованы методом электрофореза.

Общая целлюлазная активность определялась с использованием динитросалицилового реагента по скорости образования восстанавливающих сахаров из навески целлюлозосодержащего субстрата (50 мг) [18]. Соотношение субстрата и жидкой фазы в реакционной среде составило 1:20 (W/V), а количество ферментного препарата – 3 МЕ/г субстрата (по фильтровальной бумаге).

Таблица 1
Характеристика целлюлозосодержащих субстратов, использованных в работе

Characterization of cellulose-containing substrates applied in research

Table 1

Субстрат	Доля лигнина, %	Степень кристалличности, % (по данным рентгенодифракционного анализа)
Пшеничная солома	12±0,9	50–52 ¹
Древесина березы	25±1,4	60–62 ¹
Фильтровальная бумага (ФБ)	–	63–68 [14, 15]
Микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) марки Avicel (<i>Sigma</i>)	–	75–80 [16, 17]
Na-карбоксиметилцеллюлоза (Na-KMЦ), марка 250000M.W (<i>НеваРеактив</i>).	–	–

¹ Kargarzadeh H., Ahmad I., Thomas S., Dufresne A. (eds.) Characterization of Various Kinds of Nanocellulose. Handbook of Nanocellulose and Cellulose Nanocomposites. John Wiley & Sons. 2017. Vol. 1. Iolovich M. Chapter 2. P. 51–100.

² TAPPI Test Method T222 om-02. Acid-Insoluble Lignin in Wood and Pulp. 2002.

Активность эндогликоназ измерялась по начальной скорости уменьшения вязкости 1,5 %-го раствора Na-карбоксиметилцеллюлозы [19]. Для этого использовался вискозиметр Оствальда с объемом верхнего резервуара 1 мл и диаметром капилляра 0,6 мм. Все измерения активности проводились в 0,05 М натрий-ацетатном буфере, при температуре 45 °С, pH = 4,6.

Разделение компонентов целлюлазного комплекса осуществлялось в стеклянной хроматографической колонке (30x1,5 см) на аффинном сорбенте (МКЦ, Avicel), который предварительно был уравновешен Na-ацетатным буфером (0,05 М, pH = 4,6). Скорость потока подвижной фазы составляла 1,5 мл/мин. После выхода несорбирующихся компонентов ферменты, связанные с носителем, элюировались дистиллированной водой. Элюируемые белки детектировались на спектрофотометре IMPLÉN P330; элюат распределялся по фракциям объемом 1 мл.

Состав фракции с различной аффинностью к целлюлозе был исследован посредством SDS-диск-электрофореза в полиакриламидном геле при концентрации разделяющего геля 12,5 %.

Все эксперименты по исследованию фторидзависимой активности целлюлаз проводились минимум в трех повторностях, для полу-

ченных выборок рассчитывалось математическое ожидание и стандартная ошибка среднего. Сравнение выборок осуществлялось U-критерием. Калибровочные графики были получены линейной аппроксимацией экспериментальных данных с оценкой достоверности коэффициентов регрессии при $p < 0,05$. Достоверность влияния вида субстрата и сорбционных свойств ферментов на относительную активность целлюлаз (отношение активности в контроле к активности в присутствии NaF) оценивалась с помощью двухфакторного непараметрического метода PERMANOVA при $p < 0,05$. Все расчеты проводились в программе Past v. 4.01.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе [10] показано, что фторид натрия в низких концентрациях (в пределах 10–100 мг/л) ингибирует активность по фильтровальной бумаге (FPA) целлюлазного комплекса из *T. viride* примерно в 2 раза, однако дальнейшее повышение концентрации фторида приводило к реактивации ферментного препарата.

Результаты измерений активности ферментного комплекса по отношению к различным субстратам в присутствии высоких концентраций NaF представлены на рис. 1. В контроле эффективность начального гидролиза для разных субстратов различается: наиболее

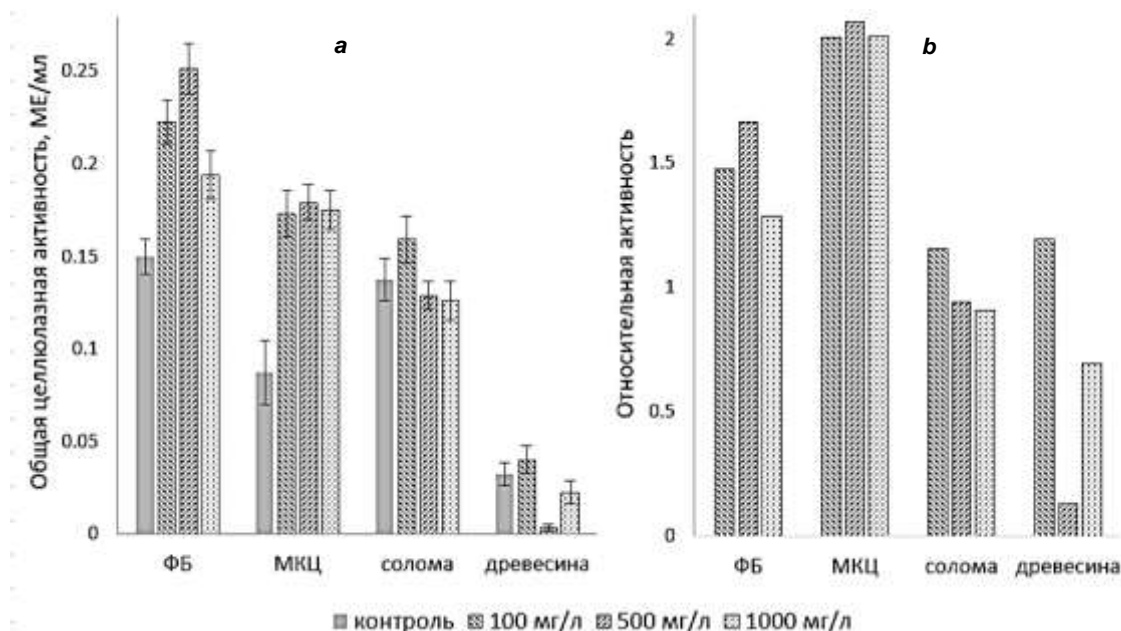


Рис. 1. Влияние высоких концентраций фторида натрия на эффективность начального гидролиза целлюлозосодержащих субстратов целлюлазным комплексом:

a – активность, выраженная в абсолютных единицах;

b – активность в относительных показателях

(отношение активности в присутствии NaF к активности в контроле)

Fig. 1. Effect of high concentrations of sodium fluoride on the effectiveness of the initial hydrolysis of cellulose-containing substrates by the cellulase complex.

a – activity in absolute units;

b – activity in relative terms: the ratio of activity in the presence of NaF to activity in the control stud

глубокая (и примерно одинаковая) степень гидролиза характерна для ФБ и соломы, то есть субстратов с пониженным содержанием кристаллической целлюлозы. Высококристаллическая МКЦ более устойчива к действию целлюлазного комплекса, а древесина гидролизуется с наименьшей эффективностью, так как в ней высокое содержание лигнина, который создает барьер для ферментов.

При внесении в реакцию среду NaF в концентрации 100 мг/л скорость гидролиза всех субстратов повышалась, но количественно этот эффект проявлялся по-разному. Сильнее всего он был выражен для модельных объектов ФБ и МКЦ (увеличение активности в 1,5 и 2 раза соответственно). Глубина гидролиза нативных субстратов менялась сходным образом, хотя и в меньших масштабах: 15 % – для соломы, 19 % – для древесины, то есть эффект активации пропорционален степени кристалличности целлюлозы в обеих группах субстратов. Но для ряда «солома–древесина» эта связь менее заметна, так как в нативных субстратах доля целлюлозы в целом ниже, а также в них присутствуют неуглеводные компоненты.

При повышении концентрации NaF еще на порядок скорость гидролиза большинства субстратов снижалась: по отношению к модельным объектам фермент оставался в зоне активации, а для многокомпонентных субстратов наблюдалось ингибирование, особенно заметное для древесины, более чем на треть.

Эндоглюканазная активность препарата, измеренная с помощью Na-КМЦ, также зависит от концентрации фторида (рис. 2). При низких концентрациях соли (до 50 мг/л) активность снижалась почти в 2 раза, а при повышении уровня NaF до 250 мг/л происходила реакти-

вация эндоглюканаза. Эта зависимость имеет сходный характер с аналогичными результатами, полученными для общей целлюлазной активности [10], и аппроксимируется предложенным в той же работе феноменологическим уравнением.

Для эффективного гидролиза сложных целлюлозосодержащих субстратов необходимо «полноценный» целлюлазный комплекс, в который входят как прочнособирующиеся ферменты, отвечающие за разрушение кристаллической целлюлозы, так и слабособирующиеся компоненты, основной субстрат которых – аморфный полисахарид [20]. Возможно, эффекторные свойства фторидов по-разному проявляются для ферментов с высокой и низкой аффинностью к субстрату, и именно этим объясняются различия в субстратзависимой активности ферментного комплекса. С другой стороны, целлюлазный комплекс *T. viride* включает, как минимум, пять эндоглюканаз, которые различаются по молекулярной массе, структуре и способности адсорбироваться на субстрате [21]. Нелинейный характер зависимости эндоглюканазной активности от концентрации NaF также может определяться соотношением прочно- и слабособирующихся ферментов с Na-КМЦ-азной активностью.

Аппроксимирующая функция записывается выражением

$$Akt_{EG} = b(1 - e^{-a(C-C_0)}),$$

где a и b – эмпирические коэффициенты; C – концентрация NaF; C_0 – концентрация фторида, при которой ингибирование фермента максимально; $a = 0,06$; $b = 1$; $C_0 = 50$ мг/л.

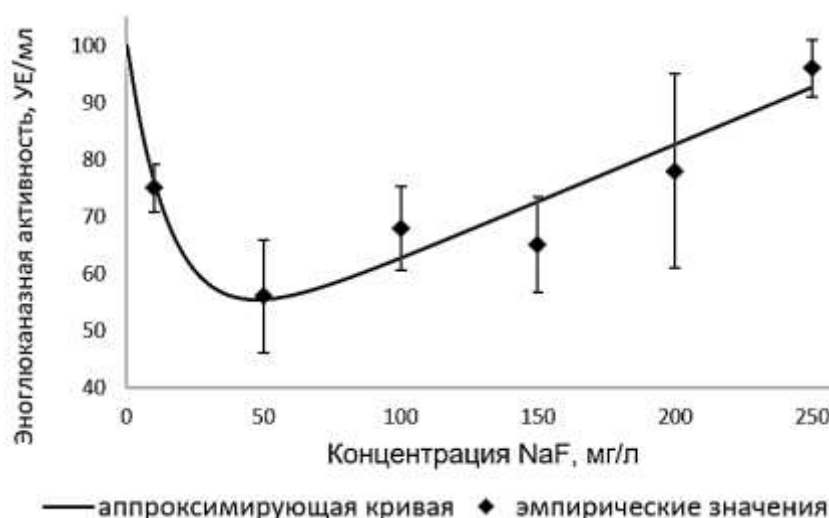


Рис. 2. Зависимость эндоглюканазной активности препарата «Целловиридин Г3х» от концентрации NaF в реакционной среде

Fig. 2. Relationship between the «Celloviridin G3x» endoglucanase activity and NaF concentration in the reaction medium

Для проверки этого предположения компоненты ферментного комплекса были разделены по их аффинным свойствам на три основные фракции (рис. 3):

– F1 – белки, не сорбирующиеся на носителе и выходящие в потоке исходной подвижной фазы в диапазоне 4–6 мл;

– F2 – слабосорбирующиеся компоненты, покидающие неподвижную фазу сразу после смены элюента (максимум при 30 мл);

– F3 – прочносорбирующиеся компоненты, выходящие из колонки после продолжительной

отмывки сорбента (70–72 мл).

Удельная целлюлазная активность этих фракций была ниже, чем у исходного препарата в 10–15 раз, что объясняется нарушением синергических взаимосвязей между компонентами целлюлазного комплекса в результате разделения. В присутствии NaF каждая из фракций характеризовалась собственной, отличной от исходного фермента, зависимостью относительной активности от вида субстрата (рис. 4).

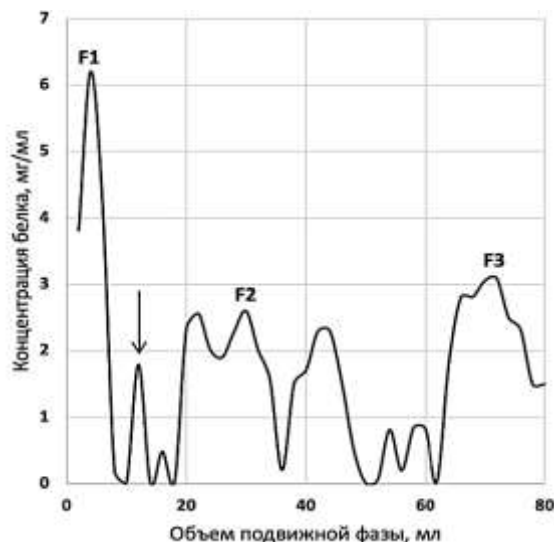


Рис. 3. Хроматограмма разделения целлюлазного комплекса *T. Viride* на аффинном носителе (МКЦ). Стрелкой указан момент смены подвижной фазы

Fig. 3. Affinity chromatography of the *T. viride* cellulase complex on microcrystalline cellulose (MCC). The arrow indicates the moment of change of the mobile phase

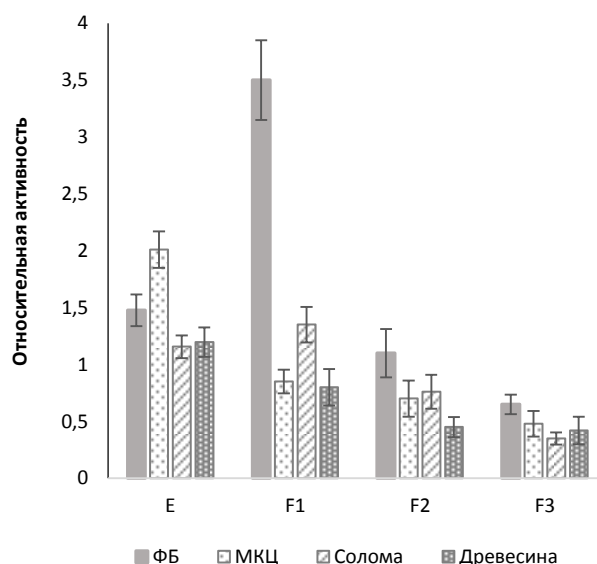


Рис. 4. Влияние фторида на активность аффинных фракций по отношению к разным целлюлозосодержащим субстратам.

По оси ординат – отношение целлюлазной активности в присутствии NaF (100 мг/л) к активности в контроле (без фторида)

Fig. 4. Effect of fluoride on activity of affinity fractions in relation to different cellulose-containing substrates.

Двухфакторный PERMANOVA свидетельствует, что вид субстрата и аффинные свойства фракций значимо влияют на относительную активность. В присутствии NaF активность несорбирующегося комплекса (F1) достоверно выше контроля по отношению к модельному (ФБ) и нативному (солома) субстратам с низкой степенью кристалличности. Для двух других субстратов наблюдается ингибирование фермента на 15–20 %. По мере увеличения аффинности фракций к целлюлозе ингибирующее действие фторидов усиливается, и активность фракции F3 снижается по отношению ко всем субстратам на 35–65 % от контроля.

Полученные результаты можно интерпретировать с точки зрения противоположного или, как минимум, различного действия фторида на каталитические и сорбционные свойства целлюлаз. Если предположить, что NaF ингибирует целлюлозосвязывающий домен (ЦСД) фермента и активирует каталитический (КД), то фторид-индуцированное увеличение активности фракции F1 по отношению к субстратам с пониженной кристалличностью целлюлозы объясняется усилением способности слабосорбирующихся ферментов атаковать аморфную целлюлозу без прочной адсорбции на ней. Для ферментов, разрушающих кристаллическую целлюлозу, обязательное условие эффективной работы – адсорбция на субстрате. Если ЦСД ингибируется фторидом, то будет наблюдаться снижение эффективности гидролиза: а) высокоупорядоченных субстратов во всех фракциях (так как доля аморфной целлюлозы низка, а адсорбция на субстрате подавлена фторидом); б) всех субстратов в прочносорбирующейся фракции (F3). В случае нативных субстратов на эти взаимодействия накладывается влияние лигнина, который снижает доступность целлюлозы для ферментов. Вероятно, поэтому гидролиз в парах «ФБ–солома» и «МКЦ–древесина» в одинаковых условиях идет сходным образом, хотя кристалличность целлюлозы в нативных субстратах ниже (см. таблицу). В итоге результирующий эффект NaF на активность целлюлазного комплекса определяется, с одной стороны, степенью кристалличности субстрата, с другой – соотношением сильно- и слабосорбирующихся компонентов в целлюлазном комплексе. В пользу этого свидетельствует характер фторидзависимых активностей отдельных аффинных фракций по отношению к модельным субстратам (рис. 5).

Общая целлюлазная и эндоглюканазная активности подавляются фторидом натрия пропорционально усилению сорбционных свойств ферментов. Если максимум ингибирования эндоглюканазной активности исходного препарата не превышает 45 % (см. рис. 2),

то для слабосорбирующейся фракции (F2) он составляет 65 %, а для прочносорбирующихся эндоглюканаз (F3) – более 90 % (рис. 5, с). Общая целлюлазная активность фракции F3 также снижается в присутствии фторида более чем в два раза, и этот эффект сильнее проявляется для МКЦ (рис. 5 а, б). Несорбирующиеся целлюлазы (F1) в меньшей степени ингибируются относительно МКЦ, а по отношению к остальным субстратам наблюдается активирующий эффект NaF: FPA увеличивается более чем в три раза по сравнению с контролем (см. рис. 5, а), а эндоглюканазная активность возрастает на 25–30 % с последующим снижением до исходного уровня при повышении концентрации фторида до 250 мг/л (рис. 5, с).

После попарного объединения фракций в композицию, в которой один из компонентов – несорбирующийся фермент, а другой – слабоили прочносорбирующаяся эндоглюканаза, зависимость активности от концентрации фторида приближается (с учетом статистической погрешности) к аналогичной зависимости исходного препарата (рис. 5, d). Однако при этом не наблюдается реактивации фермента, что, вероятно, связано с неполным восстановлением эндоглюканазного комплекса *T. viride* при объединении всего лишь двух фракций.

Качественные различия в белковом составе аффинных комплексов были исследованы методом DSN-электрофореза в полиакриламидном геле (рис. 6). В несорбирующейся (F1) и слабосорбирующейся (F2) фракциях в заметных количествах преобладает, судя по молекулярной массе, β-глюкозидаза (75 кДа). Данный фермент гидролизует короткие целлоолигосахариды и, не имея целлюлозосвязывающего домена, обладает низким сродством к высокомолекулярной целлюлозе. Кроме целлобиазы эти фракции содержат эндоглюканазы I и II (40–55 кДа), которые, несмотря на наличие ЦСД, достаточно легко десорбируются с нерастворимого субстрата. Фракция F3 отличается заметным содержанием целлюлобигидролаз I и II (60–68 кДа) и низкомолекулярных белков (20–25 кДа), возможно, эндоглюканаз IV и/или V. Преобладание целлобигидролаз (особенно СВН I) в составе прочносорбирующихся комплексов согласуется с предыдущими данными о более сильной сорбции этих ферментов на нерастворимых субстратах по сравнению с другими целлюлазами [22].

Если предположение о противоположном влиянии NaF на каталитические и сорбционные свойства целлюлаз верно, то преобладание целлобигидролаз (и, возможно, низкомолекулярных эндоглюканаз) в F3 объясняет фторид-опосредованное снижение активности этой фракции по отношению ко всем целлюло-

зосодержащим субстратам, а доминирование целлюбиаз и слабосорбирующихся эндоглюканаз обуславливает повышение эффективности гидролиза аморфной части субстрата комплексом F1.

Влияние фторида на каталитический домен целлюлаз можно объяснить его вмешательством в процесс кислотно-основного катализа: взаимодействуя со специфическими ли-

гандами вблизи активного центра, анион, вероятно, меняет степень поляризации аминокислотных остатков (D, E) и молекул воды. В зависимости от особенностей пространственной организации активного центра это может сопровождаться изменением активности фермента, как это происходит, например, при активации некоторых α -амилаз хлоридом [23].

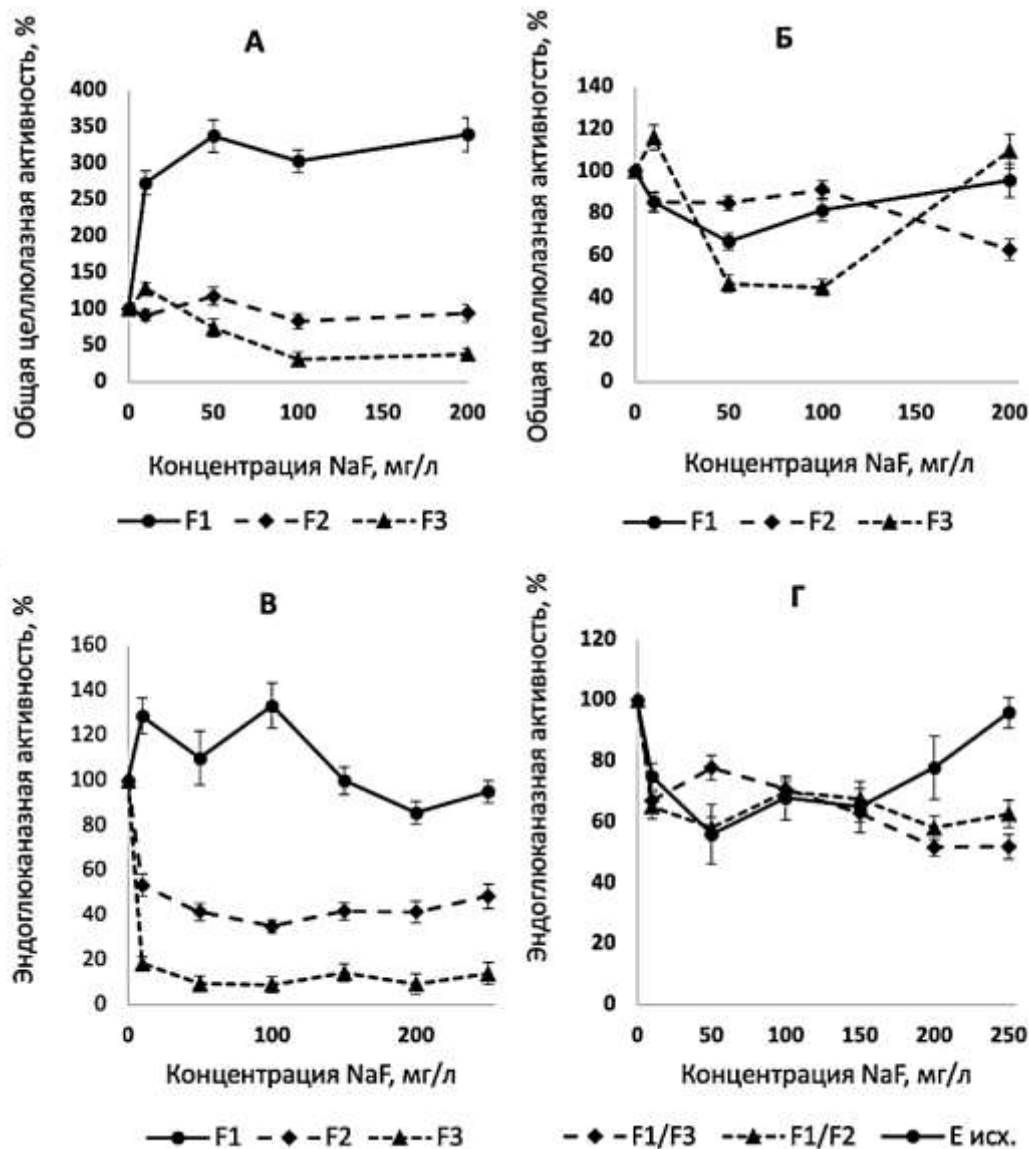


Рис. 5. Фторидзависимые активности фракций, различающихся адсорбционными свойствами по отношению к нерастворимым и водорастворимым субстратам (за 100 % принята активность в контроле):
 а – целлюлазная активность по фильтровальной бумаге (FPA); б – целлюлазная активность по МКЦ;
 с – эндоглюканазная активность отдельных фракций;
 д – эндоглюканазная активность объединенных фракций в сравнении с исходным ферментом

Fig. 5. Fluoride-dependent enzymatic activity of fractions differing in adsorption property, in relation to insoluble and water-soluble substrates (activity in the control study was accepted for 100%):
 a – cellulase activity by filter paper (FPA); b – cellulase activity by MCC;
 c – endoglucanase activity of individual fractions;
 d – endoglucanase activity of the combined fractions in comparison with the starting enzyme

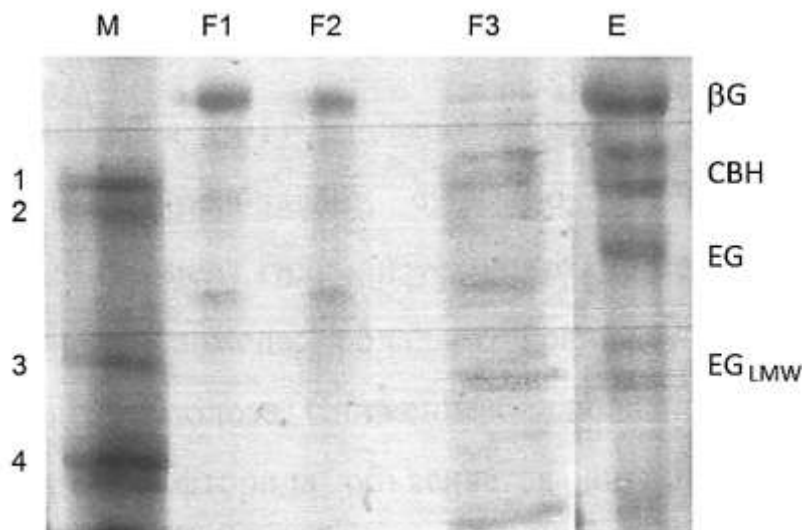


Рис. 6. Электрофорез целлюлазных фракций в сравнении с исходным целлюлазным комплексом:
M - маркерные белки: 1 – бычий сывороточный альбумин (68 кДа); 2 – холинэстераза (*Homo sapiens*; 58 кДа);
3 – Трипсин (24 кДа); 4 – Лизоцим (14 кДа).

E – ферментный препарат:

βG – β -глюкозидаза (целлобиаза); CBH – целлобиогидролазы:

EG – эндоглюканазы I и II; EG_{LMW} – низкомолекулярные минорные эндоглюканазы

Fig. 6. Electrophoresis of cellulase fractions in comparison with the initial cellulase complex.
M – marker proteins: 1 – Bovine serum albumin (68 kDa); 2 – Cholinesterase (*Homo sapiens*; 58 kDa);
3 – Trypsin (24 kDa); 4 – Lysozyme (14 kDa).

E – an enzyme preparation;

βG – β -glucosidase (cellobiase); CBH – cellobiohydrolases:

EG – main endoglucanases; EG_{LMW} – low molecular weight minor endoglucanases

Механизм влияния фторидов на сорбционный центр менее очевиден. Известно, что адсорбция целлобиогидролазы I из *T. viride* на субстрате осуществляется за счет взаимодействия между тремя остатками тирозина ЦСД и остатками глюкозы на поверхности целлюлозы [24]. Возможно, в присутствии фторида нарушаются «стэкинг»-взаимодействия между ароматическими кольцами аминокислот и пиранозными кольцами гликозильных остатков в системе «фермент–субстрат», что приводит к снижению константы адсорбции целлюлоз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ферментный состав хроматографических фракций, различающихся аффинностью к целлюлозному субстрату, зависимость их активностей от степени кристалличности целлюлозы и содержания NaF свидетельствуют о том, что фторид может оказывать разнонаправленное действие на активность целлюлаз, которое определяется соотношением в целлюлазном комплексе ферментов с высоким и низким коэффициентом адсорбции на субстрате. Чем сильнее эффективность разложения растительного субстрата зависит от способности фермента адсорбироваться на целлюлозе, тем ярче проявляется ингибирующее действие

фторида, и наоборот – гидролиз аморфной целлюлозы, не требующий прочного взаимодействия ЦСД с субстратом, протекает более эффективно в присутствии NaF. В итоге суммарный результат будет определяться составом целлюлазного комплекса, степенью кристалличности целлюлозы и содержанием лигнина в субстрате.

В литературе уже отмечалось, что интенсивность разложения растительных остатков не зависит от загрязнения среды соединениями фтора, но на этот процесс влияет состав субстрата [25]. С другой стороны, степень кристалличности нативной целлюлозы зависит от типа растительной биомассы, увеличиваясь в ряду: травянистые растения < древесина < лубяные волокна < хлопковые волокна [17]. Поэтому не исключено, что для нативных целлюлазных комплексов, продуцируемых почвенными микромикетами, эффекторная роль фторидов в целом может оказаться положительной, и это компенсирует снижение скорости редукации растительного субстрата, вызванное нарушением видовой структуры почвенных микоценозов, длительное время обитающих в условиях постоянного воздействия аэропромвыбросов алюминиевых производств.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Каницкая Л.В., Колмогоров А.В. Влияние газовых выбросов при производстве алюминия на состояние окружающей среды // Успехи современного естествознания. 2009. 8. С. 17–18.
2. Евдокимова Г.А., Мозгова Н.П. Оценка загрязнения почв и растений в зоне воздействия газовой воздушной среды алюминиевого завода // Теоретическая и прикладная экология. 2015. N 4. С. 64–68. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2015-4-064-068>
3. Берсенева О.А., Саловарова В.П., Приставка А.А., Мелентьев В.А. Видовая структура почвенных микроценозов в серых лесных почвах Прибайкалья, подверженных воздействию аэропромвыбросов алюминиевого производства // Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2010. N 1. С. 24–29.
4. Евдокимова Г.А., Корнейкова М.В., Лебедева Е.В. Сообщества микромицетов в почвах в зоне воздействия алюминиевого завода // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41. N 1. С. 20–28.
5. Благодатская Е.В., Семенов М.В., Якушев А.В. Активность и биомасса почвенных микроорганизмов в изменяющихся условиях окружающей среды. М.: Изд-во ООО «Товарищество научных изданий КМК», 2016. 243 с.
6. Katiyar P., Pandey N., Sahu K.K. Biological approaches of fluoride remediation: potential for environmental clean-up // Environmental Science and Pollution Research. 2020. Vol. 27. P. 13044–13055. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08224-2>
7. Евдокимова Г.А., Зенкова И.В., Мозгова Н.П., Переверзев В.Н. Почва и почвенная микробиота в условиях загрязнения фтором. Апатиты: Изд-во Кольского научного центра РАН, 2005. 135 с.
8. Макарова А.П., Буковская Н.Е., Напрасникова Е.В. Воздействие аэротехногенных выбросов алюминиевых производств в Иркутской области на почвенную микробиоту // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. 2017. Т. 19. С. 57–62.
9. Горностаева Е.А., Фукс С.Л. Влияние фторсодержащих соединений на живые организмы (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2017. N 1. С. 14–24. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2017-1-014-024>
10. Приставка А.А., Попова И.В. Влияние фторида натрия на ферментативную активность грибных целлюлаз // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2015. N 1 (12). С. 36–46.
11. Клесов А.А., Рабинович М.Л., Синицын А.П., Чурилова И.В., Григораш С.Ю. Ферментативный гидролиз целлюлозы. I. Активность и компонентный состав целлюлазных комплексов из различных источников // Биоорганическая химия. 1980. Т. 6. N 8. С. 1225–1242.
12. Sinitsyn A.P., Osipov D.O., Rozhkova A.M., Bushina E.V., Dotsenko G.S., Sinitsyna O.A., et al. The production of highly effective enzyme complexes of cellulases and hemicellulases based on the *Penicillium verruculosum* strain for the hydrolysis of plant raw materials // Applied Biochemistry and Microbiology. 2014. Vol. 50. Issue 8. P. 761–772. <https://doi.org/10.1134/S0003683814080055>
13. Beheraa B.C., Sethib B.K., Mishra R.R., Dutta S.K., Thatoi H.N. Microbial cellulases – Diversity & biotechnology with reference to mango grove environment: A review // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 2017. Vol. 15. Issue 1. P. 197–210. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2016.12.001>
14. Thygesen A., Oddershede J., Lilholt H., Thomsen A.B., Stahl K. On the determination of crystallinity and cellulose content in plant fibres // Cellulose. 2005. Vol. 12. Issue 6. P. 563–576. <https://doi.org/10.1007/s10570-005-9001-8>
15. Kaschuk J.J., Frollini E. Effects of average molar weight, crystallinity, and hemicelluloses content on the enzymatic hydrolysis of sisal pulp, filter paper, and microcrystalline cellulose // Industrial Crops and Products. 2018. Vol. 15. P. 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.011>
16. Ahvenainen P., Kontro I., Svedström K. Comparison of sample crystallinity determination methods by X-ray diffraction for challenging cellulose I materials // Cellulose. 2016. Vol. 23. Issue 2. P. 1073–1086. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-0881-6>
17. Иоелович М.Я. Модели надмолекулярной структуры и свойства целлюлозы // Высокомолекулярные соединения, Серия А. 2016. Т. 58. N 6. С. 604–624. <https://doi.org/10.7868/S2308112016060109>
18. Ghose T.K. Measurement of cellulase activity // Pure and Applied Chemistry. 1987. Vol. 59. P. 257–268. <https://doi.org/10.1351/pac198759020257>
19. Рабинович М.Л., Клесов А.А., Березин И.В. Кинетика действия целлюлолитических ферментов из *Geotrichum candidum*. Вискозиметрический анализ кинетики гидролиза карбоксиметилцеллюлозы // Биоорганическая химия. 1977. Т. 3. N 3. С. 405–414.
20. Klyosov A.A., Mitkevich O.V., Sinitsyn A.P. Role of the activity and adsorption of cellulases in the efficiency of the enzymic hydrolysis of amorphous and crystalline cellulose // Biochemistry. 1986. Vol. 25. Issue 3. P. 540–542. <https://doi.org/10.1021/bi00351a003>
21. Saloheimo M., Nakari-Setälä T., Tenkanen M., Penttilä M. cDNA cloning of a *Tricho-*

derma reesei cellulase and demonstration of endoglucanase activity by expression in yeast // European Journal of Biochemistry. 1997. Vol. 249. Issue 2. P. 584–591. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1997.00584.x>

22. Pristavka A.A., Salovarova V.P., Zacchi G., Berezint I.V., Rabinovich M.L. Enzyme Recovery in High-Solids Enzymatic Hydrolysis of Steam-Pretreated Willow: Requirements for the Enzyme Composition // Applied Biochemistry and Microbiology. 2000. Vol. 36. Issue 3. P. 237–244. <https://doi.org/10.1007/BF02742572>

23. Aghajari N., Feller G., Gerday C., Haser R. Structural basis of α -amylase activation by chloride // Protein Science. 2002. Vol. 11. Issue 6.

P. 1435–1441. <https://doi.org/10.1110/ps.0202602>

24. Linder M., Mattinen M.L., Kontteli M., Lindeberg G., Stihlberg J., Drakenberg T., et al. Identification of functionally important amino acids in the cellulose-binding domain of *Trichoderma reesei* cellobiohydrolase I // Protein Science. 1995. Vol. 4. Issue 6. P. 1056–1064. <https://doi.org/10.1002/pro.5560040604>

25. Evdokimova G.A., Mozgova N.P., Pereverzev V.N. Transformation of plant residues in the soil of a zone exposed to emissions from an aluminum smelter // Eurasian Soil Science. 2013. Vol. 46. Issue 8. P. 908–917. <https://doi.org/10.1134/S1064229313060033>

REFERENCES

1. Kanitskaya LV, Kolmogorov AV. Impact of gas emissions from aluminum production on the environment. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2009;8:17–18. (In Russian)

2. Evdokimova GA, Mozgova NP. Soil and plant pollution assessment in the zone of exposure to gas-air emissions from an aluminum smelter. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya = Theoretical and Applied Ecology*. 2015;4:64-68. (In Russian) <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2015-4-064-068>

3. Berseneva OA, Salovarova VP, Pristavka AA, Milentyev VA. Specific structure of the soil mycocenoses in grey forest soil of pribaikalye subject to influence of emissions of Irkutsk aluminum plant. *Vestnik RUDN. Seriya Ekologiya i bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti = RUDN Journal of Ecology and Life Safety*. 2010;1:24–29. (In Russian)

4. Evdokimova GA, Korneykova MV, Lebedeva EV. Micromycete communities in soils in an aluminum smelter impact area. *Mikologiya i Fitopatologiya = Mycology and Phytopathology*. 2007;41(1):20–28. (In Russian)

5. Blagodatskaya EV, Semenov MV, Yakushev AV. *Activity and biomass of soil microorganisms in changing environmental conditions*. Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK; 2016. 243 p. (In Russian)

6. Katiyar P, Pandey N, Sahu KK. Biological approaches of fluoride remediation: potential for environmental clean-up. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020;27:13044–13055. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08224-2>

7. Evdokimova GA, Zenkova IV, Mozgova NP. *Soil and soil microbiota under fluorine pollution*. Apatity: Kol'skii nauchnyi tsentr RAN; 2005. 135 p. (In Russian)

8. Makarova AP, Bukovskaja NE, Naprasnikova EV. The Impact of Aerotechnogenic Emissions from Aluminum Smelters in the Irkutsk Region on the Soil Microbiota. *Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Biologiya*.

Ekologiya = The Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology. 2017;19:57–62. (In Russian)

9. Gornostaeva EA, Fuks SL. The effect of fluorinated compounds on living organisms (review). *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya = Theoretical and Applied Ecology*. 2017;1:14–24. (In Russian)

10. Pristavka AA, Popova IV. Influence of sodium fluoride on enzymatic activity of fungal cellulases. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2015;1:36–46. (In Russian)

11. Klyosov AA, Rabinowitch ML, Sinitsyn AP, Churilova IV, Grigorash SYu. Enzymatic hydrolysis of cellulose. I. Activity and composition of cellulase complexes from various sources. *Bioorganicheskaya Khimiya = Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 1980;6(8):1225–1242. (In Russian)

12. Sinitsyn AP, Osipov DO, Rozhkova AM, Bushina EV, Dotsenko GS, Sinitsyna OA, et al. The production of highly effective enzyme complexes of cellulases and hemicellulases based on the *Penicillium verruculosum* strain for the hydrolysis of plant raw materials. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2014;50(8):761–772. <https://doi.org/10.1134/S0003683814080055>

13. Beheraa BC, Sethib BK, Mishra RR, Dutta SK, Thatoi HN. Microbial cellulases – Diversity & biotechnology with reference to mangrove environment: A review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2017;15(1):197–210. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2016.12.001>

14. Thygesen A, Oddershede J, Lilholt H, Thomsen AB, Stahl K. On the determination of crystallinity and cellulose content in plant fibres. *Cellulose*. 2005;12(6):563–576. <https://doi.org/10.1007/s10570-005-9001-8>

15. Kaschuk JJ, Frollini E. Effects of average molar weight, crystallinity, and hemicelluloses content on the enzymatic hydrolysis of sisal pulp,

filter paper, and microcrystalline cellulose. *Industrial Crops and Products*. 2018;15:280–289. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.011>

16. Ahvenainen P, Kontro I, Svedström K. Comparison of sample crystallinity determination methods by X-ray diffraction for challenging cellulose I materials. *Cellulose*. 2016;23(2):1073–1086. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-0881-6>

17. Ioelovich MYa. Models of supramolecular structure and properties of cellulose. *Vysokomolekulyarnye soedineniya, Seriya A. = Polymer Science, Series A*. 2016;58:925–943. (In Russian) <https://doi.org/10.1134/S0965545X16060109>

18. Ghose TK. Measurement of cellulase activity. *Pure and Applied Chemistry*. 1987;59:257–268. <https://doi.org/10.1351/pac198759020257>

19. Rabinowitch ML, Klyosov AA, Berezin IV. Kinetics of the action of cellulolytic enzymes from *Geotrichum candidum*. Viscometric analysis of the kinetics of carboxymethyl cellulose hydrolysis. *Bioorganicheskaya khimiya = Russian Journal of Bioorganic Chemistry* 1977;3(3):405–414. (In Russian)

20. Klyosov AA, Mitkevich OV, Sinitsyn AP. Role of the activity and adsorption of cellulases in the efficiency of the enzymic hydrolysis of amorphous and crystalline cellulose. *Biochemistry*. 1986;25(3):540–542 <https://doi.org/10.1021/bi00351a003>

21. Saloheimo M, Nakari-Setälä T, Tenkanen M, Penttilä M. cDNA cloning of a *Trichoderma reesei* cellulase and demonstration of endoglucanase activity by expression in yeast. *European Journal of Biochemistry*. 1997;249(2):584–591. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1997.00584.x>

22. Pristavka AA, Salovarova VP, Zacchi G, Berezint IV, Rabinovich ML. Enzyme Recovery in High-Solids Enzymatic Hydrolysis of Steam-Pretreated Willow: Requirements for the Enzyme Composition. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2000;36(3):237–244. <https://doi.org/10.1007/BF02742572>

23. Aghajari N, Feller G, Gerday C, Haser R. Structural basis of α -amylase activation by chloride. *Protein Science*. 2002;11(6):1435–1441. <https://doi.org/10.1110/ps.0202602>

24. Linder M, Mattinen ML, Kontteli M, Lindeberg G, Stihlberg J, Drakenberg T., et al. Identification of functionally important amino acids in the cellulose-binding domain of *Trichoderma reesei* cellobiohydrolase I. *Protein Science*. 1995;4(6):1056–1064. <https://doi.org/10.1002/pro.5560040604>

25. Evdokimova GA, Mozgova NP, Pereverzev VN. Transformation of plant residues in the soil of a zone exposed to emissions from an aluminum smelter. *Eurasian Soil Science*. 2013;46(8):908–917. <https://doi.org/10.1134/S1064229313060033>

Критерии авторства

Чашина Е.Р., Ефременко З.А., Саловарова В.П., Гавриков Д.Е., Приставка А.А. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, 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

Чашина Екатерина Руслановна,
студент магистратуры,
Иркутский государственный университет
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
e-mail: chashina-ek@mail.ru

Contribution

Ekaterina R. Chashina, Zinaida A. Efremenko, Valentina P. Salovarova, Dmitrii E. Gavrikov, Aleksey A. Pristavka carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict 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.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina R. Chashina,
Master Student,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
e-mail: chashina-ek@mail.ru

Ефременко Зинаида Александровна,
аспирант,
Иркутский государственный университет
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
e-mail: makar.efremenko@mail.ru

Саловарова Валентина Петровна,
д.б.н., профессор,
заведующая кафедрой физико-химической
биологии, биоинженерии и биоинформатики,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
e-mail: vsalovarova@rambler.ru

Гавриков Дмитрий Евгеньевич,
к.б.н., доцент кафедры
естественнонаучных дисциплин,
Педагогический институт Иркутского
государственного университета,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
e-mail: dega.irk@gmail.com

Приставка Алексей Александрович,
к.б.н., доцент кафедры физико-химической
биологии, биоинженерии и биоинформатики,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
e-mail: pristavk@gmail.com

Zinaida A. Efremenko,
Postgraduate Student,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
e-mail: makar.efremenko@mail.ru

Valentina P. Salovarova,
Dr. Sci. (Biology), Professor,
Head of the Department of Physico-Chemical
Biology, Bioengineering and Bioinformatics
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
e-mail: vsalovarova@rambler.ru

Dmitrii E. Gavrikov,
Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Department of Natural Sciences,
Pedagogical Institute, Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
e-mail: dega.irk@gmail.com

Aleksey A. Pristavka,
Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Department of Physico-Chemical Biology,
Bioengineering and Bioinformatics,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
e-mail: pristavk@gmail.com

Оригинальная статья / Original article

УДК 581.19:546

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-274-283>

Влияние салицилата натрия на физиолого-биохимические показатели проростков пшеницы при действии тяжелых металлов

© Г.А. Абилова

Дагестанский государственный университет, г. Махачкала, Российская Федерация

Резюме: Целью настоящей работы являлось изучение влияния сульфата кадмия и сульфата цинка на рост и развитие растений пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) сорта Москвич. Для определения физиолого-биохимических показателей проростков и возможности регулирования их устойчивостью к действию стрессового фактора проводилась предпосевная обработка семян салицилатом натрия (CNa). Семена пшеницы проращивали в растворе 0,1 мМ CNa в течение 3 суток при температуре 21–23 °С, 16-часовом световом дне (освещенность – 3000 лк). На 4-е сутки проростки переносили в пластиковые контейнеры, где они продолжали расти в климатической камере с периодическим поливом растворами солей CdSO₄ и ZnSO₄ концентрацией 10⁻⁶–10⁻³ М. На 7-е сутки эксперимента у проростков измеряли длину и сырую массу корневой системы и побегов, активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и фермента супероксиддисмутазы (СОД) в клетках листьев, а также содержание пролина в листьях и корнях проростков пшеницы. Установлено, что для выявления различий в действии ионов кадмия и цинка на растения пшеницы использования только биометрических показателей недостаточно. В наших исследованиях показателем развития окислительного стресса в клетках проростков пшеницы под действием CdSO₄ и ZnSO₄ служило определение активности ПОЛ и содержание пролина. При одних и тех же концентрациях солей только CdSO₄ способствовал усилению активности ПОЛ и образованию пролина, что могло быть сигналом для запуска защитных реакций клетки. Низкая активность СОД в этих условиях – это, возможно, результат того, что именно пролин уменьшает образование активных форм кислорода либо путем обрыва каскада свободно-радикальных реакций, либо ингибированием фермента CdSO₄. Соль ZnSO₄ – менее токсична, так как в диапазоне тех же концентраций не вызывает увеличения содержания продуктов ПОЛ и пролина. Действие CNa на эти показатели зависело от природы тяжелого металла и интенсивности его действия и производило как про-, так и антиоксидантное действие, провоцируя окислительный стресс или защищая от него.

Ключевые слова: салицилат натрия, перекисное окисление липидов, пролин, супероксиддисмутаз, тяжелые металлы

Информация о статье: Дата поступления 24 ноября 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Абилова Г.А. Влияние салицилата натрия на физиолого-биохимические показатели проростков пшеницы при действии тяжелых металлов. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 274–283. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-274-283>

Effect of sodium salicylate treatment on physiological and biochemical parameters of wheat seedlings under the influence of heavy metals

Gulyara A. Abilova

Dagestan State University, Makhachkala, Russian Federation

Abstract: The objective of this work was to study the effect of cadmium sulfate and zinc sulfate on the growth and development of common wheat plants (*Triticum aestivum* L.) of the Moskvich variety. In order to determine the physiological and biochemical parameters of seedlings and the possibility of regulating their resistance to the stress factor, preplanting treatment of seeds with sodium salicylate (CNa) was carried out. Wheat seeds had been germinating in a solution of 0.1 mM CNa for 3 days at a temperature of 21–23 °C and under a 16-hour daily illumination of 3000 lux illuminance. On the 4th day, the seedlings were transferred to plastic containers, where they continued to grow in a climatic chamber under periodic irrigation with solutions of CdSO₄ and ZnSO₄ salts with a concentration of 10⁻⁶-10⁻³ M. On the 7th day of the experiment, the length and fresh weight of the root system and shoots of the seedlings were measured, alongside with the lipid peroxidation (LPO) activity and the enzyme activity superoxide dismutase (SOD) in the cells of the leaves, as well as the content of proline in the leaves and roots of wheat seedlings. It has been found that for establishing the differences in the effect of cadmium and zinc ions on wheat plants using only biometric indicators is not sufficient. In our studies, the determination of LPO activity and proline content served as an indicator of the development of oxidative stress in the cells of wheat seedlings under the influence of CdSO₄ and ZnSO₄. At the same salt concentrations, only CdSO₄ contributed to increased LPO activity and the formation of proline, which could be a signal for triggering the protective reactions of the cell. The low SOD activity under these conditions is probably resulting from the fact that it is proline that reduces the formation of reactive oxygen species either by terminating the cascade of free radical reactions or by inhibiting the CdSO₄ enzyme. ZnSO₄ salt is less toxic, since in the same range of concentrations it does not cause an increase in the content of LPO and proline products. The influence of CNa on these parameters depended on the nature of the heavy metal and the strength of its action, and produced both pro- and antioxidant effects, both provoking oxidative stress or protecting against it.

Keywords: sodium salicylate, lipid peroxidation, proline, superoxide dismutase, heavy metals

Information about the article: Received November 24, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Abilova GA. Effect of sodium salicylate treatment on physiological and biochemical parameters of wheat seedlings under the influence of heavy metals. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):274–283. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-274-283>

ВВЕДЕНИЕ

Цинк и кадмий относят к одной группе химических элементов – тяжелым металлам (ТМ). Общим для этих двух элементов является то, что большие дозы цинка и кадмия оказывают токсическое действие на растения, вызывая образование избыточного количества активных форм кислорода (АФК). Но если цинк является микроэлементом и в качестве компонента ряда ферментных систем участвует в клеточном дыхании, фотосинтезе, регулирует такие процессы, как жаро-, засухо- и солеустойчивость, усиливает рост корневой системы [1], то кадмий негативно влияет на растения даже в относительно невысоких концентрациях [2, 3]. Показано, что повышение содержания кадмия вызывает снижение транспирации, нарушает работу световой и темновой фаз фотосинтеза, уменьшает содержание воды в листьях [4, 5]. В организме растений АФК выполняют двоякую функцию: с одной стороны, они инициируют в клетках окислительный стресс, а с другой – действуют в качестве сигнальных молекул, запускающих активацию адаптивных механизмов, повышающих устойчивость растений к стрессовому фактору. В роли индуктора защитных реакций на действие абиотических факторов, в том числе и

ТМ, участвует салициловая кислота – фенольное соединение со свойствами фитогормона [6–8].

В связи с этим целью настоящей работы было сравнительное изучение влияния сульфата кадмия и сульфата цинка в широком диапазоне концентраций (начиная от минимальных и заканчивая критическими для роста и развития растений пшеницы) на физиолого-биохимические показатели проростков (интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), содержание пролина, активность супероксиддисмутазы (СОД), рост корневой системы и побега) и возможности регулирования их устойчивостью к действию стрессового фактора путем предпосевной обработки семян растворимой формой салициловой кислоты – салицилатом натрия (CNa).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Опыты проводили с 7-суточными проростками пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) сорта Москвич. Семена проращивали на фильтровальной бумаге в чашках Петри в растворе 0,1 mM CNa в течение 3 суток при температуре 21–23 °C, 16-часовом световом дне (освещенность – 3000 лк). Контролем служили семена, проращиваемые при поливе дистиллирован-

ной водой. На 4-е сутки проростки переносили в пластиковые контейнеры, где они продолжали расти в климатической камере с периодическим поливом дистиллированной водой (контроль) и растворами солей CdSO₄ и ZnSO₄ концентрацией 10⁻⁶–10⁻³ М. На 7-е сутки эксперимента действие CdSO₄ и ZnSO₄ на проростки пшеницы оценивали по длине и сырой массе корневой системы и побегов, по активности ПОЛ и фермента СОД в листьях, содержанию пролина в листьях и корнях.

Об интенсивности ПОЛ судили по содержанию вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА), который в кислой среде и при высокой температуре образует окрашенный комплекс с тиобарбитуровой кислотой с максимумом поглощения при 532 нм [9]. Экстракцию и определение свободного пролина осуществляли нингидриновым методом [10]. Определение активности СОД проводили по методу, основанному на способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия [11]. Для изучения влияния CdSO₄ и ZnSO₄ на ростовые процессы в каждой из групп измеряли длину и сырую массу побега и корневой системы. В таблицах и рисунках приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки по трем независимым опытам. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента при 5%-м уровне значимости.

Результаты опытов по влиянию солей ТМ на рост и накопление биомассы проростков пшеницы мягкой сорта Москвич представлены в табл.1 и 2. Было установлено, что CdSO₄ не влиял на рост растений, за исключением корневой системы, где линейные размеры главного корня при концентрации соли 10⁻⁶–10⁻⁵ М были достоверно выше контрольных значений (см. табл. 1). Концентрация CdSO₄ 10⁻⁴М и в большей степени 10⁻³ М оказали токсическое действие на растения пшеницы, что проявлялось в подавлении роста и накоплении биомассы [12, 13].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При добавлении в среду выращивания ZnSO₄ динамика изменений изучаемых параметров роста побега и корня отличалась. Если при всех концентрациях ZnSO₄ не влиял на длину и массу побега, то по мере увеличения концентрации соли с 10⁻⁶ М до 10⁻³ М линейные размеры и масса корневой системы монотонно уменьшались на 17 и 50 % соответственно.

При добавлении в среду выращивания ZnSO₄ динамика изменений изучаемых параметров роста побега и корня отличалась. Если при всех концентрациях ZnSO₄ не влиял на длину и массу побега, то по мере увеличения концентрации соли с 10⁻⁶ М до 10⁻³ М линейные размеры и масса корневой системы монотонно уменьшались на 17 и 50 % соответственно.

Таблица 1

Влияние CdSO₄ на ростовые показатели 7-дневных проростков пшеницы, выросших из семян, обработанных растворами CNa (0,1 мМ)

Table 1

Effect of CdSO₄ on the growth rates of 7-day-old wheat seedlings grown from seeds treated with CNa solutions (0.1 mM)

Концентрация CdSO ₄ , М	Масса, мг		Длина, мм	
	без CNa	0,1 мМ CNa	без CNa	0,1 мМ CNa
	<i>Побег</i>			
Дистиллированная вода	79±3,1	80±1,9	152±2,5	159±1,9
10 ⁻⁶	88±3,0	96±2,3**	159±3,0	173±2,3***
10 ⁻⁵	81±3,3	86±4,1	158±3,3	167±4,1*
10 ⁻⁴	66±3,3*	63±2,4**	137±3,3*	141±2,4*
10 ⁻³	58±2,4*	67±1,2***	125±2,4*	121±1,2*
	<i>Корень</i>			
Дистиллированная вода	48±3,7	57±3,8	137±2,7	148±3,0**
10 ⁻⁶	50±3,2	60±3,7	152±4,5*	151±4,4
10 ⁻⁵	56±2,5	60±2,5	152±2,7*	161±3,7*
10 ⁻⁴	51±2,2	51±1,7	102±5,0*	120±3,9***
10 ⁻³	24±2,8*	29±0,8*	71±2,0*	59±1,9***

Примечание к табл. 1–4 и к рис.1–4. Представлены данные – среднее арифметическое опытов с их стандартными ошибками;

* – статистически достоверные различия при P ≤ 0,05 по сравнению с исходным уровнем;

** – статистически достоверные различия при P ≤ 0,05 по сравнению с той же серией опытов, но после обработки 0,1 мМ CNa.

Comments to tables 1-4 and to figures 1-4:

The data presented are the arithmetic mean of experiments with their standard errors;

*- statistically significant differences at P ≤ 0.05 compared with the initial level;

** - statistically significant differences at P ≤ 0.05 compared with the same series of experiments, but after treatment with 0.1 mM CNa.

Таблица 2

Влияние $ZnSO_4$ на ростовые показатели 7-дневных проростков пшеницы, выращенных из семян, обработанных растворами CNa (0,1 мМ)

Table 2

Effect of $ZnSO_4$ on the growth rates of 7-day-old wheat seedlings grown from seeds treated with CNa solutions (0.1 mM)

Концентрация $ZnSO_4$ (M)	Масса, мг		Длина, мм	
	без CNa	0,1 мМ CNa	без CNa	0,1 мМ CNa
	<i>Побеги</i>			
Дистиллированная вода	79±3,1	80±1,9	152±2,5	159±2,9
10^{-6}	81±1,8	80±1,6	156±2,2	158±1,6
10^{-5}	81±2,0	79±1,8	155±2,4	158±1,5
10^{-4}	77±1,5	76±1,7	152±2,0	155±2,2
10^{-3}	78±1,6	77±1,6	150±1,9	145±1,4*
	<i>Корень</i>			
Дистиллированная вода	48±3,7	57±3,8	137±2,7	148±3,0**
10^{-6}	40±1,4	44±1,2	139±2,9	150±2,4**
10^{-5}	42±1,1	41±1,4	130±2,1	135±2,7*
10^{-4}	43±1,2	48±1,5	92±1,6*	101±2,8***
10^{-3}	24±0,8*	26±1,1*	44±1,6*	47±1,8*

Таким образом, результаты, полученные относительно различной ответной реакции побегов и корней на действие ионов кадмия и цинка, подтверждают имеющиеся литературные данные о большей токсичности кадмия по сравнению с цинком. Также показано, что зависимость доза-эффект для $CdSO_4$, но не для $ZnSO_4$, носит немонотонный характер, когда низкие концентрации соли стимулируют, а высокие – подавляют рост и накопление биомассы проростков.

Растения пшеницы, обработанные CNa и далее подвергнутые действию солей ТМ, слабо, но реагировали на $CdSO_4$ и $ZnSO_4$ (см. табл. 1, 2). В присутствии $CdSO_4$ CNa оказывал протекторное действие в концентрации 10^{-3} М на массу побегов и при концентрации 10^{-4} М – на длину корней, способствуя росту и накоплению биомассы проростков в большей степени, чем при действии только $CdSO_4$. В случае $ZnSO_4$ CNa оказывал протекторное действие только при концентрации 10^{-4} М, стимулируя рост корневой системы проростков.

Известно, что в основе стрессорных реакций растений при действии ТМ лежит возникновение окислительного стресса. В качестве индикаторного показателя его развития в клетках растений используют определение активности ПОЛ.

При действии на растения $CdSO_4$ в концентрации 10^{-6} – 10^{-3} М уровень МДА в листьях растений увеличивался в 1,1–1,2 раза, достигая максимального и достоверного значения по сравнению с контролем при концентрации соли 10^{-3} М (рис. 1). В случае $ZnSO_4$ все дозы металла не влияли на интенсивность ПОЛ, содержание МДА колебалось вокруг контрольных значений (рис. 2). Обнаруженные различия в

активности ПОЛ при действии солей кадмия и цинка в возрастающих концентрациях также подтверждают многочисленные литературные данные о большей токсичности кадмия по сравнению с цинком [14].

Обработка CNa не повлияла на уровень ПОЛ в листьях контрольных растений, но изменила его после обработки солями ТМ. В случае действия низких концентраций $CdSO_4$ наблюдалось достоверное снижение содержания МДА по сравнению с той же серией опытов, но без обработки CNa. В присутствии 10^{-3} М $CdSO_4$ CNa способствовал еще большему усилению ПОЛ.

Совместное действие CNa и $ZnSO_4$ не влияло на процессы ПОЛ, за исключением концентрации $ZnSO_4$ 10^{-3} М, когда присутствие CNa способствовало значительному и достоверному снижению на 25 % содержания МДА в листьях пшеницы по сравнению со значениями, полученными только при действии $ZnSO_4$, и на 22 % по сравнению с теми, где проростки подвергались действию только CNa.

Активация ПОЛ может служить сигналом для запуска защитных реакций клетки. Одной из неспецифических реакций в ответ на действие неблагоприятных факторов, в том числе и ТМ, является повышение содержания свободного пролина – вещества, обладающего полифункциональным действием: пролин отвечает за антиоксидантные, осмопротекторные, шаперонные, сигнально-регуляторные и другие функции [15, 16].

Результаты исследования влияния кадмия и цинка на содержание свободного пролина в листьях проростков пшеницы представлены в табл. 3 и 4. Стресс-зависимую аккумуляцию пролина оценивали после 4 суток выращивания

ния растений в присутствии CdSO_4 и ZnSO_4 . Начиная с концентрации CdSO_4 10^{-5} М происходило увеличение эндогенного пролина, которое было тем более значительным, чем выше была концентрация кадмия в среде выра-

щивания. Максимальное содержание пролина наблюдалось при концентрации соли 10^{-3} М: в листьях и корнях оно было выше контрольных значений соответственно в 2,6 и 3,9 раза.

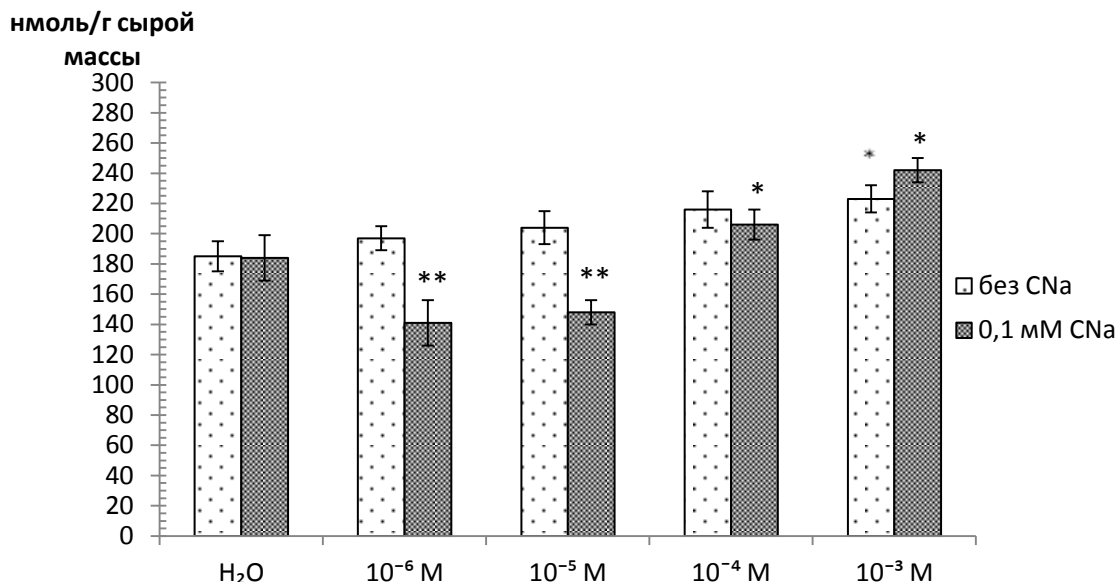


Рис. 1. Влияние CdSO_4 на активность ПОЛ в листьях 7-дневных проростков пшеницы после 3-дневной экспозиции семян в растворе CNa (0,1 мМ)

Fig. 1. Effect of CdSO_4 on activity of lipid peroxidation in leaves of 7-day-old wheat seedlings after 3 days exposure of seeds in CNa solution (0.1 mM)

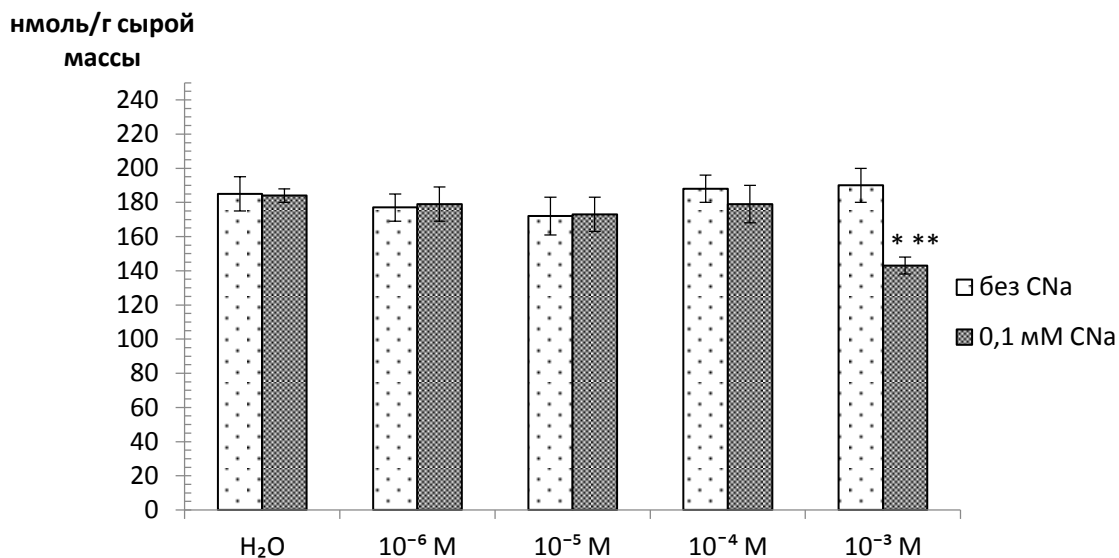


Рис. 2. Влияние ZnSO_4 на активность ПОЛ в листьях 7-дневных проростков пшеницы после 3-дневной экспозиции семян в растворе CNa (0,1 мМ)

Fig. 2. Effect of ZnSO_4 on activity of lipid peroxidation in leaves of 7-day-old wheat seedlings after 3 days exposure of seeds in CNa solution (0.1 mM)

Таблица 3

Влияние $CdSO_4$ на содержание пролина (мкМ/г сырой массы) в листьях и корнях 7-дневных проростков пшеницы после 3-дневной экспозиции семян в растворе CNa (0,1 мМ)

Table 3

Effect of $CdSO_4$ on the proline content ($\mu M / g$ wet weight) in the leaves and roots of 7-day-old wheat seedlings after 3-day exposure of seeds in CNa solution (0.1 mM)

Концентрация $CdSO_4$ (M)	Листья		Корни	
	без CNa	0,1 мМ CNa	без CNa	0,1 мМ CNa
Дистиллированная вода	1,46±0,05	1,43±0,05	1,39±0,08	1,49±0,06
10^{-6}	1,50±0,10	1,30±0,07	1,61±0,04*	1,43±0,06
10^{-5}	1,69±0,04*	1,59±0,06	1,98±0,06*	1,30±0,16
10^{-4}	2,73±0,06*	6,22±1,65***	2,52±0,02*	5,00±0,34***
10^{-3}	3,78±0,21*	7,04±0,14***	5,36±0,46*	7,44±0,25***

Таблица 4

Влияние $ZnSO_4$ на содержание пролина (мкМ/г сырой массы) в листьях и корнях 7-дневных проростков пшеницы после 3-дневной экспозиции семян в растворе CNa (0,1 мМ)

Table 4

Effect of $ZnSO_4$ on the proline content ($\mu M / g$ wet weight) in the leaves and roots of 7-day-old wheat seedlings after 3-day exposure of seeds in CNa solution (0.1 mM)

Концентрация $ZnSO_4$ (M)	Листья		Корни	
	без CNa	0,1 мМ CNa	без CNa	0,1 мМ CNa
Дистиллированная вода	1,46±0,05	1,43±0,05	1,39±0,08	1,49±0,06
10^{-6}	1,46±0,03	1,24±0,05***	1,34±0,10	1,24±0,01**
10^{-5}	1,30±0,03*	1,25±0,04	1,51±0,16	1,25±0,16
10^{-4}	1,35±0,03	1,34±0,04	1,52±0,07	1,19±0,03***
10^{-3}	1,34±0,04	1,24±0,04***	2,40±0,20*	1,57±0,15**

Изменение содержания пролина в листьях проростков при действии $ZnSO_4$ коррелировало с изменениями содержания МДА, когда с увеличением концентрации соли содержание аминокислоты снижалось, но не достигало достоверного уровня различий. Напротив, в клетках корневой системы с увеличением концентрации соли увеличивалось и содержание пролина, которое при концентрации $ZnSO_4$ 10^{-3} М было в 1,7 раза выше контрольного значения.

Обнаруженные различия в содержании пролина в присутствии CNa зависели от природы металла и его концентрации. Так, при концентрациях $CdSO_4$ 10^{-5} М и ниже CNa способствовал уменьшению аккумуляции пролина, а при концентрациях 10^{-4} М и выше – вызывал прооксидантный эффект, способствуя еще большему образованию аминокислоты по сравнению с действием только $CdSO_4$.

CNa в растениях, подвергнутых действию $ZnSO_4$, напротив, оказывал влияние как антиоксидант при всех концентрациях соли, снижая образование пролина в листьях и корнях пшеницы.

Важную роль в защите клеток растений от АФК играет фермент СОД. Согласно литературным данным, салициловая кислота обеспечивает формирование адаптивных реакций

растений путем изменения активности ряда ферментов, в том числе СОД, превращающего супероксидный анион-радикал в стабильную АФК-форму – пероксид водорода, который, в свою очередь, осуществляет передачу стрессового сигнала в геном клетки [17–19].

Полученные данные показывают, что различий в интенсивности работы фермента между опытными и контрольными вариантами при действии $CdSO_4$ обнаружено не было (рис. 3). В присутствии же $ZnSO_4$ наблюдалась иная картина (рис. 4), когда с увеличением концентрации соли активность СОД увеличивалась, а при концентрации $ZnSO_4$ 10^{-3} М она была наибольшей (в 1,6 раза выше контрольных значений).

По-видимому, в случае действия $CdSO_4$ причиной снижения активности СОД может быть нейтрализация пролином избыточного количества супероксидного радикала, являющегося индуктором фермента, или высокая чувствительность цитозольной изоформы Cu,Zn-СОД к действию кадмия, но не цинка.

CNa в опытах с $CdSO_4$ повышал активность СОД тем больше, чем выше была концентрация соли, и, напротив, в случае с $ZnSO_4$ активность СОД снижалась до уровня контроля.

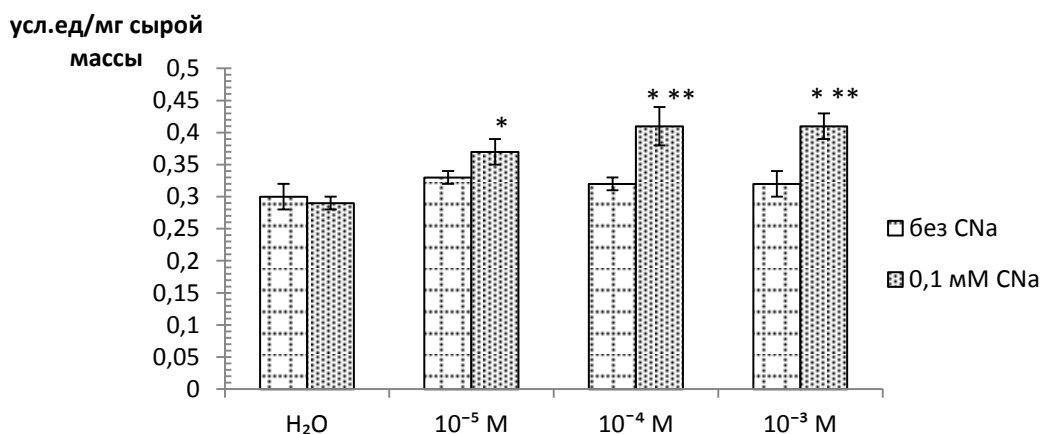


Рис. 3. Влияние CdSO₄ на активность СОД (усл. ед/мг сырой массы) в листьях пшеницы, выросших из семян, обработанных раствором CNa (0,1 мМ)

Fig. 3. Effect of CdSO₄ on SOD activity (conventional units / mg wet weight) in wheat leaves grown from seeds treated with CNa solution (0.1 mM)

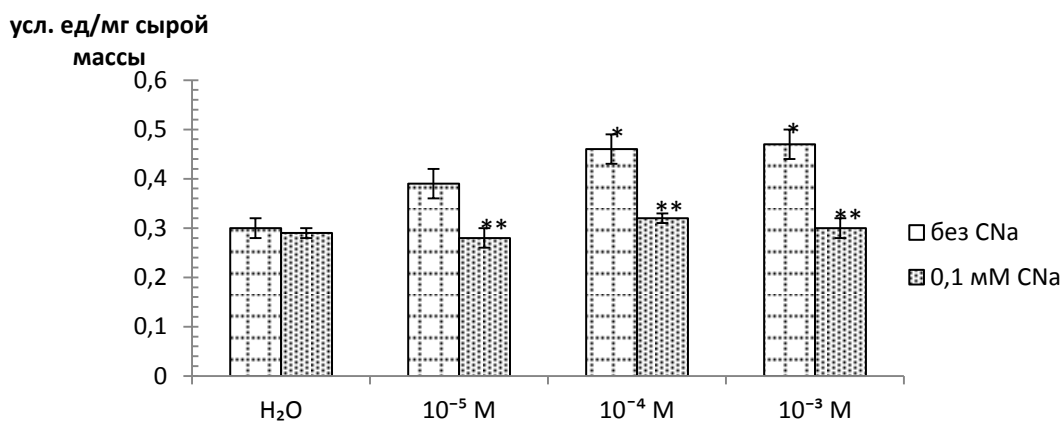


Рис. 4. Влияние ZnSO₄ на активность СОД (усл.ед/мг сырой массы) в листьях пшеницы, выросших из семян, обработанных раствором CNa (0,1мМ)

Fig. 4. Effect of ZnSO₄ on SOD activity (conventional units / mg wet weight) in wheat leaves grown from seeds treated with a CNa solution (0.1 mM)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили установить, что растения пшеницы сорта Москвич положительно реагировали на присутствие в среде выращивания соли CdSO₄ в концентрациях 10⁻⁶-10⁻⁴ М. Более высокие концентрации CdSO₄ и ZnSO₄ ингибировали рост побегов и особенно корней. Поэтому для выявления различий в действии ионов Cd²⁺ и Zn²⁺ использовать только биометрические показатели проростков пшеницы недостаточно.

Исходя из данных, полученных по изуче-

нию активности ПОЛ, СОД и содержания пролина, можно сделать вывод о том, что кадмий является более токсичным металлом, присутствие которого в среде выращивания стимулирует процессы ПОЛ. Высокое содержание пролина и низкая активность СОД при действии CdSO₄ свидетельствуют о том, что именно пролин путем обрыва каскада свободно-радикальных реакций, запускаемых супероксид-радикалом, пероксид-радикалом или гидроксил-радикалом, уменьшает содержание АФК [20]. Низкий уровень активности СОД в

этих условиях может быть обусловлен ингибированием фермента CdSO₄.

ZnSO₄ – соль менее токсичного металла, в диапазоне концентраций 10⁻⁶–10⁻³ М не вызывает стресса у растений, о чем свидетельствует низкое содержание продуктов ПОЛ и пролина в листьях пшеницы. Увеличение активности СОД может быть обусловлено активированием фермента ионами цинка цитозольной изоформы СОД – CuZn-СОД.

Предпосевная обработка пшеницы раствором СNa и последующее действие ТМ привело к изменению существующего в оптимальных условиях внутриклеточного баланса между скоростью образования и разрушения АФК. СNa в зависимости от природы ТМ и интенсивности его действия производил про- или антиоксидантное действие, провоцируя окислительный стресс или защищая от него.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Krämer U. Meta I hyperaccumulation in plants // Annual Review of Plant Biology. 2010. Vol. 61. P. 517–534. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112156>
2. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения: монография. Петрозаводск: Изд-во Института биологии Карельского научного центра РАН, 2014. 194 с.
3. Baker A.J.M., Walker P.L. Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity // Chemical Speciation & Bioavailability. 1989. Vol. 1. Issue 1. P. 7–17. <https://doi.org/10.1080/09542299.1989.11083102>
4. Макарова Е.А., Солдатов С.А. Действие тяжелых металлов на рост и развитие растений люцерны (*Medicago varia* T. Martyn) // Известия Пензенского государственного педагогического университета им. В.Г. Белинского. 2012. N 29. С. 62–68.
5. Maksymiek W. Signaling responses in plants to heavy metal stress // Acta Physiologiae Plantarum. 2007. Vol. 29. P. 177–198. <https://doi.org/10.1007/s11738-007-0036-3>
6. Chao Y.-Y., Chen C.-Y., Huang W.-D., Kao C.H. Salicylic acid-mediated hydrogen peroxide accumulation and protection against Cd toxicity in rice leaves // Plant and Soil. 2010;329(1):327–337. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0161-4>
7. Фенько А.А., Репкина Н.С., Таланова В.В. Влияние салициловой кислоты на холодостойчивость проростков огурца // Труды Карельского научного центра РАН. 2015. N 11. С. 26–34. <https://doi.org/10.17076/eb188>
8. Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Стресс-протекторные эффекты салициловой кислоты и ее структурных аналогов // Физиология и биохимия культурных растений. 2013. Т. 45. N 2. С. 113–126.
9. Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. 1. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Archives of Biochemistry and Biophysics. 1968. Vol. 125. Issue 1. P. 189–198. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
10. Bates L.S. Rapid determination of free proline for stress studies // Plant Soil. 1973. Vol. 39. P. 205–207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
11. Giannopolitis C.N., Ries S.K. Superoxide dismutase. 1. Occurrence in higher plants // Plant Physiology. 1977. Vol. 59. Issue 2. P. 309–314.
12. Ерофеева Е.А., Наумова М.М. Влияние сульфата кадмия в широком диапазоне концентраций на физиолого-биохимические показатели проростков пшеницы // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2010. N 2-2. С. 508–512.
13. Алыбаева Р.А. Устойчивость генотипов пшеницы к тяжелым металлам // Бюллетень государственного Никитского ботанического сада. 2009. N 99. С. 56–60.
14. Михайлова И.Д., Лукаткин А.С. Перекисное окисление липидов в растениях огурца и редиса при действии тяжёлых металлов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 36. N 2. С. 206–210. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2016-16-2-206-210>
15. Абилова Г.А. Влияние ионов кадмия и свинца на рост и содержание пролина в растениях тритикале (*Triticosecale Wittm.*) // Труды Карельского научного центра РАН. Серия: Экспериментальная биология. 2016. N 11. С. 27–33. <https://doi.org/10.17076/eb424>
16. Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Серия: Биология. 2014. Вып. 2 (32). С. 6–22.
17. Бараненко В.В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. 2006. Т. 48. N 6. С. 465–471.
18. Gladkov E.A., Gladkova O.V. Влияние цинка как неблагоприятного экологического фактора на травянистые растения городских экосистем // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2018. Т. 20. N 5 (3). С. 499–500. <https://doi.org/10.24411/1990-5378-2018-00121>
19. Репкина Н.С. Игнатенко А.А., Панфилова К.М., Титов А.Ф., Таланова В.В. Динамика активности супероксиддисмутаза и экспрессии

кодирующих ее генов в листьях пшеницы при холодной адаптации // Труды Карельского научного центра РАН. 2017. N 5. С. 89–98. <https://doi.org/10.17076/eb573>

20. Сазанова К.А., Башмаков Д.И., Лукат-

кин А.С. Генерация супероксидного анион-радикала в листьях растений при хроническом действии тяжелых металлов // Труды Карельского научного центра РАН. 2012. N 2. С. 119–124.

REFERENCES

1. Krämer U. Meta I hyperaccumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2010;61:517–534. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112156>
2. Titov AF, Kaznina NM, Talanova VV. *Heavy metals and plants*. Petrozavodsk: Izdatel'stvo Karelskogo nauchnogo tsentra RAN; 2014. 194 p. (In Russian)
3. Baker AJM, Walker PL. Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity. *Chemical Speciation & Bioavailability*. 1989;1(1):7–17. <https://doi.org/10.1080/09542299.1989.11083102>
4. Makarova EA, Soldatov SA. Effects of heavy metals on plant growth and development of alfalfa (*Medicago varia* T. Martyn). *Izvestia Penzenskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta imeni V.G. Belinskogo*. 2012;29:62–68. (In Russian)
5. Maksymiek W. Signaling responses in plants to heavy metal stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2007;29:177–198. <https://doi.org/10.1007/s11738-007-0036-3>
6. Chao Y-Y, Chen C-Y, Huang W-D, Kao CH. Salicylic acid-mediated hydrogen peroxide accumulation and protection against Cd toxicity in rice leaves. *Plant and Soil*. 2010. Vol. 329. Issue 1. P. 327–337. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0161-4>
7. Fenko AA, Repkina NS, Talanova VV. Salicylic acid effect on the cold tolerance of cucumber seedlings. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2015;11:26–34. (In Russian) <https://doi.org/10.17076/eb188>
8. Kolupaev YuE., Yastreb TO. Stress-protective effects of salicylic acid and its structural analogues. *Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rastenii* = Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants. 2013;45(2):113–126. (In Russian)
9. Heath RL, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. 1. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1968;125(1):189–198. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
10. Bates LS. Rapid determination of free proline for stress studies. *Plant Soil*. 1973;39:205–207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
11. Giannopolitis CN, Ries SK. Superoxide dismutase. 1. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*. 1977;59(2):309–314.
12. Erofeeva EA, Naumova MM. Influence of cadmium sulfate in a wide range of concentrations on physiological and biochemical parameters of wheat seedlings. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo*. 2010;2:508–512. (In Russian)
13. Alybaeva RA. Resistance of winter wheat genotypes to heavy metals. *Bulleten' gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada* = Bulletin of the State Nikitsky Botanical Gardens. 2009;99:56–60. (In Russian)
14. Michailova ID, Lukatkin AS. Lipid Peroxidation in Cucumber and Radish Seedlings Affected by Heavy Metals. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya. Himiya. Biologiya. Ekologiya* = Izvestiya of Saratov University. New series. Series: Chemistry. Biology. Ecology. 2016;36(2):206–210. (In Russian) <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2016-16-2-206-210>
15. Abilova GA. Effect of cadmium and lead ions on the growth and content of proline in plants of triticale (*Triticosecale Wittm. ex A Camus*). *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN. Seriya: Eksperimental'naya biologiya*. 2016;11:27–33. (In Russian) <https://doi.org/10.17076/eb424>
16. Kolupaev YuE, Vayner AA, Yastreb TO. Proline: physiological functions and regulation of its content in plants under stress conditions. *Vestnik Khar'kovskogo natsional'nogo agrarnogo universiteta. Seriya: Biologiya* = The bulletin of Kharkiv national agrarian university. Series Biology. 2014;2:6–22. (In Russian)
17. Baranenko VV. Superoxide dismutase in plant cells. *Tsitologiya*. 2006;48(6):465–471. (In Russian)
18. Gladkov EA, Gladkova OV. Effect of zinc as an adverse ecological factor on the herbaceous plants of urban ecosystems. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk*. 2018;20(5):499–500. (In Russian) <https://doi.org/10.24411/1990-5378-2018-00121>
19. Repkina NS, Ignatenko AA, Panfilova KM, Titov AF, Talanova VV. The dynamics of superoxid dismutase activity and its gene expression in wheat leaves during cold adaptation. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2017;5:89–98. (In Russian) <https://doi.org/10.17076/eb573>
20. Sazanova KA, Bashmakov DI, Lukatkin AS. Generation of superoxide anion in leaves of seedlings under long-term exposure to heavy metals. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2012;2:119–124. (In Russian)

Критерии авторства

Абилова Г.А. выполнила экспериментальную работу, на основании полученных результатов провела обобщение и написала рукопись. Автор несет полную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Автор прочел и одобрил окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Абилова Гуляра Абуталибовна,
к.б.н., доцент кафедры физиологии растений
и теории эволюции,
Дагестанский государственный университет,
367000, г. Махачкала, ул. Гаджиева, 43а,
Российская Федерация,
e-mail: gulyaraabilova@mail.ru

Contribution

Gulyara A. Abilova carried out the experimental work, analyzed the experimental results and prepared the text of the manuscript. Gulyara A. Abilova has exclusive author's rights and bear responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The author declares no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by the author.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Gulyara A. Abilova,
Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Department of Plant and Theory
of Evolution,
Dagestan State University,
43a Gadzieva St., Makhachkala 367000,
Russian Federation,
e-mail: gulyaraabilova@mail.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 631.81

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-284-293>

Получение новых кремнийорганических удобрений и их апробация при моделировании водных стрессов

© Г.Ю. Рабинович, Ю.Д. Смирнова, Н.В. Фомичева

ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева», Москва, Российская Федерация

Резюме: Зачастую растения подвергаются воздействию резкого изменения климатических условий, которые пагубно отражаются на урожае. Перспективным направлением для снижения негативного воздействия абиотических факторов на растения является применение препаратов кремния. Целью данной работы являлось получение кремнийорганических удобрений и их апробация при моделировании абиотических стрессов для растений яровой пшеницы. За основу получения новых кремнийорганических удобрений с защитными свойствами были взяты органические удобрения, разработанные во Всероссийском научно-исследовательском институте мелиорированных земель: компост многоцелевого назначения (КМН) и продукт ферментации (ПФ). Новые кремнийорганические удобрения получали путем добавления метасиликата натрия в КМН и ПФ на стадии их дозревания в количестве 3 и 5 % масс. по SiO_2 . Растворение метасиликата сопровождалось активными процессами щелочного гидролиза, аммонификации и нитрификации, в результате которых повышалось содержание нитратов, гуминовых кислот и соединений кремния в готовых кремнийорганических удобрениях. Апробация новых кремнийорганических удобрений проводилась в лабораторном эксперименте путем моделирования водных стрессов (острый недостаток влаги и избыточная увлажненность почвы) для растений яровой пшеницы сорта Иргина. В целом наибольшая положительная реакция растений отмечена при использовании удобрений, содержащих 3 % SiO_2 . В вариантах с внесением новых удобрений имитирование острого недостатка влаги привело к развитию более мощных растений, характеризующихся незначительным изменением длины проростков на фоне достоверного увеличения их массы (в среднем на 7–10 % относительно исходных ПФ и КМН, не обогащенных кремнием). Моделирование условий избыточной влажности почвы в этих вариантах способствовало увеличению всех биометрических показателей в среднем на 6–11 % относительно исходных ПФ и КМН. Полученные кремнийорганические удобрения призваны уменьшать негативные абиотические воздействия на растения.

Ключевые слова: кремнийорганические удобрения, гуминовые кислоты, нитраты, водный стресс, проростки яровой пшеницы, сырая и сухая масса

Информация о статье: Дата поступления 27 декабря 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Рабинович Г.Ю., Смирнова Ю.Д., Фомичева Н.В. Получение новых кремнийорганических удобрений и их апробация при моделировании водных стрессов. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология.* 2020. Т. 10. N 2. С. 284–293. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-284-293>

Obtaining of new organosilicon fertilisers and their testing via water stress modelling

Galina Yu. Rabinovich, Yulia D. Smirnova, Natalia V. Fomicheva

Federal Research Center V.V. Dokuchaev Soil Science Institute,
Moscow, Russian Federation

Abstract: Under adverse climatic conditions, plants are often exposed to abrupt changes that negatively impact on crop yields. In this connection, a promising direction for reducing the negative impact of abiotic factors on plants consists in the use of silicon preparations. The present study is aimed at the synthesis of organosilicon fertilisers for spring wheat plants and their testing by means of abiotic stress modelling. As the basis for the synthesis of new organosilicon fertilisers with protective properties, the multipurpose compost

(KMN) and fermentation product (PF) developed at the All-Russia Research Institute of Reclaimed Lands were selected. New organosilicon fertilisers were obtained by adding sodium metasilicate in KMN and PF at the aging stage in amounts of 3 and 5 % mass. SiO₂ respectively. The dissolution of metasilicate was accompanied by active processes of alkaline hydrolysis, ammonification and nitrification, resulting in the increased content of nitrates, humic acids and silicon compounds in the finished organosilicon fertilisers. The testing of the obtained fertilisers was carried out in a laboratory experiment by modelling water stresses (acute lack of moisture and excessive soil moisture) for spring wheat plants of the Irgina breed. In general, the most significant positive reaction of plants was observed for fertilisers containing 3 % mass. of SiO₂. In the cases of treatment with new fertilisers, imitation of an acute lack of moisture led to the development of more powerful plants characterised by a slight change in the length of the seedlings against the background of a significant increase in their mass (on average, by 7–10 % relative to the initial PF and KMN not enriched in silicon). Modelling of excess soil moisture in these cases contributed to an increase in all biometric indicators by an average of 6–11 % relative to the initial PF and KMN. Consequently, the obtained organosilicon fertilisers were experimentally shown to reduce negative abiotic effects on plants.

Keywords: organosilicon fertilisers, humic acids, nitrates, water stress, spring wheat seedlings, wet and dry mass

Information about the article: Received December 27, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Rabinovich GYu, Smirnova YuD, Fomicheva NV. Obtaining of new organosilicon fertilisers and their testing via water stress modelling. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):284–293. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-284-293>

ВВЕДЕНИЕ

Нестабильные погодные условия, связанные с резким похолоданием, засухой, проливными дождями, малоснежными зимами являются стрессовыми факторами для растений, которые отрицательно влияют на их рост, развитие и в конечном итоге пагубно сказываются на урожае. В связи с этим актуальное значение приобретает усиление компенсаторной способности сельскохозяйственных культур с целью повышения адаптации растений к внешним условиям. Одним из перспективных решений в данном направлении является применение антидепрессантов и иммуномодулирующих препаратов, к которым относятся различные синтетические и природные препараты, в том числе содержащие кремний. Потенциал кремния привлекает внимание ученых всего мира [1–3].

В качестве кремниевых удобрений используют некоторые горные породы (диатомиты и цеолиты), кремниевую кислоту и ее соль (метасиликат натрия), а также аморфный диоксид кремния [4–8]. Природные источники кремния вносят при предпосевной обработке почвы как отдельно, так и в смеси с органическим носителем (торф, навоз, помет, сапропель). Такие органоминеральные удобрения обеспечивают растения полноценным набором макро- и микроэлементов, способствуя повышению адаптации растений к изменяющимся условиям среды, что выражается в существенной прибавке урожая сельскохозяйственных культур [9–11].

Синтетический кремний используют чаще всего для обработки семян перед посевом и

некорневой обработки растений, что оказывает существенное влияние на содержание азота и фотосинтетических пигментов в растениях и способствует поддержанию продуктивности растений в стрессовых условиях на высоком уровне [12–14]. Существует ряд коммерческих жидких препаратов, содержащих в своем составе кремний, – Силиплант, Мивал-Агро, ЭкСи и др., положительный эффект от применения которых довольно высок [15–17].

Изучено, что, участвуя в физиологии растений, кремний способствует укреплению стенок эпидермальных клеток, обеспечивая жесткость различных органов растения и предотвращая тем самым полегание культуры [1, 14, 15]. Оптимизация кремниевого питания растений приводит к развитию более мощной корневой системы, увеличению площади листьев, усилению фотосинтетических и ферментативных процессов в листьях [3, 12, 14, 18].

Таким образом, оценивая имеющиеся научные наработки, следует подчеркнуть, что применение кремния в технологиях возделывания сельскохозяйственных растений позволяет повысить их устойчивость к стрессовым условиям, результатом чего являются высокие урожаи культур.

Целью данной работы являлось получение новых кремнийорганических удобрений и их апробация при моделировании абиотических стрессов для растений яровой пшеницы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

За основу получения новых кремнийорганических удобрений с защитными свойствами были взяты два органических удобрения, раз-

работанные во Всероссийском научно-исследовательском институте мелиорированных земель (ВНИИМЗ): компост многоцелевого назначения (КМН) и продукт ферментации (ПФ). КМН получают аэробной твердофазной ферментацией органического сырья (птичьего помета, навоза КРС и торфа, патент РФ 2598041), ПФ – аэробно-анаэробной твердофазной ферментацией навоза КРС и торфа (патент РФ 2365568). Оба удобрения имеют рассыпчатую структуру, в своем составе содержат различную микрофлору, элементы питания, физиологически активные вещества и характеризуются санитарно-эпидемиологической чистотой.

Исходная характеристика удобрений КМН и ПФ, применяемых в данном исследовании:

КМН:

- влажность – 60 %;
- $N_{\text{общ}}$ – 1,97±0,07 % а.с.в.;
- P_2O_5 – 2,26±0,11 % а.с.в.;
- K_2O – 1,93±0,08 % а.с.в.;
- С – 21,5±1,3 %;
- pH_{KCl} – 6,08±0,03;
- общее микробное число (ОМЧ) –

5–6·10⁸ КОЕ/г;

ПФ:

- влажность – 63 %;
- $N_{\text{общ}}$ – 1,13±0,04 % а.с.в.;
- P_2O_5 – 1,70±0,09 % а.с.в.;
- K_2O – 1,4 ±0,08 % а.с.в.;
- С – 29,0±1,6 %;
- pH_{KCl} – 6,77±0,05;
- ОМЧ – 7–8·10⁸ КОЕ/г.

В качестве источника кремния использовали водорастворимую соль кремния – метасиликат натрия ($Na_2SiO_3 \cdot 5H_2O$), с содержанием оксида кремния (SiO_2) 28 %.

Получение новых кремнийорганических удобрений осуществляли путем добавления метасиликата натрия в КМН и ПФ на стадии их дозревания: в удобрения вносили метасиликат натрия, тщательно перемешивали и оставляли до полного растворения последнего, затем снова тщательно перемешивали. Дозы вносимого метасиликата натрия определяли, опираясь на литературные данные, с учетом выноса кремния (в виде SiO_2) растениями из почвенного раствора. Исследовали по два образца кремнийорганических удобрений на основе КМН и ПФ – с содержанием 3 и 5 % масс. SiO_2 , что соответствовало соотношению КМН или ПФ к метасиликату натрия 1:0,11 и 1:0,18 (масс.). Образцы новых кремнийорганических удобрений получали дважды. Каждая полученная партия анализировалась на ряд агрохимических и биохимических показателей в трехкратной аналитической повторности: pH_{KCl} (ГОСТ 27979-88); содержание общего

азота (ГОСТ 26715-85), нитратов (ГОСТ 27753.7-88) и гуминовых кислот (ГОСТ 9517-94); величину дегидрогеназной активности (Методы почвенной микробиологии и биохимии, под ред. Д.Г. Звягинцева, 1991). Статистическую обработку полученных данных проводили, используя элементы вариационной статистики: среднеарифметические значения и стандартные отклонения конкретных показателей (объем выборки $n = 6$).

Каждую из двух партий новых кремнийорганических удобрений апробировали в лабораторном эксперименте по выращиванию растений яровой пшеницы сорта Иргина в условиях моделирования стрессовых факторов. Для этого подготовленную дерново-подзолистую почву, имеющую агрохимическую характеристику – pH_{KCl} – 4,36±0,03; P_2O_5 – 222±13 мг/кг; K_2O – 145±9 мг/кг; Нлг. – 58±3 мг/кг; гумус – 3,0±0,2 %, раскладывали в пластиковые контейнеры по 150 г и увлажняли до оптимальной влажности – 70 % от НВ. В почву вносили новые кремнийорганические удобрения, а также исходные КМН и ПФ из расчета 12 т/га (согласно указаниям по применению КМН для данной культуры по ТУ 9841-003-00668732-2011). В каждый контейнер сеяли по 21 шт. семян яровой пшеницы (3 ряда по 7 семян), дезинфицированных 1%-м раствором марганцевокислого калия. В качестве препарата сравнения использовали метасиликат натрия в количестве, равном его внесению с соответствующими новыми удобрениями. Контролем служил вариант без удобрения. Выращивание растений яровой пшеницы проводили в течение 2 недель. Для каждой партии новых кремнийорганических удобрений эксперимент закладывали в трехкратной повторности.

Моделировали следующие стрессовые факторы:

– острый недостаток влаги (засуха), который имитировали путем прекращения полива растений на 5-е сутки после посева; стресс продолжали до начала увядания растений, затем почву увлажняли до 70 % от НВ;

– избыточное увлажнение в фазу всходов (на 5-е сутки после посева) путем дополнительного полива; стресс имитировали до образования неисчезающего слоя воды на поверхности почвы.

Был предусмотрен блок вариантов выращивания яровой пшеницы без водного стресса, в котором поддерживали заданный уровень влажности почвы.

Оценку эффективности новых кремнийорганических удобрений проводили путем определения длин проростков, сырой и сухой массы растений.

Статистическая обработка полученных результатов (объем выборки $n = 126$) включала

определение среднеарифметических значений показателей, проведение однофакторного дисперсионного анализа с вычислением НСР при 5 %-м уровне значимости и ошибки опыта Р.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel 2003 и STATGRAPHICS Centurion XVI.II.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основу получения новых кремнийорганических удобрений составляло взаимодействие органических удобрений КМН и ПФ на стадии дозревания с метасиликатом натрия, что сопровождалось растворением последнего с образованием оксида кремния и щелочи:



В результате происходило ощелачивание получаемых кремнийорганических удобрений: уже через сутки наблюдалось повышение водородного показателя до 12, а спустя месяц произошла стабилизация продукта, и значение

pH установилось на уровне 10 (табл. 1).

Резкое изменение уровня pH приводило к щелочному гидролизу, в результате которого произошло значительное увеличение содержания гуминовых кислот в кремнийорганических удобрениях. На рис. 1 представлено содержание гуминовых кислот в удобрениях в виде среднеарифметических значений со стандартным отклонением, $n = 6$.

Известно, что гуминовые кислоты способны снижать влияние на растения абиотических стрессов, в частности, засухи, заморозков [19, 20]. В данном случае они выступают как транспортный насос, связываясь с необходимыми элементами питания и облегчая их проникновение в растения.

С увеличением дозы введенного метасиликата натрия количество гуминовых кислот возрастало, целом их содержание было больше в новых удобрениях на основе ПФ, максимальное содержание отмечали при внесении 5 % SiO_2 – 13,38 %.

Таблица 1

Агрохимическая характеристика удобрений

Table 1

Agrochemical characteristics of fertilizers

Вариант удобрения	pH		N _{общ} , %		NO ₃ , мг/кг в пересчете на с.в.	
	1 сут.	1 мес.	1 сут.	1 мес.	1 сут.	1 мес.
КМН	6,08±0,03	6,13±0,02	1,97±0,07	2,25±0,11	1842±124	2083±129
КМН + 3 % SiO ₂	12,12±0,03	10,08±0,02	1,64±0,06	1,73±0,04	2218±146	2612±96
КМН + 5 % SiO ₂	12,69±0,05	10,16±0,03	1,49±0,06	1,95±0,07	2512±106	2712±118
ПФ	6,77±0,05	6,53±0,03	1,13±0,04	1,23±0,07	545±41	629±50
ПФ + 3 % SiO ₂	12,07±0,04	9,93±0,05	1,04±0,04	1,07±0,03	1163±79	1273±112
ПФ + 5 % SiO ₂	12,76±0,03	10,24±0,04	0,88±0,02	1,11±0,03	1395±75	1485±107

Примечание. Представлены среднеарифметические значения показателей со стандартным отклонением, $n = 6$.

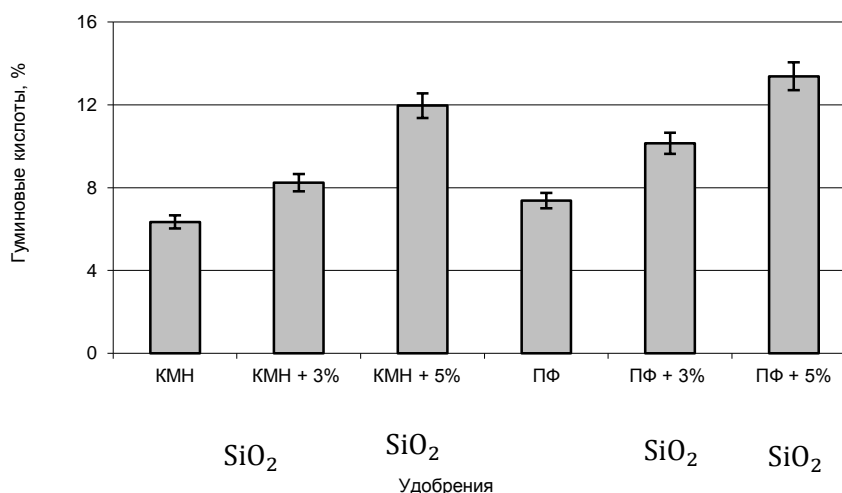


Рис. 1. Содержание гуминовых кислот в удобрениях

Fig. 1. Humic acid content in fertilizers

Помимо этого взаимодействие исходных КМН и ПФ (здесь и далее под исходными КМН и ПФ подразумеваются органические удобрения КМН и ПФ, небогатенные кремнием) с метасиликатом натрия сопровождалось резким запахом аммиака, что свидетельствовало об активно идущих процессах аммонификации. Проведенный на следующий день после смешивания агрохимический анализ показал, что в новых удобрениях снизилось содержание общего азота по сравнению с исходными КМН и ПФ, но при этом возросло количество нитратов (см. табл. 1). Это свидетельствовало о том, что часть аммонийного азота, образовавшаяся в процессе аммонификации, участвовала в процессе нитрификации, а часть – улетучивалась.

Известно, что в основе нитрификации лежит дегидрирование аммиака, осуществляемое ферментом дегидрогеназой¹. Активность указанного фермента в исследуемых удобрениях резко увеличивалась. В новых удобрениях на основе КМН дегидрогеназная активность возрастала с $3,5 \pm 0,2$ до $33,2 \pm 1,4$ мг ТФФ/г/24 ч и $38,1 \pm 1,6$ мг ТФФ/г/24 ч (для 3 и 5 масс. % соответственно), а в удобрениях на основе ПФ – с $5,6 \pm 0,3$ до $33,6 \pm 1,3$ мг ТФФ/г/24 ч при добавлении 3 % масс. SiO_2 и до $44,2 \pm 1,5$ мг ТФФ/г/24 ч при добавлении 5 % масс. SiO_2 .

В результате происходящих в удобрениях процессов трансформации снижение содержания общего азота обратно пропорционально зависело от количества добавленного оксида кремния – от 5 % масс. снижение было больше, чем от 3 %, и наоборот, количество нитратов увеличивалось с возрастанием дозы метасиликата (см. табл. 1).

Поскольку технологии производства КМН и ПФ несколько отличаются, и изначально при получении КМН использовался куриный помет, содержание общего азота и, в частности, нитратов, в КМН было существенно выше, чем в ПФ. При этом в кремнийорганических удобрениях на основе ПФ отмечали более значительное увеличение (~ в 2,0–2,5 раза) содержания нитратов по сравнению с 30 %-м их приростом при получении новых удобрений на основе КМН. Повышение содержания нитратов усиливает защитные свойства получаемых удобрений, поскольку нитраты являются важнейшим компонентом питания культур и позволяют растениям легче перенести негативное воздействие стрессовых факторов.

Корреляционный анализ подтвердил, что при получении кремнийорганических удобрений как на основе КМН, так и на основе ПФ содержание нитратов находилось в линейной зависимости от дегидрогеназной активности, коэффициент корреляции составлял

$r = 0,99$ (при $p < 0,05$).

Таким образом, введение в исходные органические удобрения КМН и ПФ метасиликата натрия усиливало процессы аммонификации и нитрификации, способствовало ошелачиванию удобрений. В результате были получены кремнийорганические удобрения с повышенным содержанием нитратов, гуминовых кислот и соединений кремния. При стрессе у растений запускается ряд биохимических реакций, направленных на снижение негативных воздействий, требующих дополнительных затрат на питание и энергию, которые и призваны компенсировать полученные удобрения.

Эффективность воздействия на растения новых кремнийорганических удобрений целесообразно оценивать, сравнивая варианты их применения с соответствующими вариантами внесения исходных КМН и ПФ. Предваряя детальный анализ полученных результатов, необходимо отметить, что применение КМН и новых удобрений на его основе способствовало более высоким значениям всех исследуемых биометрических показателей яровой пшеницы, что, вероятнее всего, связано с повышенным содержанием нитратов в указанных удобрениях.

Без моделирования стрессовых воздействий внесение кремнийорганических удобрений привело к улучшению биометрических показателей пшеницы, особенно сырой массы проростков. Новые удобрения на основе ПФ показали наиболее существенное увеличение данного показателя – 9–10 %, по отношению к исходному ПФ. В соответствующих вариантах наблюдалось увеличение и сухой массы проростков, но достоверной разницы между новыми удобрениями и исходными не отмечали. Значительные приросты сырой массы по сравнению с сухой можно объяснить тем, что в растительной клетке кремний образует гидрофильные силикатно-галактозные комплексы, связывающие свободную воду и тем самым повышающие водоудерживающую способность клетки и растения в целом [1, 3]. Исследованные биометрические показатели проростков пшеницы представлены в табл. 2, где приняты сокращения: оптим. влажн. (оптимальная влажность) – выращивание растений при оптимальной влажности почвы; недост. влажн. (недостаточная влажность) – выращивание растений при остром недостатке почвенной влаги; избыт. влажн. (избыточная влажность) – выращивание растений при избыточной почвенной влажности.

Имитирование острого недостатка влаги визуально заметно отразилось на растениях пшеницы и во всех вариантах привело к

¹ Агрохимия / Б.А. Ягодин, П.М. Смирнов, А.В. Петербургский, Х.К. Асаров, В.А. Демин, В.Н. Решетникова: учебник для студентов вузов; 2-е изд., перераб. и доп. М.: Агропромиздат, 1989. 639 с.

Таблица 2

Биометрические показатели проростков яровой пшеницы

Table 2

Biometric indicators of spring wheat seedlings

Вариант	Средняя длина 1-го проростка, см			Средняя сырая масса 1-го проростка, $\times 10^{-3}$ г			Средняя сухая масса 1-го проростка, $\times 10^{-3}$ г		
	оптим. влажн.	недост. влажн.	избыт. влажн.	оптим. влажн.	недост. влажн.	избыт. влажн.	оптим. влажн.	недост. влажн.	избыт. влажн.
Без удобрений	21,7	19,7	22,0	106,7	97,6	118,1	12,1	10,3	13,5
КМН исходный	23,7	22,1	23,6	139,0	124,8	160,0	14,2	12,7	16,1
КМН + 3 % SiO ₂	23,6	21,8	25,4	142,9	137,6	176,7	14,5	13,6	16,8
КМН + 5 % SiO ₂	23,0	21,0	24,8	141,4	124,1	164,8	14,3	12,6	16,5
ПФ исходный	22,1	20,3	22,1	120,5	106,7	131,1	13,7	11,8	14,5
ПФ + 3 % SiO ₂	22,3	20,5	23,8	131,4	114,3	144,6	13,9	12,5	16,1
ПФ + 5 % SiO ₂	22,5	20,6	23,3	132,9	115,7	140,8	14,1	12,7	15,4
Метасиликат натрия экв. 3 % SiO ₂ *	21,9	20,7	22,0	116,2	112,9	133,3	13,1	12,0	14,7
Метасиликат натрия экв. 5 % SiO ₂ **	22,0	20,6	22,7	117,1	111,4	131,4	13,5	12,0	14,0
P, %	2,37	2,14	2,33	2,84	2,56	2,82	3,02	2,87	3,25
НСР ₀₅	1,23	1,11	1,30	8,76	7,24	9,57	0,68	0,57	0,75

Примечание. Представлены среднеарифметические значения показателей, $n = 126$;

* – доза метасиликата натрия, эквивалентная его внесению с новыми удобрениями, содержащими 3 % SiO₂;

** – доза метасиликата натрия, эквивалентная его внесению с новыми удобрениями, содержащими 5 % SiO₂.

снижению ее биометрических показателей в сравнении с соответствующими вариантами выращивания культуры при оптимальной влажности почвы. В условиях засухи действие новых кремнийорганических удобрений было более выраженным, разницу в значениях отмечали как по сырой, так и по сухой массе проростков (см. табл. 2). Прирост сырой массы в варианте с содержанием 3 % SiO₂ в КМН составил 10,3 % по сравнению с вариантом КМН, применение удобрения с 3 % SiO₂ на основе ПФ способствовало увеличению на 7,1 %, с 5 % SiO₂ – на 8,4 % по сравнению с вариантом ПФ. Прирост сухой массы проростков составил соответственно: 7,1, 6,0 и 7,6 %. Увеличение сухой массы проростков свидетельствовало о накоплении органических соединений и минеральных элементов растениями, в том числе и кремния, а также наращивании волокнистой части (остова) растений. Незначительные изменения длины проростков на фоне достоверного увеличения их массы свидетельствуют о развитии более мощных, соответственно,

стрессоустойчивых растений, сформированных под влиянием кремнийорганических удобрений.

В проведенном лабораторном эксперименте создание условий избыточной влажности не сопровождалось понижением температуры, вследствие чего биометрические показатели яровой пшеницы в данных вариантах несколько превышали определяемые значения проростков, выращенных без моделирования водных стрессов. Внесение кремнийорганических удобрений способствовало увеличению длины проростков пшеницы относительно соответствующих вариантов применения исходных удобрений. При этом наибольшее увеличение данного биометрического показателя наблюдали в вариантах с внесением удобрений, содержащих 3 % SiO₂: на основе КМН – 7,6 %, на основе ПФ – 6,7 % (см. табл. 2).

Если принять массу проростков, выращенных с применением исходных КМН и ПФ, за 100 %, то диаграмма на рис. 2, а наглядно демонстрирует, что при ошибке опыта 2,82 %

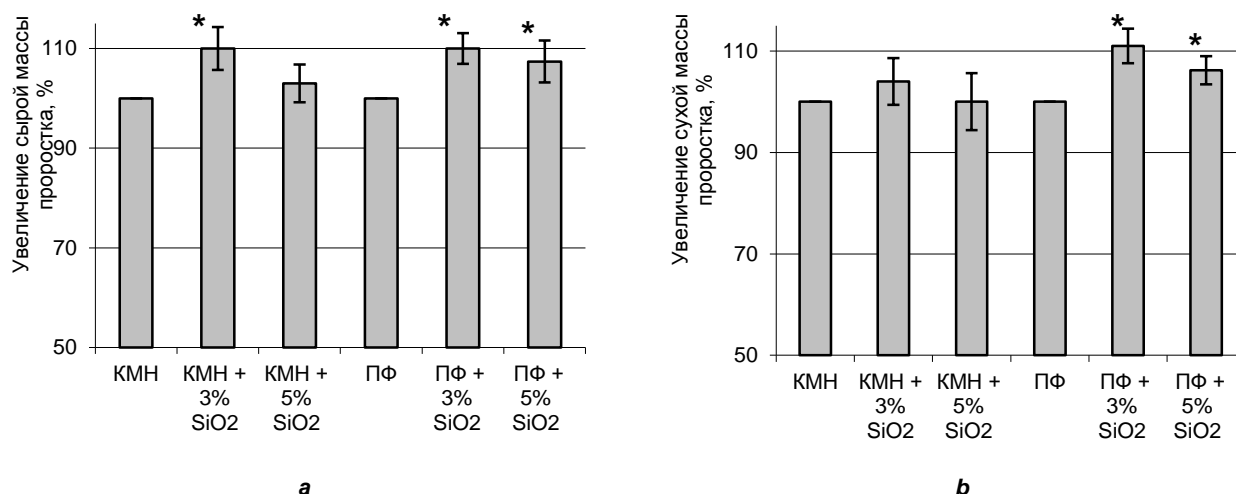


Рис. 2. Влияние кремнийорганических удобрений на массу проростков пшеницы при моделировании избыточного увлажнения почвы: а – сырая масса проростков; б – сухая масса проростков (* – достоверное увеличение массы проростков относительно исходных КМН и ПФ)

Fig. 2. Effect of organosilicon fertilizers on the mass of wheat seedlings when modeling excess soil moisture: a – wet weight of seedlings; b – dry weight of seedlings (* – significant increase in the mass of seedlings relative to the initial KMN and PF)

наибольшее увеличение сырой массы проростков наблюдалось при использовании кремнийорганических удобрений с меньшей дозой метасиликата натрия. Достоверное увеличение сухой массы ($P = 3,25\%$) отмечали в вариантах с применением кремнийорганических удобрений только на основе ПФ (рис. 2, b).

Биометрические показатели яровой пшеницы в вариантах с внесением новых удобрений превосходят соответствующие показатели контрольного варианта без удобрений, причем наибольшая разница отмечена по массе проростков, свидетельствуя о более крепких растениях. Так, при использовании удобрения на основе КМН с содержанием 3 % SiO₂ при оптимальной и стрессовой влажности почвы средняя сырая масса проростков увеличивалась на 33–49 %, сухая масса – на 19–32 %; при внесении нового удобрения на основе ПФ – на 17–23 и 14–21 % соответственно (см. табл. 2).

Анализ биометрических показателей яровой пшеницы в вариантах с применением препарата сравнения метасиликата натрия показал, что как в случаях моделирования острого недостатка влаги и избыточного увлажнения почвы, так и в вариантах с выращиванием растений при оптимальной влажности значения исследуемых биометрических показателей пшеницы уступали вариантам с использованием новых кремнийорга-

нических удобрений (см. табл. 2). При этом по сравнению с вариантом без удобрения средний прирост сырой массы проростка пшеницы составил 9–15 %, сухой массы – 6–16 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены образцы кремнийорганических удобрений на основе компоста многоцелевого назначения и продукта ферментации с добавлением метасиликата натрия. Процесс получения новых удобрений сопровождался увеличением содержания кремния, нитратов и гуминовых кислот, призванных улучшать питание растений как в условиях оптимальной влажности почвы, так и при водных стрессах. Установлено, что применение кремнийорганических удобрений при выращивании яровой пшеницы сорта Иргина в трех водных режимах почвы (оптимальная влажность, острый недостаток влаги и избыточная увлажненность) способствовало увеличению биометрических показателей культуры. Наибольшая положительная реакция растений, выраженная в приросте сырой и сухой массы проростков (~10 % относительно исходных КМН и ПФ), отмечена в случае применения удобрений, содержащих 3 % SiO₂. Как видим, новые кремнийорганические удобрения способствуют формированию более крепких растений, способных легче переносить воздействие абиотических факторов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Козлов А.В., Куликова А.Х., Яшин Е.А. Роль и значение кремния и кремнийсодержащих веществ в агроэкосистемах // Вестник Мининского университета. 2015. N 2 (10). С. 23–32.

2. Sacala E. Role of silicon in plant resistance to water stress // Journal of Elementology. 2009. Vol. 14. Issue 3. P. 619–630. <https://doi.org/10.5601/jelem.2009.14.3.20>

3. Haynes R.J. Significance and role of Si in crop production // *Advances in Agronomy*. 2017. Vol. 146. P. 83–166. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2017.06.001>

4. Матыченков В.В., Кособрюхов А.А., Шабнова Н.И., Бочарникова Е.А. Кремниевые удобрения как фактор повышения засухоустойчивости // *Агрохимия*. 2007. N 5. С. 63–67.

5. Уромова И.П., Копосова Н.Н. Влияние кремнийсодержащей агроруды на продуктивность и качество злаковых культур // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016. N 6-5. С. 908–911.

6. Дабахова Е.В., Забегалов Н.В. Изучение кремнийсодержащих препаратов // *Агрохимический вестник*. 2011. N 2. С. 26–28.

7. Toresano-Sánchez F., Díaz-Pérez M., Diáñez-Martínez F., Camacho-Ferre F. Effect of the application of monosilicic acid on the production and quality of triploid watermelon // *Journal of Plant Nutrition*. 2010. Vol. 33. Issue 10. P. 1411–1421. <https://doi.org/10.1080/01904167.2010.489980>

8. Merwad A.-R. Response of yield and nutrients uptake of pea plants to silicate under sandy soil conditions // *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 2018. Vol. 49. Issue 13. P. 1553–1562. <https://doi.org/10.1080/00103624.2018.1474895>

9. Патент № 2227129, Российская Федерация. Способ приготовления органоминеральной удобрительной смеси / В.Л. Головин, В.Н. Дрыганов, А.В. Зверев; патентообладатель Дальневосточный научно-исследовательский институт гидротехники и мелиорации; заявл. 06.12.2001; опубл. 20.04.2004.

10. Кирейчева Л.В., Яшин В.М. Эффективность применения органоминеральных удобрений на основе сапропеля // *Агрохимический вестник*. 2015. N 2. С. 37–40.

11. Патент № 2223250, Российская Федерация. Полное комплексное органоминеральное удобрение (цеолитовое-3) / Г.В. Васильев; патентообладатель Васильев Геннадий Васильевич; заявл. 02.04.2002; опубл. 10.04.2004.

12. Осипова Л.В., Курносоева Т.Л., Быковская И.А. Повышение адаптивного потенциала ячменя ярового (*Hordeum Vulgare* L.) при дей-

ствии абиотического стресса // *Проблемы агрохимии и экологии*. 2016. N 3. С. 48–51.

13. Слостя И.В. Использование соединений кремния для повышения продуктивности сортов ярового ячменя в условиях водного стресса // *Сельскохозяйственная биология*. 2013. T. 48. N 2. С. 109–119.

14. Maghsoudi K., Emam Y., Pessaraki M. Effect of silicon on photosynthetic gas exchange, photosynthetic pigments, cell membrane stability and relative water content of different wheat cultivars under drought stress conditions // *Journal of Plant Nutrition*. 2016. Vol. 39. Issue 7. P. 1001–1015. <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1109108>

15. Самсонова Н.Е., Козлов Ю.В., Зайцева З.Ф., Шупинская И.А. Эффективность соединений кремния при обработке семян и растений кукурузы (*Zea mays* L.) // *Агрохимия*. 2017. N 1. С. 12–18.

16. Смывалов В.С., Захарова Д.А., Яшин А.Е. Влияние кремнийсодержащих материалов и минерального удобрения на биологическую активность чернозема выщелочного // *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2017. N 3 (39). С. 19–25. <https://doi.org/10.18286/1816-4501-2017-3-19-25>

17. Колмыкова Т.С., Лукаткин А.С., Духовский П., Куликова Н.Н. Эффект препарата Силк в условиях комплексного воздействия температурного и водного стрессов на растения томата // *Сельскохозяйственная биология*. 2012. T. 47. N 1. С. 86–92.

18. Самсонова Н.Е. Капустина М.В., Зайцева З.Ф. Влияние соединений кремния и минеральных удобрений на урожайность яровых зерновых культур и содержание в них антиоксидантных ферментов // *Агрохимия*. 2013. N 10. С. 66–74.

19. Бурмистрова Т.И., Алексеева Т.П., Трунова Н.М., Терещенко Н.Н. Оценка влияния гуминового препарата на урожайность и качество яровой пшеницы // *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2016. N 10 (144). С. 20–24.

20. Чистяков А.В. Гуматы нового поколения // *Защита и карантин растений*. 2012. N 3. С. 5–6.

REFERENCES

1. Kozlov AV, Kulikova AN, Yashin EA. Role and value of silicon and siliceous substances in agroecosystems. *Vestnik Mininskogo universiteta* = *Vestnik of Minin University*. 2015;2:23–32. (In Russian)

2. Sacala E. Role of silicon in plant resistance to water stress. *Journal of Elementology*. 2009;14(3):619–630. <https://doi.org/10.5601/jelem.2009.14.3.20>

3. Haynes RJ. Significance and role of Si in crop production. *Advances in Agronomy*. 2017;146:83–166. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2017.06.001>

4. Matychenkov VV, Kosobryukhov AA, Shabnova NI, Bocharnikova EA. Silicon fertilizers as a factor in increasing drought resistance. *Agrokhimiya*. 2007;5:63–67. (In Russian)

5. Uromova IP, Kuposova NN. Influence of si-

liceous agricultural ore on efficiency and quality of cereal cultures. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2016; 6-5:908–911. (In Russian)

6. Dabakhova EV, Zabegalov NV. Study of silicon containing preparations. *Agrokhimi-cheskiy vestnik = Agrochemical Herald*. 2011;2:26–28. (In Russian)

7. Toresano-Sánchez F, Díaz-Pérez M, Diánez-Martínez F, Camacho-Ferre F. Effect of the application of monosilicic acid on the production and quality of triploid watermelon. *Journal of Plant Nutrition*. 2010;33(10):1411–1421. <https://doi.org/10.1080/01904167.2010.489980>

8. Merwad A-R. Response of yield and nutrients uptake of pea plants to silicate under sandy soil conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 2018;49(13):1553–1562. <https://doi.org/10.1080/00103624.2018.1474895>

9. Golovin VL, Dryganov VN, Zverev AV. *Method for preparing organomineral fertilizing mixture*. Patent RF, no. 2227129; 2001. (In Russian)

10. Kireycheva LV, Yashin VM. Efficiency of organic-mineral fertilizers based on sapropel. *Agrokhimicheskiy vestnik = Agrochemical Herald*. 2015;2:37–40. (In Russian)

11. Vasil'ev GV. *Complete complex organomineral fertilizer (zeolite-3)*. Patent RF, no. 2223250; 2002. (In Russian)

12. Osipova LV, Kurnosova TL, Bykovskaya IA. Protective effect of selenium and silicon in barley plants (*Hordeum Vulgare* L.) in stressful conditions. *Problemy agrokhimii i ekologii*. 2016;3:48–51. (In Russian)

13. Slastyva IV. Use of silicon compounds as a factor of raising spring barley cultivars productivity under water stress. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2013;48(2):109–119. (In Russian)

14. Maghsoudi K, Emam Y, Pessaraki M. Ef-

fect of silicon on photosynthetic gas exchange, photosynthetic pigments, cell membrane stability and relative water content of different wheat cultivars under drought stress conditions. *Journal of Plant Nutrition*. 2016;39(7):1001–1015. <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1109108>

15. Samsonova NE, Kozlov YuV, Zaitseva ZF, Shupinskaya IA. The efficiency of silicon compounds in treatment of Maize (*Zea mais* L.) seeds and plants. *Agrokhimiya*. 2017;1:12–18. (In Russian)

16. Smyvalov VS, Zakharova DA, Yashin AE. Influence of silicon-containing materials and mineral fertilizers on biological activity of leached black soil. *Vestnik Ul'yanovskoi gosudarstvennoi sel'skohozyajstvennoi akademii = Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2017;3:19–25. (In Russian) <https://doi.org/10.18286/1816-4501-2017-3-19-25>

17. Kolmykova TS, Lukatkin AS, Dukhovskis P, Kulikova NN. Effect of Silk preparation in the condition of complex action of temperature and water stress on tomato plants. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*. 2012; 47(1):86–92. (In Russian)

18. Samsonova NE, Kapustina MV, Zaitseva ZF. Effect of silicon compounds and mineral fertilizers on the productivity of spring grain crops and their contents of antioxidant enzymes. *Agrokhimiya*. 2013;10:66–74. (In Russian)

19. Burmistrova TI, Alekseyeva TP, Trunova NM, Tereshchenko NN. The evaluation of peat humic product effect on yield and quality of spring wheat. *Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2016;10:20–24. (In Russian)

20. Chistyakov AV. Humates of the next generation. *Zashchita i karantin rastenii*. 2012;3:5–6. (In Russian)

Критерии авторства

Рабинович Г.Ю., Смирнова Ю.Д., Фомичева Н.В. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, 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

Galina Yu. Rabinovich, Yulia D. Smirnova, Natalia V. Fomicheva carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors 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

Рабинович Галина Юрьевна,
д.б.н., профессор, директор
ВНИИМЗ – филиал ФИЦ «Почвенный
институт им. В.В. Докучаева»,
170530, Тверская обл., Калининский р-н,
п. Эммаус, 27,
Российская Федерация,
e-mail: 2016vniimz-noo@list.ru

Смирнова Юлия Дмитриевна,
к.б.н., старший научный сотрудник
ВНИИМЗ – филиал ФИЦ «Почвенный
институт им. В.В. Докучаева»,
170530, Тверская обл., Калининский р-н,
п. Эммаус, 27,
Российская Федерация,
e-mail: ulayad@yandex.ru

Фомичева Наталья Викторовна,
к.б.н., старший научный сотрудник,
ВНИИМЗ – филиал ФИЦ «Почвенный
институт им. В.В. Докучаева»,
170530, Тверская обл., Калининский р-н,
п. Эммаус, 27,
Российская Федерация,
e-mail: nvfomi@mail.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Galina Yu. Rabinovich,
Dr. Sci. (Biology), Professor,
Director of VNIIMZ – branch of FRC
V.V. Dokuchaev Soil Science Institute,
27, Emmauss Village, Kalininsky District,
170530, Tver Region,
Russian Federation,
e-mail: 2016vniimz-noo@list.ru

Yulia D. Smirnova,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
VNIIMZ – branch of FRC V.V. Dokuchaev Soil
Science Institute,
27, Emmauss Village, Kalininsky District,
170530, Tver Region,
Russian Federation,
e-mail: ulayad@yandex.ru

Natalia V. Fomicheva,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
VNIIMZ – branch of FRC V.V. Dokuchaev Soil
Science Institute,
27, Emmauss Village, Kalininsky District,
170530, Tver Region,
Russian Federation,
e-mail: nvfomi@mail.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 581.1

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-294-302>

Влияние клубеньковых и патогенных бактерий на изменение уровня оксида азота и циклического аденозинмонофосфата в корнях гороха на начальных этапах взаимодействия

© А.А. Ищенко*, Н.В. Филинова*, А.В. Сидоров***

*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,
г. Иркутск, Российская Федерация

**Иркутский государственный медицинский университет,
г. Иркутск, Российская Федерация

Резюме: Врожденный иммунитет растения играет существенную роль на начальных этапах формирования бобово-ризобияльного симбиоза. В связи с этим авторами настоящей работы была изучена динамика концентраций двух сигнальных молекул – оксида азота (NO) и циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), в корнях этиолированных проростков гороха *Pisum sativum* L. при взаимодействии с патогенными (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) и клубеньковыми (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*) бактериями. В краткосрочных опытах обнаружен эндогенный ритм изменения содержания оксида азота в тканях корня проростков гороха, характеризующийся во временной динамике увеличением и снижением уровня оксида азота и зависящий от экзогенных факторов биотической (симбиотические и патогенные бактерии) природы. Подобные флуктуации также были обнаружены при изучении динамики уровня циклического аденозинмонофосфата под влиянием тех же биотических факторов. Наблюдаемые эффекты связаны, возможно, с влиянием на растение определенных экзометаболитов *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (Nod-факторы) и *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (экзополисахариды клеточных стенок), которые активируют врожденный иммунитет бобового растения. При этом различная динамика изменения изучаемых компонентов сигнальных систем растения-хозяина на начальных этапах взаимодействия с симбиотическими и патогенными микроорганизмами имеет различную функцию: при симбиозе регуляторную, а при патогенезе – защитную. Предполагается, что изменение динамики компонентов NO-синтазной и аденилатциклазной сигнальных систем (NO и цАМФ) может быть использовано растением-хозяином в качестве «кода» для передачи сигнала о природе действующего фактора и индукции соответствующих реакций на молекулярном уровне.

Ключевые слова: *Pisum sativum* L., оксид азота, циклический аденозинмонофосфат, биотический стресс, сигнальные системы

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (молодежный грант №18-34-00221 мол_а).

Информация о статье: Дата поступления 24 ноября 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Ищенко А.А., Филинова Н.В., Сидоров А.В. Влияние клубеньковых и патогенных бактерий на изменение уровня оксида азота и циклического аденозинмонофосфата в корнях гороха на начальных этапах взаимодействия. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 294–302. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-294-302>

Effect of nodule and pathogenic bacteria on levels of nitric oxide and cyclic adenosine monophosphate in pea roots at initial stages of interaction

Aleksei A. Ishchenko*, Nadezhda V. Filinova*, Aleksandr V. Sidorov***

*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

**Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: A significant role in the initial stages of rhizobial symbiosis formation in pea plants is performed by innate immunity. In this connection, the present study is focused on the concentration dynamics of two signalling molecules – nitric oxide (NO) and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) – in the roots of etiolated seedlings of the *Pisum sativum* L. pea interacting with pathogenic (*Pseudomonas syringae* pv. Pisi) and nodule (*Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae*) bacteria. In time dynamics experiments, an endogenous rhythm of nitric oxide content changes in the root tissues of pea seedlings was characterised by an increase followed by a decrease in the level of nitric oxide and depending on exogenous biotic factors (symbiotic and pathogenic bacteria). Similar fluctuations were also observed when studying the dynamics of cyclic adenosine monophosphate concentration under the influence of the same biotic factors. The observed effects are assumed to be associated with certain exometabolites of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (Nod-factors) and *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (cell wall exopolysaccharides) influencing the legume plant and activating its innate immunity. Moreover, it is feasible that the different dynamics of changes in the studied components of the host plant signalling systems at the initial stages of interaction with symbiotic and pathogenic microorganisms have a variegated function: regulatory or protective in cases of symbiosis and pathogenesis, respectively. The observed change in the dynamics of the NO-synthase and adenylate cyclase signalling systems (NO and cAMP) components is assumed to be applied by the host plant as a “code” for transmitting a signal concerning the nature of the operating factor and the generation of corresponding reactions at the molecular level.

Keywords: *Pisum sativum* L., nitric oxide, cyclic adenosine monophosphate, biotic stress, signalling systems

Acknowledgments: The study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research (youth project no. 18-03-00168 мол_а).

Information about the article: Received November 24, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Ishchenko AA, Filinova NV, Sidorov AV. Effect of nodule and pathogenic bacteria on levels of nitric oxide and cyclic adenosine monophosphate in pea roots at initial stages of interaction. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):294–302. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-294-302>

ВВЕДЕНИЕ

Клубеньковые бактерии и бобовые растения прошли длительную эволюцию, прежде чем их взаимодействие стало приносить пользу растению-хозяину в виде восстановленного ризобиями *in planta* атмосферного азота. Возникает вопрос: почему ризобии выбрали для своей деятельности бобовые растения? Понимание этой уникальной биологической особенности в перспективе приблизит человека к созданию азотфиксирующего аппарата у небобовых растений и позволит решить проблему

питания растений экологически чистым азотом [1, 2]. Полученные в настоящее время фундаментальные знания создают основу для решения этой проблемы. Однако существует еще много невыясненных вопросов, к которым можно отнести устойчивость бобового растения к проникновению ризобий и участие его врожденных иммунных систем в процессах инфицирования и функционирования N₂-фиксирующего аппарата в клубеньках, а также роль ризобиальных Nod-факторов в подавлении защитных систем растения-хозяина

[3]. Очевидно, что существуют общие молекулярные механизмы, определяющие взаимодействие растительно-бактериальных партнеров. Так, при взаимодействии растений с симбиотическими и патогенными микроорганизмами используются сходные химические сигналы, регуляторные системы и гены вирулентности. Поэтому можно предположить, что на начальных стадиях взаимодействия любые бактерии распознаются как «чужие», что приводит к инициации неспецифического ответа иммунной системы клеток растения [4]. Однако в случае симбиоза защитные реакции растения-хозяина не инициируются, что свидетельствует о снижении устойчивости растения по отношению к этим бактериям, которые, по видимому, блокируют или «обходят» защитные системы растения-хозяина [5, 6].

Таким образом, на начальных стадиях формирования бобово-ризобийный симбиоз имеет сходство с фитопатогенной системой, в становлении и развитии которой наряду с кальцием, фитогормонами и другими компонентами важную роль играют активные формы азота (АФА) [7], к которым относят прежде всего оксид азота (NO) – многофункциональную сигнальную молекулу, управляющую внутриклеточными и межклеточными процессами в животных, бактериальных и растительных организмах [8–11]. Однако имеющейся информации об инициации АФА-сигналинга, сенсорных и ответных механизмах и регуляции баланса между продукцией АФА и их обезвреживанием недостаточно. Также требует пристального внимания изучение механизмов взаимодействия NO с другими компонентами сигнальных систем, из которых следует выделить циклический аденозинмонофосфат (цАМФ), который посредством увеличения уровня кальция может оказывать влияние на интенсивность образования оксида азота [12].

Поскольку все вторичные мессенджеры растений взаимосвязаны и образуют единую сигнальную сеть [13], целью настоящего исследования являлось изучение динамики концентрации двух сигнальных молекул – NO и цАМФ – в корнях проростков гороха при взаимодействии с патогенными и клубеньковыми бактериями.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования служили проростки гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Рондо, выращенные в кюветах на влажной фильтровальной бумаге при температуре 22 °С, в которых в течение часа с интервалом в 10 мин определяли содержание цАМФ и NO. В качестве контроля использовали нулевой отрезок времени. Для экспериментов использовали растения, выращенные на воде без инокуля-

ции, а также растения, инокулированные клубеньковыми бактериями *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* эффективного производственного штамма CIAM 1022, отличающимися умеренной способностью колонизировать корневую систему растения-хозяина, образуя при этом хорошо развитые клубеньки, эффективно фиксирующие азот; неэффективного производственного штамма CIAM 1064, отличающимися тем, что более агрессивно колонизируют корневую систему растения-хозяина, что в свою очередь приводит к образованию на корнях растений гороха большого количества мелких недоразвитых клубеньков, не способных к азотфиксации; патогенными бактериями *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, вызывающими бактериальный ожог гороха.

Для определения уровня оксида азота использовали отрезки корней (3 шт.), взятые у исходных 2-х суточных проростков на расстоянии 5–15 мм от кончика корня. Перед окрашиванием исходные проростки прединкубировали на соответствующем варианту опыта средах в течение определенного периода времени. Затем отрезки помещали в среду для окрашивания (10 мМ Tris HCl буфер, pH = 7,4), содержащую 10 мкМ DAF-2DA (4,5-диаминофлуоресцеин диацетат). Отрезки окрашивали в течение 20 мин (инкубация на скалке при температуре 26 °С). Из окрашенных отрезков корней получали поперечные срезы (не менее 10) толщиной 100–150 мкм и анализировали их на флуоресцентном микроскопе Axio Observer Z1 (Германия) с цифровой монохромной камерой Axio CamMRm3 и пакетом программного обеспечения для захвата и анализа изображений «Axio Vision Rel.4.6» с использованием блока фильтров № 10 с длиной волны возбуждения 450–490 нм, эмиссией 515–565 нм. Интенсивность флуоресцентного свечения выражали в относительных единицах. Результаты исследований представлены в виде графиков, отображающих интенсивность флуоресцентного свечения в клетках.

Количество цАМФ определяли иммуноферментным анализом (ELISA) [14]. Белок в пробе определяли методом Брэдфорда.

Средние значения и их стандартные ошибки вычислены из трех независимых экспериментов, каждый из которых состоял из не менее трех биологических повторностей. Так как сравнение полученных результатов осуществлялось по средним значениям, достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из данных, представленных на рис. 1, у растений без инокуляции наблюдались колебания в уровне оксида азота, кото-

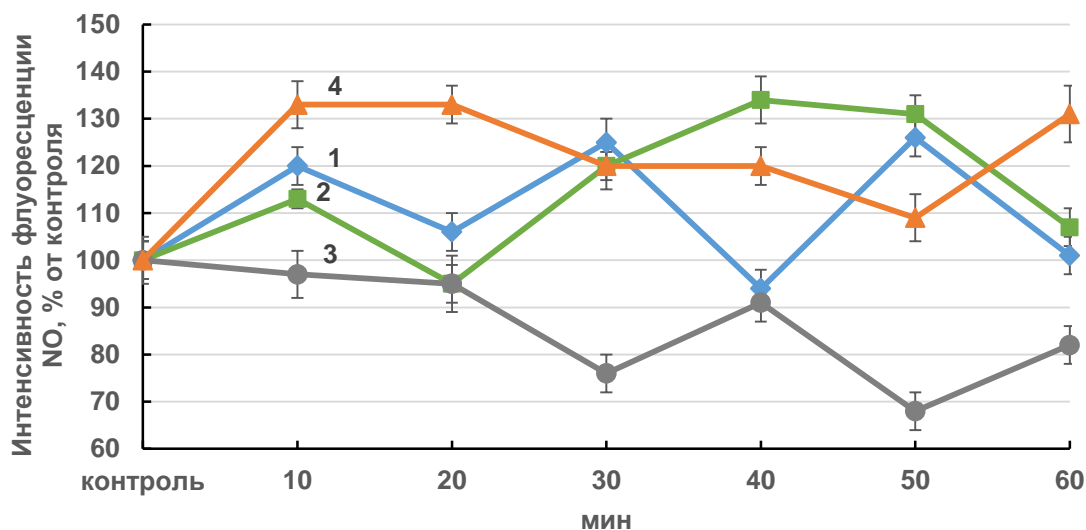


Рис. 1. Интенсивность флуоресценции NO в корнях проростков гороха: 1 – выращенных на воде; 2 – инокулированных *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viceae* (CIAM 1022); 3 – инокулированных *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (CIAM 1064); 4 – зараженных *Pseudomonas syringae* pv. *Pisi*

Fig. 1. Fluorescence intensity of NO in the roots of pea seedlings: 1 – grown on water; 2 – inoculated by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (CIAM 1022); 3 – inoculated by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (CIAM 1064); 4 – infected by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*

рые проявлялись в виде увеличения интенсивности флуоресценции NO через 10, 30 и 50 мин на 20, 25 и 26 % соответственно и снижения ее до уровня контроля через 20, 40 и 60 мин.

Клубеньковые бактерии эффективного производственного штамма также вызывали колебания в динамике NO, которые проявлялись в увеличении его концентрации через 10 и 40 мин и снижении до уровня контроля через 20 и 60 мин. При этом необходимо отметить, что в данном варианте в течение часа наблюдались два различающиеся по продолжительности и силе пика увеличения уровня NO. Первый (от 0 до 20 мин) с максимумом, приходящимся на 10 мин, когда свечение NO увеличилось на 13 % по сравнению с контролем. Второй пик был (от 20 до 60 мин) с максимумом, приходящимся на 40–50 мин, характеризовался большей продолжительностью по сравнению с первым, а также более плавным увеличением NO. При этом интенсивность флуоресценции оксида азота на пике увеличилась на 31–34 % по сравнению с контролем.

Неэффективный производственный штамм ризобий в течение первых 20 мин с начала эксперимента существенного влияния на уровень оксида азота в корнях проростков гороха не оказал. Начиная с 20 мин наблюдались ритмичные колебания в содержании NO, которые проявлялись в снижении свечения NO через 30 и 50 мин на 24 и 32 % соответственно и увеличении практически до уровня контроля через

40 и 60 мин.

Патогенные бактерии *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* в отличие от предыдущих вариантов вызывали резкое (на 33 % по сравнению с контролем) увеличение интенсивности флуоресценции NO в первые 20 мин взаимодействия. В промежутке от 20 до 50 мин уровень NO постепенно снижался – со 133 до 109 %, а к концу эксперимента снова увеличивался на 31 % по сравнению с контролем. Следует отметить, что по сравнению с симбиотическими бактериями при взаимодействии с патогеном содержание NO постоянно находилось на более высоком уровне.

Таким образом, сопоставив полученные результаты о влиянии симбиотических и патогенных бактерий, можно констатировать различное их воздействие на динамику уровня NO в корнях проростков гороха.

Наблюдаемые эффекты связаны, очевидно, с влиянием на растение определенных экзометаболических *Rhizobium* и *Pseudomonas*, которые активируют PAMP-иммунитет (pathogen-associated molecular patterns) клеток проростков гороха. В некоторых публикациях отмечается, что врожденный иммунитет растения играет существенную роль на ранних этапах бобово-ризобияльного взаимодействия [15–17]. У ризобий и бобовых растений основными участниками процесса «узнавания партнеров» являются ризобияльные липохитоолигосахариды (Nod-факторы), синтезирующиеся бактериями в результате экспрессии nod-генов, и

рецептор-подобные киназы (RLKs) бобовых растений. Бактериальный NF-сигналинг тесно взаимодействует с растительными сигнальными системами, в частности с NO-синтазой [18], вторичным мессенджером которой является оксид азота – молекула, обладающая широким спектром биологического действия [8]. Оксид азота уже в первые часы после взаимодействия ризобий и бобового растения обнаруживается в инфекционных нитях, тканях клубеньковой меристемы, в азотфиксирующих клубеньках [8, 9]. Есть данные, что NO может участвовать в регуляции образования клубеньков на корнях бобовых [10], но его высокие концентрации препятствуют инфицированию растений ризобиями и микоризой [11]. Также NO взаимодействует с другими биологическими веществами, например, фитогормонами и АФК [19]. Так, при фитопатогенезе NO совместно с АФК выполняет защитную функцию, формируя системную устойчивость, приобретенную на основе сверхчувствительной реакции клеток [20].

С учетом вышеизложенного можно предположить, что различная динамика интенсивности флуоресценции оксида азота в корнях проростков гороха на начальных этапах взаимодействия с симбиотическими и патогенными бактериями носит неспецифический характер и имеет различную функцию. Так, в случае с эффективным производственным штаммом ризобий, отличающимся умеренной способностью колонизировать растение-хозяина, увеличение концентрации NO связано с запуском механизма, отвечающего за регуляцию численности проникающих бактерий, что на заключительном этапе приводит к образованию оптимального количества клубеньков, которые способны эффективно усваивать атмосферный азот. И наоборот, в случае с более агрессивным штаммом ризобий снижение уровня NO приводит к неконтролируемой колонизации корневой системы, вследствие чего на корнях образуется большое число мелких клубеньков, не способных к азотфиксации. В случае с патогеном увеличение интенсивности флуоресценции оксида азота свидетельствует, очевидно, о запуске защитных реакций растения.

Также обращает на себя внимание период эксперимента от 0 до 20 мин, когда при инокуляции различными по степени вирулентности штаммами клубеньковых бактерий достоверных изменений уровня NO не наблюдалось в отличие от заражения патогеном, когда уровень оксида азота увеличивался с первых минут. Возможно, в этот период времени происходит «узнавание» микроорганизма и запуск соответствующей программы.

На основе анализа литературных данных

можно сделать вывод о том, что биохимическая генерация NO регулируется механизмами, в которых задействован кальций [21, 22]. Однако до конца непонятно, как Ca^{2+} модулирует поток NO в клетках [23]. Имеется ряд доказательств того, что одним из триггеров сигнальных событий в клетках растений при атаке патогенов является аденилатциклазная сигнальная система, когда в первую очередь под воздействием элиситоров активируется трансмембранная аденилатциклаза, что приводит к резкому и кратковременному возрастанию уровня цАМФ. Этот вторичный мессенджер, связываясь со специфическими сайтами нуклеотидрегулируемых ионных каналов, приводит к повышению концентрации внутриклеточного Ca^{2+} , вызывая так называемую кальциевую волну [12]. В свою очередь вход ионов Ca^{2+} в цитоплазму оказывает влияние на генерацию АФА, которые функционируют как многоцелевой регулятор различных механизмов симбиотического процесса [19]. В связи этим немаловажно было установить, какое влияние оказывают симбиотические и патогенные бактерии на изменение уровня циклического аденозинмонофосфата в корнях проростков гороха. Полученные результаты представлены на рис. 2.

При выращивании проростков гороха на воде наблюдалось снижение уровня цАМФ на протяжении всего эксперимента в среднем на 35–40 %. При добавлении в среду инкубации клубеньковых бактерий эффективного производственного штамма CIAM 1022 ярко выраженных изменений в концентрации цАМФ не наблюдалось. В свою очередь на фоне инокуляции неэффективным производственным штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (CIAM 1064) в период 30–50 мин происходило значительное увеличение уровня цАМФ (на 70 %). При заражении *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* цАМФ оставался на уровне контроля за исключением периода 20 мин, когда наблюдалось его увеличение на 30 %.

Таким образом, показано, что при взаимодействии как с симбиотическими, так и с патогенными бактериями уровень цАМФ увеличивался по сравнению с проростками без инокуляции, причем эти изменения приходились на различные периоды взаимодействия. Так, существенные различия в динамике цАМФ при контакте с эффективным штаммом клубеньковых бактерий наблюдались на 30-й мин эксперимента; самый высокий уровень цАМФ при взаимодействии с неэффективным штаммом ризобий отмечен в промежутке от 30 до 50 мин, а заражение патогеном приводило к повышению цАМФ, которое достигало своего максимума к 20 мин.

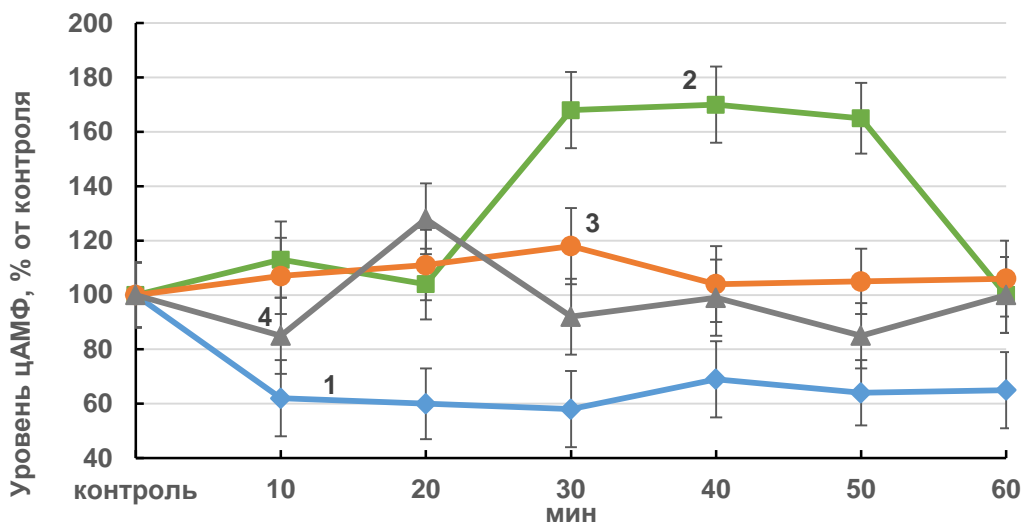


Рис. 2. Динамика уровня цАМФ в корнях проростков гороха: 1 – выращенных на воде; 2 – инокулированных *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (CIAM 1022); 3 – инокулированных *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (CIAM 1064); 4 – зараженных *Pseudomonas syringae* pv. *Pisi*

Fig. 2. Dynamics of cAMP level in the roots of pea seedlings: 1 – grown on water; 2 – inoculated by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (CIAM 1022); 3 – inoculated by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (CIAM 1064); 4 – infected by *Pseudomonas syringae* pv. *Pisi*

Так же, как и в предыдущих экспериментах по изучению уровня оксида азота, обращает на себя внимание тот факт, что в период от 0 до 20 мин существенных изменений уровня цАМФ при взаимодействии с ризобиями не наблюдалось, в то время как патоген вызывал повышение концентрации цАМФ с первых минут. Основные отличия происходили после 20 мин эксперимента.

По литературным данным, повышение концентрации внутриклеточного цАМФ при биотических стрессах носит защитный характер и позволяет растениям активировать соответствующие молекулярные механизмы [13]. В связи с этим повышение концентрации цАМФ под влиянием неэффективного штамма ризобий вполне логично и является механизмом, предотвращающим избыточную колонизацию корневой системы растения-хозяина. Пониженный уровень цАМФ при инокуляции эффективным штаммом клубеньковых бактерий также выполняет регуляторную функцию, поскольку снижение концентрации цАМФ не при-

водит к включению защитных реакций и позволяет бактериям проникать в клетки корня. Что же касается взаимодействия с *Pseudomonas syringae* pv., то пониженный уровень цАМФ свидетельствует о степени вирулентности патогена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, по результатам исследования можно отметить следующие закономерности:

1) под воздействием *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (симбионт) и *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (патоген) обнаружен эндогенный ритм изменения содержания цАМФ и NO в тканях корня проростков гороха;

2) предполагается, что изменение соответствующих компонентов сигнальных систем (NO, цАМФ) может быть использовано растением-хозяином в качестве «кода» для передачи сигнала о природе действующего фактора и индукции соответствующих реакций на молекулярном уровне.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Beatly P.H., Good A.G. Future prospects for cereals that fix nitrogen // Science. 2011. Vol. 333. Issue 6041. P. 416–417. <https://doi.org/10.1126/science.1209467>
2. Проворов Н.А., Воробьев Н.И. Генетические основы эволюции растительно-микробного симбиоза. СПб: Изд-во ООО «Информ-Навигатор», 2012. 400 с.
3. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Ястреб Т.О.,

Луговая А.А. Сигнальные посредники в реализации физиологических эффектов стрессовых фитогормонов // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Серия Биология. 2016. Вып. 1 (37). С. 42–62.

4. Глянько А.К., Ищенко А.А. Активные формы кислорода и азота – возможные медиаторы системной устойчивости у бобовых при действии ризобийной инфекции // Вестник

Харьковского национального аграрного университета. Серия Биология. 2017. Вып. 1 (40). С. 9–20.

5. Djordjevic M.A., Gabriel D.W., Rolfe B.G. Rhizobium-The Refined Parasite of Legumes // Annual Review of Phytopathology. 1987. Vol. 25. P. 145–168. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.25.090187.001045>

6. Baron C., Zambryski P.C. The plant response in pathogenesis, symbiosis, and wounding: variations on a common theme? // Annual Review of Genetics. 1995. Vol. 29. P. 107–129. <https://doi.org/10.1146/annurev.ge.29.120195.000543>

7. Glyan'ko A.K., Ishchenko A.A. Immunity of a leguminous plant infected by nodular bacteria *Rhizobium* spp. F.: review // Applied Biochemistry and Microbiology. 2017. Vol. 53. Issue 2. P. 140–148. <https://doi.org/10.1134/S0003683817020107>

8. Meilhoc E., Boscari A., Bruand C., Puppo A., Brouquisse R. Nitric oxide in legume-rhizobium symbiosis // Plant Science. 2011. Vol. 181. Issue 5. P. 573–581. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.04.007>

9. Baudouin E., Pieuchot L., Engler G., Pauly N., Puppo A. Nitric oxide is formed in *Medicago truncatula* – *Sinorhizobium meliloti* functional nodules // Molecular plant-microbe Interactions. 2006. Vol. 19. Issue 9. P. 970–975. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0970>

10. Herouart D., Baudouin E., Frendo P., Harrison J., Santos R., Jamet A., et al. Reactive oxygen species, nitric oxide and glutathione: key role in the establishment of the legume-Rhizobium symbiosis // Plant physiology and biochemistry. 2002. Vol. 40. Issue 6-8. P. 619–624. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(02\)01415-8](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(02)01415-8)

11. Meyer C., Lea U.S., Provan F., Kaizer W.M., Lillo C. Is nitrate reductase a major player in the plant NO (nitric oxide) game? // Photosynthesis research. 2005. Vol. 83. P.181–189. <https://doi.org/10.1007/s11120-004-3548-3>

12. Lomovatskaya L.A., Kuzakova O.V., Romanenko A.S., Goncharova A.M. Activities of Adenylate Cyclase and Changes in cAMP Concentration in Root Cells of Pea Seedlings Infected with Mutualists and Phytopathogens // Russian Journal of Plant Physiology. 2018. Vol. 65. Issue 4. P. 588–597. <https://doi.org/10.1134/S1021443718030056>

13. Kuzakova O.V., Lomovatskaya L.A., Goncharova A.M., Romanenko A.S. Effects of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* strains different in their symbiotic effectiveness on changes in cAMP and hydrogen peroxide concentrations in cells of pea seedlings // Russian Journal of Plant Physiology. 2019. Vol. 66. Issue 5. P. 712–717. <https://doi.org/10.1134/S1021443719050121>

14. Lomovatskaya L.A., Romanenko A.S., Filinova N.V., Dudareva L.V. Determination of cAMP in plant cells by a modified enzyme immunoassay method // Plant Cell Reports. 2011. Vol. 30. Issue 1. P. 125–132. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0950-5>

15. Jones K.M., Sharopova N., Lohar D.P., Zhang J.Q., VandenBosch K.A., Walker G.C. Differential response of the plant *Medicago truncatula* to its symbiont *Sinorhizobium meliloti* or an exopolysaccharide-deficient mutant // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 2008. Vol. 105, Issue 2. P. 704–709. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709338105>

16. Ferguson B.J., Indrasumunar A., Hayashi S., Lin Y.-R., Lin Y.-H., Reid D.E., et al. Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation // Journal of Integrative Plant Biology. 2010. Vol. 52. P. 61–76. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00899.x>

17. Gough C., Jacquet C. Nod factor perception protein carries weight in biotic interaction // Trends in Plant Sciences. 2013. Vol. 18. Issue 10. P. 566–574. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.06.001>

18. Глянько А.К. Фитогормоны и клубенькообразование у бобовых растений // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Серия Биология. 2015. Вып. 3 (36). С. 6–19.

19. Hichri I., Boscari A., Castella C., Rovere M., Puppo A., Brouquisse R. Nitric oxide: a multifaceted regulator of the nitrogen-fixing symbiosis // Journal of experimental botany. 2015. Vol. 66. Issue 10. P. 2877–2887. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv051>

20. Глянько А.К., Митанова Н.Б., Степанов А.В. Физиологическая роль оксида азота (NO) у растительных организмов // Журнал стресс-физиологии и биохимии. 2009. Т. 5. N 3. С. 33–52.

21. Courtois C., Besson A., Dahan J., Bourque S., Dobrowolska G., Alain P., et al. Nitric oxide signaling in plants: interplays with Ca²⁺ and protein kinases // Journal of Experimental Botany. 2008. Vol. 59. Issue 2. P. 155–163. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm197>

22. Jeandroz S., Lamotte O., Astier J., Rasul S., Trapet P., Besson-Bard A., et al. There's more to the picture than meets the eye: nitric oxide cross talk with Ca²⁺ signaling // Plant Physiology. 2013. Vol. 163. Issue 2. P. 459–470. <https://doi.org/10.1104/pp.113.220624>

23. Глянько А.К. Роль Nod-фактора *Rhizobium* в индукции сигнальных систем растения при формировании бобово-ризобияльного симбиоза // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Серия Биология. 2014. Вып. 3 (33). С. 6–14.

REFERENCE

1. Beatly PH, Good AG. Future prospects for cereals that fix nitrogen. *Science*. 2011;333(6041):416–417. <https://doi.org/10.1126/science.1209467>
2. Provorov NA, Vorob'ev NI. *Genetic basis of the evolution of plant-microbial symbiosis*. St. Petersburg: Inform-Navigator; 2012. 400 p. (In Russian)
3. Kolupaev YuE, Karpets YuV, Yastreb TO, Lugovaya AA. Signal mediators in realization of physiological effects of stress phytohormones. *Vestnik Khar'kovskogo nacional'nogo agrarnogo universiteta. Seriya Biologiya = The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology*. 2016;1:42–62. (In Russian)
4. Glyan'ko AK, Ishchenko AA. Reactive oxygen and nitrogen species as possible mediators of system resistance in fabaceae affected by rhizobial infection. *Vestnik Khar'kovskogo nacional'nogo agrarnogo universiteta. Seriya Biologiya = The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology*. 2017;1:9–20. (In Russian)
5. Djordjevic MA, Gabriel DW, Rolfe BG. Rhizobium-The Refined Parasite of Legumes. *Annual Review of Phytopathology*. 1987;25:145–168. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.25.090187.001045>
6. Baron C, Zambbryski PC. The plant response in pathogenesis, symbiosis, and wounding: variations on a common theme? *Annual Review of Genetics*. 1995;29:107–129. <https://doi.org/10.1146/annurev.ge.29.120195.000543>
7. Glyan'ko AK, Ishchenko AA. Immunity of a leguminous plant infected by nodular bacteria *Rhizobium* spp. F.: review. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2017;53(2):140–148. <https://doi.org/10.1134/S0003683817020107>
8. Meilhoc E, Boscan A, Bruand C, Puppo A, Brouquisse R. Nitric oxide in legume-rhizobium symbiosis. *Plant Science*. 2011;181(5):573–581. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.04.007>
9. Baudouin E, Pieuchot L, Engler G, Pauly N, Puppo A. Nitric oxide is formed in *Medicago truncatula* – *Sinorhizobium meliloti* functional nodules. *Molecular plant-microbe Interactions*. 2006;19(9):970–975. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0970>
10. Herouart D, Baudouin E, Frendo P, Harrison J, Santos R, Jamet A, et al. Reactive oxygen species, nitric oxide and glutathione: key role in the establishment of the legume-Rhizobium symbiosis. *Plant physiology and biochemistry*. 2002;40(6-8):619–624. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(02\)01415-8](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(02)01415-8)
11. Meyer C, Lea US, Provan F, Kaizer WM, Lillo C. Is nitrate reductase a major player in the plant NO (nitric oxide) game? *Photosynthesis research*. 2005;83:181–189. <https://doi.org/10.1007/s11120-004-3548-3>
12. Lomovatskaya LA, Kuzakova OV, Romanenko AS, Goncharova AM. Activities of Adenylate Cyclase and Changes in cAMP Concentration in Root Cells of Pea Seedlings Infected with Mutualists and Phytopathogens. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2018;65(4):588–597. <https://doi.org/10.1134/S1021443718030056>
13. Kuzakova OV, Lomovatskaya LA, Goncharova AM, Romanenko AS. Effects of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* strains different in their symbiotic effectiveness on changes in cAMP and hydrogen peroxide concentrations in cells of pea seedlings *Russian Journal of Plant Physiology*. 2019;66(5):712–717. <https://doi.org/10.1134/S1021443719050121>
14. Lomovatskaya LA, Romanenko AS, Filinova NV, Dudareva LV. Determination of cAMP in plant cells by a modified enzyme immunoassay method. *Plant Cell Reports*. 2011;30(1):125–132. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0950-5>
15. Jones KM, Sharopova N, Lohar DP, Zhang JQ, VandenBosch KA, Walker GC. Differential response of the plant *Medicago truncatula* to its symbiont *Sinorhizobium meliloti* or an exopolysaccharide-deficient mutant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 2008;105(2):704–709. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709338105>
16. Ferguson BJ, Indrasumunar A, Hayashi S, Lin Y-R, Lin Y-H, Reid DE, et al. Molecular analysis of legume nodule development and auto-regulation. *Journal of Integrative Plant Biology*. 2010;52:61–76. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00899.x>
17. Gough C, Jacquet C. Nod factor perception protein carries weight in biotic interaction. *Trends Plant Sciences*. 2013;18(10):566–574. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.06.001>
18. Glyan'ko AK. Phytohormones and nodulation at leguminous plants. *Vestnik Khar'kovskogo nacional'nogo agrarnogo universiteta. Seriya Biologiya = The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology*. 2015;3:6–19. (In Russian)
19. Hichri I, Boscari A, Castella C, Rovere M, Puppo A, Brouquisse R. Nitric oxide: a multifaceted regulator of the nitrogen-fixing symbiosis. *Journal of experimental botany*. 2015;66(10):2877–2887. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv051>
20. Glyan'ko AK, Mitanova NB, Stepanov AV. Physiological role of nitric oxide (NO) at vegetative organisms. *The Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 2009;5(3):33–52. (In Russian)
21. Courtois C, Besson A, Dahan J, Bourque S, Dobrowolska G, Alain P, et al. Nitric oxide signaling in plants: interplays with Ca²⁺ and protein kinases. *Journal of Experimental Botany*. 2008;59(2):155–163. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm197>
22. Jeandroz S, Lamotte O, Astier J, Rasul S,

Trapet P, Besson-Bard A, et al. There's more to the picture than meets the eye: nitric oxide cross talk with Ca²⁺ signaling. *Plant Physiology*. 2013;163(2):459–470. <https://doi.org/10.1104/pp.113.220624>

23. Gyan'ko AK. Significance of Nod factors

Критерии авторства

Ищенко А.А., Филинова Н.В., Сидоров А.В. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, 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

Ищенко Алексей Александрович,
к.б.н., научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
e-mail: aspt25@yandex.ru

Филинова Надежда Владимировна,
к.б.н., научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
e-mail: Filinova@sifibr.irk.ru

Сидоров Александр Владимирович,
ассистент,
Иркутский государственный медицинский
университет,
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1,
Российская Федерация,
e-mail: a.v.sidorov@ismu.baikal.ru

Rhizobium in induction of signaling systems at formation of legume-rhizobia symbiosis. *Vestnik Khar'kovskogo nacional'nogo agrarnogo universiteta. Seriya Biologiya* = The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology. 2014;3:6–14. (In Russian)

Contribution

Aleksei A. Ishchenko, Nadezhda V. Filinova, Aleksandr V. Sidorov carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict 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.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Aleksei A. Ishchenko,
Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
e-mail: aspt25@yandex.ru

Nadezhda V. Filinova,
Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
e-mail: Filinova@sifibr.irk.ru

Aleksandr V. Sidorov,
Assistant,
Irkutsk State Medical University,
1, Krasnogo vosstaniya St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
e-mail: a.v.sidorov@ismu.baikal.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 661.728.7:66.083.4

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-303-313>

Влияние автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson на выход редуцирующих веществ при последующем ферментоллизе

© И.Н. Павлов

Институт проблем химико-энергетических технологий

Сибирского отделения Российской академии наук, г. Бийск, Российская Федерация

Резюме: Определено влияние автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson на выход редуцирующих веществ при последующем ферментоллизе. Установлено, что при изменении условий автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson образуются твердые фракции, содержащие целлюлозу, лигнин, гемицеллюлозу и минеральные вещества, соотношение которых зависит от фактора жесткости – температуры и продолжительности обработки. Показано, что при факторе жесткости 5,67 происходит практически полный гидролиз гемицеллюлозы, однако наблюдается увеличение содержания лигнина в твердой фракции до 46,0 % относительно содержания лигнина в исходном сырье (20,8 %), что обусловлено конденсацией лигнина с образованием псевдолигнина. Наибольшее содержание целлюлозы в твердой фазе наблюдается при гидролитической обработке сырья с фактором жесткости от 4,17 до 4,39, температуре от 160 °С и продолжительности обработки 25 мин. На фоне повышения температуры увеличение кислотности среды катализирует гидролиз целлюлозы и снижает ее содержание в твердой фракции до 60 % при факторе жесткости 5,67. При автогидролитической обработке *Miscanthus sacchariflorus* Andersson наблюдается повышение зольности в твердой фракции. Полученные после обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson твердые фракции использовались в качестве субстрата и были подвергнуты ферментативному гидролизу ферментными препаратами «Целлолюкс-А» и «Брюзайм ВГХ» при начальной концентрации субстрата 33 г/л. Повышение выхода редуцирующих веществ имеет устойчивый рост по мере удаления гемицеллюлоз и достигает максимального значения (45,1 %) при увеличении фактора жесткости обработки до 4,48. Доступность поверхности целлюлозы для действия ферментов при повышении фактора жесткости свыше 4,48 снижается вследствие накопления лигнина в твердой фазе, о чем свидетельствует снижение выхода редуцирующих веществ в ферментализате до 31,8 %.

Ключевые слова: *Miscanthus sacchariflorus* Andersson, автогидролиз, твердые фракции, целлюлоза, ферментативный гидролиз

Благодарность: Исследование выполнено по проекту в рамках Государственной программы с регистрационным номером темы АААА-А17-117011910006-5.

Информация о статье: Дата поступления 11 октября 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Павлов И.Н. Влияние автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson на выход редуцирующих веществ при последующем ферментоллизе. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 303–313. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-303-313>

Effect of the autohydrolytic treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson on the yield of the reducing substances during the subsequent fermentolysis

Igor N. Pavlov

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies SB RAS,
Biysk, Russian Federation

Abstract: The effect of the autohydrolytic treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson on the yield of the reducing substances during the subsequent fermentolysis has been determined. It was established that a change in the conditions of the auto-hydrolytic treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson induces a formation of solid fractions containing cellulose, lignin, hemicellulose and mineral substances, the ratio of which depends on the severity factor, i.e. temperature and processing time. It was shown that at the severity factor of 5.67, almost complete hydrolysis of hemicellulose occurs, however, there is an increase in the lignin content in the solid fraction (up to 46.0 %) relative to the lignin content in the feedstock (20.8 %), which is due to lignin condensation with a consequent formation of pseudo lignin. The highest content of cellulose in the solid phase is observed as a result of hydrolytic processing of raw materials with a severity factor of 4.17 to 4.39, a temperature of 160 °C and a processing time of 25 min. At an increased temperature, an increase in the acidity of the medium catalyzes the hydrolysis of cellulose and reduces its content in the solid fraction to 60 % at a severity factor of 5.67. During the auto-hydrolytic treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson, an increase in the ash content in the solid fraction is observed. The solid fractions obtained after treatment with *Miscanthus sacchariflorus* Andersson were used as a substrate and were subjected to enzymatic hydrolysis with the enzyme preparations "Cellolux-A" and "BrewZime BGX" at an initial substrate concentration of 33 g/l. The increase in the yield of reducing substances has shown a steady increase with the removal of hemicelluloses and reached its maximum value (45.1 %) with an increase in the treatment severity factor to 4.48. The availability of the cellulose surface for the action of enzymes has decreased with an increase in the stiffness factor beyond a value of 4.48 due to the accumulation of lignin in the solid phase, as evidenced by a decrease in the yield of reducing substances in the enzyme to 31.8 %.

Keywords: *Miscanthus sacchariflorus* Andersson, autohydrolysis, solid fractions, cellulose, enzymatic hydrolysis

Acknowledgement: The study was conducted under the State Assignment Program with Theme Registration no. AAAA-A17-117011910006-5.

Information about the article: Received October 11, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Pavlov I.N. Effect of the autohydrolytic treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson on the yield of the reducing substances during the subsequent fermentolysis. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):303–313. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-303-313>

ВВЕДЕНИЕ

Растительная биомасса является сырьем для получения целлюлозы, из которой после соответствующей физико-химической модификации получают ценные продукты. В частности, широко востребован биокаталитический процесс, при котором обработка целлюлозных субстратов ферментными препаратами позволяет получать доброкачественные гидролизаты, в свою очередь используемые в качестве питательных сред в технологии биосинтеза бактериальной целлюлозы [1, 2] или для дальнейшего сбраживания в технологии получения биоэтанола [3]. Однако из-за сложного строения клеток тканей растений, обусловленного содержанием лигнина, гемицеллюлозы и смоляных веществ, целлюлоза растительного сырья неэффективно гидролизуется при ферментативном гидролизе. Эффективность этого процесса может быть увеличена путем предварительной обработки сырья, способствующей изменению структуры клеток тканей растений и обеспечивающей доступность ферментов к активным центрам целлюлозы в клетках тканей растений [4, 5]. Широкое применение

находят методы гидротермической предварительной обработки (автогидролиз), когда растительное сырье подвергается воздействию высоких температур и давления, иногда в сочетании с механической обработкой, что делает целлюлозу более доступной для ферментативного гидролиза [6–8]. При автогидролизе используются технологии, в которых обработка растительного сырья ведется водой. При предварительной обработке из растительного сырья удаляется основная часть гемицеллюлоз, происходит изменение структуры целлюлозы, деградация лигнина, что делает целлюлозу более восприимчивой к ферментативному гидролизу. Метод использован для предварительной обработки многих видов растительного сырья, включая сельскохозяйственные отходы и травянистые растения [9, 10].

Настоящая работа была посвящена определению влияния автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson на выход редуцирующих веществ при последующем ферментализе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В исследованиях использовалось быстрорастущее травянистое растение *Miscanthus sacchariflorus* Andersson, надземная часть которого имеет жесткий стебель с междоузлиями и листьями. Это растение рекомендуется использовать в виде сырья для производства целлюлозы [11]. Перед автогидролизом сырье высушивали, измельчали до частиц размером 10–15 мм.

Обработка сырья автогидролизом проводилась в реакторе объемом 2,3 л. Реактор оснащен внешним электрическим нагревательным элементом и позволяет проводить процесс при максимальной температуре 300 °С и избыточном рабочем давлении 10 МПа [12]. Для проведения обработки использовалась очищенная вода, прошедшая стадии обратного осмоса и ионного обмена с целью удаления примесей. Для получения очищенной воды по ФС 42-2619-97 использовалась установка «Аквалаб» УВОИ-«МФ»-1812. В реактор загружалось сырье и заливалась вода из расчета гидромодуля 1:10. Сырье подвергалось обработке водой в температурном диапазоне 160–220 °С с варьированием продолжительности обработки от 25 до 120 мин. Для обработки сырья при температуре выше 100 °С в реакторе создавалось избыточное давление (3,0 МПа) путем подачи в реактор CO₂ из баллона со сжатым газом.

Перемешивание сырья осуществлялось колебанием реактора с амплитудой 150°. По завершении обработки сырья реактор охлаждался до температуры менее 100 °С, вскрывался, образовавшаяся суспензия выгружалась и разделялась на твердую и жидкую фракции на ручном корзиночном прессе. Твердая фракция промывалась водой при температуре 60–70 °С и высушивалась на воздухе до влажности 10±0,1 %.

Основные характеристики сырья и твердой фракции (содержание целлюлозы, гемицеллюлоз, кислотонерастворимого лигнина) определяли стандартными методами, представленными в работе А.В. Оболенской, З.П. Ельницкой, А.А. Леоновича¹.

Метод определения массовой доли целлюлозы по Кюршнеру основан на обработке целлюлозы спиртовым раствором азотной кислоты и количественном определении нерастворившегося остатка. Содержание кислотонерастворимого лигнина в твердой фазе определяли по методу Комарова. Для нахождения массовой доли гемицеллюлоз использован железоорсиновый метод – обработка твердой фазы 13 %-м раствором соляной кислоты при

нагревании и определении отогнанного фурфурола спектрофотометрическим методом. Содержание золы оценивали путем полного сжигания твердой фазы при 600 °С в течение 3 ч. Выход твердой фракции после варки рассчитывали относительно массы исходного сырья по формуле:

$$n = \frac{m_{\text{вл}} (100 - W)}{m_{\text{м}}} \cdot 100 \%,$$

где $m_{\text{вл}}$ – масса твердой фракции, г; $m_{\text{м}}$ – масса исходного образца мискантуса, г; W – влажность твердой фракции, %.

Для определения влияния условий обработки сырья на состав и выход твердой фазы использовался фактор жесткости автогидролиза, который является функцией продолжительности и температуры обработки (этот критерий оценки эффективности обработки растительного сырья использован многими исследователями, например авторами работ [13, 14]):

$$R = \log \left(t \cdot \exp \left(\frac{T - T_R}{14.5} \right) \right),$$

где t – продолжительность обработки, мин; T – температура обработки, °С; T_R – эталонная температура реакции (равна 100 °С). Значение 14,75 является эмпирическим параметром, связанным с энергией активации и температурой.

Твердая фракция использовалась в качестве субстрата для ферментолиза, который проводили ферментными препаратами «Целлолюкс-А» (ООО ПО «Сиббиофарм», Россия) и «Брюзайм ВГХ» (Polfa Tarchomin Pharmaceutical Works S.A., Польша). Ферментативная активность препарата «Целлолюкс-А»: целлюлазная – 2000±10 % ед. ЦлС/г; ксиланазная – 8000±10 % ед. КС/г; β-глюканазная – до 1500±10 % ед. β-ГкС/г. Ферментативная активность препарата «Брюзайм ВГХ»: целлюлазная – 2100±5 % ед. ЦлС/г; ксиланазная – 4200±5 % ед. КС/г; β-глюканазная – 530±5 % ед. β-ГкС/г.

Образец субстрата массой 5±0,01 г в пересчете на абсолютно сухое вещество (АСВ) помещался в коническую колбу 0,5 л и заливался ацетатным буферным раствором (рН = 4,6±0,1) с растворенными в нем ферментными препаратами из расчета получения 150 мл субстрата концентрацией 33 г/л. Ферментные препараты вносились по 0,04 г/г субстрата. Ферментативирование субстрата прово-

¹Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы: учеб. пособие для вузов. М.: Экология. 1991. 320 с.

дили в течение 72 ч при постоянном перемешивании на платформе «ПЭ-6410 М» (Россия) с частотой колебания 150 мин⁻¹. Условия ферментативного гидролиза: температура – 45±2 С, рН = 4,6±0,1 [15].

В проведенных исследованиях оценка гидролиза субстрата проводилась определением концентрации редуцирующих веществ (РВ), глюкозы и пентоз в гидролизате. Для этого отбирались пробы объемом 5 мл с их последующим фильтрованием. В фильтрате определялась концентрация РВ на спектрофотометре Unico UV-2804 (United products and instruments, США) с использованием реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты (Panreac, Испания). Содержание глюкозы определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты на спектрофотометре Unico UV-2804 [16]. Концентрация пентоз определялась с использованием раствора орсина. Метод основан на образовании фурфурола из пентозанов при обработке целлюлозы раствором с массовой долей соляной кислоты 13 % при нагревании и определении отогнанного фурфурола спектрофотометрическим методом.

По результатам анализа рассчитывался конечный выход РВ от массы субстрата по формуле:

$$n_{\text{РВ}} = \frac{C_{\text{РВ}} \cdot V_{\text{Г}}}{m_{\text{С}}} \cdot 0,9 \cdot 100,$$

где $n_{\text{РВ}}$ – выход редуцирующих веществ от массы субстрата, %; $C_{\text{РВ}}$ – конечная концентрация редуцирующих веществ в гидролизате, г/л; $V_{\text{Г}}$ – объем гидролизата, л; 0,9 – коэффициент, обусловленный присоединением молекулы воды к ангидроглюкозным остаткам соответствующих мономерных звеньев в результате ферментативного гидролиза целлюлозы; $m_{\text{С}}$ – масса субстрата, г.

По результатам анализа установлено, что содержание глюкозы и пентоз в общей концентрации РВ составляет 79–83 и 1–2 % соответственно, что свидетельствует о преимущественно глюкозном составе полученных гидролизатов. Другие сахара в составе РВ не определялись, так как их содержание составляет менее 20 %. Поскольку содержание пентоз в составе РВ низкое, влияние реакции взаимодействия альдегидной группы с 3,5-динитросалициловой кислотой не учитывали.

Исследования проводились при использовании оборудования Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (Институт проблем химико-энергетических технологий (ИПХЭТ) СО РАН, г. Бийск).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определен химический состав сырья (сухого мискантуса), % к АСВ:

- целлюлоза по Кюршнеру – 52,1;
- гемицеллюлозы – 20,6;
- лигнин – 20,8;
- зола – 5,3.

После автогидролиза сырья (сухого мискантуса) определялся состав твердой фракции. В таблице представлен выход твердых фракций, выделенных из сырья предварительной обработкой, в зависимости от температуры и продолжительности обработки, при которых фактор жесткости автогидролиза находился в пределах 3,20–5,67, а также массовая доля золы и рН в автолизате.

Из представленных результатов видно, что выход твердой фракции и рН автолизата снижаются, а массовая доля золы повышается с увеличением фактора жесткости обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson.

На рис.1 графически представлено изменение состава твердой фракции после автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson.

Состав твердых фракций после автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Composition of solid fractions after pretreatment *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Параметр	Температура автолиза, °С											
	160			180			200			220		
	Продолжительность обработки, мин											
	25	60	120	25	60	120	25	60	120	25	60	120
Фактор жесткости автогидролиза, R	3,20	3,58	3,88	3,79	4,17	4,48	4,39	4,77	5,07	4,99	5,37	5,67
Выход, %	92,0	89,0	84,1	63,2	61,9	61,2	62,6	57,0	50,8	52,0	45,5	40,1
Массовая доля золы*, %	2,49	2,53	2,64	2,86	3,09	3,19	3,54	3,67	3,85	3,99	4,13	4,20
рН автолизата	4,84	4,70	4,64	4,22	4,01	3,84	3,79	3,78	3,75	3,65	3,42	3,25

Примечание. * – в пересчете на АСВ.

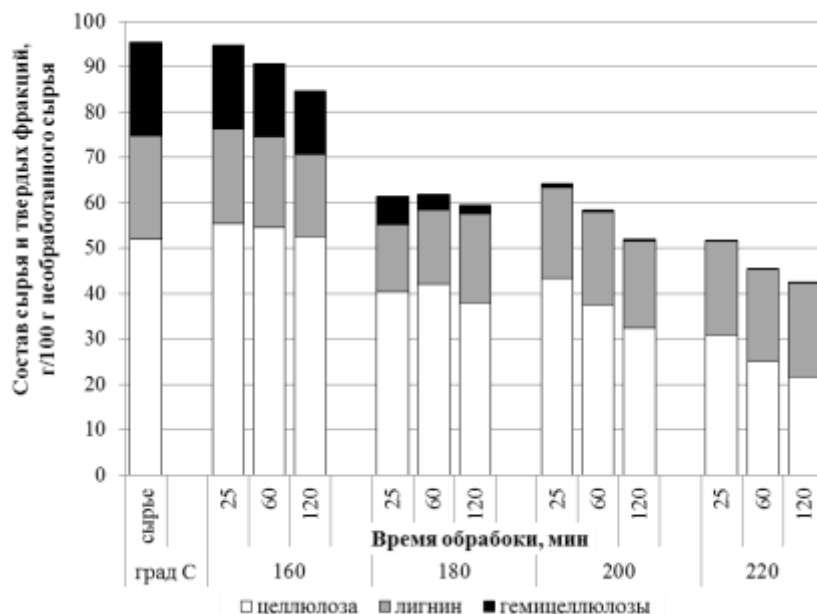


Рис. 1. Изменение состава твердых фракций после автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Fig. 1. Variation in the composition of solid fractions after autohydrolysis treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Анализ полученных результатов показал, что удаление компонентов из сырья связано с изменением температуры. Компоненты сырья, в первую очередь гемицеллюлозы, имеют различную восприимчивость к действию температуры, приводящей к интенсивному гидролизу этого углевода. Повышение температуры также приводит к гидролизу целлюлозы, что в совокупности вызывает существенное изменение выхода твердой фракции. Так, с изменением температуры при средней продолжительности обработки 60 мин выход твердой фракции снижается с 89,0 % при 160 °С до 45,5 % при температуре 220 °С, что связано с удалением большей части гемицеллюлоз из сырья [17]. Этот эффект обусловлен увеличением содержания ионов воды в реакционном растворе, что способствует проявлению действия воды как слабого полярного растворителя. С увеличением температуры повышается уровень ионизации воды и образование уксусной кислоты из ацетильных групп гемицеллюлоз. Образующиеся ионы гидроксония являются катализаторами гидролиза компонентов сырья. С ростом температуры в гидролиз компонентов сырья больший вклад вносит уксусная кислота.

Установлена взаимосвязь состава твердой фракции с фактором жесткости автогидролиза. На рис. 2 приведено изменение содержания гемицеллюлоз в твердой фракции в зависимости от фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Автогидролиз сырья привел к значительному гидролизу гемицеллюлоз. Из результа-

тов, представленных на рис. 2, видно, что при равной продолжительности обработки сырья основное влияние на удаление гемицеллюлоз оказывает изменение температуры. При повышении фактора жесткости автогидролиза сырья с 3,20 до 4,39 происходит основное снижение содержания гемицеллюлоз в твердой фазе с 19,4 до 1,2 %. Последующее повышение фактора жесткости при обработке сырья от 4,39 до 5,67 остаточное содержание гемицеллюлоз в твердой фазе снижается с 1,2 до 0,1 %. Таким образом, при обработке сырья с фактором жесткости свыше 4,39 происходит практически основное удаление гемицеллюлоз из твердой фазы. Полученные результаты согласуются с результатами многих работ после проведения гидротермической обработки (например, [18]). Сахара, полученные из гемицеллюлоз в результате увеличения температуры и времени обработки, продолжают разрушаться, в результате чего образуются органические кислоты, такие как муравьиная, уксусная, молочная, гликолевая. Соответственно, происходит повышение концентрации кислот, о чем свидетельствует снижение значения pH автолизата (см. таблицу) [19]. Термическое воздействие при сочетании, например, с механической обработкой может привести к позитивному изменению структуры лигноцеллюлозного комплекса в обрабатываемом сырье [20]. На рис. 3 показано изменение содержания лигнина в твердой фазе в зависимости от фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson.

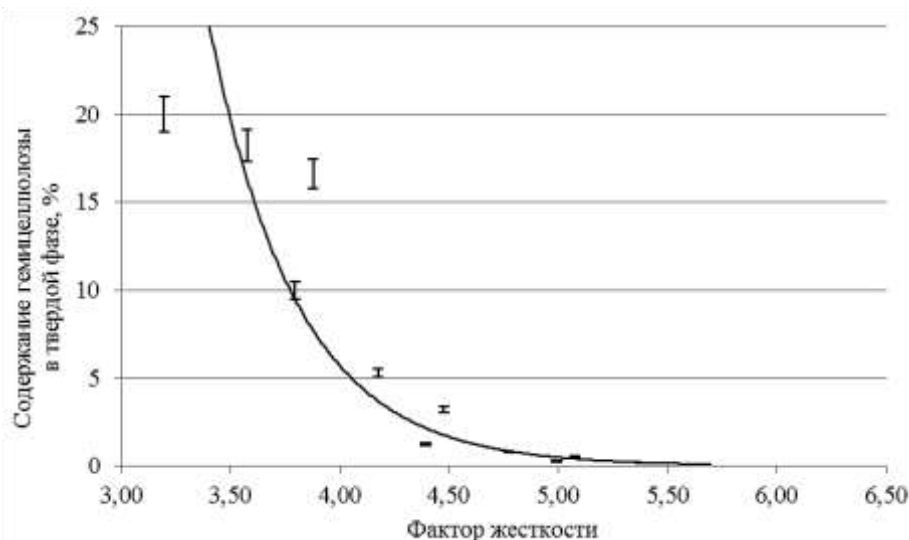


Рис. 2. Изменение содержания гемицеллюлоз в твердой фазе в зависимости от фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Fig. 2. Variation in the content of hemicelluloses in the solid phase, depending on the harshness of autohydrolysis treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

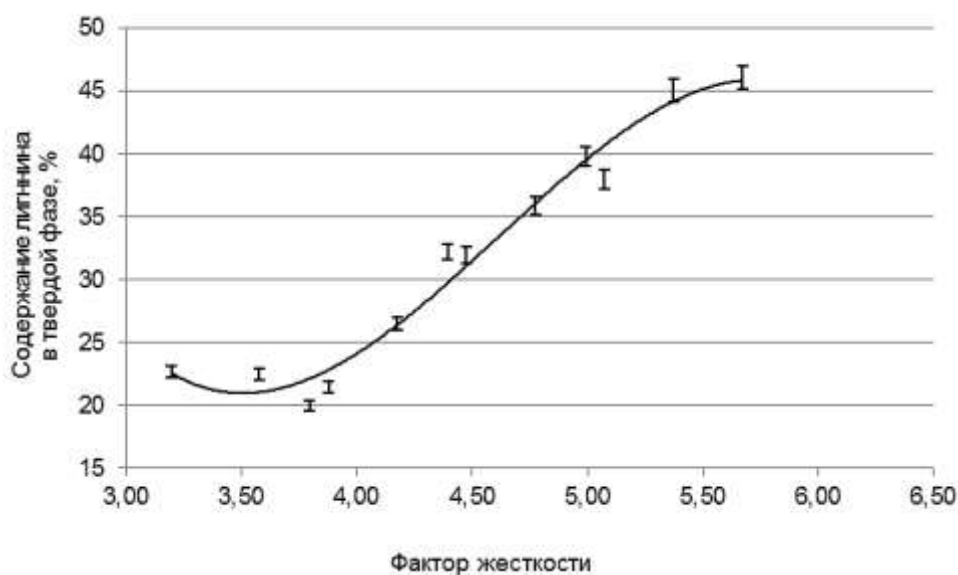


Рис. 3. Изменение содержания лигнина в твердой фазе в зависимости от фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Fig. 3. Variation in the content of lignin in the solid phase, depending on the harshness of autohydrolysis treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Содержание лигнина в твердом остатке незначительно снижается, когда жесткость обработки составляет от 3,20 до 3,79 (см. рис. 1). В этих условиях снижение содержания лигнина в твердой фракции составляет до 20,1%. Дальнейшее повышение фактора жесткости обработки, связанное с ростом температуры в интервале от 3,79 до 5,67, приводит к обратному явлению – содержание лигнина в твердой фракции увеличивается. Известно, что при увеличении жесткости обработки возможно

протекание реакции конденсации лигнина. В результате обработка при высоком факторе жесткости приводит к тому, что реакция конденсации лигнина преобладает над гидролизом, что приводит к образованию псевдолигнина, который осаждается повторно на поверхность твердой фракции [21].

В отличие от гемицеллюлоз и лигнина целлюлоза в меньшей степени подвержена автогидролизу в воде (рис. 4).

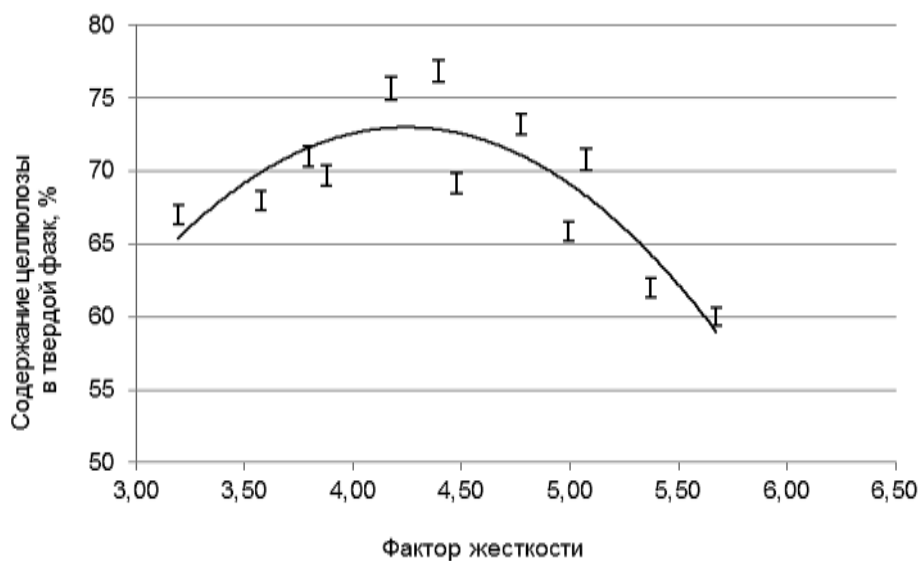


Рис. 4. Изменение содержания целлюлозы в твердой фазе в зависимости от жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Fig. 4. Variation in the content of cellulose in the solid phase, depending on the harshness of autohydrolysis treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Как отмечается, гидролиз целлюлозы при гидротермической обработке обычно является низким и зависит от происхождения растительного сырья. Установлено, что при обработке древесных видов сырья гидролиз целлюлозы незначителен, а в случае обработки травянистого сырья и сельскохозяйственных отходов возможно существенное разрушение целлюлозы при гидролизе [22]. Так, при факторе жесткости до 4,17, что соответствует температурному диапазону 160–180 °С, независимо от продолжительности обработки гидролиз целлюлозы незначительный, а ее содержание в твердой фазе увеличивается по сравнению со снижением гемицеллюлозы (см. рис. 2). Интенсивное снижение содержания гемицеллюлоз происходит при увеличении фактора жесткости от 3,20 до 4,17, что приводит к заметному повышению в составе твердой фазы содержания целлюлозы – до 75,7 % (см. рис. 4). Наибольшее содержание целлюлозы в твердой фракции (75,7 и 76,9 %) образуется при факторе жесткости обработки сырья 4,17 и 4,39, что соответствует температуре обработки сырья 180 и 200 °С и продолжительности обработки сырья 60 и 25 мин. Снижение содержания целлюлозы в твердой фракции от 76,9 до 60,0 % происходит при повышении температуры обработки от 200 до 220 °С. При этом в зависимости от продолжительности обработки сырья фактор жесткости меняется от 4,39 до 5,67. Это показывает, что в рассматриваемых условиях происходит гидролиз целлюлозы в твердой фракции. С повышением температуры обработки сырья происходит рост концентрации уксусной кислоты в реакционной массе,

которая катализирует гидролиз гликозидных связей в целлюлозе, прежде всего на аморфных участках [23]. При повышении жесткости обработки от 4,77 до 5,67 гидролиз целлюлозы происходит более выражено, что и приводит к снижению содержания целлюлозы в твердой фракции до 60 %.

Обработка сырья в рассматриваемых условиях автогидролиза существенно влияет на ферментативный гидролиз твердых фракций. На рис. 5 показано влияние фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson на ферментативный гидролиз твердых фракций.

Из представленных результатов видно, что повышение жесткости обработки приводит к улучшению условий для действия ферментов в интервале фактора жесткости автогидролиза 3,20–4,17. Повышение уровня накопления редуцирующих веществ показывает устойчивый рост по мере удаления гемицеллюлоз и достигает максимального значения – 45,1 %, что соотносится со снижением содержания гемицеллюлоз до уровня 5,3 % (см. рис. 2) и достижением минимального содержания лигнина – 26,5 % (см. рис. 3). Этот выход редуцирующих веществ в 2,9 раза превышает выход редуцирующих веществ из необработанного автогидролизом исходного сырья. После гидролиза необработанного сырья получена концентрация редуцирующих веществ 15,5 % после 72 ч обработки ферментами. С ужесточением условий обработки сырья (фактор жесткости более 4,48) уровень накопления редуцирующих веществ сократился до 31,78 %. Известно, что слишком жесткие условия обработки расти-

тельного сырья могут способствовать конденсации и осаждению растворимых соединений лигнина на поверхности целлюлозы [24]. В данном случае повышение жесткости условий обработки сырья привело к накоплению лигнина в твердой фракции (см. рис. 3) и снижению

эффективности ферментативной обработки целлюлозы. Таким образом, обработка сырья при факторе жесткости 3,20–4,48 создает наиболее благоприятные условия для ферментативного гидролиза углеводов и образования редуцирующих веществ.

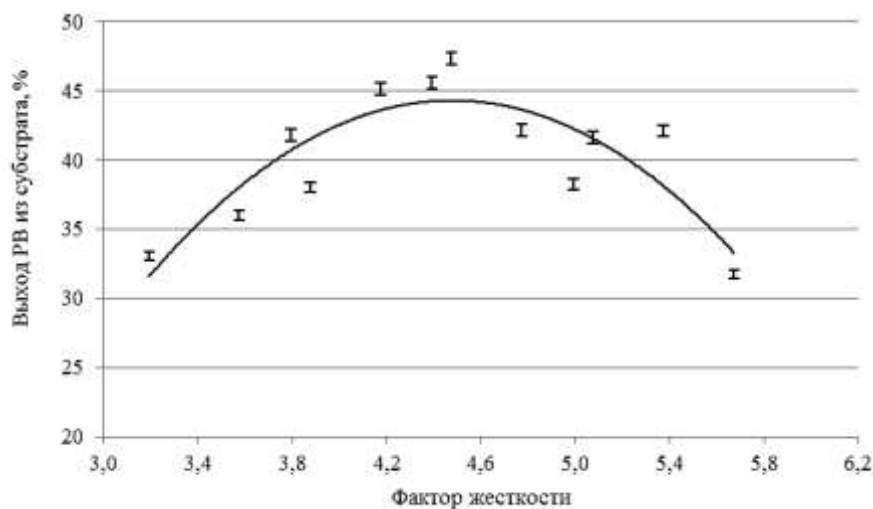


Рис. 5. Влияние фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus Andersson* на выход РВ при ферментативной обработке твердых фракций

Fig. 5. Harshness effect of autohydrolysis treatment of *Miscanthus sacchariflorus Andersson* on the reducing sugars yield during enzymatic hydrolysis of solid fractions

ВЫВОДЫ

Установлено, что при изменении условий автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus Andersson* образуются твердые фракции, содержащие целлюлозу, лигнин, гемицеллюлозу и минеральные вещества, соотношение которых зависит от фактора жесткости.

Показано, что при факторе жесткости 5,67 происходит практически полный гидролиз гемицеллюлозы, однако наблюдается увеличение содержания лигнина в твердой фракции, что обусловлено конденсацией лигнина с образованием псевдолигнина. Наибольшее со-

держание целлюлозы в твердой фазе наблюдается при гидролитической обработке сырья с фактором жесткости 4,39 при температуре 200 °С и продолжительности обработки 25 мин.

Определено, что гидролитическая обработка *Miscanthus sacchariflorus Andersson* при факторах жесткости от 3,20 до 4,48 приводит к образованию субстрата, обработка которого ферментными препаратами «Целлолюкс-А» и «Брюзайм ВГХ» позволяет получать ферментализаты с содержанием редуцирующих веществ до 45 %.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гладышева Е.К., Голубев Д.С., Скиба Е.А. Исследование биосинтеза бактериальной наноцеллюлозы продуцентом *Medusomyces gisevii* Sa-12 на ферментативном гидролизате продукта щелочной делигнификации мискантуса // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 2. С. 260–269. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-260-269>
2. Kashcheyeva E.I., Gismatulina Y.A., Budaeva V.V. Pretreatments of non-woody cellulosic feedstocks for bacterial cellulose synthesis // Polymers. 2019. Vol. 11. Issue 10. P. 1645. <https://doi.org/10.3390/polym11101645>
3. Байбакова О.В., Влияние предвари-

тельной обработки энергетической культуры мискантуса на выход биоэтанола // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8. N 3. С. 79–84. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-3-79-84>

4. Mahmood H., Moniruzzaman M., Iqbal T., Khan M.J. Recent advances in the pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and value-added products // Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry. 2019. Vol. 20. P. 18–24. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.08.001>

5. Bychkov A.L., Podgorbunskikh E.M., Ryabchikova E.I., Lomovsky O.I. The role of mechanical action in the process of the thermome-

chanical isolation of lignin // *Cellulose*. 2018. Vol. 25. Issue 1. P. 1–5. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1536-y>

6. Jiang K., Li L., Long L., Ding S. Comprehensive evaluation of combining hydrothermal pretreatment (autohydrolysis) with enzymatic hydrolysis for efficient release of monosaccharides and ferulic acid from corn bran // *Industrial Crops and Products*. 2018. Vol. 113. P. 348–357. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.047>

7. Jiang W., Chang S., Qu Y., Zhang Z., Xu J. Changes on structural properties of biomass pretreated by combined deacetylation with liquid hot water and its effect on enzymatic hydrolysis // *Bioresource Technology*. 2016. Vol. 220. P. 448–456. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.087>

8. Gu B.-J., Dhumal G.S., Wolcott M.P., Ganjyal G.M. Disruption of lignocellulosic biomass along the length of the screws with different screw elements in a twin-screw extruder // *Bioresource Technology*. 2019. Vol. 275, P. 266–271. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.033>

9. Lyu H., Zhou J., Geng Z., Lyu C., Li Y. Two-stage processing of liquid hot water pretreatment for recovering C5 and C6 sugars from cassava straw // *Process Biochemistry*. 2018. Vol. 75. P. 202–211. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.10.003>

10. Cardona E., Llano B., Penuela M., Juan Pena J., Rios L.A. Liquid-hot-water pretreatment of palm-oil residues for ethanol production: An economic approach to the selection of the processing conditions // *Energy*. 2018. Vol. 160. P. 441–451. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2018.07.045>

11. 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*. 2019. Vol. 12. Issue 1. Article:85. 18 p. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1426-7>

12. Pavlov I.N., Denisova M.N., Makarova E.I., Budaeva V.V., Sakovich G.V. Versatile thermobaric setup and production of hydrotropic cellulose therein // *Cellulose Chemistry and Technology*. 2015. Vol. 49. Issue 9-10. P. 847–852

13. Batista G.O., Souza R.B.A., Pratto B., Dos Santos-Rocha M.S.R., Cruz A.J.G. Effect of severity factor on the hydrothermal pretreatment of sugarcane straw // *Bioresource Technology*. 2019. Vol. 275. P. 321–327. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.073>

14. Sabanci K., Buyukkileci A.O. Comparison of liquid hot water, very dilute acid and alkali treatments for enhancing enzymatic digestibility of hazelnut tree pruning residues // *Bioresource Technology*. 2018. Vol. 261. P. 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.136>

15. Кашеева Е.И., Будаева В.В. Опреде-

ление 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>

16. 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>

17. Michelin M., Teixeira J.A. Liquid hot water pretreatment of multi feedstocks and enzymatic hydrolysis of solids obtained thereof // *Bioresource Technology*. 2016. Vol. 216. P. 862–869. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.018>

18. Moniz P., Pereira H., Duarte L.C., Carvalho F. Hydrothermal production and gel filtration purification of xylo-oligosaccharides from rice straw // *Industrial Crops and Products*. 2014. Vol. 62. P. 460–465. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.020>

19. Liu L., Liu W., Hou Q., Chen J., Xu N. Understanding of pH value and its effect on autohydrolysis pretreatment prior to poplar chemithermomechanical pulping // *Bioresource Technology*. 2015. Vol. 196. P. 662–667. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.034>

20. Podgorbunskikh E.M., Ryabchikova E.I., Bychkov A.L., Lomovskii O.I. Changes in structure of cell wall polymers in thermomechanical treatment of highly lignified plant feedstock // *Doklady Physical Chemistry*. 2017. Vol. 473. Issue 1. P. 49–51. <https://doi.org/10.1134/S0012501617030046>

21. Ko J.K., Kim Y., Ximenes E., Ladisch M.R. Effect of liquid hot water pretreatment severity on properties of hardwood lignin and enzymatic hydrolysis of cellulose // *Biotechnology and Bioengineering*. 2015. Vol. 112. Issue 2. P. 252–262. <https://doi.org/10.1002/bit.25349>

22. Gan S., Zakaria S., Chen R.S., Chia C.H., Padzil F.N.M., Moosavi S. Autohydrolysis processing as an alternative to enhance cellulose solubility and preparation of its regenerated bio-based materials // *Materials Chemistry and Physics*. 2017. Vol. 192. P. 181–189. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.01.012>

23. Zhu R., Yadama V. Effects of hot water extraction pretreatment on physicochemical changes of Douglas fir // *Biomass and Bioenergy*. 2016. Vol. 90. P. 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.03.028>

24. Chena T.-Y., Wena J.-L., Wanga B., Wanga H.-M., Liub C.-F., Suna R.-C. Assessment of integrated process based on autohydrolysis and robust delignification process for enzymatic saccharification of bamboo // *Bioresource Technology*. 2017. Vol. 244. P. 717–725. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.032>

REFERENCES

1. Gladysheva EK, Golubev DS, Skiba EA. Investigation of bacterial nanocellulose biosynthesis by *Medusomyces gisevii* Sa-12 from enzymatic hydrolyzate obtained by alkaline delignification of miscanthus. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(2):260–269. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-260-269>
2. 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>
3. Baibakova OV. Effects of the pretreatment of the miscanthus energy crop on the ethanol yield. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2018;8(3):79–84. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-3-79-84>
4. Mahmood H, Moniruzzaman M, Iqbal T, Khan MJ. Recent advances in the pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and value-added products. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 2019;20:18–24. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.08.001>
5. Bychkov AL, Podgorbunskikh EM, Ryabchikova EI, Lomovsky OI. The role of mechanical action in the process of the thermomechanical isolation of lignin. *Cellulose*. 2018;25(1):1–5. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1536-y>
6. Jiang K, Li L, Long L, Ding S. Comprehensive evaluation of combining hydrothermal pretreatment (autohydrolysis) with enzymatic hydrolysis for efficient release of monosaccharides and ferulic acid from corn bran. *Industrial Crops and Products*. 2018;113:348–357. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.047>
7. Jiang W, Chang S, Qu Y, Zhang Z, Xu J. Changes on structural properties of biomass pretreated by combined deacetylation with liquid hot water and its effect on enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*. 2016;220:448–456. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.087>
8. Gu B-J, Dhumal GS, Wolcott MP, Ganjyal GM. Disruption of lignocellulosic biomass along the length of the screws with different screw elements in a twin-screw extruder. *Bioresource Technology*. 2019;275:266–271. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.033>
9. Lyu H, Zhou J, Geng Z, Lyu C, Li Y. Two-stage processing of liquid hot water pretreatment for recovering C5 and C6 sugars from cassava straw. *Process Biochemistry*. 2018;75:202–211. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.10.003>
10. Cardona E, Llano B, Penuela M, Juan Pena J, Rios LA. Liquid-hot-water pretreatment of palm-oil residues for ethanol production: An economic approach to the selection of the processing conditions. *Energy*. 2018;160:441–451. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2018.07.045>
11. 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*. 2019;12(1). Article: 85. 18 p. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1426-7>
12. Pavlov IN, Denisova MN, Makarova EI, Budaeva VV, Sakovich GV. Versatile thermobaric setup and production of hydrotropic cellulose therein. *Cellulose Chemistry and Technology*. 2015;49(9-10):847–852
13. Batista GO, Souza RBA., Pratto B, Dos Santos-Rocha MSR, Cruz AJG. Effect of severity factor on the hydrothermal pretreatment of sugarcane straw. *Bioresource Technology*. 2019;275:321–327. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.073>
14. Sabanci K, Buyukkileci AO. Comparison of liquid hot water, very dilute acid and alkali treatments for enhancing enzymatic digestibility of hazelnut tree pruning residues. *Bioresource Technology*. 2018;261:158–165. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.136>
15. 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>
16. Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 1959;31(3):426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
17. Michelin M, Teixeira JA. Liquid hot water pretreatment of multi feedstocks and enzymatic hydrolysis of solids obtained thereof. *Bioresource Technology*. 2016;216:862–869. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.018>
18. Moniz P, Pereira H, Duarte LC, Carneiro F. Hydrothermal production and gel filtration purification of xylo-oligosaccharides from rice straw. *Industrial Crops and Products*. 2014;62:460–465. <https://doi.org/10.1016/j.ind-crop.2014.09.020>
19. Liu L, Liu W, Hou Q, Chen J, Xu N. Understanding of pH value and its effect on autohydrolysis pretreatment prior to poplar chemi-thermomechanical pulping. *Bioresource Technology*. 2015;196:662–667. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.034>
20. Podgorbunskikh EM, Ryabchikova EI, Bychkov AL, Lomovskii OI. Changes in structure of cell wall polymers in thermomechanical treatment of highly lignified plant feedstock. *Doklady Physical Chemistry*. 2017;473(1):49–51. <https://doi.org/10.1134/S0012501617030046>
21. Ko JK, Kim Y, Ximenes E, Ladisch MR.

Effect of liquid hot water pretreatment severity on properties of hardwood lignin and enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnology and Bioengineering*. 2015;112(2):252–262. <https://doi.org/10.1002/bit.25349>

22. Gan S, Zakaria S, Chen RS, Chia CH, Padzil FNM, Moosavi S. Autohydrolysis processing as an alternative to enhance cellulose solubility and preparation of its regenerated bio-based materials. *Materials Chemistry and Physics*. 2017;192:181–189. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.01.012>

Критерии авторства

Павлов И.Н. выполнил экспериментальную работу, на основании полученных результатов провел обобщение и написал рукопись. Автор несет полную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Автор прочел и одобрил окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Павлов Игорь Николаевич,
к.т.н., доцент,
старший научный сотрудник,
Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1,
Российская Федерация,
e-mail: pawlow-in@mail.ru

23. Zhu R, Yadama V. Effects of hot water extraction pretreatment on physicochemical changes of Douglas fir. *Biomass and Bioenergy*. 2016;90:78–89. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.03.028>

24. Chena T-Y, Wena J-L, Wanga B, Wanga H-M, Liub C-F, Suna R-C. Assessment of integrated process based on autohydrolysis and robust delignification process for enzymatic saccharification of bamboo. *Bioresource Technology*. 2017;244:717–725. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.032>

Contribution

Igor N. Pavlov carried out the experimental work, analyzed the experimental results and prepared the text of the manuscript. Igor N. Pavlov has exclusive author's rights and bears responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The author declares no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by the author.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Igor N. Pavlov,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Senior Research Scientist,
Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies SB RAS,
1, Sotsialisticheskaya St., Biysk, 659322,
Russian Federation,
e-mail: pawlow-in@mail.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 637:664

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-314-324>

Ферментативная модификация побочного мясокостного коллагенсодержащего сырья при его переработке

© Н.Ю. Мезенова, С.В. Агафонова, О.Я. Мезенова, Л.С. Байдалинова, В.В. Волков

Калининградский государственный технический университет,
г. Калининград, Российская Федерация

Резюме: Целью исследования являлось изучение процесса экстракции ценных протеиновых водорастворимых веществ из высокоминерализованного мясокостного сырья при гидролизе протеолитическими ферментами. Эксперименты проводили на говяжьих трубчатых и реберных костях с применением ферментов Alcalase 2,5 L, Protamex, Протосубтилин ГЗх. Эффективность гидролиза белков оценивали по накоплению в водном протеиновом экстракте небелкового аминного азота, количество которого устанавливали путем формольного титрования. Оценку химического состава сырья и продуктов гидролиза проводили стандартными физико-химическими методами. Высушивание гидролизованных протеиновых фракций осуществляли на лиофильной установке при температуре конденсатора -55°C . Сушку осадочной белково-минеральной фракции проводили конвекционным способом при 60°C . Установлен общий химический состав сырья и протеиновых гидролизатов. Показано, что ферментализация в водной среде с предварительным отделением жира и последующим разделением фракций позволяет получать низкомолекулярные водорастворимые пептиды и белково-минеральные нерастворимые композиции, а также жировые продукты в количестве 13,3–14,4 % от массы сырья. Выход протеинов по содержанию сухих веществ в водорастворимых сублимированных продуктах составил 6,1–7,9 % в зависимости от вида фермента и условий гидролиза. Основная масса протеинов сырья осаждается вместе с минеральными веществами при ферментализации. Содержание сухих веществ в плотных осадках составило 66,5–73,8 %. Рекомендовано применять ферментализацию мясокостного сырья для предварительной обработки при последующем высокотемпературном гидролизе. Протеиновые продукты, полученные при ферментативной модификации мясокостного сырья, рекомендованы к использованию в составе кормовых добавок, микробиологических сред и удобрений, кормов для аквакультуры. Для этого необходимо изучить их аминокислотный состав и провести биологические испытания. Выделенный жир может являться сырьем для ряда жировых продуктов (маргарин, спред, мыло).

Ключевые слова: мясокостное побочное сырье, коллаген, ферментативный гидролиз, сухие вещества, водорастворимые пептиды, аминный азот

Благодарность: Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям по программе «СТАРТ-1», НИОКР по теме: «Разработка технологии по переработке вторичного мясокостного сырья и получение экспериментальных образцов функциональных компонентов протеинового, липидного и белково-минерального составов» (договор №3209ГС/148676 от 03.09.2019, грант № АААА-А19-119101790069-4).

Информация о статье: Дата поступления 27 февраля 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Мезенова Н.Ю., Агафонова С.В., Мезенова О.Я., Байдалинова Л.С., Волков В.В. Ферментативная модификация побочного мясокостного коллагенсодержащего сырья при его переработке. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 314–324. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-314-324>

The use of enzymatic modification in recycling of meat and bone collagen-containing byproducts

Natalia Yu. Mezenova, Svetlana V. Agafonova, Olga Ya. Mezenova,
Larisa S. Baydalina, Vladimir V. Volkov

Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russian Federation

Abstract: The objective of this research was to study the process of extraction of valuable protein water-soluble substances from highly mineralized meat and bone raw materials during hydrolysis by proteolytic enzymes. The experiments were carried out on beef tubular and costal bones using enzymes Alcalase 2.5 L, Protamex, Protosubtilin G3x. The efficiency of protein hydrolysis was evaluated by the accumulation of non-protein amino nitrogen in the aqueous protein extract, the amount of which was determined by formol titration. The chemical composition of raw materials and hydrolysis products was evaluated by standard physico-chemical methods. The drying of hydrolyzed protein fractions was carried out on a lyophilic freeze dryer at a condenser temperature of -55°C . Drying of the sedimentary protein-mineral fraction was carried out by convection method at $60^{\text{about}}\text{C}$. The general chemical composition of raw materials and protein hydrolysates is established. It was shown that fermentolysis in an aqueous medium with preliminary separation of fat and subsequent separation of fractions makes it possible to obtain low molecular weight water-soluble peptides and protein-mineral insoluble compositions, as well as fat products in the amount of 13.3–14.4 % of raw materials by weight. The yield of proteins by the content of solid products in water-soluble freeze-dried products was 6.1–7.9 %, depending on the type of enzyme and hydrolysis conditions. The bulk of the raw material's protein mass is precipitated together with mineral substances during fermentolysis. The solids content in dense sediments was 66.5–73.8 %. It is recommended to use the fermentolysis of meat and bone raw materials for pre-treatment in subsequent high-temperature hydrolysis. Protein products obtained by enzymatic modification of meat and bone raw materials are recommended for use as part of feed supplements, microbiological media and fertilizers, as well as feed for aquaculture. To accomplish that, it is necessary to study their amino acid composition and conduct biological tests. The extracted fat may also serve as a raw material for a number of fat products (margarine, spreads, soap).

Keywords: meat and bone byproduct, collagen, enzymatic hydrolysis, solids, water-soluble peptides, amine nitrogen

Acknowledgments: The study was carried out with the financial support of the Foundation for the Promotion of Innovation under the START-1 program, R&D on the topic: "Development of technology for processing secondary meat and bone raw materials and obtaining experimental samples of the functional components of protein, lipid and protein-mineral compositions" (contract no. 3209ГС1/48676 03 September 2019, grant no. AAAA-A19-119101790069-4).

Information about the article: Received February 27, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Mezenova NYu, Agafonova SV, Mezenova OYa, Baydalina LS, Volkov VV. The use of enzymatic modification in recycling of meat and bone collagen-containing byproducts. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):314–324. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-314-324>

ВВЕДЕНИЕ

Переработка животноводческого сырья неизбежно связана с образованием побочного сырья (кости, костный шрот, мослы, обрезь, головы, соединительные ткани, лапы и перо птицы и др.) [1, 2]. Ввиду низкого пищевого качества, трудоемкости переработки и недостаточной востребованности особую проблему представляет использование высокоминерализованного мясокостного сырья крупного рогатого скота (КРС), к которому относятся реберные и трубчатые кости с кулаками и кост-

ным мозгом [3, 4]. Однако мясокостное сырье имеет высокий биопотенциал, обусловленный наличием в его составе такого ценного белка, как коллаген и его специфических аминокислот (глицина, пролина, оксипролина, глутаминовой кислоты и др.), а также кальция, фосфора и жирных кислот.

Высокоминерализованный коллаген, составляющий основу соединительной ткани организма млекопитающих (отсутствует у растений, бактерий, вирусов, простейших и грибов), обеспечивает ее прочность и эластичность

благодаря структурным единицам – тропоколлагенам. Масса коллагена может достигать 50 % веса костной ткани [5, 6]. Перевод его в растворимое состояние ферментативным путем позволит получать ценные низкомолекулярные пептиды и аминокислоты заданного состава, биологически активные пептиды, востребованные во многих отраслях, в том числе при производстве пищевых, кормовых и микробиологических продуктов [7, 8]. При переработке данного сырья представляется перспективным применение процесса гидролитического распада костных тканей под действием протеолитических ферментов коллагеназной специфичности, который позволит не только получать полезные протеиновые продукты, но и будет способствовать комплексной переработке сырья с выделением минеральных и жировых фракций [9–12].

Целью настоящей работы являлось исследование процесса биотехнологической обработки мясокостного побочного сырья различными протеолитическими ферментами с установлением степени экстракции водорастворимых низкомолекулярных протеиновых фракций и перспективности получения ценных протеиновых, минеральных и жировых продуктов.

Для достижения этой цели необходимо было решить следующие задачи: исследовать химический состав сырья, обосновать выбор наиболее эффективных ферментов для перевода коллагеновых белков в растворимое состояние, установить степень экстракции в воду продуктов гидролиза, определить перспективность ферментолиза при переработке мясокостного сырья с целью эффективного использования полученных продуктов гидролиза.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводили в Центре передовых технологий использования белков Калининградского государственного технического университета. В качестве основного сырья использовали кости трубчатые с кулаками и ребра КРС (Голубевский мясокомбинат «ЛЭАР», Калининградская область) и кости реберные говяжьи (ООО «МК «Залесье»»).

Содержание влаги, белков, жира и золы определяли по государственным стандартам 9793-2016, 25011-2017, 23042-2015, 31727-2012 соответственно. Массовую долю коллагена в сырье определяли по ГОСТ 33692-2015. Содержание кальция и фосфора оценивали по ГОСТ 55573-2013 и 9794-2015. Степень гидролиза протеинов сырья оценивали по накоплению водорастворимого аминного азота по ГОСТ 7636-85, кислотности тканей и содержанию сухих веществ (СВ) в водорастворимой фракции, а также по массе в гидролизной си-

стеме нерастворимого плотного остатка и содержанию в нем сухих веществ.

Для ферментативного распада коллагеновых тканей использовали протеолитические ферменты коллагеназной специфичности: «Alcalase 2,5 L» и «Protamex» (активность 2,5 и 1,5 AU/г соответственно; эндопептидазы; производитель Novozymes, Дания), «Протосубтилин ГЗх» (активность 70 ед/г, экзопептидаза, ООО ПО «Сиббиофарм», Россия), которые эффективно гидролизуют коллагеновые рыбные ткани [12, 13]. Ферментацию проводили при варьировании дозировки ферментов от 1 до 3 % к массе сырья и продолжительности процесса от 180 до 360 мин при температуре 50 °С и pH=7. На втором этапе исследовали глубину гидролиза тканей при комбинировании ферментов (эндо- и экзопептидаз) при дозировках 0,5, 1 и 2 % к массе сырья в течение 90 и 120 мин. Параллельно проводили контрольные эксперименты с пробами без добавления ферментов. По окончании ферментолиза пробы выдерживали при температуре 90 °С в течение 15 мин для инактивирования ферментов. Далее пробы центрифугировали в течение 15 мин при температуре 40 °С и частоте 4000 об./мин для разделения смеси на плотную (белково-минеральную) и жидкую (протеиновую) фракции.

Для проведения экспериментов 100 г измельченного сырья помещали в герметичные стеклянные банки, смешивали с подогретой водой в соотношении 1:1 таким образом, чтобы температура смеси достигала 50 °С, добавляли фермент или композицию ферментов и проводили ферментолиз в шуттель-аппарате при автоматическом встряхивании смеси и поддержании заданной температуры. Поскольку в трубчатых костях содержится повышенное количество костного мозга и жира, его предварительно удаляли из системы, получая дополнительно полезный продукт. Для обезжиривания измельченное сырье смешивали с горячей водой (80–85 °С), выдерживали 30 мин и отделяли жир с помощью центрифугирования.

После ферментолиза жидкие водорастворимые фракции лиофильно высушивали в течение 30 ч при температуре в конденсаторе -55 °С в сублимационной сушильной установке Martin Christ Alpha 1-2 LDplus до содержания влаги в продукте около 6 %, получая протеиново-пептидные добавки. Непрогидролизованый осадок, содержащий нерастворимые белки и минеральные вещества, высушивали в сушильном шкафу конвекционным способом при температуре 60 °С до содержания влаги не более 8 %, затем тонко измельчали [14].

Математическую обработку полученных данных осуществляли с применением методов математической статистики при доверительной

вероятности вывода 95 % с помощью программ Microsoft Office.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика общего химического состава исследованного мясокостного сырья приведена в табл. 1.

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что протеина содержится больше в трубчатых костях (29,7 %), чем в реберных (22,8 %). При этом массовая доля коллагена в обоих видах сырья достаточно высока и составляет соответственно 80,8 и 93 % массы белка. Следует отметить повышенную жирность сырья (16,1 и 18,8 %), что мешает извлечению протеиновой фракции. Поэтому перед ферментололизом необходимо предварительное удаление жира. Это позволит сохранить все его полезные свойства, избежав негативного воздействия ферментов. Путем обработки горячей водой и отделения выделившегося жира центрифугированием получали, в зависимости от вида сырья, жировые фракции в количестве соответственно 13,3 и 14,4 % от массы сырья. Высокое содержание минеральных веществ в исследованном сырье – 33,9–36,2 % (см. табл. 1) свидетельствует как о его высокой прочности, так и значительном минеральном потенциале, в том числе по содержанию кальция и фосфора (табл. 2).

Из данных табл. 2 следует, что говяжьи трубчатые кости и ребра являются хорошим источником кальция (15,1–16,6 %) и фосфора (7,5–6,9 %), при этом массовое соотношение данных металлов – 1:0,5 и 1:0,4 соответственно, приближено к рекомендуемому (1:0,8) для питания (МР 2.3.1.2432-08) Это обуславливает

рациональность извлечения из говяжьего мясокостного сырья данных микроэлементов и использования их в качестве минеральных добавок [15–17].

В табл. 3 приведены характеристика процесса и показатели глубины гидролиза реберного мясокостного сырья в водной среде, проведенного с применением различных протеолитических ферментов и их комбинаций, при этом во всех экспериментах масса добавляемой воды составила 100 г на 100 г массы сырья, то есть соотношение воды и сырья 1:1.

Из данных, представленных в табл. 3, можно сделать вывод о сложном характере ферментативного воздействия на ткани ребер говяжьих в зависимости от применяемого фермента (или композиции ферментов) и его количества, а также продолжительности процесса, влияющих на характер расщепления протеинов. О глубине гидролиза белков наилучшим образом свидетельствуют значения содержания аминного азота (АА) в водорастворимом протеиновом гидролизате, которые прямо коррелируют с массовой долей в нем сухих веществ, его кислотностью и имеют обратно пропорциональную зависимость от массы осадка и содержания в нем сухих веществ. Следует отметить, что данные показатели растут с увеличением дозировки фермента от 1 до 3 %, но их прирост незначителен в диапазоне 2–3 %. Наилучшие результаты по глубине гидролиза с учетом количественных значений всех показателей отмечены при применении индивидуальных ферментов Alcalase 2,5 L (2 %, 360 мин, АА = 414,4 мг/100 г) и Протосубтилина (3 %, 360 мин, АА = 422,2 мг/100 г).

Таблица 1

Общий химический состав исследованного мясокостного сырья, %

Table 1

General chemical composition of the studied meat and bone raw materials, %

Дата проведения исследования	Сырье и характер его измельчения	Сухие вещества	Влага	Жир	Протеин	Коллаген	Минеральные вещества
22.10.2019 г.	Ребра говяжьи, тонкое измельчение	75,11±0,15	24,89±0,14	16,10±0,08	22,82±0,17	21,18±0,12	36,20±0,14
18.09.2019 г.	Кости трубчатые говяжьи с кулаками, крупное измельчение	82,43±0,16	17,57±0,11	18,83±0,09	29,67±0,18	24,07±0,10	33,83±0,13

Таблица 2

Содержание кальция и фосфора в мясокостном сырье

Table 2

Content of calcium and phosphorus in meat and bone raw materials

Сырье	Содержание, % массы сырья	
	кальция	фосфора
Кости трубчатые говяжьи с кулаками	16,61±0,03	7,52±0,06
Ребра говяжьи	15,12±0,04	6,9±0,05

Таблица 3

Условия и результаты ферментативного гидролиза ребер говяжьих протеолитическими ферментами и их комплексами

Table 3

Conditions and results of enzymatic hydrolysis of beef ribs with proteolytic enzymes and their complexes

Номер эксперимента	Фермент / продолжительность гидролиза, мин	Количество фермента, % массы сырья, (ед. активности)	Характеристика водорастворимого протеинового гидролизата				Белково-минеральный остаток	
			Масса, г	Сухие вещества, %	АА, мг/100 г	Кислотность, % уксусной кислоты	Масса, г	Сухие вещества, %
<i>Ферментативный гидролиз индивидуальными ферментами</i>								
1	Alcalase / 180	0 (0)	50,51±0,21	1,79±0,01	42,32±0,11	0,30±0,01	143,52±0,21	45,24±0,18
		1 (2,5 AU/g)	91,50±0,16	6,68±0,04	326,2±1,12	4,20±0,02	105,53±0,24	38,07±0,13
		2 (5 AU/g)	87,55±0,22	6,90±0,03	344,4±1,23	5,22±0,02	107,54±0,19	38,23±0,14
	Alcalase / 360	0 (0)	61,53±0,18	1,99±0,02	47,6±1,08	0,24±0,01	130,07±0,22	47,32±0,16
		1 (2,5 AU/g)	90,05±0,19	6,96±0,03	393,4±1,34	3,06±0,02	104,01±0,21	30,21±0,12
		2 (5 AU/g)	92,12±0,17	7,32±0,02	414,4±2,03	3,84±0,02	104,03±0,22	29,14±0,13
2	Протосубтилин / 180	0 (0)	51,04±0,09	1,53±0,02	43,4±0,09	0,24±0,01	151,64±0,23	49,65±0,18
		1 (70 ед/г)	74,52±0,21	7,67±0,03	331,8±1,34	3,32±0,03	124,62±0,32	61,36±0,21
		2 (140 ед/г)	83,14±0,17	8,62±0,03	347,2±1,16	3,68±0,04	115,94±0,23	62,13±0,30
	Протосубтилин / 360	0 (0)	58,14±0,16	1,88±0,02	51,8±1,17	0,27±0,01	140,43±0,19	52,50±0,14
		1 (70 ед/г)	82,63±0,21	6,27±0,03	343,0±1,05	2,34±0,03	115,45±0,16	63,91±0,15
		2 (140 ед/г)	90,11±0,21	7,01±0,02	370,6±1,01	3,63±0,02	110,73±0,17	65,63±0,09
3	Protamex / 180	0 (0)	55,03±0,12	1,85±0,02	42,0±1,15	0,24±0,02	142,01±0,16	52,87±0,12
		1 (1,5 AU/g)	88,01±0,18	8,00±0,03	249,2±1,19	3,00±0,03	109,04±0,11	65,42±0,13
		2 (3,0 AU/g)	91,05±0,18	9,96±0,02	278,6±2,02	3,80±0,02	107,06±0,14	65,55±0,11
	Protamex / 360	0 (0)	57,06±0,09	1,73±0,01	130,4±2,01	0,24±0,01	140,04±0,22	52,6±0,12
		1 (1,5 AU/g)	86,57±0,22	8,10±0,03	330,4±1,24	2,40±0,02	112,52±0,13	65,7±0,09
		2 (3,0 AU/g)	90,03±0,11	8,03±0,02	292,6±1,19	3,18±0,03	110,02±0,19	66,5±0,21
4	Alcalase / 90 + Протосубтилин / 90	0/0 (0/0)	54,33±0,19	1,82±0,01	39,21±0,09	0,06±0,01	141,91±0,19	52,23±0,14
		0,5/0,5 (1,25 AU/g / 35 ед/г)	91,22±0,22	7,54±0,02	249,23±1,20	1,98±0,02	107,53±0,23	67,51±0,18
		1/1 (2,5 AU/g / 70 ед/г)	85,45±0,17	7,66±0,03	281,04±1,19	2,22±0,03	114,14±0,22	64,7±0,20
	Алкалаза / 120 + Потосубтилин / 120	0/0 (0/0)	59,05±0,12	2,15±0,02	49,02±0,91	0,06±0,01	138,42±0,19	51,6±0,13
		0,5/0,5 (1,25 AU/g / 35 ед/г)	85,43±0,23	7,83±0,03	267,46±1,22	2,10±0,03	118,11±0,14	63,8±0,16
		1/1 (2,5 AU/g / 70 ед/г)	90,66±0,21	8,27±0,03	289,31±1,92	3,06±0,03	108,93±0,12	65,5±0,11
5	Protamex / 90 + Протосубтилин / 90	0/0 (0/0)	68,93±0,15	1,73±0,02	54,670,91±	0,24±0,02	129,46±0,11	56,1±0,12
		0,5/0,5 (0,75 AU/g / 35 ед/г)	92,72±0,21	6,43±0,03	183,48±1,19	2,60±0,03	104,45±0,08	68,6±0,17
		1/1 (1,5 AU/g / 70 ед/г)	96,06±0,19	7,08±0,03	205,83±2,07	2,78±0,03	100,02±0,09	67,3±0,18
	Протосубтилин / 120 + Потосубтилин / 120	0/0 (0/0)	72,63±0,18	1,85±0,02	60,28±0,86	0,18±0,02	126,82±0,18	55,8±0,13
		0,5/0,5 (0,75 AU/g / 35 ед/г)	99,42±0,25	6,47±0,03	212,82±1,19	2,71±0,03	99,440,11±	67,6±0,17
		1/1 (1,5 AU/g / 70 ед/г)	102,01±0,26	7,55±0,03	243,652,03±	4,13±0,03	96,72±0,09	68,3±0,14
		2/2 (3 AU/g / 140 ед/г)	96,52±0,18	8,22±0,03	245,032,11±	4,29±0,03	103,62±0,16	67,8±0,09

В то же время при обработке ферментами в течение 360 мин в образцах появлялись посторонние запахи (аммиачный, жженный и др.), что свидетельствует о чрезмерной продолжительности процесса и рациональности его проведения в течение 180 мин в обоих случаях, поскольку количественные значения АА отличаются на 4,3 и 18,6 % соответственно при дозировке 2 % (344,4 и 337,4 мг/100 г соответственно). Не показало своих преимуществ по глубине гидролиза сочетание ферментов при различных их дозировках и продолжительности процесса. В данных экспериментах, как следует из табл. 3, показатели АА были на уровне 249,2–306,6 мг/100 г, наилучшей композицией можно считать Alcalase + Протосубтилин при последовательном воздействии 90 + 90 мин. А при воздействии в течение общей продолжительности процесса 180 мин значения АА оказались ниже, чем при использовании индивидуальных ферментов в течение 180 мин при дозировке 1 %.

Результаты сравнительных экспериментов по выбору наиболее эффективных ферментов для гидролиза костей трубчатых говяжьих приведены в табл. 4.

Из данных табл. 4 следует, что при обработке ферментами костей трубчатых говяжьих гидролиз белков идет значительно слабее, чем ребер (см. табл. 3), что объясняется повышен-

ной минерализованностью данного сырья. На первой стадии (90 мин) наибольший прирост АА наблюдался при использовании фермента Alcalase (196,0–324,8 мг/100 г). Увеличение дозировки ферментов до 2,0 % к массе сырья способствовало увеличению продуктов гидролиза на 63–81 %. Дальнейшее увеличение дозировки ферментов до 3 % нецелесообразно ввиду технологической и экономической неэффективности, особенно при использовании фермента Protamex (наиболее дорогой и наименее эффективный). При использовании композиций ферментов на первой стадии процесса (90 мин) также более эффективным является фермент Alcalase, особенно при дозировке 0,5 %. При обработке в течение 120 мин, когда в реакционную смесь добавляется Протосубтилин ГЗх, небольшой прирост АА фиксируется при общей дозировке ферментов до 2,0 %, но полученный эффект гидролиза от суммарного воздействия ферментов не достигает уровня индивидуального действия фермента Alcalase.

О степени экстракции растворенных протеинов в водную среду судили по содержанию сухих веществ в сублимированных протеиновых гидролизатах и высушенных плотных непрогидролизированных остатках (осадках), отнесенных к содержанию сухих веществ в сырье (табл. 5).

Таблица 4

Содержание аминного азота при воздействии индивидуальных и комплексных протеолитических ферментов на кости трубчатые говяжьи в водной среде при гидромодуле 1 : 1 и температуре 50 °С

Table 4

Amine nitrogen in tubular beef bones treated by individual and complex proteolytic enzymes in a water module of 1 : 1 and a temperature of 50 °C

Номер эксперимента	Продолжительность воздействия, мин	Фермент	Доза фермента, % к массе сырья			
			0 (контроль)	1,0	2,0	3,0
<i>Ферментативный гидролиз индивидуальными ферментами</i>						
1	180	Alcalase	21,31±0,02	147,02±1,12	156,81±1,12	218,41±1,13
2		Protamex	14,03±0,03	232,43±1,09	312,24±1,20	282,8±1,16
3		Протосубтилин	15,42±0,03	224,02±1,11	182,81±1,22	175,03±1,12
4	360	Alcalase	18,21±0,02	198,81±1,15	289,82±1,19	175,02±1,19
5		Protamex	15,44±0,01	211,44±1,08	310,82±1,20	274,42±1,17
6		Протосубтилин	15,51±0,01	141,42±1,06	148,44±1,17	238,01±1,19
<i>Ферментативный гидролиз комплексными ферментами</i>						
7	90 + 90	Alcalase + Протосубтилин	11,91±0,01	196,01±2,02	161,04±1,18	324,81±2,07
8		Protamex + Протосубтилин	9,82±0,02	133,02±2,01	189,04±1,21	194,64±1,21
9	120 + 120	Alcalase + Протосубтилин	5,63±0,01	201,62±1,19	173,61±1,17	217,03±1,18
10		Protamex + Протосубтилин	5,62±0,1	134,42±1,14	156,82±1,15	215,62±1,16

Таблица 5

Степень извлечения сухих веществ в водорастворимые протеиновые гидролизаты и их остаточное содержание в белково-минеральных осадках (сухие формы) при ферментации различными ферментами ребер говяжьих

Table 5

Solids extraction into water-soluble protein hydrolysates and their residual content in protein-mineral sediments (dry forms) during fermentolysis by various enzymes of beef ribs

Номер эксперимента (табл. 3)	Ферменты	Продолжительность гидролиза, мин	Целевые продукты гидролиза (высушенные формы)	Степень извлечения сухих веществ, % к массе сырья, в продукты гидролиза при дозировках фермента, % массы сырья			
				0	1,0	2,0	3,0
<i>Ферментативный гидролиз ребер говяжьих протеолитическими ферментами</i>							
1	Alcalase	180	Гидролизат Плотный остаток	0,91±0,01 79,62±0,12	6,11±0,06 70,43 ±0,24	6,45±0,07 68,91±0,19	– –
		360	Гидролизат Плотный остаток	1,22±0,01 78,52±0,08	6,3±0,07 72,61±0,07	6,7±0,05 71,03±0,05	– –
2	Протосуб- тилин	180	Гидролизат Плотный остаток	1,09±0,04 78,21±0,16	5,74±0,06 73,32±0,17	7,22±0,03 72,01±0,15	7,82±0,05 68,61±0,12
		360	Гидролизат Плотный остаток	0,78±0,01 77,74±0,11	5,22±0,03 73,81±0,13	7,03±0,04 70,62±0,15	7,73±0,08 69,21±0,12
3	Protamex	180	Гидролизат Плотный остаток	1,02±0,01 78,92±0,12	7,04±0,05 70,33±0,13	9,03±0,08 68,12±0,09	9,12±0,07 67,14±0,14
		360	Гидролизат Плотный остаток	0,99±0,01 78,61±0,12	7,14±0,04 69,92±0,13	7,25±0,03 68,24±0,09	9,82±0,04 66,51±0,11
<i>Ферментативный гидролиз ребер говяжьих комплексами протеолитических ферментов</i>							
4	Alcalase	90	Гидролизат Плотный осадок	0,99±0,01 78,02±0,11	6,6±0,04 70,63±0,09	6,9±0,04 69,81±0,15	7,9±0,05 68,73±0,13
	Протосуб- тилин	120	Гидролизат Плотный осадок	1,25±0,02 77,4±0,12	6,73±0,06 75,3±0,13	7,54±0,05 71,3±0,09	7,22±0,05 73,2±0,10
5	Protamex	90	Гидролизат Плотный осадок	1,19±0,01 78,6±0,13	5,96±0,04 71,4±0,15	6,8±0,04 67,3±0,09	7,8±0,05 70,3±0,11
	Протосуб- тилин	120	Гидролизат Плотный осадок	1,34±0,02 78,3±0,13	6,4±0,04 70,2±0,14	7,7±0,05 68,0±0,11	7,9±0,06 67,1±0,12

Из данных табл. 5 видно, что степень экстракции сухих веществ (в основном протеинового характера) в сублимированный водный гидролизат при ферментации ребер говяжьих, определенная относительно их содержания в сырье, составляет 6,1–7,9 % в зависимости от вида фермента (или их композиции), его дозировки и продолжительности воздействия. При этом увеличение дозировки ферментов и продолжительности существенно не влияет на этот показатель. Практически весь протеиновый материал (вместе с минеральными веществами) осаждается в плотный остаток, о чем свидетельствуют высокие значения в нем показателя сухих веществ (66,5–73,8 %). Данный факт свидетельствует о прочности коллагеновых белков исследованного сырья, их относительной устойчивости к ферментативному гидролизу, так как большая часть их не перешла в растворенное состояние при всех исследованных условиях обработки [1–4, 12].

Подобные результаты по выходу сухих веществ были получены при ферментации трубчатых говяжьих костей: степень экстракции сухих веществ в сублимированный гидролизат составила от 5,4 до 7,1 %, при этом в плотном остатке их содержание составило от 68,4 до 75,8 % их первоначального уровня.

Результаты проведенных исследований показывают, что при ферментативной обработке высокоминерализованного коллагенсодержащего мясокостного сырья наиболее эффективно применение фермента Alcalase 2,5 L как самостоятельно, так и в комбинации с Протосубтилином ГЗх при дозировке не более 0,5–1 % к массе сырья. При этом возможно получение двух протеиновых продуктов: первого – в виде водорастворимого сублимированного протеинового материала, второго – в виде нерастворимого белково-минерального тонко измельченного порошка. Оба продукта могут найти применение в промышленности

как источники ценных пептидов и протеино-минеральных комплексов [18, 19]. Дополнительным востребованным продуктом является костный жир, масса которого при описанном способе переработки побочного мясокостного сырья составила 13,3–14,4 %.

Результаты экспериментов показывают, что ферментативная гидролизная технология как самостоятельный способ переработки мясокостного сырья недостаточно эффективна для полного извлечения протеиновых веществ. Ферментализ можно рекомендовать в качестве подготовительного процесса в комбинированной безотходной технологии переработки коллагенсодержащего сырья [9, 12]. Для этого целесообразно после ферментализа проводить гидролиз с применением высоких температур при повышенном давлении, что обеспечит глубокую деградацию высокоминерализованных коллагеновых тканей и наиболее полный экстракционный выход протеиновых веществ [12]. Для увеличения степени гидролиза возможен также вариант применения ферментализа после термической обработки мясокостного сырья. Такая предобработка облегчит доступ протеаз к субстрату и позволит повысить эффективность гидролиза.

Ферментативная модификация мясокостного сырья позволяет получать протеиновые продукты, которые могут быть использованы в составе кормовых добавок, микробиологических сред, биоудобрений, кормов для аквакультур. Однако это требует более детального изучения аминокислотного состава продуктов и проведения специальных биологических испытаний. Выделенный жир может найти применение в технологии жировых и жиросодер-

жащих продуктов (маргарин, спред, мыло и др.) [3, 9, 10, 19, 20].

ВЫВОДЫ

1. Установлен общий химический состав мясокостного побочного сырья, свидетельствующий о его высоком биопотенциале по содержанию протеинов (22,8–29,7 %), коллагена (80,8–93,0 % массы протеинов), жиров (16,1–18,8 %) и минеральных веществ (33,9–36,2 %), которые целесообразно извлекать с применением биотехнологических ферментативных приемов.

2. Обоснован выбор наиболее эффективных протеолитических ферментов, обеспечивающих перевод коллагеновых белков сырья в растворимое состояние и получение сублимированных пептидов в количестве 7 % массы сырья и выше (фермент Alcalase 2,5 L при индивидуальном и комбинированном применении с Протосубтилином ГЗх при рациональных дозировках 0,5–1 % к массе сырья).

3. Ферментализ мясокостного сырья протеолитическими ферментами может быть рекомендован для применения в комбинированной технологии гидролизной переработки мясокостного сырья высокотемпературным способом в качестве подготовительной операции или после его термической обработки.

4. Продукты ферментативной обработки мясокостного сырья могут быть использованы в составе кормовых и микробиологических продуктов, биоудобрений, кормов для аквакультуры при условии изучения их аминокислотного состава и проведения специальных биологических испытаний.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Shchekotova A.V., Khamagaeva I.S., Tsyrenov V.Zh., Darbakova N.V., Khazagaeva S.N. Biotechnological processing procedures of collagen-containing raw materials for creation of functional foods // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. № 2. С. 250–259. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-250-259>
2. Глотова И.А., Литовкин А.Н. Проблемы и перспективы переработки вторичных продуктов убоя птицы // Технологии и товароведение сельскохозяйственной продукции. 2013. № 1. С. 7–12.
3. Литовкин А.Н., Глотова И.А., Кривцова О.Ю. Вторичные продукты убоя птицы как сырьё для функциональных препаратов животных белков // Современные наукоемкие технологии. 2014. № 5–1. С. 189.
4. Глотова И.А., Галочкина Н.А., Болтыхов Ю.В. Функциональные коллагенсодержащие субстанции на основе вторичных продуктов животноводства // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2012. № 4 (328). С. 16–19.
5. Глотова И.А., Ряжских В.И., Галочкина Н.А., Макаркина Е.Н., Галочкин М.Н. Получение функциональных дисперсных систем на основе коллагеновых белков: формализованный подход к описанию тепло-массообменных процессов // Фундаментальные исследования. 2012. № 11-20. С. 383–388.
6. Глотова И.А., Литовкин А.Н. Переработка голов и ног птицы с получением пищевых модулей // Мясная индустрия. 2016. № 6. С. 48–50.
7. Asyakina L., Babich O., Dolganuk V., Suhih S. Methods of production and purification of biologically active peptides // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016. Vol. 7. Issue 4. P. 2415–2422.
8. Prosekov A., Babich O., Kriger O., Ivanova S., Pavsky V., Sukhikh S., et al. Functional properties of the enzyme-modified protein from oat bran // Food Bioscience. 2018. Vol. 24. P. 46–49.

<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.05.003>

9. Фисинин В.И., Исмаилова Д.Ю., Волик В.Г., Лукашенко В.С., Салеева Ч.П. Глубокая переработка вторичных продуктов птицеводства для разных направлений исследования (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. N 6. С. 1105–1115. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.6.1105rus>

10. Мезенова О.Я. Перспективы получения и использования протеинов из вторичного рыбного сырья // Вестник международной академии холода. 2018. N 1. С. 5–10. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2018-17-1-5-10>

11. Пискаева А.И. Биотехнологические аспекты утилизации отходов птицеперерабатывающих предприятий // Уникальные исследования XXI века. 2016. N 10 (22). С. 5–25.

12. Мезенова О.Я., Волков В.В., Мерзель Т., Гримм Т., Кюн С., Хелинг А. [и др.]. Сравнительная оценка способов гидролиза коллагенсодержащего рыбного сырья при получении пептидов и исследование их аминокислотной сбалансированности // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8. N 4. С. 83–94. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-83-94>

13. Мезенова О.Я., Хелинг А., Мерзель Т. Биопотенциал вторичного рыбного сырья // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2018. N 1. С. 11–18.

14. Глотова И.А., Литовкин А.Н., Артёмов Е.С., Ермолова А.В., Шахов С.В., Саранов И.А. Исследование процессов дегидратации биополимерных систем в составе птицепродуктов // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ). 2016. Т 121. С. 801–812. <https://doi.org/10.21515/1990-4665-121-045>

[org/10.21515/1990-4665-121-045](https://doi.org/10.21515/1990-4665-121-045)

15. Минченко В.Н., Коваль О.В., Васькина Т.И. Химический анализ костной ткани телят при включении в рацион биопротекторов в условиях техногенного загрязнения территории // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. 2016. N 1 (53). С. 33–37.

16. Какимов А.К., Есимбеков Ж.С., Кабулов Б.Б. Минеральный состав реберных костей убойных животных // Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. 2015. N 1. С. 217–219.

17. Zhai Y., Wang F., Wang S. Study on prescription and technology for producing calcium-rich chewable tablets using carp bone // Journal of Tianjin Agricultural University. 2013. Issue 2. P. 25–36.

18. Курчаева Е.Е., Артемов Е.С., Глотова И.А., Тертычная Т.Н., Калашникова С.В., Ходыкина О.И. Инновационные подходы к созданию продуктов питания функциональной направленности // Технологии и товароведение сельскохозяйственной продукции. 2015. N 1. С. 65–71.

19. Babich O., Sukhikh S., Prosekov A., Ulrikh E., Lukin A. Selection of modes of poultry waste conversion into biofertilizers // Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2018. Vol. 10. Issue 7. P. 1768–1771.

20. Dyshlyuk L.S., Noskova S.Yu., Asyakina L.K., Babich O.O. Upgrading experimental technological lines for obtaining bio-fertilizers from poultry biowaste // ARP Journal of Engineering and Applied Sciences. 2017. Vol. 12. Issue 23. P. 6732–740.

REFERENCES

1. Shchekotova AV, Khamagaeva IS, Tsyrenov VZh., Darbakova NV, Khazagaeva SN. Biotechnological processing procedures of collagen-containing raw materials for creation of functional foods. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(2):250–259. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-250-259>

2. Glotova IA, Litovkin AN. Problems and prospects of processing secondary products of poultry slaughter. *Tekhnologii i tovarovedenie sel'skohozyaistvennoi produktsii*. 2013;1:7–12. (In Russian)

3. Litovkin AN, Glotova IA, Krivtsova OYu. Secondary products of poultry slaughter as a raw material for functional preparations of animal proteins. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2014;5-1:189. (In Russian)

4. Glotova IA, Galochkina NA, Boltykhov YuV. Functional collagen-containing substances

based on secondary animal products. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Pishchevaya tekhnologiya* = News of higher educational institutions. Food technology. 2012;4:16-19. (In Russian)

5. Glotova IA, Ryazhskih VI, Galochkina NA, Makarkina EN, Galochkin MN. Receiving functional disperse systems on the basis of collagenic proteins: the formalized approach to the description warm processes. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2012;11-20:383–388. (In Russian)

6. Glotova IA, Litovkin AN. Processing of poultry heads and legs with production of food modules. *Myasnaya industriya* = Meat Industry. 2016;6:48–50. (In Russian)

7. Asyakina L, Babich O, Dolganuk V, Suhikh S. Methods of production and purification of biologically active peptides. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2016;7(4):2415–2422.

8. Prosekov A, Babich O, Kriger O, Ivanova S, Pavsky V, Sukhikh S, et al. Functional properties of the enzyme-modified protein from oat bran. *Food Bioscience*. 2018;24:46–49. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.05.003>

9. Fisinin VI, Ismailova DYu, Volik VG, Lukashenko VS, Saleeva ChP. Deep processing of secondary poultry products for different areas of research (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*. 2017;52(6):1105–1115. (In Russian) <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.6.1105rus>

10. Mezenova OJ. Prospects for producing and using proteins from secondary fish raw materials. *Vestnik mezhdunarodnoi akademii kholoda = Journal of International Academy of Refrigeration*. 2018;1:5–10. (In Russian) <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2018-17-1-5-10>

11. Piskaeva AI. Biotechnological aspects of waste disposal of poultry processing enterprises. *Unikal'nye issledovaniya XXI veka*. 2016;10:5–25. (In Russian)

12. Mezenova OYa, Volkov VV, Moersel T, Grimm T, Kuehn S, Hoehling A., et al. A comparative assessment of hydrolysis methods used to obtain fish collagen peptides and investigation of their amino acid balance. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2018;8(4):83–94. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-83-94>

13. Mezenova OYa, Hohling A, Moerzel T. Biopotential of secondary fish raw materials. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Pishchevaya tekhnologiya = News of institutes of higher education. Food technology*. 2018;1:11–18. (In Russian)

14. Glotova IA, Litovkin AN, Artemov ES, Ermolova AV, Shahov SV, Saranov IA. Research of the dehydration processes of biopolymer systems in poultry products. *Politematicheskii setevoyi elektronnyi nauchnyi zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Polythe-*

matic online scientific Journal of Kuban State Agrarian University (Scientific Journal of KubSAU). 2016;121:801–812. (In Russian) <https://doi.org/10.21515/1990-4665-121-045>

15. Minchenko VN, Koval OV, Vas'kina TI. The Chemical Analysis of Bone Tissue of the Calves when Including Bioprotectors into the Diet in the Conditions of Anthropogenic Pollution of the Territory. *Vestnik Bryanskoj gosudarstvennoj sel'skohozyaistvennoj akademii = Vestnik of the Bryansk State Agricultural Academy*. 2016;1:33–37. (In Russian)

16. Kakimov AK, Esimbekov ZhS, Kabulov BB. Mineral composition of rib bones of slaughter animals. In: *Development of biotechnological and post-genomic technologies for assessing the quality of agricultural raw materials and creating healthy food products: Proceedings of 18th International Scientific and Practical Conference dedicated to the Memory of V.M. Gorbатов*. 9–10 December 2015, Moscow, no. 1, p. 217–219. (In Russian)

17. Zhai Y, Wang F, Wang S. Study on prescription and technology for producing calcium-rich chewable tablets using carp bone. *Journal of Tianjin Agricultural University*. 2013;2:25–36.

18. Kurchaeva EE, Artemov ES, Glotova IA, Tertychnaya TN, Kalashnikova SV, Khodykina OI. Innovative approaches to the creation of food products of a functional orientation. *Tekhnologii i tovarovedenie sel'skohozyaistvennoj produktsii*. 2015;1:65–71 (In Russian)

19. Babich O, Sukhikh S, Prosekov A, Ulrikh E, Lukin A. Selection of modes of poultry waste conversion into biofertilizers. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018;10(7):1768–1771.

20. Dyshlyuk LS, Noskova SYu, Asyakina LK, Babich OO. Upgrading experimental technological lines for obtaining bio-fertilizers from poultry biowaste. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences*. 2017;12(23):6732–740.

Критерии авторства

Мезенова Н.Ю., Агафонова С.В., Мезенова О.Я., Байдалинова Л.С., Волков В.В. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

Natalia Yu. Mezenova, Svetlana V. Agafonova, Olga Ya. Mezenova, Larisa S. Baydalinova, Vladimir V. Volkov carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict 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

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мезенова Наталья Юрьевна,
к.т.н., доцент кафедры пищевой биотехнологии,
Калининградский государственный технический университет,
236022, г. Калининград, Советский пр-т, 1,
Российская Федерация,
e-mail: nataliya.mezenova@klgtu

Natalia Yu. Mezenova,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Department of Food Biotechnology,
Kaliningrad State Technical University,
1, Sovetskii Ave., Kaliningrad, 236022,
Russian Federation,
e-mail: nataliya.mezenova@klgtu

Агафонова Светлана Викторовна,
к.т.н., доцент кафедры пищевой биотехнологии,
Калининградский государственный технический университет,
236022, г. Калининград, Советский пр-т, 1,
Российская Федерация,
e-mail: svetlana.agafonova@klgtu.ru

Svetlana V. Agafonova,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Department of Food Biotechnology,
Kaliningrad State Technical University,
1, Sovetskii Ave., Kaliningrad, 236022,
Russian Federation,
e-mail: svetlana.agafonova@klgtu.ru

Мезенова Ольга Яковлевна,
д.т.н., профессор, заведующая кафедрой пищевой биотехнологии,
Калининградский государственный технический университет,
236022, г. Калининград, Советский пр-т, 1,
Российская Федерация,
e-mail: mezenova@klgtu.ru

Olga Ya. Mezenova,
Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Head of the Department of Food Biotechnology,
Kaliningrad State Technical University,
1, Sovetskii Ave., Kaliningrad, 236022,
Russian Federation,
e-mail: mezenova@klgtu.ru

Байдалинова Лариса Степановна
к.т.н., доцент, профессор кафедры пищевой биотехнологии,
Калининградский государственный технический университет,
236022, г. Калининград, Советский пр-т, 1,
Российская Федерация,
e-mail: baydalinova@nevmail.ru

Larisa S. Baydalinova,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Professor of the Department of Food Biotechnology
Kaliningrad State Technical University
Kaliningrad State Technical University,
1, Sovetskii Ave., Kaliningrad, 236022,
Russian Federation,
e-mail: baydalinova@nevmail.ru

Волков Владимир Владимирович,
заместитель начальника технопарка,
Калининградский государственный технический университет,
236022, г. Калининград, Советский пр-т, 1,
Российская Федерация,
e-mail: vladimir.volkov@klgtu.ru

Vladimir V. Volkov,
Deputy Head of Techno park
Kaliningrad State Technical University,
1, Sovetskii Ave., Kaliningrad, 236022,
Russian Federation,
e-mail: vladimir.volkov@klgtu.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 66.067.1

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-325-331>

Исследование фильтрующих свойств тканей из хлопковых и синтетических волокон

© В.И. Саламатов

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

Резюме: Для обезвоживания разнообразных по составу растворов и суспензий в химической промышленности применяются фильтры разного типа: дисковые, патронные, мешочные, фильтр-пресс и другие, основным элементом которых является фильтрующая перегородка. В качестве перегородки используются фильтровальные ткани из хлопковых и синтетических волокон. Основным требованием, предъявляемым к перегородке, является их высокая задерживающая способность по отношению к дисперсной фазе растворов и суспензий. В качестве перегородки целесообразно использовать фильтроткани, характеризующиеся низкой засоряемостью. В настоящей работе дана оценка фильтрующих свойств тканей из синтетических и хлопковых волокон на основе экспериментальных данных. Определены значения коэффициентов производительности, замутиненности, засоряемости, срока службы фильтротканей. Исследована кинетика процесса обезвоживания суспензий в широком диапазоне концентраций дисперсной фазы (3–500 г/дм³). Результаты исследований позволили установить, что все испытанные образцы синтетических тканей имеют меньшую засоряемость, чем широко применяемые хлопковые (фильтродиагональ и бязь). Установлена величина силы адгезии дисперсных частиц к волокнам перегородки, что позволяет сделать выбор определенного вида фильтроткани для конкретного типа фильтра, то есть учесть направления действия движущей силы процесса фильтрации и силы тяжести. Выявлены основные периоды формирования осадка на поверхности перегородки. Показано, что начальный фильтрующий слой формируется за первый период. Структура этого слоя определяется плотностью суспензии. Исследованы режимы фильтрации и установлено, что переход от режима шламовой фильтрации к режиму с закупоркой пор наблюдается в интервале 50–100 г/дм³, что отвечает переходному режиму.

Ключевые слова: обезвоживание суспензии, фильтроткани из синтетических и хлопковых волокон, степень засоряемости, режимы фильтрации

Информация о статье: Дата поступления 20 декабря 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Саламатов В.И. Исследование фильтрующих свойств тканей из хлопковых и синтетических волокон. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 2. С. 325–331. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-325-331>

Study of the filtering properties of fabrics derived from cotton and synthetic fibres

Victor I. Salamatov

Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: For the dehydration of various solutions and suspensions in the chemical industry, different types of filters are applied, including disk, cartridge, bag, press filters and others, with the main element consisting of a filtering membrane made of cotton or synthetic fibres. In this case, the main requirement for the membrane involves high retention ability with respect to the dispersed phase of solutions and suspensions. For application in forming a membrane, filter fabrics characterised by low clogging are advisable. In the present paper, the filtering properties of fabrics made of synthetic and cotton fibres are evaluated on the basis of experimental data along with a determination of indices of efficiency, turbidity, clogging and service life. The kinetics of the suspension dehydration was studied in a wide range of dispersed phase concentrations (3–500 g/dm³). The results of the studies revealed all tested samples of synthetic fabrics to exhibit less clogging than the wide-

ly-used cotton ones (filter-diagonal and calico). The adhesion value of dispersed particles to the fibres of the membrane is established to allow the selection of appropriate fabrics for a particular filter type taking the acting direction of the driving force and gravity during the filtration process into account. The main phases of sediment formation on the membrane surface were established. The initial filter layer is shown to form during the first period, with the structure of this layer being determined by the density of the suspension. Filtration modes were investigated with the transition from sludge filtration to clogging observed in the range of 50–100 g/dm³, which corresponds to the transition mode.

Keywords: suspension dehydration, filter fabrics from synthetic and cotton fibres, clogging index, filtration modes

Information about the article: Received December 20, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Salamatov V.I. Study of the filtering properties of fabrics derived from cotton and synthetic fibres. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):325–331. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-325-331>

ВВЕДЕНИЕ

Процессы обезвоживания и промывки на фильтрах широко распространены в химической промышленности при производстве органических (полиэтилена, полистирола, ацетилцеллюлозы) и неорганических (фосфорной кислоты, сульфида натрия, сульфата меди, карбоната никеля) соединений, полимерных и синтетических материалов, а также минеральных удобрений, соды и «белой сажи». Обезвоживание и промывка разнообразных по составу суспензий в химическом производстве характеризуется, как правило, более сложным характером, что связано со спецификой производства [1–4].

Важным элементом фильтра является фильтрующая перегородка, служащая его пористой основой. Успех фильтрования определяется прежде всего правильным выбором фильтрующего материала. Последний должен удовлетворять двум основным требованиям: быть химически инертным по отношению к компонентам суспензии и обеспечивать полное и быстрое отделение твердых частиц от жидкой фазы. Среди используемых фильтрующих материалов широкое применение находят фильтроткани из хлопковых и синтетических волокон [5], имеющие достаточную задерживающую способность по отношению к дисперсной фазе, небольшое гидравлическое сопротивление и низкую засоряемость, что обеспечивает их длительный срок службы [6–9].

Также в производство вовлекаются новые типы фильтротканей [10–12], основу которых составляют волокна с новыми физико-химическими свойствами [13–17], что позволяет снизить засоряемость перегородки за счет уменьшения сил адгезии осадка к ее поверхности, проводить регенерацию проницаемости. Совершенствование технологии производства позволяет получать фильтрующие перегородки, свойства которых обеспечивают более длительный период их эксплуатации [18–20].

В связи с важностью решения задач в об-

ласти теории и практики использования фильтротканей в качестве перегородок на фильтрах была изучена кинетика процесса обезвоживания полидисперсных суспензий разной плотности через фильтроткани их хлопковых и синтетических волокон.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Фильтрацию суспензий проводили на лабораторной фильтровальной установке, состоящей из нескольких узлов: узла, обеспечивающего создание и регулировку вакуума; узла, включающего систему мерных бюреток и емкостей для сбора фильтрата, и узла термостатирования (рис. 1). В качестве фильтрующего элемента применяли фильтровальную рамку, обшитую фильтротканью. В процессе фильтрации отбирались пробы фильтрата для контроля над содержанием в нем твердой взвеси и измерялся объем фильтрата за определенные промежутки времени.

Мутность фильтрата определяли с помощью электрофотокolorиметра путем сравнения оптической плотности раствора ализаринрота с замутненным фильтратом и находили по градуировочному графику. Данные, полученные с помощью электрофотокolorиметра, проверялись весовым методом.

В эксперименте использовали суспензии следующего состава (содержание основных веществ):

– суспензия 1: сульфиды (80 %), карбонаты (3,5 %), кварц (8,9 %);

– суспензия 2: алюмосиликаты (45 %), железистые минералы (30 %), мусковит и полевошпат (13,5 %);

– суспензия 3: кварц (27 %), темноцветные (56 %) и глинисто-слюдистые минералы (19 %).

Для определения силы прилипания осадка к поверхности перегородок использовали адгезиометр, который подсоединяли к вакуумной магистрали (см. рис. 1).

Проведены исследования кинетики процесса фильтрации суспензий с различным со-

держанием твердого – от 3 до 500 г/дм³, через перегородки, составленные из хлопковых (фильтродиагональ арт. 2074) и синтетических (капроновые, арт.: 56159, 56027, 56007, 56020,

23254; лавсановые, арт.: 56271, 56208, 56278; полипропиленовая (нетканое полотно) арт. 931509) волокон.

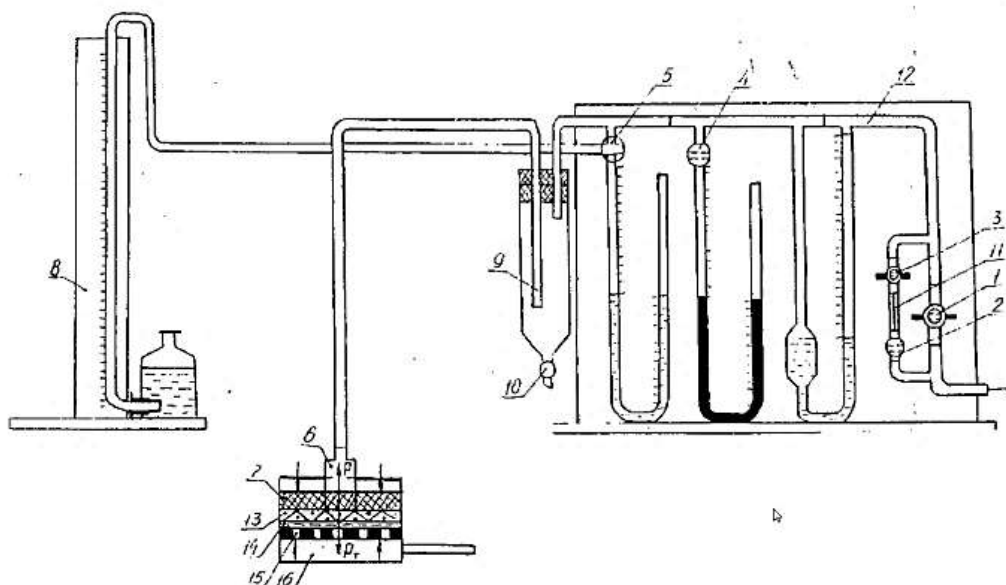


Рис. 1. Схема установки для определения адгезии кека с тканью:
 1, 3 – винтовые зажимы; 2, 4, 5, 10 – двухходовые краны; 6 – патрон для отрыва кека; 7 – слой кека;
 8 – водяной манометр; 9 – буферный сосуд для сброса воздуха из патрона в момент продавливания кека;
 11 – капилляр; 12 – расходная диафрагма; 13 – фильтроткань; 14 – подложка;
 15 – дренажная основа; 16 – полость рамки

Fig. 1. Installation diagram for determining cake adhesion with tissue:
 1, 3 – screw clamps; 2, 4, 5, 10 – two-way cranes; 6 – cartridge for cake tearing off; 7 – layer of cake;
 8 – water manometer; 9 – buffer vessel for venting from the cartridge at the time of pressing the cake;
 11 – capillary; 12 – flow diaphragm; 13 – filter cloth; 14 – substrate;
 15 – drainage base; 16 – frame cavity

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В табл. 1 представлены результаты исследования фильтрующих свойств тканей из синтетических и хлопковых волокон для представленных суспензий – коэффициенты производительности и замутненности. Значение ко-

эффициентов определяется при сравнении скорости фильтрации, содержания дисперсных частиц в фильтрате.

В табл. 2 приведены значения силы прилипания осадка к волокнам ткани (адгезия) и коэффициента срока службы ткани.

Таблица 1

Фильтрующие свойства тканей

Table 1

Filtering properties of fabrics

Фильтроткань	Коэффициент производительности, Kw			Коэффициент замутненности, Kq		
	Суспензия			Суспензия		
	1	2	3	1	2	3
Капроновые, арт.: 56027	0,509	1,07	0,952	1,136	0,780	0,376
56007	0,987	0,999	0,914	1,42	0,984	0,623
56020	0,967	0,93	0,966	1,09	0,716	0,665
23254	1,02	0,93	1,07	3,72	1,266	1,95
Лавсановые, арт.: 56271	1,11	1,13	0,986	2,65	1,064	3,88
56208	1,12	–	0,988	220,2	–	48,74
56278	1,14	1,33	0,955	2,34	0,67	2,12
Полипропиленовая арт. 931509	1,03	1,266	1,05	6,42	0,664	8,82
Фильтродиагональ арт. 2074	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Таблица 2

Адгезия и коэффициент срока службы фильтротканей

Table 2

Adhesion and filter life coefficient

Фильтроткань	Адгезия, кг/см ² / Коэффициент срока службы, Ксл		
	Суспензия 1	Суспензия 2	Суспензия 3
Капроновые, арт.:			
56027	3,46 / 2,17	2,74 / 2,35	1,45 / 7,46
56007	1,609 / 4,66	2,66 / 2,42	3,93 / 2,75
56020	3,94 / 1,90	2,02 / 3,18	1,37 / 7,89
23254	1,067 / 7,02	1,11 / 5,79	1,83 / 5,91
Лавсановые, арт.:			
56271	0,585 / 12,82	1,06 / 5,45	1,83 / 5,91
56208	1,52 / 4,93	0,91 / 7,06	–
56278	2,08 / 3,60	0,925 / 6,95	1,38 / 7,84
Полипропиленовая арт. 931509	3,48 / 2,15	1,18 / 5,45	3,79 / 2,85
Фильтродиагональ арт. 2074	7,50	6,43	10,82

Исследования показали, что все испытанные синтетические ткани имеют близкую проницаемость как по отношению друг к другу, так и по отношению к фильтродиагонали.

Значительный разброс по содержанию дисперсных частиц в фильтрате, полученном в процессе набора осадка на фильтре, наблюдается для тканей из синтетических волокон. Наиболее мутные фильтраты получены для лавсановой ткани арт. 56208, лучшее качество фильтратов обеспечивают капроновые ткани (кроме ткани арт. 23254).

Замеры силы прилипания дисперсных частиц к волокнам синтетических тканей позволили установить, что засоряемость всей группы

тканей значительно ниже, чем хлопковой ткани арт. 2074. Значение коэффициента засоряемости довольно точно отражает срок эксплуатации фильтрующей перегородки в промышленных условиях.

Процесс обезвоживания характеризуется двумя периодами. В течение первого происходит образование начального фильтрующего слоя, формирующегося за счет отложений дисперсных частиц в порах фильтрующей перегородки. На рис. 2 представлены графики зависимости содержания твердых частиц в фильтрате от продолжительности фильтрации при разных начальных значениях концентрации дисперсной фазы суспензии 1.

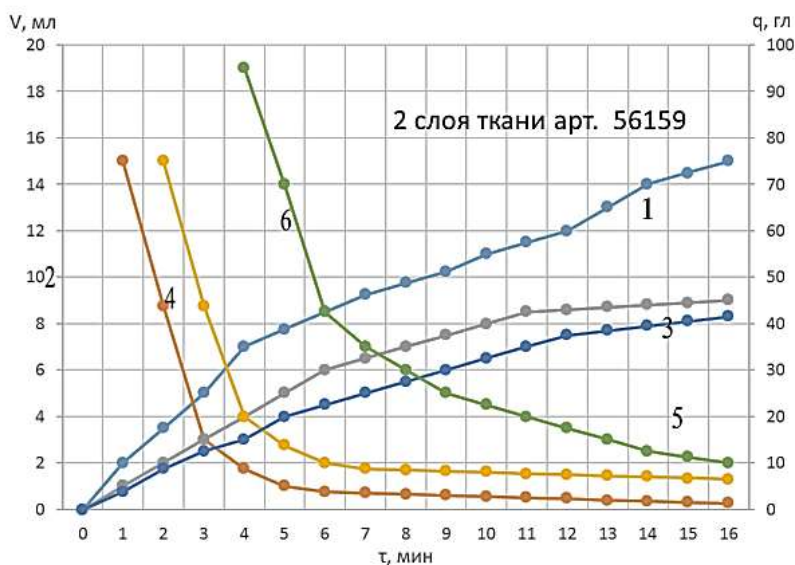


Рис. 2. Зависимость содержания твердого в фильтрате q и объема фильтрата V от продолжительности фильтрации суспензии 1, g/dm^3 :
 1, 2 – 200; 3, 4 – 400; 5, 6 – 500

Fig. 2. Relationship between the solids content in the filtrate (g), the filtrate volume (V) and the duration of the filtration of suspension 1, g/dm^3 :
 1, 2 – 200; 3, 4 – 400; 5, 6 – 500

Максимальное содержание дисперсных частиц отвечает критическому значению R , равному соотношению Ж:Т (50–100 г/дм³), что соответствует началу образования сводиков частиц над порами перегородки и появлению осадка на ее поверхности (рис. 3).

С увеличением отношения Ж:Т в суспензии режим фильтрации с образованием осадка изменяется, и в зависимости от соотношения размеров частиц пульпы и открытых пор ткани устанавливается либо режим фильтрации с

закупоркой (глубинная фильтрация), либо происходит процеживание пульпы через фильтроткань (рис. 4). В связи с этим кривые, описывающие изменения содержания дисперсных частиц в фильтрате от разбавления пульпы, проходят через максимум, что указывает на изменение режима фильтрации. Восходящие ветви графиков соответствуют режиму фильтрации с закупоркой пор перегородки, а нисходящие – режиму фильтрации с образованием осадка.

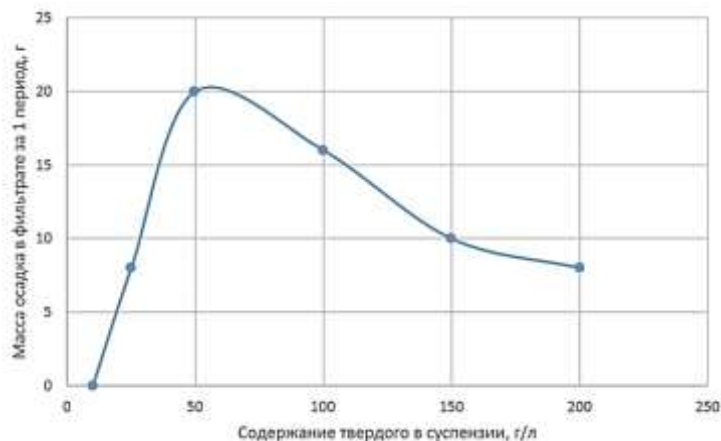


Рис. 3. Влияние разбавления суспензии на формирование фильтрующего слоя (капроновые ткани арт. 56027, 56159)

Fig. 3. Effect of suspension dilution on the formation of a filter layer (nylon fabrics art. 56027, 56159)

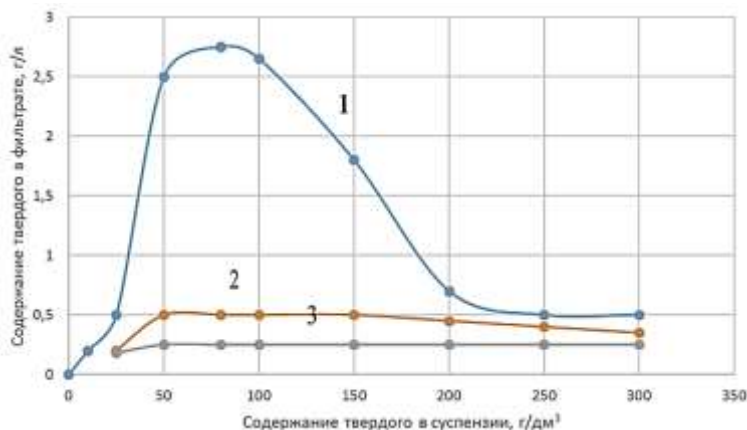


Рис. 4. Влияние разбавления суспензии на задерживающую способность ткани арт. 56050: 1 – один слой; 2 – два слоя; 3 – три слоя

Fig. 4. Effect of suspension dilution on tissue retention of fabric art. 56050: 1 – one layer; 2 – two layers; 3 – three layers

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследована кинетика процесса фильтрации суспензий с различным содержанием твердой фазы через фильтроткани из синтетических и хлопковых волокон.

Изучены фильтрующие свойства ряда синтетических и хлопковых тканей, дана оценка их засоряемости. Установлено, что по этому показателю ткани из синтетических волокон

значительно превосходят хлопковые.

С ростом концентрации дисперсной фазы в суспензии установлен несколько режимов фильтрации: в области 50–100 г/дм³ наблюдается переходный режим, при меньшем содержании дисперсных частиц отмечается преимущественно режим глубинной фильтрации, при больших значениях $R = \text{Ж:Т}$ процесс проходит в режиме шламовой фильтрации.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Малиновская Т.А. Разделение суспензий в промышленности органического синтеза. М.: Химия, 1971. 236 с.
2. Леонтьева А.Н., Орехов В.С., Брянкин К.В., Анкудимова И.А., Абакумова Н.А. Формирование структуры осадков пигментов, полученных на фильтровальной перегородке // Химическая промышленность сегодня. 2015. N 6. С. 3–7.
3. Васильев А.В., Шакир И.В., Гусева Т.В., Панфилов В.Н. Исследование процесса фильтрации ферментационных суспензий на основе кислотных гидрозисатов пивной дробины // Химическая промышленность сегодня. 2015. N 1. С. 45–52.
4. Andersons J., Sparring E., Joffe R., Wallstom L. Strength distribution of tlementay flax dibres // Composites Science and Technology. 2005. Vol. 65. Issue 3-4. P. 693–702. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2004.10.001>
5. Белоглазов И.Н., Голубев В.О., Тихонов О.Н., Куукка Ю., Ясколяйнен Эд. Фильтрация технологических пульп. М.: ИД «Руда и металлы». 2003. 320 с.
6. Саламатов В.И. Обезвоживание и промывка осадков шламистых пульп на фильтрах: монография. Иркутск: ИрГТУ. 2007. 131 с.
7. Скобеев Н.К. Фильтрующие материалы. М.: Недра, 1978. 200 с.
8. Жужиков В.А. Фильтрация. Теория и практика разделения суспензий. М.: Химия, 1971. 440 с.
9. Семина З.Ф., Кузнецов С.Н. О зарастании фильтровальных тканей // Известия вузов. Цветная металлургия. 1984. N 2. С. 22–23.
10. Айзенштейн Э.М. Отходы бутылок – в текстильные нити // Химические волокна. 2015. N 5. С. 3–7.
11. Machalaba N.N., Rodionov I.I. Development issues of the Russian chemical-fiber industry // Fibre Chemistry. 2015. Vol. 47. Issue 4. P. 227–235. <https://doi.org/10.1007/s10692-016-9670-0>
12. Саламатов В.И., Головачёв С.Н., Горнов Ю.Н. Жизненный цикл фильтрующих перегородок // Известия Сибирского отделения секции наук о Земле РАЕН. Геология, поиски и разведка рудных месторождений. 2016. N 2 (55). С. 88–95. <https://doi.org/10.21285/0301-108X-2016-55-2-88-95>
13. Dedov A.V., Nazarov V.G. Processed nonwoven needlepunched materials with increased strength // Fibre Chemistry. 2015. Vol. 47. Issue 2. P. 121–125. <https://doi.org/10.1007/s10692-015-9649-2>
14. Dedov A.V., Bokova E.S., Ryzhkin V.A. Production of nonwoven needlepunched material with increased stretch resistance // Fibre Chemistry. 2013. Vol. 45. Issue 4. P. 221–223. <https://doi.org/10.1007/s10692-013-9516-y>
15. Goloveshkina O.V., Shipovskii I.Y., Bondarenko S.N., Keibal N.A., Kablov V.F. Development of low-shrinkage polyethylene fibers // Fibre Chemistry. 2014. Vol. 46. Issue 4. P. 254–456. <https://doi.org/10.1007/s10692-014-9600-y>
16. Singha K. A Review on Coating & Lamination in Textiles: Processes and Applications // American Journal of Polymer Science. 2012. Vol. 2. Issue 3. P. 39–49. <https://doi.org/10.5923/j.ajps.20120203.04>
17. Erofeev O.O., Voloshchik T.E., Naganovskii Y.K., Kozinda Z.Y. Influence of operational factors on properties of heat-resistant nonwoven filter materials // Fibre Chemistry. 2013. Vol. 45. Issue 2. P. 94–97. <https://doi.org/10.1007/s10692-013-9487-z>
18. Айзенштейн Э.М. Отечественная промышленность химических волокон в 2017 г. // Композитный мир. 2018. N 3 (78). С. 26–31.
19. Wrobel A.M., Kryszewski M., Rakowski W., Okoniewski M., Kubacki Z. Effect of plasma treatment on surface structure and properties of polyester fabrics // Polymer. 1978. Vol. 19. Issue 8. P. 908–912. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(78\)90197-0](https://doi.org/10.1016/0032-3861(78)90197-0)
20. Murthy S.N. Fibrillar Structure and Its Relevance to diffusion, shrinkage, and Relaxation Processes in Nylon fibers1 // Textile Research Journal. 1997. Vol. 67. Issue 7. P. 511–520. <https://doi.org/10.1177/004051759706700706>

REFERENCES

1. Malinovskaya TA. *Suspension Separation in the Organic Synthesis Industry*. Moscow: Khimiya; 1971. 236 p. (In Russian)
2. Leont'eva AN, Orekhov VS, Bryankin KV, Ankudimova I.A., Abakumova NA. Formation of the structure of pigment precipitate obtained on the filter septum. *Kimicheskaya promyshlennost' segodnya*. 2015;6:3–7. (In Russian)
3. Vasil'ev AV, Shakir IV, Guseva TV, Panfilov VN. Investigation of the filtration process of fermentation suspensions based on acidic hydrosiza-
tes of beer grains. *Kimicheskaya promyshlennost' segodnya*. 2015;16:45–52. (In Russian)
4. Andersons J, Sparring E, Joffe R, Wallstom L. Strength distribution of tlementay flax dibres. *Composites Science and Technology*. 2005;65(3-4):693–702. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2004.10.001>
5. Beloglazov IN, Golubev VO, Tikhonov ON, Kuukka Yu., Yaskolyainen E. *Filtration of technological pulps*. Moscow: Ruda i metall; 2003. 320 p. (In Russian)

6. Salamatov VI. *Sludge filters slurry dewatering and flushing*. Irkutsk. Irkutsk State Technical University; 2007. 131 p. (In Russian)

7. Skobeev NK. *Filtering materials*. Moscow: Nedra; 1978. 200 p. (In Russian)

8. Zhuzhikov VA. *Filtration. Theory and practice of separation of suspensions*. Moscow: Khimiya; 1971. 440 p. (In Russian)

9. Semina ZF, Kuznetsov SN. On the overgrowth of filter tissues. *Izvestiya Vuzov. Tsvetnaya Metallurgiya* = Universities Proceedings. Nonferrous Metallurgy. 1984;2:22–23. (In Russian)

10. Aizenshtein EM. Bottle waste into textile threads. *Khimicheskie volokna*. 2015;5:3–7. (In Russian)

11. Machalaba NN, Rodionov II. Development issues of the Russian chemical-fiber industry. *Fibre Chemistry*. 2015;47(4):227–235. <https://doi.org/10.1007/s10692-016-9670-0>

12. Salamatov VI, Golovachev SN, Gornov YuN. Life cycle of filter membranes. *Izvestiya Sibirskogo otdeleniya seketsii nauk o Zemle RAEN. Geologiya, poiski i razvedka rudnyh mestorozhdenii* = 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. 2016;2:88–95. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/0301-108X-2016-55-2-88-95>

13. Dedov AV, Nazarov VG. Processed nonwoven needlepunched materials with increased strength. *Fibre Chemistry*. 2015;47(2):121–125. <https://doi.org/10.1007/s10692-015-9649-2>

92-015-9649-2

14. Dedov AV, Bokova ES, Ryzhkin VA. Production of nonwoven needlepunched material with increased stretch resistance. *Fibre Chemistry*. 2013;45(4):221–223. <https://doi.org/10.1007/s10692-013-9516-y>

15. Goloveshkina OV, Shipovskii IY, Bondarenko SN, Keibal NA, Kablov VF. Development of low-shrinkage polyethylene fibers. *Fibre Chemistry*. 2014;46(4):254–456. <https://doi.org/10.1007/s10692-014-9600-y>

16. Singha K. A Review on Coating & Lamination in Textiles: Processes and Applications. *American Journal of Polymer Science*. 2012;2(3):39–49. <https://doi.org/10.5923/j.ajps.20120203.04>

17. Erofeev OO, Voloshchik TE, Naganovskii YK, Kozinda ZY. Influence of operational factors on properties of heat-resistant nonwoven filter materials. *Fibre Chemistry*. 2013;45(2):94–97. <https://doi.org/10.1007/s10692-013-9487-z>

18. Aizenshtein EM. Domestic chemical fiber industry in 2017. *Kompozitnyi mir* = Composite World Magazine. 2018;3:26–31. (In Russian)

19. Wrobel AM, Kryszewski M, Rakowski W, Okoniewski M, Kubacki Z. Effect of plasma treatment on surface structure and properties of polyester fabrics. *Polymer*. 1978;19(8):908–912. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(78\)90197-0](https://doi.org/10.1016/0032-3861(78)90197-0)

20. Murthy SN. Fibrillar Structure and Its Relevance to diffusion, shrinkage, and Relaxation Processes in Nylon fibers1. *Textile Research Journal*. 1997;67(7):511–520. <https://doi.org/10.1177/004051759706700706>

Критерии авторства

Саламатов В.И. выполнил экспериментальную работу, на основании полученных результатов провел обобщение и написал рукопись. Автор несет полную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Автор прочел и одобрил окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Саламатов Виктор Иванович,
к.т.н., доцент кафедры машиностроительных технологий и материалов,
Иркутский национальный исследовательский технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: salamatov_52@mail.ru

Contribution

Victor I. Salamatov carried out the experimental work, analyzed the experimental results and prepared the text of the manuscript. Victor I. Salamatov has exclusive author's rights and bear responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The author declares no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by the author.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Victor I. Salamatov,
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: salamatov_52@mail.ru

Original article / Оригинальная статья

УДК 662.754 + 662.756

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-332-338>

Preparation of diesel fuel blends and study of their physical properties

© Ibrahim G. Mamedov, Ophelia N. Javadova, Nargiz V. Asimova

Baku State University, Baku, Azerbaijan

Abstract: The aim of the present work was to synthesize biodiesel fuels from sunflower oil through a transesterification reaction in the presence of a novel catalytic system. Under the molar oil-to-methanol ratio of 1:3 and the temperature of 55 °C, the product yield was 83 %. Physical properties of the biodiesel and diesel fuels under study, as well as their blends containing 20 and 50 vol% of biodiesel fuel (B20 and B50), were investigated against ASTM standards. An increase in the proportion of biodiesel fuel increases both the density of the B20 and B50 blends, as well as their kinematic viscosity, which remains within the 2–5 mm²/s range at 40 °C thus meeting ASTM requirements. It is shown that the content of unsaturated compounds in the biodiesel blends altered within the range specified by ASTM. The flash temperature of the B20 and B50 biodiesel blends was shown to be higher than that of diesel fuel. This led to some deterioration in their flammability, at the same time as making the transportation and storage of these fuels safer. The sulphur content in the biodiesel blends under study decreased significantly with an increase in the biodiesel content: from 50 m.c. in diesel fuel up to 27 m.c. in the B50 blend. The use of such biodiesel blends reduces the content of sulphur oxides in exhaust gases, which has a beneficial effect on the environment and human health. The use of the proposed catalytic system reduces the amount of foam produced by biodiesel washing, thus simplifying its synthesis. Due to the absence of the neutralization stage, the described catalytic system can be reused after water removal through distillation.

Keywords: biodiesel, transesterification reaction, ASTM standards, new catalytic system, cetane number

Information about the article: Received March 27, 2020; accepted for publication May 29, 2020; available online 30 June 2020 г.

For citation: Mamedov IG, Javadova ON, Asimova NV. Preparation of diesel fuel blends and study of their physical properties. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):332–338. (In English) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-332-338>

Приготовление дизельных смесей и исследование их физических свойств

И.Г. Мамедов, О.Н. Джавадова, .Н.В. Азимова

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан

Резюме: Целью работы являлся синтез биодизельного топлива из подсолнечного масла по реакции переэтерификации в присутствии новой каталитической системы. При молярном соотношении масла к метанолу 1:3 и температуре 55 °C выход продукта составил 83 %. В соответствии со стандартами ASTM были исследованы важные физические свойства биодизельного и дизельного топлив, а также их смесей, содержащих 20 и 50 % (об.) биодизельного топлива (B20 и B50). Плотность смесей B20 и B50 растет с увеличением доли биодизельного топлива. Кинематическая вязкость смесей с ростом содержания биодизельного топлива незначительно увеличивается, оставаясь в пределах 2–5 мм²/с при 40 °C, что соответствует требованиям ASTM. Как показали результаты исследования, содержание ненасыщенных соединений в биодизельных смесях находилось в пределах, нормируемых ASTM. Температура вспышки для биодизельного топлива, смесей B20 и B50 выше, чем у дизельного топлива. Это приводит к некоторому ухудшению их воспламеняемости, но, с другой стороны, делает транспортировку и хранение этих видов топлива более безопасной. Содержание серы в биодизельных смесях значительно уменьшается с ростом содержания биодизельного топлива: от 50 м.д. в дизельном топливе до 27 м.д. в смеси B50. Использование таких биодизельных смесей

снижает содержание оксидов серы в выхлопных газах, что благоприятно сказывается на состоянии окружающей среды и здоровье человека. Использование новой каталитической системы позволяет снизить объем пены, образующейся при промывке биодизеля, что упрощает технологический процесс его синтеза. Благодаря отсутствию стадии нейтрализации применяемая каталитическая система может быть использована повторно после удаления промывной воды методом дистилляции.

Ключевые слова: биодизельное топливо, реакция переэтерификации, нормы ASTM, новая каталитическая система, цетановое число

Информация о статье: Дата поступления 27 марта 2020 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Мамедов И.Г., Джавадова О.Н., Азимова Н.В. Приготовление дизельных смесей и исследование их физических свойств. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 332–338. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-332-338>

INTRODUCTION

Emissions from vehicles (carbon dioxide, sulphur oxide and other toxic gases resulting from fuel burning) are the main contributing factors to such environmental problems as the growing ozone hole, acid rains, accumulation of toxic compounds in the atmosphere and the greenhouse effect. Another serious problem is the depletion of existing fossil fuel resources [1–4].

Issues associated with reducing oil reserves and environmental pollution underpin the search for renewable and environmentally friendly alternative energy sources. Among promising fuels for diesel engines are biodiesel blends derived from vegetable oils and animal fats through the reaction of transesterification. Transesterification is the interaction of oil triglycerides with alcohols having a small molecular mass in the presence of various catalysts followed by the formation of a mixture of fatty acid alkyl esters and glycerine as a by-product.

Potential advantages of pure and blended biodiesel fuels include their biodegradability, higher cetane numbers, low emissions, as well as improved lubricating capacity leading to an increased service life of engines. Since biodiesel fuels contain no aromatic, nitrogen and sulphur compounds, their burning produces no toxic oxides responsible for serious environmental problems [5–17].

Biofuel production is steadily increasing. While the share of biofuels in the global production of fuel for road transport was 1 % in 2004, the International Energy Agency (IEA) has predicted its increase up to 7 % by 2030 [18].

This work presents a novel catalytic system for the transesterification reaction. Using the proposed catalytic system and sunflower oil, a biodiesel fuel was synthesized. The as-obtained product was subsequently mixed with oil diesel in the mass ratio of 20:80 (B20) and 50:50 (B50). The main physical characteristics and cetane number of the biodiesel fuel and biodiesel blends were determined.

EXPERIMENTAL

Samples of summer diesel fuel and sunflower oil were purchased at a gas station and markets in Baku, Azerbaijan. The B20 and B50 blends were prepared by mixing diesel and biodiesel. Biodiesel synthesized from sunflower oil and its blends were characterized in accordance with the American Standard of Testing and Materials (ASTM) methods.

Sunflower biodiesel (B100) was obtained by dissolving 0.25 g of potassium hydroxide (KOH) and 0.25 g of 4-bromophenacyl pyridinium hydroxide (BPPH) in 75 ml of methanol (CH₃OH) without heating (at room temperature). After complete dissolution, 100 grams of oil was added to this mixture. The reaction was carried out in a conical flask equipped with a reverse refrigerator and magnetic stirrer for 3 hours at 55 °C (rotation speed was maintained at 1000 rpm). After stirring, the reaction mass was aged for at least 12 hours in a dividing funnel. The reaction mass was divided into 2 layers using a dividing funnel: the upper layer contained biodiesel, the lower layer – glycerine. Untreated biodiesel was repeatedly washed with hot distilled water in order to remove catalysts. The conversion rate was 83% when using the molar ratio of oil to methanol 1:3.

4-bromophenacyl pyridinium hydroxide (BPPH) was obtained by boiling 10 mmol of phenacyl bromide and 10 mmol of pyridine in 50 ml of toluene in a flask with a reverse fridge. After the formation of a quaternary pyridinium bromide salt, 10 mmol of KOH was added for the synthesis of BPPH (Fig. 1).

NMR spectra of diesel and biodiesel fuel samples were recorded using a spectrometer AVANCE 300 (Bruker Corporation, Germany): 300,130 MHz for ¹H, 75,468 MHz for ¹³C, equipped with a temperature regulator – BVT 3200 sensor. The spectra were recorded in special vials 5 mm in diameter using the standard Bruker TopSpin 3.1.0 software. Chemical shifts ¹H and ¹³C were recorded relative to tetramethylsilane (TMS). The spectra for diesel and biodiesel fuels were recorded in CDCl₃ solutions.

Cetane numbers for the summer diesel, sunflower biodiesel and biodiesel blends under study were calculated according to the methods presented in¹ [19, 20].

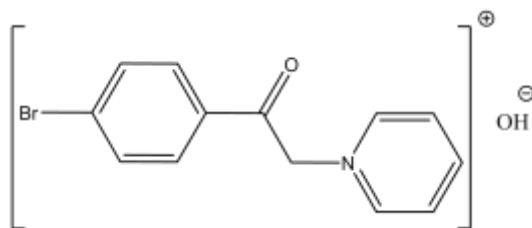


Fig. 1. Formula of 4-bromophenacyl pyridinium hydroxide (BPPH)

Рис. 1. Формула 4-бромфенацилпиридиниум гидроксид (БФПГ)

RESULTS AND DISCUSSION

The properties of biodiesel fuel depend on the structure of fatty acids contained in the triglycerides of vegetable oil, from which the fuel is synthesized. The fatty acid composition determines the physical and operational parameters of biodiesel, such as cetane number, viscosity, cloud temperature, etc. The physical and chemical properties of sunflower oil are presented in Table 1.

Table 2 describes physical properties of the summer diesel fuel, biodiesel fuel from sunflower oil (B100) and their blends (B20, B50) under study.

According to Table 2, the B20 and B50 blends demonstrated a higher level of density, since the density of biodiesel is higher than that of diesel. This can also be explained by the difference in the composition of these fuels: a mixture of hydrocarbons in diesel vs. a mixture of complex esters in biodiesel.

The kinematic viscosity of biodiesel is also higher than that of diesel. Therefore, the kinematic

viscosity of biodiesel blends increases with an increase in the proportion of biodiesel, although remaining within 2–5 mm²/s at 40 °C and meeting ASTM requirements. A significant increase in viscosity is undesirable for fuels intended for diesel engines due to such possible negative effects as impeded fuel pumping, appearance of drops, insufficiently thin spraying of fuel in the combustion chamber and incomplete combustion. However, the viscosity of the B20 and B50 blends almost equals that of diesel, which indicates their suitability for diesel engines.

Fuels with higher flash temperatures are slightly less flammable. This parameter has little effect on the engine performance; rather, it serves as an indicator of fire hazard during the storage and transportation of fuels. Higher flash temperatures make transportation and storage of fuels safer.

Temperatures of clouding and hardening of the biodiesel blends under study increased slightly with an increase in the proportion of biodiesel. The obtained results do not exceed the values specified for biodiesel fuels and do not affect the engine performance during warm weather months.

No unsaturated compounds were detected in the summer diesel fuel under study, which was confirmed by both the experimental determination of the iodine number and ¹H NMR (no signals related to olefin hydrocarbons were observed in the spectrum in the range of 4–6 m.c.). Biodiesel was synthesized from sunflower oil, in which the content of acids with unsaturated radicals can exceed 70 % (see Table 1). Such fuels always contain a significant amount of methyl esters of highly unsaturated acids. However, the degree of unsaturation in the biodiesel blends under study ranged within the limits indicated by ASTM, which was confirmed both by the iodine number (see Table 2) and NMR (Fig. 2a).

Table 1

Physical and chemical properties of refined sunflower oil

Таблица 1

Физико-химические свойства рафинированного подсолнечного масла

Parameter	Fatty acid (number of C atoms: number of double bonds)			
	16:0	18:0	18:1	18:2
Composition of fatty acids, wt%	3.5–7.6	1.3–6.5	14–43	44–74
Acid number, mg KOH/g	0.28±0.5			
Saponification number, mg KOH/g	193.3±0.5			
Iodine number, g I ₂ /100 g	121.4±0.5			
Viscosity, sP	34.1±0.5			
Flash temperature, °C	265			
Freezing temperature, °C	+12			
Density, g/cm ³	0.9186			

¹ Yanowitz J., Ratcliff M.A., McCormick R.L., Taylor J.D., Murphy M.J. Compendium of experimental cetane numbers. Technical report. 2017. <https://doi.org/10.2172/1345058>

Table 2
 Physical properties of diesel fuel, biodiesel synthesized from sunflower oil and their blends
 Таблица 2
 Физические свойства дизельного топлива, биодизельного топлива, синтезированного из подсолнечного масла, и его смесей

Parameter	ASTM methods	ASTM requirements		Experimental data			
		Diesel fuel	Bio-diesel	Diesel fuel	B20	B50	B100
Relative density	D1298	0.8–0.84	0.86–0.9	0.837	0.859	0.864	0.886
Viscosity at 40 °C, mm ² /s; min-max	D445	2–5	3.5–5.0	3.44	3.49	3.87	4.15
Flash temperature, °C, no less than	D93	65	>120	70	75	87	137
Cloud temperature, °C	D2500	-12	<20	7	9	10	11
Freezing temperature, °C	D2500	-15	<15	0	2	5	1
Iodine number, g (I ₂)/100 g	–	60–135	<120	1.58	47.69	88.97	113.86
Sulfur, mass content, no more than	D975-14	15	15	50	38	27	0
Water and sediment, vol. % No more than	D975-14	0.05	0.05	0	0	0	0
Copper corrosion, 3 hours at 50 °C, max	D975-14	No. 3	No. 3	No. 2	No. 1	No. 1	No. 1
Cetane number, min	D975-14	40	47	53	51.8	50.1	47.2

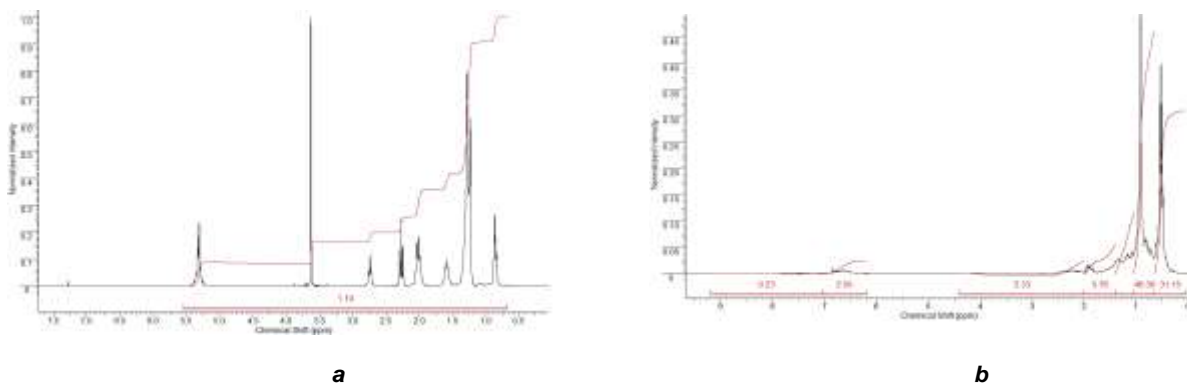


Fig. 2. ¹H NMR spectra for samples of biodiesel (a) and diesel fuel (b)

Рис. 2. ¹H ЯМР-спектры для образцов биодизельного (а) и дизельного топлива (б)

The sulphur content in the biodiesel blends decreased significantly with an increase in the biodiesel content: from 50 m.c. in the diesel fuel up to 27 m.c. in the B50 blend. The use of such biodiesel blends reduces the content of sulphur oxides in exhaust gases, which has a beneficial effect on the environment and human health.

The experimental results (see Table 2) revealed no water and mechanical impurities in the samples of the synthesized biodiesel, B20 and B50 blends. The determination of the corrosive aggressiveness of the samples showed only a slight or moderate tarnish of a copper strip (class 1 and 2). This confirms the high quality of the synthesized fuel and its blends.

The obtained ¹H NMR spectra clearly demonstrate the absence of water in the studied

samples: no signals in the spectrum related to water protons in the area of 4.7 m.c. (see Fig. 2a).

The cetane numbers for the B20 and B50 blends, although decreasing slightly, exceeded the level of 50, thus meeting ASTM requirements. This fact did not have a significant effect on the operational properties of the studied samples.

Alkaline or acid catalysts are frequently used in biodiesel production. The use of such catalysts should be restricted because of the complexity of their separation and recovery, as well as environmental pollution and equipment corrosion. In addition, the process of neutralizing and rinsing alkaline catalysts involves the formation of foam at a level of 2 % from the initial mass of oil used for synthesis. This makes it difficult to rinse and further separate layers of the reaction mass.

A significant advantage of the proposed catalytic system 0.25 % of BPPH – 0.25 % of KOH is the absence of foam formation. In addition, the proposed method omits the stage of catalyst neutralization; therefore, the catalytic system can be reused upon water removal. The biodiesel yield comprises 61 % and 38 % upon the second and third use of BPPH, respectively. Water removal is achieved by distillation.

Transesterification of sunflower oil with methanol followed by the formation of a biodiesel fuel is a typical reaction of nucleophilic substitution. It is known that OH⁻ ions contained in BPPH and alkali act as an active site for biodiesel synthesis. In the first stage, methanol is activated by

OH⁻ ions. Upon activation, CH₃O⁻ ions attack the carbonyl group of triglycerides with the formation of fatty acid methyl ester. In the second and third stages, other carbonyl groups in triglycerides interact with CH₃O⁻ to form a mixture of fatty acid methyl esters (biodiesel).

CONCLUSIONS

The properties of summer diesel, biodiesel fuel derived from sunflower oil B100, as well as B20 and B50 blends, were investigated against ASTM standards. The proposed novel catalytic system for sunflower oil transesterification has a positive effect on the processes of separating biodiesel from glycerine.

REFERENCES

1. Barman SC, Kumar N, Singh R, Kisku GC, Khan AH, Kidwai MM, et al. Assessment of urban air pollution and its health impact. *Journal of Environmental Biology*. 2010;31(6):913–920.
2. Janaun J, Ellis N. Perspectives on biodiesel as a sustainable fuel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2010;14(4):1312–1320. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.12.011>
3. Meher LC, Vidya Sagar DS, Naik SN. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2016;10(3):248–268. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2004.09.002>
4. Igbokwe JO, Nwifo OC, Nwaiwu CF. Effects of blend on the properties, performance and emission of palm kernel oil biodiesel. *Biofuel*. 2015;6(1-2):1–8. <https://doi.org/10.1080/17597269.2015.1030719>
5. Lotero E, Liu Y, Lopez DE, Suwannakarn K, Bruce DA, Goodwin JG. Synthesis of biodiesel via acid catalysis. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2005;44(14):5353–5363. <https://doi.org/10.1021/ie049157g>
6. Shahid EM, Jamal Y. A review of biodiesel as vehicular fuel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2008;12(9):2484–2494. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2007.06.001>
7. Kegl B, Pehan S. Influence of biodiesel on injection, fuel spray, and engine characteristics. *Thermal Science*. 2008;12(2):171–182. <https://doi.org/10.2298/TSC10802171K>
8. Nagarhalli MV, Nandedkar VM, Mohite KC. Emission and performance characteristics of Karanja biodiesel and its blends in a C.I. engine and its economics. *ARNP. Journal of Engineering and Applied Sciences*. 2010;5(2):52–56.
9. Nwafor OMI. Emission characteristics of diesel engine operating on rapeseed methyl ester. *Renewable Energy*. 2004;29(1):119–129. [https://doi.org/10.1016/S0960-1481\(03\)00133-2](https://doi.org/10.1016/S0960-1481(03)00133-2)
10. Prasad TH, Reddy KHC, Rao MM. Performance and exhaust emissions analysis of a diesel engine using methyl esters of fish oil with artificial neural network aid. *International Journal of Engineering and Technology*. 2010;2(1):23–27. <https://doi.org/10.7763/IJET.2010.V2.94>
11. Carroll A, Somerville C. Cellulosic biofuels. *Annual Review of Plant Biology*. 2009;60:165–182. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092125>
12. Krishnakumar J, Venkatachalapathy VSK, Elanchelian S. Technical aspects of biodiesel production from vegetable oils. *Thermal Science*. 2008;12(2):159–169. <https://doi.org/10.2298/TSC10802159K>
13. Garcez CAG, Vianna JNS. Brazilian Biodiesel Policy: Social and environmental considerations of sustainability. *Energy*. 2009;34(5):645–54. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2008.11.005>
14. Markov VA, Devyanin SN, Mal'chuk VI. Impact of the fuel supply process quality on the economic and environmental performance of a transport diesel. *Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta im. N.E. Baumana. Seriya: Mashinostroenie* = Herald of the Bauman Moscow State Technical University. Series Mechanical Engineering. 2005;2:78–102. (In Russian)
15. Markov VA, Ivashenko NA, Devyanin SN, Nagornov SA. Characteristic Comparative Analysis of Diesel Engines Running on Mixtures of Petroleum Diesel Fuel and Vegetable-Based Oils. *Inzhenernyi zhurnal: nauka i innovatsii. Elektronnoe nauchno-tekhnicheskoe izdanie* = Engineering Journal: Science and Innovation. Electronic science and Engineering publication. 2012;10(10). (In Russian) <https://doi.org/10.18698/2308-6033-2012-10-391>
16. Vallejo Maldonado PR, Devyanin SN, Markov VA, Birukov VV. Comparison testings of alternate fuels for diesel engines. *Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta im. N.E. Baumana. Seriya: Mashinostroenie* = Herald of the Bauman Moscow State Technical University. Series Mechanical Engineering.

ring. 2014;6:59–72. (In Russian)

16. Markov VA, Devyanin SN, Semenov VG, Shakhov AV, Bagrov VV. *Use of vegetable oils and fuels based on them in diesel engines*. Moscow: OOO NIC "Inzhener", OOO "Oniko-M"; 2011. 536 p. (In Russian)

17. Garcez CAG, Vianna JNS. Brazilian Biodiesel Policy: Social and environmental considerations of sustainability. *Energy*. 2009;34(5):645–654. <http://doi.org/10.1016/j.energy.2008.11.005>

11.005

18. Krisnangkura K. A Simple method for estimation of cetane index of vegetable oil methyl esters. *Journal of American Oil Chemical Society*. 1986;63(4):552–553.

19. Milan LS, Ronald W, Marvin R, Brian R, Terry T. Application of ^{13}C and ^1H Nuclear Magnetic Resonance for the evaluation of cetane rating of middle distillates. *Fuel Processing Technology*. 1990; 26:117–134.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Barman S.C., Kumar N., Singh R., Kisku G.C., Khan A.H., Kidwai M.M., et al. Assessment of urban air pollution and its health impact // *Journal of Environmental Biology*. 2010. Vol. 31. Issue 6. P. 913–920.

2. Janaun J., Ellis N. Perspectives on biodiesel as a sustainable fuel // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2010. Vol. 14. Issue 4. P. 1312–1320. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.12.011>

3. Meher L.C., Vidya Sagar D., Naik S.N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2016. Vol. 10. Issue 3. P. 248–268. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2004.09.002>

4. Igbokwe J.O., Nwifo O.C., Nwaiwu C.F. Effects of blend on the properties, performance and emission of palm kernel oil biodiesel // *Biofuel*. 2015. Vol. 6. Issue 1-2. P. 1–8. <https://doi.org/10.1080/17597269.2015.1030719>

5. Lotero E, Liu Y, Lopez DE, Suwannakaran K, Bruce DA, Goodwin JG. Synthesis of biodiesel via acid catalysis. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 2005;44(14):5353–5363. <https://doi.org/10.1021/ie049157g>

6. Shahid E.M., Jamal Y. A review of biodiesel as vehicular fuel // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2008. Vol. 12. Issue 9. P. 2484–2494. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2007.06.001>

7. Kegl B, Pehan S. Influence of biodiesel on injection, fuel spray, and engine characteristics // *Thermal Science*. 2008. Vol. 12. Issue 2. P. 171–182. <https://doi.org/10.2298/TSC10802171K>

8. Nagarhalli M.V., Nandedkar V.M., Mohite K.C. Emission and performance characteristics of Karanja biodiesel and its blends in a C.I. engine and its economics // *ARPJ. Journal of Engineering and Applied Sciences*. 2010. Vol. 5. Issue 2. P. 52–56.

9. Nwafor O.M.I. Emission characteristics of diesel engine operating on rapeseed methyl ester // *Renewable Energy*. 2004. Vol. 29. Issue 1. P. 119–129. [https://doi.org/10.1016/S0960-1481\(03\)00133-2](https://doi.org/10.1016/S0960-1481(03)00133-2)

10. Prasad T.H., Reddy K.H.C., Rao M.M. Performance and exhaust emissions analysis of a

diesel engine using methyl esters of fish oil with artificial neural network aid // *International Journal of Engineering and Technology*. 2010. Vol. 2. Issue 1. P. 23–27. <https://doi.org/10.7763/IJET.2010.V2.94>

11. Carroll A., Somerville C. Cellulosic biofuels // *Annual Review of Plant Biology*. 2009. Vol. 60. P. 165–182. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092125>

12. Krishnakumar J., Venkatachalapathy V.S.K., Elancheliyan S. Technical aspects of biodiesel production from vegetable oils // *Thermal Science*. 2008. Vol. 12. Issue 2. P. 159–169. <https://doi.org/10.2298/TSCI0802159K>

13. Garcez C.A.G., Vianna J.N.S. Brazilian Biodiesel Policy: Social and environmental considerations of sustainability // *Energy*. 2009. Vol. 34. Issue 5. P. 645–654. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2008.11.005>

14. Марков В.А., Девянин С.Н., Мальчук В.И. Влияние качества процесса топливоподачи на экономические и экологические показатели транспортного дизеля // *Вестник Московского государственного технического университета им. Н.Э. Баумана. Серия: Машиностроение*. 2005. N 2. С. 78–102.

15. Марков В.А., Иващенко Н.А., Девянин С.Н., Нагорнов С.А. Сравнительный анализ показателей дизельного двигателя, работающего на смесях нефтяного дизельного топлива и растительных масел // *Инженерный журнал: наука и инновации. Электронное научно-техническое издание*. 2012. N 10. С. 59–73. <https://doi.org/10.18698/2308-6033-2012-10-391>

16. Вальехо Мальдонадо П.Р., Девянин С.Н., Марков В.А., Бирюков В.В. Сравнительные испытания альтернативных топлив для дизельных двигателей // *Вестник Московского государственного технического университета им. Н.Э. Баумана. Серия: Машиностроение*. 2014. N 6. С. 59–72.

17. Марков В.А., Девянин С.Н., Семенов В.Г., Шахов А.В., Багров В.В. Использование растительных масел и топлив на их основе в дизельных двигателях. М.: ООО НИЦ «Инженер», ООО «Онико-М», 2011: 536 с.

18. Garcez C.A.G., Vianna J.N.S. Brazilian Biodiesel Policy: Social and environmental considerations of sustainability // *Energy*. 2009. Vol. 34. Issue 5. P. 645–654. <http://doi.org/10.1016/j.energy.2008.11.005>

19. Krisnangkura K. A Simple method for estimation of cetane index of vegetable oil methyl

Contribution

Ibrahim G. Mamedov, Ophelia N. Javadova, Nargiz V. Asimova carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict 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.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ibrahim G. Mamedov,
Dr. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Department of Oil Chemistry and Chemical
Technology,
Baku State University,
23, Khalilov St., Baku, Az1148, Azerbaijan,
e-mail: bsu.nmrlab@mail.ru

Ophelia N. Javadova,
Cand. Sci. (Chemistry), Teacher,
Department of Oil Chemistry and Chemical
Technology,
Baku State University,
23, Khalilov St., Baku, Az1148, Azerbaijan,
e-mail: ofelya.cavadova@mail.ru

Nargiz V. Asimova,
Cand. Sci. (Chemistry), Teacher,
Department of Oil Chemistry and Chemical
Technology,
Baku State University,
23, Khalilov St., Baku, Az1148, Azerbaijan,
e-mail: narqiz.azimova@rambler.ru

esters // *Journal of the American Oil Chemical Society*. 1986. Vol. 63. Issue 4. P. 552–553.

20. Milan L.S., Ronald W., Marvin R., Brian R., Terry T. Application of ^{13}C and ^1H Nuclear Magnetic Resonance for the evaluation of cetane rating of middle distillates // *Fuel Processing Technology*. 1990. Vol. 26. P. 117–134.

Критерии авторства

Мамедов И.Г., Джавадова О.Н., Азимова Н.В. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, 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

Мамедов Ибрагим Гариб,
д.х.н., профессор кафедры химии нефти
и химической технологии,
Бакинский государственный университет,
AZ-1148, г. Баку, ул. З. Халиллова, 23,
Азербайджан,
e-mail: bsu.nmrlab@mail.ru

Джавадова Офелия Назим,
к.х.н., преподаватель кафедры химии
нефти и химической технологии,
Бакинский государственный университет,
AZ-1148, г. Баку, ул. З. Халиллова, 23,
Азербайджан,
e-mail: ofelya.cavadova@mail.ru

Азимова Наргиз Валиаддин,
к.х.н., преподаватель кафедры химии
нефти и химической технологии,
Бакинский государственный университет,
AZ-1148, г. Баку, ул. З. Халиллова, 23,
Азербайджан,
e-mail: narqiz.azimova@rambler.ru

Оригинальная статья / Original article

УДК 66.085

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-339-348>

Анализ продуктов низкотемпературного СВЧ-пиролиза торфа

© Т.О Крапивницкая^{***}, С.А. Буланова^{**}, А.А. Сорокин^{**}, А.Н. Денисенко^{**},
Д.Л. Ворожцов^{*}, Л.Л. Семенычева^{*}

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
г. Нижний Новгород, Российская Федерация

**Институт прикладной физики РАН, г. Нижний Новгород, Российская Федерация

Резюме: Для увеличения эффективности и интенсивности обработки органического природного каустобиолита – торфа, был разработан макет лабораторного СВЧ-реактора с увеличенным объемом загрузки обрабатываемого материала. Модернизированная экспериментальная установка представляет собой СВЧ-реактор при пониженном давлении с постоянным газовым отводом пиролизных газов через ловушку с жидким азотом в газовый пробоотборник. Увеличение объема микроволнового реактора было достигнуто благодаря применению дополнительных систем транспортировки микроволнового излучения и специальной системы поглощения отраженной мощности из объема реактора. Реактор подключался к источнику микроволнового излучения (промышленный магнетрон) частотой 2,45 ГГц, полной мощностью 1 кВт. Длительность микроволнового облучения торфа в реакторе составляла 16 мин. В результате серии экспериментов были получены и проанализированы образцы трех фракций – твердой, жидкой и газообразной. Проведен сравнительный анализ продуктов низкотемпературного пиролиза верхового сфагнового торфа, полученных при нагреве, основанном на теплопередаче от стенок реактора (обычный термический нагрев), и нагреве СВЧ-излучением. Главное отличие между нагревом излучением и теплопередачей состоит в том, что в первом случае происходит повышение температуры по всему объему, а не только в зоне границы раздела фаз, что повышает интенсификацию и эффективность процесса. Это в особенности проявляется при нагреве твердых объектов, в которых отсутствует передача тепла конвекцией. Сравнение продуктов трех полученных фракций проводилось с использованием данных анализа газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, а также по результатам элементного анализа. Исследование показало, что при микроволновом нагреве происходит более глубокое разрушение исходного субстрата – до углеродистого остатка и низкомолекулярных продуктов неорганической и органической природы. Кроме того, поверхность твердой фракции была исследована с помощью сканирующего электронного микроскопа; обнаружено наличие пористых структур с размерами пор от 5 до 7 мкм.

Ключевые слова: торф, микроволновый пиролиз, СВЧ-реактор, углеродистый остаток, низкомолекулярные продукты неорганической и органической природы, высокотехнологичная переработка торфа

Благодарности: Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» и теме госзадания ИПФ РАН № 0035-2019-0001.

Информация о статье: Дата поступления 30 апреля 2020 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Крапивницкая Т.О., Буланова С.А., Сорокин А.А., Денисенко А.Н., Ворожцов Д.Л., Семенычева Л.Л. Анализ продуктов низкотемпературного СВЧ-пиролиза торфа. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 339–348. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-339-348>

Analysis of the products of low-temperature microwave pyrolysis of peat

Tatiana O. Krapivnitskaia^{***}, Svetlana A. Bulanova^{**}, Andrey A. Sorokin^{**},
Andrey N. Denisenko^{**}, Dmitriy L. Vorozhtcov^{*}, Lyudmila L. Semenycheva^{*}

*Lobachevsky State University of Nizhniy Novgorod, Nizhniy Novgorod, Russian Federation

**Institute of Applied Physics Russian Academy of Sciences,
Nizhniy Novgorod, Russian Federation

Abstract: To increase the efficiency and intensity of processing of organic natural caustobiolite or peat, a prototype laboratory microwave reactor with an increased loading volume of the processed material has been developed. The modernized experimental setup is a microwave reactor under reduced pressure with a constant removal of pyrolysis gases through a trap with liquid nitrogen into a gas sampler. The increase in the volume of the microwave reactor was achieved through the use of additional systems for transporting microwave radiation and a special system of absorption of reflected power from the reactor volume. The reactor was connected to a microwave source (industrial magnetron) with a frequency of 2.45 GHz, with a total power of 1 kW. The duration of microwave irradiation of peat in the reactor was 16 minutes. As a result of a series of experiments, samples of three fractions – solid, liquid, and gaseous – were obtained and analyzed. A comparative analysis of the products of low-temperature pyrolysis of bog sphagnum peat obtained by heating based on heat transfer from the walls of the reactor (conventional thermal heating) and heating by microwave radiation. The main difference between heating by radiation and heat transfer is that in the first case there is an increase in temperature throughout the volume, and not just in the zone of the phase boundary, which increases the intensification and the efficiency of the process. This is especially evident when heating solid objects in which there is no heat transfer by convection. Comparison of the products of the three fractions obtained was carried out using gas chromatography analysis data with mass-spectrometric detection, as well as using the results of elemental analysis. The study has shown that microwave heating causes a deeper destruction of the initial substrate – to the carbon residue and low molecular weight products of inorganic and organic nature. In addition, the surface of the solid fraction was examined using a scanning electron microscope; the presence of porous structures with pore sizes from 5 to 7 μm has been detected.

Keywords: peat, microwave pyrolysis, microwave reactor, carbon residue, low molecular weight products of inorganic and organic nature, high-tech peat processing

Acknowledgments: The study was carried out using the equipment of the Centre for Collective Use “New Materials and Resource-Saving Technologies” and state task for Institute of Applied Physics RAS no. 0035-2019-0001.

Information about the article: Received April 30, 2020; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Krapivnitskaya T.O., Bulanova S.A., Sorokin A.A., Denisenko A.N., Vorozhtsov D.L., Semnicheva L.L. Analysis of the products of low-temperature microwave pyrolysis of peat. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):339–348. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-339-348>

ВВЕДЕНИЕ

Мировые запасы торфа, по разным оценкам, составляют от 250 до 500 млрд т. Россия занимает второе место в мире по запасам торфа, при этом возобновление торфа оценивается в 260–280 млн т/г. Запасы торфа в России равномерно распределены по всей территории страны. Россия имеет долю в 5 % от мирового объема добычи торфа и занимает 4-е место в мире по этому показателю, находясь в одном ряду со Швецией, Канадой и Латвией. Стратегией развития торфяной промышленности России до 2030 г. намечено выполнение следующих рекомендаций: расширить использование торфа и продуктов его переработки; осуществить модернизацию и технологическое обновление производственной базы торфяной промышленности. Повсеместно торф используют как топливо, в сельском хозяйстве – в качестве удобрений, в животноводстве – как бактерицидную подстилку, в медицине – как противомикробное средство, в химической про-

мышленности – как исходное вещество для получения ценных продуктов, таких как метиловый и этиловый спирты, фенол, воск, парафин, молочная, уксусная и щавелевая кислоты, аммиак и др. [1–7]. Кроме того, после термической обработки торф можно использовать в качестве исходного вещества для получения низкомолекулярных соединений. В то же время существует опасность самовозгорания торфа непосредственно в месте его образования в летний период времени, поэтому появляется необходимость его переработки во избежание чрезвычайных ситуаций природного характера.

В настоящее время активно ведутся работы в области физико-химической переработки биоорганических материалов. По степени разложения (гумификации) торфяные залежи разделяются на залежи низкой степени разложения (до 20 % содержания в общей массе бесструктурной массы – гумуса), средней и высокой (более 35 %). По условиям образования торф подразделяют на низинный, переходный

Таблица 1

Основные компоненты сфагнового верхового торфа

Table 1

Main components of sphagnum top peat

Компонентный состав органической массы торфа	Массовая доля в составе, %
Целлюлоза	4–10
Гуминовые кислоты	15–50
Лигнин	5–20
Легкогидролизуемые соединения	20–40
Водорастворимые вещества	1–5

и верховой [8]. Торф имеет сложный химический состав (таблица 1), который определяется условиями генезиса, разнообразием растений-торфообразователей и степенью разложения [9].

Существуют методы переработки торфа, основанные на нагреве материала теплопередачей от стенок реактора (обычный термический нагрев) с добавлением алюмосиликатных катализаторов и без них [2–4]. Новые возможности открывает применение в химии мощного электромагнитного излучения различных частотных диапазонов, что обуславливает все больший интерес как с точки зрения фундаментальных исследований новых процессов реакций, так и создания новых высокотехнологичных приложений. Лабораторные установки, основанные на использовании СВЧ-излучения, позволили разнообразить органический синтез, в частности, на порядок увеличить скорости определенных реакций под его воздействием, синтезировать материалы с новыми свойствами и т.д. [10, 11].

Несмотря на большое количество работ, посвященных созданию СВЧ-комплексов для переработки органических материалов [12–14], доступные системы, работающие с разными видами органического топлива и способные обеспечить внедрение как в различные мелкие производства, так и в крупные высокотехнологичные промышленные комплексы, авторам не известны. Создание таких установок требует одновременного решения ряда химических (термических, массообменных и др.) и физических (электронных, электродинамических, термодинамических и др.) проблем, а также оптимизации физико-химических условий протекания реакций, специфичных для каждого из органических соединений (неоднородного и/или пористого характера среды, принципиального изменения характеристик среды в процессе протекания реакции, в определенном смысле вероятностного состава компонентов и продуктов реакции и др.). В случае традиционной схемы теплового пиролиза теплопроводность материалов ограничивает скорость подвода тепла в область реакции, а важнейшее преимущество СВЧ-метода заключается в объем-

ном нагреве материала, что обусловлено проникновением электромагнитных волн на значительную глубину. В результате осуществляется прямое преобразование СВЧ-энергии в тепловую в материалах с низкой теплопроводностью. Это позволяет оперативно регулировать скорость пиролитических реакций и состав продуктов на выходе, что является безусловным достоинством СВЧ-пиролиза.

Согласно результатам, представленным в работе [15], термическим разложением органического сырья под воздействием СВЧ-излучения при температурах 200–300 °С можно добиться довольно высокого выхода водорода. Данный факт свидетельствует о деструкции С-Н связи и, соответственно, указывает на наличие в продуктах непредельных и ароматических соединений, которые в свою очередь могут использоваться в органическом синтезе. При тепловом нагреве при температуре 400 °С происходит крекинг и получение легких предельных углеводородов, которые могут использоваться в топливной энергетике. Целью данного исследования является апробация лабораторного высокоэффективного СВЧ-реактора для переработки торфа и анализ продуктов низкотемпературного пиролиза торфа под воздействием СВЧ-излучения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве обрабатываемого органического материала был использован верховой сфагновый торф низкой степени разложения Греко-Ушаковского месторождения. Влажность – не более 65 %, содержание органического вещества – не менее 90 %, зольность – не более 10 %, кислотность – не менее 2,5 %. Торф соответствует ТУ-0391-001-51558809-2014.

В Институте прикладной физики Российской академии наук совместно с Нижегородским государственным университетом им. Н.И. Лобачевского был разработан экспериментальный стенд для микроволновой обработки материалов [16, 17]. Модернизированная экспериментальная установка, использованная в данной работе, в сравнении со стендом, описанным в работе [17], представляет собой СВЧ-реактор при пониженном давлении с постоянным газо-

вым отводом пиролизных газов через ловушку с жидким азотом с увеличенным объемом загрузки порядка 1 кг. Увеличение объема микроволнового реактора было достигнуто благодаря применению дополнительных систем транспортировки микроволнового излучения и специальной системы поглощения отраженной мощности из объема реактора, что способствовало более равномерному прогреву образца и увеличению процентного выхода полезных продуктов реакции. Давление контролировалось манометром и поддерживалось на уровне 10^{-1} Па. Температура в реакторе измерялась в постоянном режиме ТХА термпарой и составляла 250–350 °С. Объем выделившегося в результате реакции газа отслеживался газовым счетчиком. Форвакуум обеспечивался роторным насосом. Навеска с торфом (300 г) помещалась в СВЧ-реактор, спрессовывалась. Реактор подключался к источнику СВЧ частотой 2,45 ГГц, полной мощностью 1 кВт (магнетрон). Длительность СВЧ-воздействия составляла 16 мин. Блок-схема эксперимента представлена на рис. 1.

Кроме того, был проведен сравнительный эксперимент с тепловым нагревом при использовании электрического колбонагревателя марки ESB-4120. Навеска с торфом (100 г) помещалась в колбу объемом 500 г и погружалась в чашу колбонагревателя, далее подключалась к регулятору напряжения марки ES-2100. Температура в течение 5 мин выводилась на уровень 250–300 °С и поддерживалась на протяжении 15 мин.

В процессе серии экспериментов с электронагревательным элементом и с СВЧ-

нагревом образцы газовой, жидкой (маслянистая) и твердой фракций были отобраны в пробоотборники.

Газообразная и маслянистая фракции были проанализированы на хромато-масс-спектрометре GCMS QP2010 Ultra (Shimadzu, США). Газообразную пробу пиролизата торфа объемом 2,0 мл загружали газовым шприцом в инжектор хромато-масс-спектрометра. Образец смешивался с потоком газа-носителя (гелий высокой чистоты 6.0) при температуре испарителя 300 °С. Далее компоненты пробы разделялись на капиллярной хроматографической колонке Ultra ALLOY-5, при этом применяли температурное программирование (выдерживали 40 °С в колонке в течение 2 мин, затем повышали температуру со скоростью 10 °С/мин до 250 °С и далее поддерживали данную температуру). Обработку результатов хромато-масс-спектрометрического анализа проводили с использованием фирменного программного обеспечения Shimadzu (GC-MS Solution ver. 4.11), идентификация примесей происходила с помощью базы данных NIST 11. Анализ твердофазных проб осуществлялся с использованием элементного анализатора vario EL cube для одновременного определения CHNS(O) до и после проведения эксперимента. Наряду с этим твердая фракция (углеродистый остаток) была исследована с помощью сканирующего электронного микроскопа JEOL 6390 LA (Япония). Образцы для электронно-микроскопических наблюдений были получены путем фиксации порошкообразных продуктов пиролиза торфа на медной подложке при помощи специального лака.

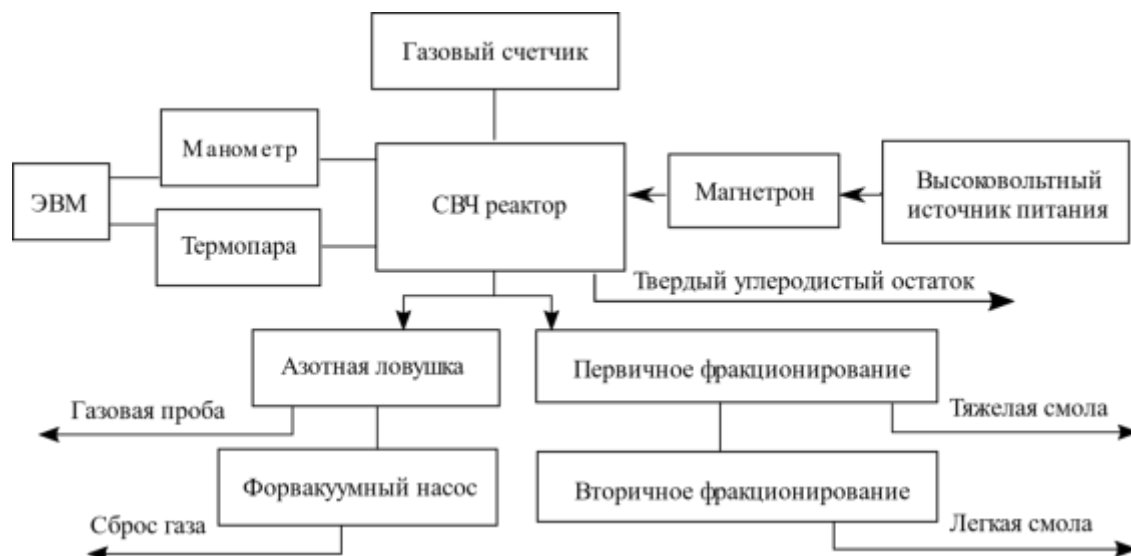


Рис. 1. Технологическая блок – схема процесса пиролиза торфа под воздействием СВЧ-излучения

Fig. 1. Technological flow diagram of the peat pyrolysis process under the influence of microwave radiation

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В связи с поставленной целью был проанализирован состав продуктов газообразной пробы, полученной при обычном термическом и СВЧ-нагреве, результаты представлены в виде совмещенной хроматограммы на рис. 2 (термический нагрев – линия красного цвета, СВЧ-нагрев – синего). Исходя из результатов, представленных на хроматограмме, можно сказать, что в газовой пробе преобладают неорганические газы, такие как CO₂, N₂.

В табл. 2 представлены данные о содержании в газовой фазе органических соединений разных классов. По данным хромато-масс-

спектрометрического анализа можно отметить, что при СВЧ-пиролизе в газовой фазе более характерны кислородсодержащие производные, включая гетероциклы (фуран, фурфураль), и значительно меньше непредельных соединений (столбец 2), чем в альтернативном случае (столбец 3), содержание предельных углеводов сопоставимо.

Кроме того, были проанализированы образцы жидкой (маслянистой) фракции. Сравнительный анализ соединений различных классов проб жидких фракций представлен в табл. 3.

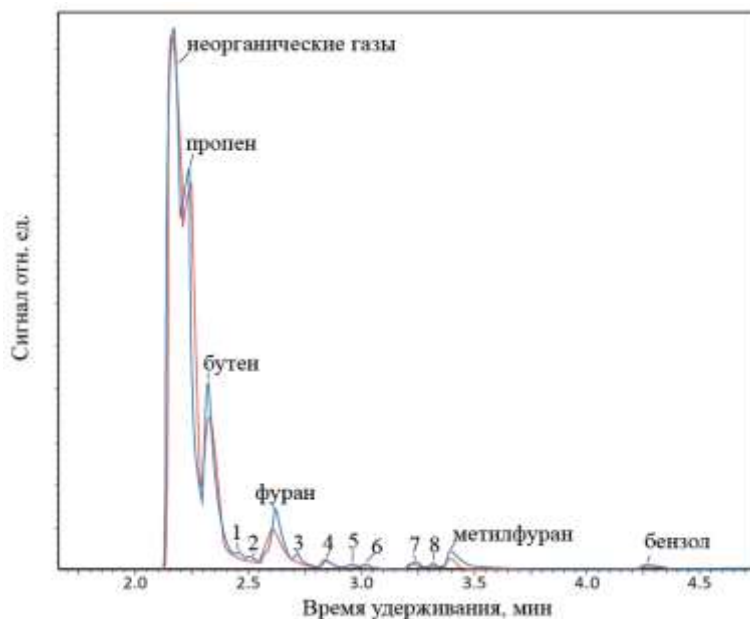


Рис. 2. Фрагменты хроматограмм газового пиролизата торфа при обычном термическом пиролизе (линия красного цвета) и при СВЧ-облучении (линия синего цвета):
 1 – изопентен; 2 – изопентан; 3 – изопентен; 4 – циклопентадиен; 5 – циклопентен;
 6 – изогексан; 7 – гексен; 8 – гексан; 9 – бензол

Fig. 2. Fragments of chromatograms of peat gas pyrolyzate during conventional thermal pyrolysis (red line) and microwave irradiation (blue line):
 1 – isopentene; 2 – isopentane; 3 – isopentene; 4 – cyclopentadiene; 5 – cyclopentene;
 6 – isohexane; 7 – hexene; 8 – hexane; 9 – benzene

Таблица 2
 Классы соединений, идентифицированные в образце газового пиролизата торфа при обычном термическом нагреве и СВЧ-облучении

Table 2

Classes of compounds identified in a sample of peat gas pyrolyzate under normal thermal heating and microwave irradiation

Класс соединений	Содержание, %	
	при СВЧ-нагреве	при нагреве с помощью колбонагревателя
Непредельные соединения	9,1	25,5
Предельные углеводороды	4,4	4,7
Карбонильные соединения	7,3	0,3
Ароматические углеводороды	1,2	0,6
Гетероциклические соединения	11,2	4,4
Растворенные неорганические газы	67,0	64,3

Таблица 3

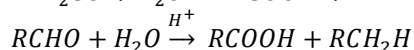
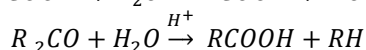
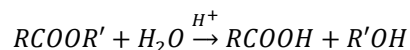
Классы соединений, идентифицированные в образце жидкого пиролизата торфа при нагреве с помощью колбонагревателя и при СВЧ-облучении

Table 3

Classes of compounds identified in a sample of liquid peat pyrolyzate when heated with a flask heater and under microwave irradiation

Класс соединений	Содержание, %	
	при СВЧ-нагреве	при нагреве с помощью колбонагревателя
Растворенные неорганические газы	Не обнаружено	0,4
Карбонильные соединения	0,2	5,0
Карбоксильные соединения	0,2	11,1
Спирты	0,3	1,9
Гетероциклические соединения	0,5	6,3
Фенольные соединения	Не обнаружено	2,8
Вода	98,9	71,5

Из данных, представленных в табл. 3, видно, что и в том, и другом случае основной компонент – вода. В жидкой фракции при СВЧ-нагреве отсутствуют неорганические газы, в то же время наблюдаются следовые количества кислородсодержащих соединений, а при обычном термическом нагреве имеют место следы неорганических газов, количественное содержание кислородсодержащих соединений, среди которых достаточно много карбоксильных соединений (табл. 3, столбец 3). Это согласуется с данными, приведенными в работе [18], где допускается, что при нагреве торфа в присутствии достаточного количества воды образуются карбоксильные производные:



Следует обратить внимание на то, что при интенсивном СВЧ-нагреве в жидкой фазе (см. табл. 3) в отличие от газовой фазы (см. табл. 2) не было обнаружено заметного присутствия кислородсодержащих соединений. Вероятно, в этом случае образуются только низкомолекулярные продукты такой природы, которые выделяются в газовой фазе (ацеталь-

дегид, метанол и т.п.).

В табл. 4 приведены результаты элементного анализа твердой фракции (углеродистого остатка) исходного торфа после его СВЧ-обработки в сравнении с обычным термическим нагревом. Углеродистый остаток, полученный в реакторе меньшего объема (результаты представлены в работе [17]), по процентному элементному составу очень схож с образцом, полученным в реакторе большего объема, что доказывает возможность выполнения подобных работ в промышленном масштабе.

С помощью сканирующего электронного микроскопа была исследована поверхность углеродистого остатка после СВЧ-обработки с высоким разрешением и глубиной резкости на поверхности образца. Изображения получены в режиме вторичных электронов при ускоряющем напряжении 10 кВ и увеличении в 330, 950 и 2500 раз (рис. 3). Размер пор колеблется в пределах от 5 до 7 мкм. Частицы продукта пиролиза имеют высокую пористость и развитую поверхность, наблюдаются структуры как образованные агломерированными гранулами, так и слоистые. Такие материалы широко применяются в качестве адсорбентов, носителей катализаторов, электродных материалов химических источников тока [19–22].

Таблица 4

Элементный состав углеродистого остатка исходного торфа

Table 4

Elemental composition of the carbon residue of the source peat

Образец исходного торфа	Массовая доля, %			
	азот	углерод	водород	сера
Перед СВЧ-нагревом	2–3	60–62	7–8	> 0,3
После СВЧ-нагрева	2–3	83–85	4–5	> 0,3
После теплового нагрева	1–2	64–65	4–6	> 0,3

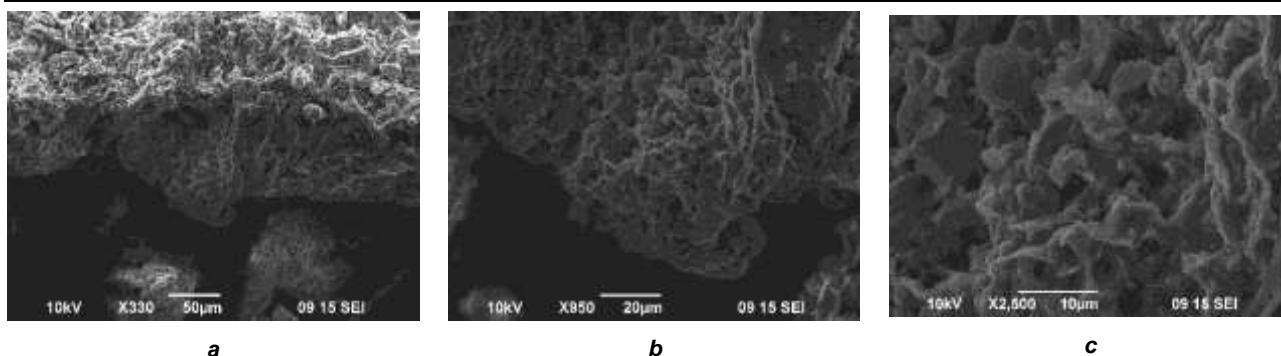


Рис. 3. Фотографии углеродистого остатка после СВЧ-обработки (увеличение: а – в 330 раз, б – в 950 раз, с – в 2500 раз)

Fig. 3. Photos of carbon residue after microwave processing (magnification: a – 330 times, b – 950 times, c – 2500 times)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведена серия лабораторных исследований по обработке в реакторе повышенной загрузки верхового сфагнового торфа воздействием СВЧ-излучения с частотой 2,45 ГГц, мощностью 1 кВт и при пониженном давлении. Также осуществлена серия сравнительных экспериментов по «традиционному» термиче-

скому нагреву торфа. Были проанализированы образцы жидкой (маслянистой), газовой фракций и твердого остатка. Показано, что под воздействием СВЧ-излучения происходит более глубокое разрушение исходного субстрата до углеродистого остатка и низкомолекулярных продуктов неорганической и органической природы.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Москаленко Т.В., Михеев В.А., Ворсина Е.В. Искусственно полученные гуминовые вещества для восстановления почв // Успехи современного естествознания. 2018. N 1. С. 109–114. <https://doi.org/10.17513/use.36659>
2. Степанов А.А., Шульга П.С., Госсе Д.Д., Смирнова М.Е. Применение природных гуматов для ремедиации загрязненных городских почв и стимулирования роста растений // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. 2018. N 2. С. 30–34.
3. Спиридонова А.М., Жернов Ю.В., Аввакумова Н.П., Зотова Л.М., Трошкина Н.П. Антивирусная активность фракций гуминовых веществ пелоидов в отношении штаммов вируса иммунодефицита человека 1 типа // Инфекция и иммунитет. 2012. Т. 1. N 1-2. С. 424.
4. Пат. № 2071490, Российская Федерация. Способ производства торфяного красителя на основе гуминовых кислот / О.И. Квасенков; патентообладатель ВНИИ консервной и овощесушильной промышленности; заявл. 22.07.1993, опубл. 10.01.1997.
5. Никифорова М.И. Преимущества использования торфяных таблеток сухого пресования для выращивания рассады // Гавриш. 2011. N 6. С. 35–36.
6. Маслов С.Г., Инишева Л.И. Торф – как растительное сырье и направления его химической переработки // Химия растительного сырья. 1998. N 4. С. 5–7.
7. Штин С.М. Применение торфа как топлива для малой энергетики // ГИАБ – Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2011. N 7. С. 82–96.
8. Куликова М.П., Куликова М.П., Куулар Л.Л. Исследование химического состава торфа // Фундаментальные исследования. 2013. N 4-1. С. 90–94;
9. Алферов В.В., Косивцов Ю.Ю., Чалов К.В., Луговой Ю.В. Термокаталитическая переработка торфа в присутствии алюмосиликатных катализаторов // Труды Инсторфа. 2013. N 8 (61). С. 18–22.
10. Пат. № 2259385, Российская Федерация. Способ переработки торфа / В.А. Котельников, А.И. Подзоров; заявл. 11.03.2004; опубл. 27.08.2005.
11. Удалов Е.И., Болотов В.А., Танашев Ю.Ю., Черноусов Ю.Д., Пармон В.Н. Пиролиз жидкого гексадекана в условиях селективного нагрева катализатора СВЧ-излучением // Теоретическая и экспериментальная химия. 2010. Т. 46. N 6. С. 370–377.
12. Чумаков Ю.А., Князева А.Г. Влияние сжимаемости тяжелых углеводородов на макрокинетику их разложения под действием СВЧ-излучения // Химическая физика и мезоскопия. 2013. Т. 15. N 2. С. 179–187.
13. Передерий М.А., Хаджиев С.Н., Цодиков М.В. Деструкция токсичных соединений и нефтяных загрязнений при воздействии СВЧ-излучений // Вестник Российского фонда фундаментальных исследований. 2011. N 4 (72). С. 52–62.

14. Лиштван И.И. Физико-химические свойства торфа, химическая и термическая его переработка // Химия твердого топлива. 1996. N 3. С. 3–23.

15. 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.

16. 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 fuel. EPJ Web of Conferences. 10th International Workshop 2017 "Strong Microwaves and Terahertz Waves: Sources and Applications". 2017. Vol. 49. Article Number 02023. 2 p. <https://doi.org/10.1051/epjconf/201714902023>

17. Крапивницкая Т.О., Богдашов А.А., Денисенко А.Н., Песков Н.Ю., Глявин М.Ю., Семеничева Л.Л., Ворожцов Д.Л. Эксперимен-

тальное 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>

18. Чухарева Н.В., Шишмина Л.В., Новиков А.А. Физико-химические характеристики торфяных гуминовых кислот и остатков их кислотного гидролиза // Химия растительного сырья. 2003. N 3. С. 11–15.

19. Кельцев Н.В. Основы адсорбционной техники. М.: Химия, 1989. 592 с.

20. Неймарк Н.Е. Синтетические минеральные адсорбенты и носители катализаторов. Киев: Наукова думка, 1982. 216 с.

21. Земскова Л.А. Модифицированные углеродные волокна: сорбенты, электродные материалы, катализаторы // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. 2009. N 2 (144). С. 39–52.

22. Патент № 2620404, Российская Федерация. Способ получения мезопористого углерода / А.Г. Ткачев, А.В. Мележик, Г.В. Соломахо; патентообладатель ООО «НаноТехЦентр»; заявл. 26.01.2016; опубл. 25.05.2017.

REFERENCES

1. Moskalenko TV, Mikheev VA, Vorsina EV. Artificially obtained humic substances for soil restoration. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya* = Achievements of modern natural sciences. 2018;1:109–114. (In Russian) <https://doi.org/10.17513/use.36659>

2. Stepanov AA, Shulga PS, Gosse DD, Smirnova ME. Natural humates application for remediation of contaminated urban soils and stimulation of plant growth. *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 17: Pochvovedenie*. 2018;2:30–34. (In Russian)

3. Spiridonov AM, Zhernov YuV, Avvakumova NP, Zotova LM, Troshkina NP. Antiviral activity of humic substance fractions of peloids in relation to human immunodeficiency virus type 1 strains. *Infektsiya i immunitet* = Russian Journal of Infection and Immunity. 2012;2(1-2):424. (In Russian)

4. Kvasenkov OI. *Method of production of peat dye based on humic acids*. Patent RF, no. 2071490;1997. (In Russian)

5. Nikiforenkov MI. Advantages of using dry pressed peat tablets for growing seedlings. *Gavrish*. 2011;6:35-36 (In Russian)

6. Maslov SG, Inisheva LI. Peat as a plant raw material and its chemical processing. *Khimija rastitel'nogo syr'ja* = Chemistry of plant raw material. 1998;4:5–7. (In Russian)

7. Shtin SM. Peat application as fuel for small power. *Gornyi informatsionno-analiticheskii byulleten' (nauchno-tehnicheskii zhurnal)* = Mining informational and analytical bulletin (scientific and technical journal). 2011;7:82–96 (In Russian)

8. Kulikova MP, Kuular LL. Study the chemical composition of peat. *Fundamental'nye issledovaniya* 2013;4-1:90–94. (In Russian)

9. Alferov VV, Kosivtsov YuY, Chalov KV., Lugovoy YuV. Thermocatalytic peat processing in the presence aluminosilicate catalyst. *Trudy Instorfa*. 2013;8:18–22. (In Russian)

10. Kotel'nikov VA, Podzorov AI. *Peat processing method*. Patent RF, no. 2259385; 2004. (In Russian)

11. Udalov EI, Bolotov VA, Tanashev YuYu, Chernousov YuD, Parmon VN. Pyrolysis of liquid hexadecane under conditions of selective heating of the catalyst by microwave radiation. *Teoreticheskaya i eksperimental'naya khimiya*. 2010;46(6):370–377. (In Russian)

12. Chumakov YuA, Knyazeva AG. The influence of heavy hydrocarbons compressibility on the macrokinetics of ones decomposition under the microwave radiation. *Khimicheskaya fizika i mezoskopiya* = Chemical Physics and Mesoscopies. 2013;15(2):179–187. (In Russian)

13. Perederii MA, Hadzhiev SN, Tsodikov MV. Destruction of toxic compounds and oil pollution when exposed to microwave radiation. *Vestnik Rossiiskogo fonda fundamental'nyh issledovaniy* = Russian Foundation for Basic Research Journal. 2011;4:52–62. (In Russian)

14. Lishtvan II. Physicochemical properties of peat, its chemical and thermal processing. *Khimiya tverdogo topliva*. 1996;3:3–23. (In Russian)

15. Bogdashov AA, Krapivnitskaya TO, Peskov NYu. Simulation of microwave pyrolysis of peat. In: *Microwave and Telecommunication*

Technology (CriMiCo-2018): Proceedings of the 28th International Crimean Conference, 9–15 September 2018, Sevastopol. 2018;6:1381–1387. (In Russian)

16. 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;49. Article Number 02023. 2 p. <https://doi.org/10.1051/epjconf/201714902023>

17. Krapivnitskaia TO, Bogdashov AA, Denisenko AN, Peskov NYu, Glyavin MYu, Semenycheva LL, et al. 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>

18. Chukhareva NV, Shishmina LV, Novikov AA. Physico-chemical characteristics of peat humic acids and residues of their acid hydrolysis *Khimija rastitel'nogo syr'ya* = Chemistry of plant raw material. 2003;3:11–15. (In Russian)

19. Kel'tsev NV. *The basics of adsorption technology*. Moscow: Khimiya; 1989. 592 p. (In Russian)

20. Neimark NE. *Synthetic mineral adsorbents and catalyst supports*. Kiev: Navukova dumka; 1982. 216 p. (In Russian)

21. Zemskova LA. Modified carbon fibers: sorbents, electrode materials, catalysts. *Vestnik Dal'nevostochnogo otdeleniya Rossiiskoi akademii nauk* = Vestnik of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences. 2009;2:39–52. (In Russian)

22. Tkachev AG, Melezhik AV, Solomakho GV. Method of obtaining mesoporous carbon. Patente RF, no. 2620404; 2016. (In Russian)

Критерии авторства

Крапивницкая Т.О., Буланова С.А., Сорокин А.А., Денисенко А.Н., Ворожцов Д.Л., Семенычева Л.Л. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, 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

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

Буланова Светлана Андреевна, инженер-исследователь, ФИЦ Институт прикладной физики РАН, 603950, г. Нижний Новгород,

Contribution

Tatiana O. Krapivnitskaia, Svetlana A. Bulanova, Andrey A. Sorokin, Andrey N. Denisenko, Dmitriy L. Vorozhtcov, Lyudmila L. Semenycheva carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict 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.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Tatiana O. Krapivnitskaia, Postgraduate Student, Lobachevsky State University of Nizhniy Novgorod, 23, Gagarin Ave., Nizhniy Novgorod, 603022, Russian Federation; Lead Engineer, Institute of Applied Physics RAS, 46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950, Russian Federation, e-mail: kto465@yandex.ru

Svetlana A. Bulanova, Research Engineer, Institute of Applied Physics RAS, 46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950,

ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
e-mail: bulanovasveta@mail.ru

Russian Federation,
e-mail: bulanovasveta@mail.ru

Сорокин Андрей Адольфович,
старший научный сотрудник,
ФИЦ Институт прикладной физики РАН,
603950, г. Нижний Новгород,
ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
e-mail: asorok@appl.sci-nnov.ru

Andrey A. Sorokin,
Senior Researcher,
Institute of Applied Physics Russian Academy
of Sciences,
46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950,
Russian Federation,
e-mail: asorok@appl.sci-nnov.ru

Денисенко Андрей Николаевич,
ведущий конструктор,
ФИЦ Институт прикладной физики РАН,
603950, г. Нижний Новгород,
ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
e-mail: androu@appl.sci-nnov.ru

Andrey N. Denisenko,
Leading Designer,
Institute of Applied Physics RAS,
46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950,
Russian Federation,
e-mail: androu@appl.sci-nnov.ru

Ворожцов Дмитрий Леонидович,
к.х.н., ведущий инженер,
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23,
Российская Федерация,
e-mail: dmvorozh@gmail.com

Dmitriy L. Vorozhtcov,
Cand. Sci. (Chemistry), Lead Engineer,
Lobachevsky State University of Nizhniy Nov-
gorod,
23, Gagarin Ave., Nizhniy Novgorod, 603022,
Russian Federation,
e-mail: dmvorozh@gmail.com

Семенычева Людмила Леонидовна,
д.х.н., заведующая лабораторией
нефтехимии,
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23,
Российская Федерация,
e-mail: llsem@yandex.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

Оригинальная статья / Original article

УДК 665.6/7

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-349-359>

Каталитическая депарафинизация средних дистиллятов

© Г.В. Боженков*, Д.В. Медведев**, Е.В. Рудякова*, Н.Д. Губанов*

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

**Филиал ООО «МФЦ Капитал» – МФЦ Нефть, г. Иркутск, Российская Федерация

Резюме: Средние дистиллятные фракции, получаемые на установках первичной переработки нефти, содержат значительное количество *n*-парафинов, имеющих положительные температуры застывания, что ухудшает низкотемпературные характеристики топлива, производимых из этих фракций. Для улучшения низкотемпературных свойств средних дистиллятных фракций применяют различные депрессорные присадки или проводят депарафинизацию различными способами. Наиболее эффективным процессом депарафинизации является каталитическая. Классические процессы вторичной переработки углеводородных фракций являются высокочувствительными и часто нерентабельными для небольших нефтеперерабатывающих заводов (НПЗ). Разработка вторичных процессов переработки углеводородного сырья, применимых на НПЗ средней и малой мощности, на сегодняшний день – актуальная задача. Поэтому нашей целью являлась разработка технологии совмещенных процессов первичной перегонки нефти, поступающей по трубопроводной системе «Восточная Сибирь – Тихий океан», и каталитической депарафинизации получаемых средних дистиллятов. Для определения условий проведения процесса каталитической безводородной депарафинизации разработана экспериментальная установка непрерывного действия производительностью по сырью 10 л/ч, включающая трубчатую печь, реактор со стационарным слоем катализатора, теплообменник, контрольно-измерительные приборы. Эксперименты, выполненные на опытной установке, позволили определить оптимальные технологические параметры осуществления каталитической депарафинизации средних дистиллятов. Показано, что каталитическая депарафинизация средних дистиллятов в условиях, определенных опытным путем, протекает достаточно эффективно на катализаторах крекинга: СГК-1, СГК-5, КН-30-БИМТ, выпускаемых в России. Предложена оптимальная технологическая схема совмещения процесса первичного разделения нефти и каталитической депарафинизации средних дистиллятов. Расчет и оптимизация предложенной технологической схемы выполнены в компьютерной моделирующей системе ChemCad.

Ключевые слова: нефть, средние дистилляты, *n*-парафины, каталитическая депарафинизация, катализаторы, дизельное топливо

Информация о статье: Дата поступления 15 августа 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Боженков Г.В., Медведев Д.В., Рудякова Е.В., Губанов, Н.Д. Каталитическая депарафинизация средних дистиллятов. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 2. С. 349–359. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-349-359>

Catalytic deparaffinization of middle distillates

Georgii V. Bozhenkov*, Dmitrii V. Medvedev**, Elena V. Rudyakova*,
Nikolai D. Gubanov*

* Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

** Branch of MFC Capital LLC - MFC Oil, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: The middle distillate fractions obtained in primary oil refining plants contain a significant amount of *n*-paraffins, which have positive pour points, resulting in degradation of the low-temperature characteristics of fuels produced from these fractions. To improve the low-temperature properties of middle distillate frac-

tions, various depressor additives are used or dewaxing is carried out in various ways. The most efficient dewaxing process is the catalytic one. Classical methods for the secondary processing of hydrocarbon fractions are costly and often uneconomical for small oil refineries. The development of secondary hydrocarbon processing methods applicable at medium and low capacity refineries is an urgent task today. Therefore, our goal was to develop a technology for combined processes of primary distillation of oil coming through the Eastern Siberia – Pacific Ocean oil pipeline system and catalytic dewaxing of the resulting middle distillates. To determine the conditions for carrying out the process of catalytic hydrogen-free dewaxing, an experimental plant of continuous operation was developed with a feed rate of 10 l/h, including a tube furnace, a reactor with a fixed catalyst bed, a heat exchanger, and control and measuring devices. Experiments performed on a pilot plant made it possible to determine the optimal technological parameters for the catalytic dewaxing of middle distillates. It was shown that the catalytic dewaxing of middle distillates under experimentally determined conditions proceeds quite effectively on cracking catalysts SGK-1, SGK-5, KN-30-BIMT, manufactured in Russia. An optimal technological scheme for combining the process of primary oil separation and catalytic dewaxing of middle distillates is proposed. Calculation and optimization of the proposed technological scheme was performed in a computer simulation system ChemCad.

Keywords: oil, middle distillates, n-paraffins, catalytic dewaxing, catalysts, diesel fuel

Information about the article: Received August 15, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Bozhenkov GV, Medvedev DV, Rudyakova EV, Gubanov ND. Catalytic deparaffinization of middle distillates. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):349–359. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-349-359>

ВВЕДЕНИЕ

Средние дистиллятные фракции, получаемые при первичной переработке нефти, содержат значительное количество высших n-парафинов. Большое содержание n-парафинов ухудшает низкотемпературные свойства углеводородных фракций, а именно, увеличиваются температуры помутнения, фильтруемости и застывания, в результате чего применение данных фракций как компонентов дизельных топлив при низких отрицательных температурах окружающей среды ограничено. Для улучшения низкотемпературных свойств средних дистиллятных фракций к ним добавляют депрессорные, депрессорно-диспергирующие присадки или удаляют из них n-парафины различными способами [1–16]. Одним из эффективных среди таких процессов является каталитическая депарафинизация, протекающая как в присутствии водородсодержащего газа, так и без него. Наиболее активными катализаторами депарафинизации углеводородных фракций являются синтетические высокомолекулярные цеолиты, особенно модифицированные редкоземельными элементами, позволяющие параллельно проводить процесс гидроочистки [6–19]. В процессе каталитической депарафинизации нефтяных фракций происходит крекинг n-парафинов, в результате образуются более легкие парафины, в основном изо-строения, нафтены, ароматические углеводороды и незначительное количество углеводородных газов.

В настоящее время значительной проблемой для мало- и среднетоннажных нефтеперерабатывающих заводов (НПЗ) в России

является внедрение классических вторичных процессов нефтепереработки. В первую очередь это связано с большими финансовыми затратами, не позволяющими получать достаточную экономическую эффективность при переработке углеводородного сырья, а в некоторых случаях они являются нерентабельными.

Таким образом, разработка и внедрение вторичных процессов переработки углеводородов, альтернативных классическим, в технологический процесс мало- и среднетоннажных НПЗ – актуальная задача. Цель данной работы – исследование каталитической безводородной депарафинизации средних дистиллятов, получаемых из нефти, транспортируемой по трубопроводной системе «Восточная Сибирь – Тихий океан» (далее – трубопровод ВСТО), на цеолитных катализаторах структуры ZSM-5, разработка и моделирование принципиальной технологической схемы, включающей первичное разделение нефти и каталитическую депарафинизацию средних дистиллятов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследование процесса каталитической безводородной депарафинизации средних дистиллятов осуществлялось на лабораторной установке непрерывного действия производительностью 10 л/ч (рис. 1). Данная установка позволяет проводить каталитические процессы (изомеризации, крекинга, риформинга и др.) в широком интервале температур и давлений на стационарном слое катализатора. Исходное сырье дозировочным насосом Н1 (НД 1,0 Р-10/100 К14) подается в подогреватель П1,

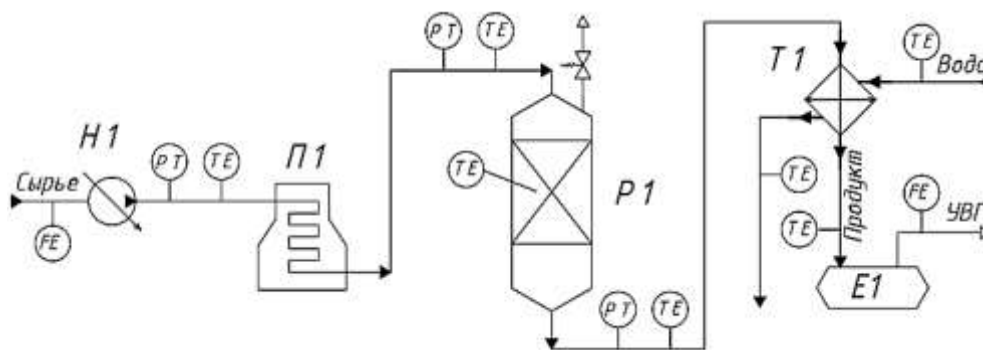


Рис. 1. Технологическая схема лабораторной установки:

Н1 – сырьевой насос;

П1 – печь; P1 – реактор депарафинизации;

T1 – теплообменник; E1 – емкость;

TE, PT, FE – датчики температуры, давления, расхода потоков соответственно

Fig. 1. Scheme of the laboratory installation:

H1 – feed pump,

P1 – heater, P1 – dewaxing reactor,

T1 – heat exchanger, E1 – tank,

TE, PT, FE – sensors of temperature, pressure, flow rate, respectively

представляющий собой трубчатую печь с радиантной секцией, в которой установлен змеевик из нержавеющей стали 12Х18Н10Т (диаметр витка змеевика – 100 мм, число витков – 50, поверхность теплопередачи – 0,37 м², труба змеевика Ø8х1 и длиной 15 м). В печи установлена газовая горелка ГВ-100 максимальной мощностью 40 кВт. Из подогревателя П1 сырьё с температурой 330–350 °С поступает в трубчатый реактор P1 – вертикальный цилиндрический аппарат с верхним аксиальным вводом сырья. Диаметр корпуса реактора – 108×5 мм, высота – 500 мм, максимальный объем катализатора в реакторе – 2,5 л. Для контроля температуры процесса в слое катализатора установлена термомпара. Продукт, выходящий из реактора P1, поступает в теплообменник типа «труба в трубе» T1 на охлаждение водой. Количество углеводородного газа, выделяющегося в процессе депарафинизации, измерялось реометром РДС-4 (ГОСТ 9932-75).

Объекты исследований:

– исходная смесь – широкая углеводородная фракция, полученная из нефти, транспортируемой по трубопроводу ВСТО, выкипающая в интервале температур 220–400 °С (физико-химические характеристики данной фракции приведены в табл. 1);

– смесь газойля низкозастывающего (ГН) и высоковязкого продукта (ВП) в соотношении 4:1 (смесь средних дистиллятов, получаемых на одном из российских НПЗ; физико-химические характеристики данной смеси приведены в табл. 6).

В качестве катализаторов депарафинизации использовались высококремнеземистые катализаторы крекинга структуры ZSM-5 марок СГК-1 и СГК-5 (Ангарский завод катализато-

ров) и КН-30-БИМТ (Новосибирский завод химконцентратов).

Физико-химические характеристики сырья и продуктов определялись в соответствии с действующей нормативно-технической документацией.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Каталитическая депарафинизация исходных смесей проводилась в интервале температур 300–350 °С, избыточном давлении 0,02–0,03 МПа и объемной скорости 3–4 ч⁻¹.

В начале процесса депарафинизации ввиду высокой активности катализатора температура подаваемого в реактор сырья поддерживалась в области 300 °С и определялась из условия минимального выделения углеводородных газов. По мере снижения активности катализатора, которая определялась по росту температуры застывания получаемого продукта, температура процесса повышалась. Процесс депарафинизации заканчивали, когда температура на входе в реактор P1 приближалась к 350 °С (определение этой температуры как максимально возможной будет объяснено ниже). После достижения данной температуры процесс депарафинизации прекращали, реактор с катализатором охлаждали и ставили на регенерацию. Регенерация катализатора заключалась в выжиге кокса, отложившегося на поверхности катализатора.

Физико-химические показатели продукта определялись с интервалом в один час. Материальный баланс и усредненные физико-химические параметры проб исходной смеси и продукта депарафинизации приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1
 Физико-химические параметры исходной смеси и продукта депарафинизации

Physicochemical parameters of the initial mixture and dewaxing product

Table 1

Параметр	Значение	
	Исходная смесь	Продукт депарафинизации
Плотность при 20 °С, кг/м ³	873	861
Кинематическая вязкость при 20 °С, мм ² /с	13,97	8,40
Температура вспышки в открытом тигле, °С	125	105
Температура застывания, °С	10	-28
Массовая доля серы, %	0,53	0,44
Фракционный состав, °С:		
н.к.	222	92
10%	283	240
50%	331	306
90%	392	371
Общее массовое содержание ароматических соединений, %	26,8	28

Таблица 2

Материальный баланс лабораторной установки

Table 2

Material balance of the laboratory installation

Сырье	% масс.	кг/ч	Продукт	% масс.	кг/ч
Исходная смесь	100	5,13	Продукт депарафинизации	99,2	5,09
			Потери	0,8	0,04
Итого	100	5,13	Итого	100	5,13

Анализ данных, представленных в табл. 1, показывает, что продукт депарафинизации имеет более легкий состав, чем исходное сырье, так как плотность, вязкость, температура вспышки и соответствующие характеристики фракционного состава уменьшились. Значительно уменьшилась температура застывания продукта по сравнению с исходной фракцией, что связано с превращением высших нормальных парафинов в более легкие, в основном изо-строения. Небольшое повышение содержания ароматических соединений связано с потерей углеводородов в виде образовавшегося в незначительном количестве углеводородного газа. Также в процессе каталитической депарафинизации происходит неглубокая гидроочистка средних дистиллятов.

В результате анализа литературных данных [1–19] и проведенных экспериментальных исследований установлено, что процесс каталитической безводородной депарафинизации протекает достаточно эффективно на высококремнеземистых цеолитах при низких температурах и давлении. Это позволяет применить

данную технологию в процессе первичного разделения нефти в рамках технического перевооружения, не проводя глубокой модернизации производства или строительства новой установки безводородной каталитической депарафинизации.

В качестве базовой схемы для технического перевооружения выбрана двухколонная схема первичного разделения нефти как наиболее гибкая и имеющая наибольшее пространство^{1,2}. По такой схеме работает один из российских НПЗ мощностью 600 тыс. т/год (рис. 2, выделено черным цветом). После анализа различных вариантов внедрения процесса каталитической депарафинизации в процесс первичного разделения нефти с учетом условия минимального технологического изменения в действующем производстве определена наиболее оптимальная, на наш взгляд, технологическая схема (см. рис. 2).

Принципиальная технологическая схема, приведенная на рис. 2, состоит из двух частей, выделенных разным цветом. Черным цветом выделено оборудование и трубопроводная

¹ Мейерс Р.А. Основные процессы нефтепереработки: справочник / пер. с англ. 3-го изд.; под ред. О.Ф. Глаголевой, О.П. Лыкова. СПб.: ЦОП «Профессия», 2011. 944 с.

² Альбом технологических схем процессов переработки нефти и газа / под ред. Б.И. Бондаренко. М.: Изд-во РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина, 2003. 201 с.

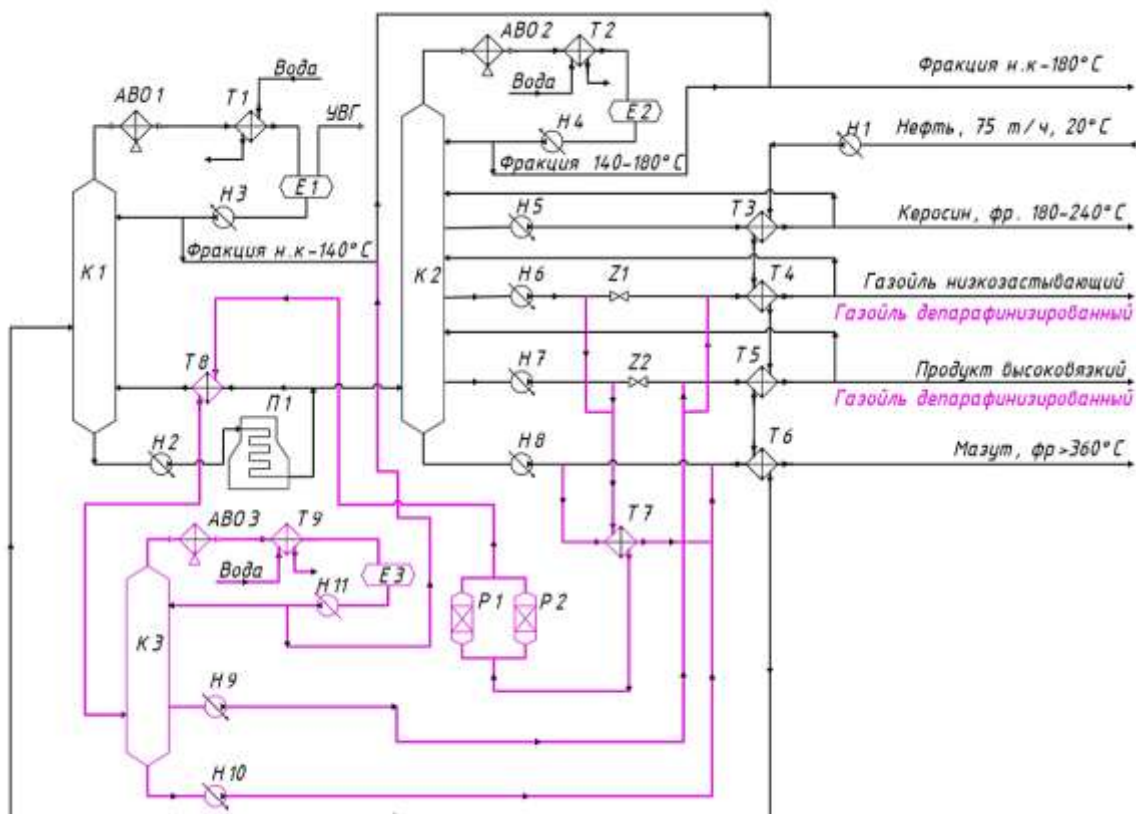


Рис. 2. Принципиальная технологическая схема установки:

K1–K3 – ректификационные колонны;
П2 – печь; Н1–Н10 – насосы;
T1–T9 – теплообменники; E1–E3 – емкости;
ABO1–ABO3 – аппараты воздушного охлаждения;
P1, P2 – реактора депарафинизации;
Z1, Z2 – задвижки

Fig. 2. Schematic diagram of the installation:

K1–K3 – distillation columns,
П1 – heater, Н1–Н10 – pumps,
T1–T9 – heat exchangers, E1, E2 – tanks,
ABO1–ABO3 – air coolers
P1, P2 – dewaxing reactor,
Z1, Z2 – valves

обвязка действующего производства, а фиолетовым – трубопроводная обвязка, относящаяся к встраиваемому блоку каталитической депарафинизации средних дистиллятов.

Исходная нефть насосом Н1 подается в блок теплообменников Т3–Т6 для предварительного нагрева до температуры 220 °С за счет тепла отводимых продуктов. Далее нагретая нефть поступает в ректификационную колонну К1 для отделения фракции бензина (БГС; фракция, выкипающая в интервале от температуры начала кипения (н.к.) до 140°С). Пары БГС, отводимые из верхней части колонны, поступают в аппарат воздушного охлаждения АВО1 на конденсацию и охлаждение. Окончательное охлаждение фракции БГС до температуры 30 °С осуществляется в кожухотрубчатом теплообменнике Т1 обратной водой. Часть конденсата возвращается в колонну

на орошение, оставшаяся часть отводится в товарный парк.

Отбензиненная нефть из кубовой части колонны К1 насосом Н2 подается в трубчатую печь П1 на подогрев до температуры 360–380 °С. Часть нагретой отбензиненной нефти из печи П1 возвращается в колонну К1 в качестве горячей струи, а балансовое количество поступает в атмосферную колонну К2.

С верха колонны К2 отводятся пары фракции БГС (фракция, выкипающая в интервале температур 140–180 °С), которые конденсируются и охлаждаются в аппарате воздушного охлаждения АВО2 и водяным кожухотрубчатом теплообменнике Т2. Часть конденсата возвращается в колонну на орошение, а другая – по общему трубопроводу с фракцией БГС колонны К1 и К3 отводится в товарный парк.

Верхним боковым потоком из колонны К2

отбирается фракция керосина технического, средним – фракция ГН, нижним – фракция ВП. Часть фракций керосина технического из теплообменников Т3, ГН из теплообменников Т4 и ВП из теплообменников Т5 возвращаются в колонну в качестве циркуляционных орошений, а балансовое количество фракций отводится в товарный парк. Из кубовой части колонны К2 в товарный парк насосом Н8 выводится мазут через теплообменники блока Т6. Материальный баланс действующего производства и физико-химические параметры получаемых фракций приведены в табл. 3 и 4 соответственно.

При включении в технологический процесс блока депарафинизации задвижки Z1 и Z2 закрываются. Фракции ГН и ВП насосами Н6 и

Н7 соответственно подаются в теплообменник Т7 на подогрев. Далее нагретая смесь поступает в реактор каталитической депарафинизации Р1 или Р2.

Каталитические реакторы Р1 и Р2 работают попеременно: один задействован в процессе депарафинизации, другой – в процессе регенерации. Регенерация катализатора осуществляется газоздушным выжигом кокса. Время переключения реактора на регенерацию определяется по изменению низкотемпературных параметров депарафинизированного продукта, а именно, когда температура помутнения и температура застывания становятся выше допустимых.

Таблица 3

Материальный баланс действующей установки

Table 3

Material balance of the current installation

Сырье	%, масс.	т/год	кг/ч	Продукты	%, масс.	т/год	кг/ч
Нефть	100	600000	75000	Углекислотный газ	2,00	12000	1500
				БГС	12,00	72000	9000
				Керосин	14,00	84000	10500
				Фракция ГН	26,50	159000	19875
				Фракция ВП	7,00	42000	5250
				Мазут	38,00	228000	28500
Итого	100	600000	75000	Потери	0,50	3000	375
				Итого	100,00	600000	75000

Таблица 4

Физико-химические параметры топливных фракций

Table 4

Physicochemical parameters of the fuel fractions

Параметры	БГС	Керосин	ГН	ВП
Плотность при 20 °С, кг/м ³	735	809	863	889
Кинематическая вязкость, мм ² /с, при:				
20 °С	–	1,54	6,6	–
100 °С	–	–	–	3,6
Температура вспышки, °С:				
в открытом тигле	–	46	123	–
в закрытом тигле	–	–	–	105
Температура помутнения, °С	–	-60	1,0	22
Температура застывания, °С	–	<-60	-5	20
Массовая доля серы, %	0,003	0,07	0,43	0,68
Фракционный состав, °С:				
н.к.	45	146	223	223
10%	56	164	273	308
50%	90	195	305	376
90%	140	235	354	410
95%	154	242	366	420
Общее массовое содержание ароматических соединений, % масс.	4	18	28	21,5

Депарафинизированный продукт после реактора Р1 (Р2) поступает на дополнительный подогрев до 360 °С в теплообменник Т8. Нагрев депарафинизированного продукта осуществляется за счет тепла отбензиненной нефти, подаваемой из печи П1 в ректификационную колонну К1 в качестве горячей струи. После теплообменника Т8 депарафинизированный продукт поступает в ректификационную колонну К3 на стабилизацию.

С верха ректификационной колонны К3 выводятся пары фракции, выкипающей в интервале от температуры н.к. до 180 °С. Пары конденсируются и охлаждаются в аппарате воздушного охлаждения АВОЗ и водяном теплообменнике Т9 и с помощью насоса Н11 выводятся в парк. Часть фракции, выкипающей в интервале от температуры н.к. до 180 °С, насосом Н11 возвращается в колонну К3 на орошение.

Боковым потоком из колонны К3 отводится депарафинизированный газоль (фракция, выкипающая в интервале 180–360 °С). Насосом Н9 депарафинизированный продукт двумя параллельными потоками в соотношении 4:1 подается в теплообменники Т4 и Т5 соответственно на охлаждение (данное соотношение примерно равно соотношению ГН и ВП в исходной смеси, подаваемой на депарафинизацию). Такое соотношение позволяет сохранить тепловой баланс блока теплообменников и соответственно выводит продукты в парк с допустимыми температурами, заложенными в проекте действующего блока. Часть депарафинизированного продукта после теплообменников Т4 и Т5 возвращается в колонну К2 в качестве циркуляционного орошения. Балансовое количество депарафинизированного продукта выводится в парк.

Из кубовой части колонны К3 насосом Н10 отводится «темный» продукт в парк вместе с мазутом через теплообменник Т6.

Исходя из такой компоновки технологической схемы смесь, состоящую из ГН и ВП, подаваемых насосами Н6 и Н7 в теплообменник

Т7, невозможно нагреть до температуры выше 360 °С, так как температура отводимого мазута находится в интервале 360–370 °С. Этим объясняется фиксация максимальной температуры (350 °С) процесса каталитической депарафинизации смеси, подаваемой в реактор Р1(Р2).

Моделирование режимов работы и оптимизация предлагаемой комбинированной установки осуществлялись с помощью ПО ChemCad. Расчетный материальный баланс оптимального режима приведен в табл. 5. Физико-химические показатели смеси ГН и ВП, продукта ее депарафинизации (после Р1(Р2)) и продукта стабилизации, выводимого в парк (после К3 газоль депарафинизированный), приведены в табл. 6.

Исходя из результатов моделирования совмещенного процесса каталитической депарафинизации и первичного разделения нефти (см. табл. 5, 6) видно, что менее маржинальный продукт ВП, который является только компонентом судовых топлив, в процессе каталитической депарафинизации преобразуется в продукты с более высокой ценой: керосин технический и ГН депарафинизированный. При использовании ГН с блока первичного разделения (см. табл. 4) в качестве компонента зимнего дизельного топлива возникает необходимость использования дорогостоящих депрессорных присадок. При использовании ВП (см. табл. 4) в качестве судовых топлив требуется обязательно использовать депрессорные присадки в достаточно больших количествах. Также согласно требованиям международной морской организации (ИМО) с 1 января 2020 г. применение судовых топлив с содержанием серы более 0,5 % масс. ограничено. При использовании ГН депарафинизированного в качестве компонентов дизельных и судовых топлив необходимость применения депрессорных присадок отпадает, и требования по содержанию серы в судовом топливе менее 0,5 % масс. выполняются.

Таблица 5

Материальный баланс комбинированной установки

Table 5

Material balance of combined installation

Сырье	%, масс.	т/год	кг/ч	Продукт	%, масс.	т/год	кг/ч
Нефть	100	600000	75000	Угледородный газ	2,34	14010	1 751,25
				БГС	16,68	100140	12 517,50
				Керосин	14,00	84000	10 500,00
				ГН депарафинизированный	26,80	160800	20 100,00
				Мазут	39,68	238050	29 756,25
Итого	100	600000	75000	Потери	0,50	3000	375,00
Итого	100	600000	75000	Итого	100,00	600000	75000

Таблица 6

Физико-химические параметры смеси ГН и ВП, продукта депарафинизации
 и продукта стабилизации (газойль депарафинизированный)

Table 6

Physicochemical parameters of waxy gas oil and high viscose product mixture, dewaxing product
 and stabilization product (dewaxed gas oil)

Параметр	Значение		
	Смесь ГН и ВП	Продукт депарафинизации	ГН депарафинизированный (продукт стабилизации)
Плотность при 20 °С, кг/м ³	869,8	845	872
Кинематическая вязкость при 20 °С, мм ² /с	7	3,68	7,11
Температура вспышки в открытом тигле, °С	82	–	95
Температура помутнения, °С	6	-2	-9
Температура застывания, °С	-10	-25	-19
Массовая доля серы, %	0,42	0,43	0,49
Фракционный состав, °С:			
н.к.	171	37	185
10%	249	109	221
20%	265	194	245
30%	270	242	266
40%	287	271	282
50%	300	296	300
60%	310	317	316
70%	320	338	335
80%	340	363	353
90%	380	402	371
Общее массовое содержание ароматических соединений, %	26	–	31

По предварительной экономической оценке, капитальные затраты при внедрении блока каталитической депарафинизации средних дистиллятов в блок первичного разделения нефти мощностью 600 тыс. т/год составят на сегодняшний день 550 млн руб. Капитальные затраты на отдельную типовую установку каталитической депарафинизации составляют 36 млн долл. [18], что эквивалентно почти 2,5 млрд руб. (по курсу доллара на сегодняшний день).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования:

– подтверждена возможность проведения каталитической депарафинизации средних дистиллятов на высококремнеземистых цеолитных катализаторах структуры ZSM-5 в интервале температур 300–350 °С и давлениях, близких к атмосферному, с получением продуктов, по физико-химическим показателям

соответствующих продуктам, полученным на типовых установках каталитической депарафинизации;

– разработана принципиальная технологическая схема, объединяющая первичное разделение нефти и каталитическую депарафинизацию получаемых средних дистиллятов исходя из условий минимальной модернизации производства;

– проведено математическое моделирование разработанной принципиальной технологической схемы в программном продукте ChemCad и подтверждена возможность реализации такой технологии.

– затраты на реализацию предлагаемой комбинированной схемы переработки нефти примерно в 5 раз меньше, чем строительство отдельной типовой установки каталитической депарафинизации средних дистиллятов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кондрашева Н.К., Кондрашев Д.О., Насиф В., Хасан Аль-Резк С.Д., Попова С.В. Низкотемпературные свойства смесевых дизельных топлив с депрессорными присадками // Нефтегазовое дело. Сетевое издание. 2007.

N 1. [Электронный ресурс]. URL: <http://ogbus.ru/article/view/nizkotemperaturnye-svoystva-smesevyx-dizelnyx-topliv-s-depressornymi-prisadkami> (28.04.2020).

2. Митусова Т.Н., Полина Е.В., Калинина

М.В. Современные дизельные топлива с присадками к ним. М.: Изд-во «Техника» ООО «ТУМА ГРУПП», 2002. 64 с.

3. Хавкин В.А. Гидрогенизационные процессы переработки нефти с получением дизельного топлива современного уровня качества // Мир нефтепродуктов. Вестник нефтяных компаний. 2018. N 5. С. 18–20.

4. Камешков А.В., Гайле А.А. Получение дизельных топлив с улучшенными низкотемпературными свойствами (обзор) // Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета). 2015. N 29 (55). С. 49–60.

5. Гайнуллин Р.Р., Гизятуллин Э.Т., Солодова Н.Л., Абдуллин А.И. Получение низкозастывающих нефтепродуктов методами депарафинизации // Вестник Казанского технологического университета. 2013. Т. 16. N 10. С. 257–265.

6. Коптенармусов В.Б., Катков А.Л., Малов Е.И., Занозина И.И., Матвеева А.И., Цветков В.С. [и др.]. Новые катализаторы для безводородной переработки тяжелых нефтяных остатков // Нефтепереработка и нефтехимия. Научно-технические достижения и передовой опыт. 2019. N 3. С. 14–21.

7. Яковлев А.А. Коптенармусов В.Б. Эффективность применения технологии низкотемпературного каталитического термокрекинга нефтяных остатков на действующих установках висбрекинга // Нефтепереработка и нефтехимия. Научно-технические достижения и передовой опыт. 2018. N 4. С. 8–10.

8. Du H., Li M., Liu D., Ren Y., Duan Y. Slurry-phase hydrocracking of heavy oil and model reactant: effect of dispersed Mo catalyst // Applied Petrochemical Research. 2015. Vol. 5. P. 89–98. <https://doi.org/10.1007/s13203-014-0092-8>

9. Liu D., Guo A., Ma K., Que G. Investigation on dispersed catalyst for slurry bed hydroprocessing of heavy oil // China Petroleum Processing and Petrochemical Technology. 2006. Vol. 4. P. 55–59.

10. Камешков А.В., Федоров В.И., Семикин К.В. Влияние режима гидродепарафинизации на низкотемпературные свойства дизельной фракции // Нефтепереработка и нефтехимия. Научно-технические достижения и передовой опыт. 2016. N 4. С. 3–7.

11. Овчарова А.С., Князева Е.Е., Савенкова И.В., Овчаров С.Н. Безводородная депарафинизация дизельных фракций на цеолитсо-

держащих катализаторах типа бета // Вестник Северо-Кавказского федерального университета. 2013. N 2 (35). С. 42–46.

12. Синюта В.Р., Орловская Н.Ф. Производство арктических дизельных топлив // Нефтепереработка и нефтехимия. Научно-технические достижения и передовой опыт. 2017. N 9. С. 16–18.

13. Пат. № 2261266, Российская Федерация; МПК С 10 G 11/05. Способ получения дизельного топлива / О.В. Кихтянин, Г.В. Ечевский, Е.Г. Коденев, С.П. Кильдяшев, Д.Г. Аксенов, О.В. Климов; N 2004109994/4: заявл. 01.04.2004; опубл. 27.09.2005.

14. Пат. № 2648046, Российская Федерация; МПК В01J29/40 (2006.01), С10G 11/05 (2006.01). Цеолитный катализатор и способ безводородной депарафинизации углеводородного сырья с его использованием / А.Б. Пономарёв, М.В. Шостаковский, В.Е. Вахмистров, С.К. Моисеев, А.П. Косолапова, В.Н. Писаренко [и др.]; патентообладатель: ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН. N 2017107255: заявл. 06.03.2017; опубл. 22.03.2018.

15. Улзий Б., Барбашинов Я.Е., Короткова Э.Ф., Вагин А.И., Восмериков А.В. Получение моторных топлив из высокопарафинистой нефти в присутствии цеолитсодержащего катализатора // Нефтепереработка и нефтехимия. Научные достижения и передовой опыт. 2011. N 11. С. 11–15.

16 Van De Graaf J.M., Hoek A., De Jonge J.P., Kijlstra W.S., Maria Roovers A.A., Anne Sietsma J.R., Robert Van Veen J.A. Process for conversion of paraffinic feedstock. Patent United States, no. US 2011/0139678 A1; 2011.

16. Degnan T.F. Applications of zeolites in petroleum refining // Topics in Catalysis. 2000. Vol. 13. Issue 14. P. 349–356. <https://doi.org/10.1023/A:1009054905137>

17. Fujikawa T. Catalysts for ultra deep desulfurization of diesel fractions // Fuel and Energy Abstracts. 2002. Vol. 44. Issue 5. P. 345–349. [https://doi.org/10.1016/S0140-6701\(03\)82787-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6701(03)82787-X)

18. Ghashghaee M., Shirvani S., Kegnæs S. Steam catalytic cracking of fuel oil over a novel composite nanocatalyst: Characterization, kinetics and comparative perspective // Journal of Analytical and Applied Pyrolysis. 2019. Vol. 138. P. 281–293. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2019.01.010>

REFERENCES

1. Kondrasheva NK, Kondrashev DO, Nasif V, Hasan Al-Rezk CD, Popova SV. Low temperature properties of mixed diesel fuels with depressant additives. *Neftgazovoe delo. Setevoe izdanie*. 2007;1. Available from: <http://ogbus.ru/article/view/nizkotemperaturnye-svoystva-smesevykh-dizelnykh-topliv-s-depressornymi-prisadkami> [Accessed 28th April 2020]. (In Russian)

2. Mitusova TN, Polina EV, Kalinina MV. *Modern diesel fuels with additives to them*. Mos-

cow: Izdatel'stvo "Tekhnika" OOO "TUMA GRUPP"; 2002. 64 p. (In Russian)

3. Khavkin VA. Hydrogenation processes in oil refining with obtaining diesel fuel of a modern level of quality. *Mir nefteproduktov. Vestnik neftyanykh kompanii* = World of oil products. The oil companies' bulletin. 2018;5:18–20. (In Russian)

4. Kameshkov AV, Gaile AA. Production of diesel fuels with improved low temperature properties (review). *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo instituta (tekhnicheskogo universiteta)* = Bulletin of the Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University). 2015;29:49–60. (In Russian)

5. Gainullin RR, Gizyatullin ET, Solodova NL, Abdullin AI. Obtaining low-curing petroleum products by dewaxing methods. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*. 2013;16(10): 257–265. (In Russian).

6. Koptenarmusov VB, Katkov AL, Malov EI, Zanozina II, Matveeva AI, Tsvetkov VS, et al. New catalysts for non-hydrogen processing of heavy oil rests. *Neftepererabotka i neftekhimiya. Nauchno-tekhnicheskie dostizheniya i peredovoi opyt*. 2019;3:14–21. (In Russian)

7. Yakovlev AA, Koptenarmusov VB. Efficiency of low-temperature thermo-catalytic cracking technology of oil residue (NKT) at existing visbreaking units. *Neftepererabotka i neftekhimiya. Nauchno-tekhnicheskie dostizheniya i peredovoi opyt*. 2018;4:8–10. (In Russian).

8. Du H, Li M, Liu D, Ren Y, Duan Y. Slurry-phase hydrocracking of heavy oil and model reactant: effect of dispersed Mo catalyst. *Applied Petrochemical Research*. 2015;5:89–98. <https://doi.org/10.1007/s13203-014-0092-8>

9. Liu D, Guo A, Ma K, Que G. Investigation on dispersed catalyst for slurry bed hydroprocessing of heavy oil. *China Petroleum Processing and Petrochemical Technology*. 2006;4:55–59.

10. Kameshkov AV, Fedorov VI, Semikin K.V. Influence of a mode of hydrodewaxing on low-temperature properties of diesel fraction. *Neftepererabotka i neftekhimiya. Nauchno-tekhnicheskie dostizheniya i peredovoi opyt*.

2016;4:3–7. (In Russian)

11. Ovcharova AS, Knyazeva EE, Savenkova IV, Ovcharov SN. Hydrogen-free dewaxing of diesel fractions on zeolite BETA catalysts. *Vestnik Severo-Kavkazskogo federal'nogo universiteta* = Newsletter of North-Caucasus Federal University. 2013;2:42–46. (In Russian)

12. Sinyuta VR, Orlovskaya NF. Production of Arctic diesel fuels. *Neftepererabotka i neftekhimiya. Nauchno-tekhnicheskie dostizheniya i peredovoi opyt*. 2017;9:16–18. (In Russian)

13. Kikhtjanin OV, Echevskij GV, Kodenev EG, Kil'djashev SP, Akseonov DG, Klimov OV. *Diesel fuel production process*. Patent RF, no. 2261266; 2004. (In Russian)

14. Ponomarev AB, Shostakovskij MV, Vakhmistrov VE, Moiseev SK, Kosolapova AP, Pisarenko VN. *Zeolite catalyst and the method of no hydrogen dewaxing of hydrocarbon raw material with its use*. Patent RF, no. 2648046; 2017. (In Russian)

15. Ulzii B, Barbashin YaE, Korotkova EF, Vagin AI, Vosmerikov AV. Production of motor fuels from high-wax oil at presence of zeolite-containing catalyst. *Neftepererabotka i neftekhimiya. Nauchno-tekhnicheskie dostizheniya i peredovoi opyt*. 2011;11:11–15. (In Russian)

16. Van De Graaf JM, Hoek A, De Jonge JP, Kijlstra WS, Maria Roovers AA, Anne Sietsma JR, Robert Van Veen JA. *Process for conversion of paraffinic feedstock*. Patent US, no. US 2011/0139678 A1; 2011.

17. Degnan TF. Applications of zeolites in petroleum refining. *Topics in Catalysis*. 2000;13(14):349–356. <https://doi.org/10.1023/A:1009054905137>

18. Fujikawa T. Catalysts for ultra deep desulfurization of diesel fractions. *Fuel and Energy Abstracts*. 2002;44(5):345–349. [https://doi.org/10.1016/S0140-6701\(03\)82787-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6701(03)82787-X)

19. Ghashghaeem, Shirvani S, Kegnæs S. Steam catalytic cracking of fuel oil over a novel composite nanocatalyst: Characterization, kinetics and comparative perspective. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2019;138:281–293. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2019.01.010>

Краткие сведения

Боженков Г.В., Медведев Д.В., Рудякова Е.В., Губанов Н.Д. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Боженков Г.В., Медведев Д.В., Рудякова Е.В., Губанов Н.Д. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Contribution

Georgii V. Bozhenkov, Dmitrii V. Medvedev, Elena V. Rudyakova, Nikolai D. Gubanov carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Georgii V. Bozhenkov, Dmitrii V. Medvedev, Elena V. Rudyakova, Nikolai D. Gubanov 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

Боженков Георгий Викторович,
к.х.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: georgy.bozhenkov@yandex.ru

Медведев Дмитрий Валерьевич,
ведущий инженер-технолог,
Филиал ООО «МФЦ Капитал» – МФЦ Нефть
665854, Иркутская обл., Ангарский р-н,
автодорога Новосибирск-Иркутск 1855 км,
строение 5,
Российская Федерация,
e-mail: dima93medvedev@mail.ru

Рудякова Елена Владимировна,
к.х.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: rudlenka@list.ru

Губанов Николай Дмитриевич,
к.т.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: gubanov_nd@ex.istu.edu

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.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Georgii V. Bozhenkov,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical
University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: georgy.bozhenkov@yandex.ru

Dmitrii V. Medvedev,
Leading Process Engineer,
Branch of LLC MFC Capital – MFC Oil,
Building 5, Highway Novosibirsk-Irkutsk 1855
km, Angarsk district, 665854, Irkutsk region,
Russian Federation,
e-mail: dima93medvedev@mail.ru

Elena V. Rudyakova,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical
University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: rudlenka@list.ru

Nikolai D. Gubanov,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical
University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: Gubanov_nd@ex.istu.edu

Краткие сообщения / Brief communication
УДК 621.352.6:547.42:547.478.2:547-32:549.67
DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-360-367>

Влияние содержания цеолита на протонную проводимость и технические характеристики мембран на основе сшитого поливинилового спирта

© А.Н. Чеснокова*, Т.Д. Жамсаранжапова*, С.А. Закарчевский*, В. Кулшреста**, С.А. Скорникова*, С.С. Макаров*, Ю.Н. Пожидаев*

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

**Научно-исследовательский институт соли и морских химических соединений, г. Бхавнагар, Индия

Резюме: Ионообменные мембраны на основе поливинилового спирта (ПВС) представляют собой перспективную группу материалов для применения в твердополимерных топливных элементах (ТПТЭ) благодаря высокой гидрофильности, способности к пленкообразованию, низкой стоимости, хорошим механическим свойствам и возможности сшивания ПВС различными химическими реагентами. В качестве сшивающих агентов, приводящих к образованию геля, используются соединения с карбоксильной или карбонильной функцией, такие как многоосновные кислоты и их ангидриды. Сшивающие реагенты могут содержать в своем составе ионогенные группы, например, сульфокислотные, индуцирующие протонную проводимость ПВС в составе мембран. В качестве допантов, улучшающих технические характеристики таких мембран, используются керамические материалы на основе оксидов алюминия, кремния, титана, олова, циркония и др., способные повысить ионную проводимость, химическую и термическую стабильность, а также механическую прочность мембран. В настоящей работе сообщается о получении новых биоразлагаемых протоннообменных мембран для ТПТЭ, полученных на основе сшитого сульфоянтарной кислотой поливинилового спирта, допированного частицами цеолита типа бета. Содержание цеолита в составе мембран варьировали в интервале от 1 до 25 %. Исследовано влияние содержания цеолита на протонную проводимость, ионообменную емкость, влагосодержание, коэффициент набухания, проницаемость по топливу (метанолу) и механические свойства мембран. Повышение содержания цеолита от 1 до 25 % приводит к увеличению ионообменной емкости мембран от 1,5 до 2,9 ммоль/г, понижению влагосодержания с 38 до 28 % и проницаемости по метанолу – от $2,27 \cdot 10^{-6}$ до $6,91 \cdot 10^{-7}$ см² с⁻¹. Изучена температурная зависимость протонной проводимости композитных мембран в диапазоне от 30 до 80 °С при относительной влажности 100 %. Наибольшее значение удельной электропроводности продемонстрировала мембрана, содержащая 25 % цеолита ВЕА, протонная проводимость которой составила 23,2 мСм·см⁻¹.

Ключевые слова: протоннообменная мембрана, поливиниловый спирт, цеолит, сульфоянтарная кислота, ионообменная ёмкость, влагосодержание, механические свойства

Благодарности: Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-08-00718).

Информация о статье: Дата поступления 29 января 2020 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Чеснокова А.Н., Жамсаранжапова Т.Д., Закарчевский С.А., Кулшреста В., Скорникова С.А., Макаров С.С., Пожидаев Ю.Н. Влияние содержания цеолита на протонную проводимость и технические характеристики мембран на основе сшитого поливинилового спирта. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 360–367. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-360-367>

Effect of zeolite content on proton conductivity and technical characteristics of the membranes based on crosslinked polyvinyl alcohol

Alexandra N. Chesnokova*, Tatyana D. Zhamsaranzhapova*,
Sergey A. Zakarchevskiy*, Vaibhav Kulshrestha**, Svetlana A. Skornikova*,
Sviatoslav S. Makarov*, Yuriy N. Pozhidaev*

* Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

** CSIR-Centre Salt & Marine Chemicals Research Institute, Bhavnagar, India

Abstract: Polyvinyl alcohol (PVA)-based ion-exchange membranes are a promising group of materials for use in solid polymer fuel cells (SPFC) due to their high hydrophilicity, film forming ability, low cost, good mechanical properties and the possibility of crosslinking PVA with various chemicals. The compounds with a carboxyl or carbonyl functional group, such as polybasic acids and their anhydrides, were used as cross-linking agents resulting in the formation of a gel. Cross-linking reagents may contain ionic groups, for example, sulfonic, inducing the proton conductivity of PVA in membranes. Ceramic materials based on the oxides of aluminum, silicon, titanium, tin, zirconium, etc. serve as dopants in order to improve the technical characteristics of such membranes, such as to increase ionic conductivity, chemical and thermal stability, as well as the mechanical strength of the membranes. In this work, we report on the preparation of new biodegradable proton exchange membranes for SPFCs based on polyvinyl alcohol crosslinked with sulfosuccinic acid and doped with beta zeolite particles. The content of zeolite in the composition of the membranes was varied from 1 to 25 %. The effect of the zeolite content on proton conductivity, ion-exchange capacity, moisture content, swelling coefficient, fuel (methanol) permeability and mechanical properties of membranes was studied. An increase in zeolite content from 1 to 25 % leads to an increase in the ion-exchange capacity of membranes from 1.5 to 2.9 mmol/g, a decrease in moisture content from 38 to 28 % and a methanol permeability from $2.27 \cdot 10^{-6}$ to $6.91 \cdot 10^{-7}$ cm² s⁻¹. The temperature dependence of the proton conductivity of composite membranes in the range from 30 to 80 °C at the relative humidity of 100 % was studied. The highest value of electrical conductivity was demonstrated by a membrane containing 25 % of BEA zeolite, whose proton conductivity was 23.2 mS·cm⁻¹.

Keywords: proton exchange membrane, polyvinyl alcohol, zeolite, sulfosuccinic acid, ion-exchange capacity, moisture content, mechanical properties

Acknowledgments: The studies were carried out with the financial support of the Russian Federal Property Fund (project No. 18-08-00718).

Information about the article: Received January 29, 2020; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Chesnokova AN, Zhamsaranzhapova TD, Zakarchevskiy SA, Kulshrestha V, Skornikova SA, Makarov SS, Pozhidaev YuN. Effect of zeolite content on proton conductivity and technical characteristics of the membranes based on crosslinked polyvinyl alcohol. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):360–367. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-360-367>

ВВЕДЕНИЕ

Перспективы использования твердополимерных топливных элементов (ТПТЭ) связаны с высокой эффективностью преобразования энергии и отсутствием вредных выбросов [1, 2], что в большей степени определяется типом электролитной мембраны. Используемые в качестве электролита полимерные мембраны должны обладать высокой протонной проводимостью, ионообменной ёмкостью, низ-

ким коэффициентом набухания и проницаемостью для топлива, хорошей химической и механической стабильностью. Коммерческие перфторированные мембраны Nafion во многом отвечают этим требованиям, но являются дорогостоящими и имеют низкую электропроводность при пониженной влажности и высоких температурах, а также высокую проницаемость при использовании метанола в качестве топлива [2].

В последние годы предложены альтернативные нефторированные протонпроводящие мембраны, в том числе на основе поливинилового спирта (ПВС) [1, 3]. ПВС представляет собой водорастворимый, полукристаллический, полностью биоразлагаемый и нетоксичный полимер с отличными пленкообразующими свойствами [3]. Однако низкая стойкость ПВС к растворителям, недостаточная прочность и термостойкость [3, 4] не позволяют использовать его в качестве матрицы ионообменных мембран. Указанные препятствия легко устранимы в результате химического сшивания ПВС дикарбоновыми кислотами (щавелевая, яблочная, фумаровая, лимонная и др.) [1].

Различные сульфорирующие агенты, такие как концентрированная серная, сульфоглутаровая, сульфоглуконная, хлорсульфоновая, сульфоянтарная и др. кислоты, могут быть использованы для индуцирования протонпроводящих свойств ПВС [4–13]. Химическая модификация ПВС сшивающими агентами, содержащими сульфогруппы, позволяет перевести поливиниловый спирт в нерастворимый гель, обладающий протонобменной активностью. Так, мембраны на основе ПВС, сшитые сульфоянтарной кислотой [5], показали значения протонной проводимости в диапазоне от 10^{-3} до 10^{-2} См·см⁻¹ и продемонстрировали отличные электрохимические характеристики. Однако мембраны ПВС/СЯК могут эффективно работать только при низкой температуре, поскольку процесс дегидратации, происходящий при температуре выше 80 °С, может вызвать проблемы с переносом протона.

В качестве протонпроводящих мембран в дегидратирующих средах, то есть при высоких температурах и пониженной относительной влажности, ряд преимуществ имеют композитные органико-неорганические мембраны [5]. Добавление неорганического материала в полимерную мембрану часто повышает химическую и механическую стабильность, улучшает поглощение воды при более высоких температурах, повышая рабочую температуру мембран [14].

Х. Бейдаги и соавторы разработали органико-неорганические композитные мембраны на основе ПВС, сшитого глутаровым альдегидом и допированного сульфированным кремнеземом. Модифицированные сульфокремнеземом композитные мембраны демонстрируют более высокое поглощение воды и протонную проводимость [15].

М.А. Наварра и соавторы исследовали влияние функционализованного кремнеземного наполнителя, имеющего концевую группу $-SO_3H$, на сшитые мембраны ПВС. Результатом введения кремнеземного наполнителя явилось повышение стабильности мембран,

уменьшение кристаллической фазы полимерной матрицы, повышение влагосодержания. Значения электропроводности мембран составили от 10^{-2} до 10^{-1} См·см⁻¹. Испытания топливных элементов с использованием разработанных композитных мембран в качестве электролитов показали уровни тока и мощности, которые сравнимы с уровнями, полученными в тех же самых рабочих условиях при использовании коммерческих мембран Nafion 117 [16].

В настоящей работе представлены результаты исследования мембран из сшитого сульфоянтарной кислотой ПВС, допированных цеолитом ВЕА, также изучено влияние содержания цеолита на физико-химические и механические свойства композитных мембран.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

10 %-й раствор ПВС готовили растворением препарата в дистиллированной воде при 90 °С в течение 6 ч при постоянном перемешивании. Цеолит бета (ВЕА) перед применением активировали 0,5 М раствором серной кислоты при температуре 70 °С в течение 4 ч. В работе использовали образец цеолита ВЕА с мольным соотношением $SiO_2/Al_2O_3 = 25$, площадью удельной поверхности – 562 м²/г, суммарным объемом пор – 0,374 см³/г, размером частиц – 0,5–1,2 мкм. Композитные мембраны ПВС/СЯК/ВЕА получали перемешиванием 10 %-го раствора ПВС с сульфоянтарной кислотой (СЯК) (масс. отношение ПВС:СЯК = 10:1) в течение 1 ч при 40 °С. К полученной смеси добавляли цеолит бета (ВЕА) (1, 3, 5, 25 % масс.) и гомогенизировали до образования однородной массы. Контрольный образец мембраны ПВС/СЯК не содержал цеолита. Мембраны формировали методом литья из раствора на полиэтилентерефталатную пленку. После выпаривания растворителя мембраны выдерживали в сушильном шкафу при 100 °С в течение 1 ч.

Присутствие в составе композитных мембран ПВС/СЯК/ВЕА каждого из трех компонентов подтверждено данными ИК-спектроскопии.

По данным термогравиметрического анализа композитные мембраны ПВС/СЯК/ВЕА термически стабильны до 200 °С.

Влагосодержание, степень набухания и ионообменную емкость мембран определяли стандартными методами по аналогии с [17].

Протонную проводимость мембран исследовали методом импедансной спектроскопии в интервале температур 30–80 °С при относительной влажности 100 на приборе Z-3000 (Елинс, Россия) в симметричных ячейках. Измерения проводили в диапазоне частот 500–5 кГц.

Механические свойства мембран изучали на универсальной испытательной машине

Shimadzu AGS-X. Образцы для испытаний готовили в форме прямоугольника размером 25×60 мм. Образцы предварительно выдерживали при 23 °С и относительной влажности 50 % в течение 24 ч. Непрерывное измерение нагрузки и удлинения образцов проводили в автоматическом режиме. Модуль упругости определяли с помощью специального программного обеспечения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Модификация ПВС сульфоянтарной кислотой посредством реакции между гидроксильными группами ПВС и карбоксильными группами СЯК привела к получению нерастворимой в воде и метаноле полимерной матрицы ПВС/СЯК (рисунок). При массовом соотношении в реакционной смеси ПВС:СЯК = 10:1 удельное содержание сульфогрупп в поперечном сечении полимера составило 1,7 ммоль/г.

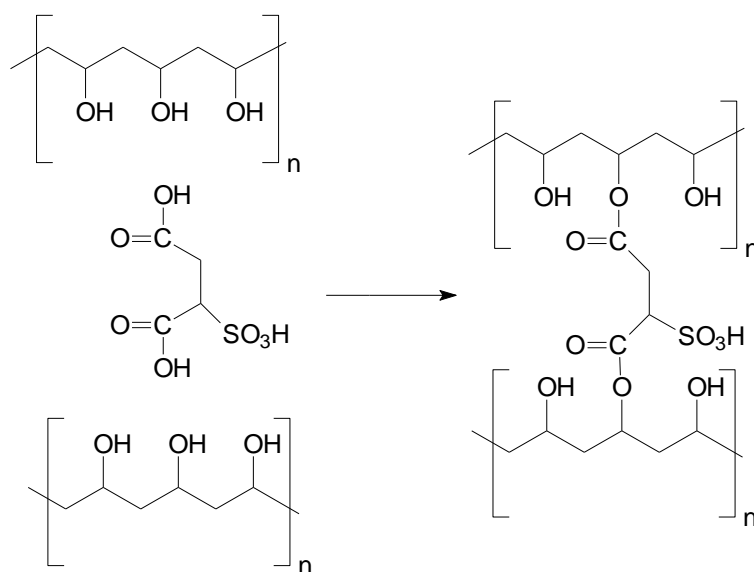
Добавку цеолита ВЕА, модифицированного раствором серной кислоты, вводили в полимерную матрицу ПВС-СЯК в виде порошка. Цеолит ВЕА представляет собой крупнопористый алюмосиликат, содержащий в качестве структурообразующего агента бромид тетраэтиламмония [18]. Структура цеолита характеризуется наличием каналов нанометровых размеров (диаметр каналов составляет от 0,56 до 0,77 нм), что обеспечивает хорошую доступность активных центров для реагентов. Высокое содержание кремнезема в составе цеолита ВЕА определяет его химическую стабильность.

Допирование полимерной матрицы ПВС/СЯК активированным серной кислотой цеолитом ВЕА привело к значительному повышению ионообменной активности мем-

бран. Ионообменная емкость мембраны ПВС/СЯК без цеолитной добавки составила 0,95 ммоль/г, что совпадает с литературными данными для подобных мембран [12]. Значения ИОЕ для мембран с содержанием ВЕА 1, 3, 5 и 25 % составили 1,5; 2,4; 2,8 и 2,9 ммоль/г соответственно.

Влагосодержание мембран играет важную роль в процессе миграции протонов, а также влияет на их механические свойства. Увеличение содержания цеолита в составе мембраны от 1 до 25 % привело к уменьшению поглощения воды с 38 до 28 %. Поглощение воды сопровождалось увеличением линейных размеров мембран на 2–5 %, а толщина увеличивалась на 13–29 % в зависимости от содержания цеолита. При этом значения коэффициента набухания понижались с увеличением содержания цеолита, что хорошо коррелируется с количеством поглощенной воды.

Одной из основных характеристик мембран является протонная проводимость. Введение цеолита ВЕА в состав мембран приводит к увеличению протонной проводимости (таблица). Наилучший результат продемонстрировала мембрана, содержащая 25 % цеолита ВЕА, протонная проводимость которой составила 23,2 мСм·см⁻¹. Повышение протонной проводимости полимерных мембран путем допирования керамическими наполнителями было отмечено в ряде исследований, например [1, 19]. Известно, что ионообменные мембраны, состоящие из дисперсной керамической фазы и непрерывной фазы ПВС, характеризуются образованием дополнительных протонных транспортных каналов вдоль границы раздела полимер–керамика [1].



Этерификация поливинилового спирта сульфоянтарной кислотой
Polyvinyl alcohol esterification with sulfosuccinic acid

Удельная электропроводность, энергия активации протонного переноса
и механические характеристики мембран

Proton conductivity, proton transfer activation energy
and mechanical characteristics of membranes

Мембрана	σ (80 °C), мСм·см ⁻¹	E_a , кДж·моль ⁻¹ ·К ⁻¹	Прочность на разрыв, МПа	Относительное удлинение при разрыве, %
ПВС/СЯК	10,9	23	3	290
ПВС/СЯК/ВЕА(1 %)	18,7	27	4	91
ПВС/СЯК/ВЕА(3 %)	11,9	26	5	87
ПВС/СЯК/ВЕА(5 %)	8,6	16	10	54
ПВС/СЯК/ВЕА(25 %)	23,2	26	12	52

Согласно температурной зависимости протонной проводимости энергия активации протонного переноса, E_a , рассчитана с использованием уравнения Аррениуса. По сравнению с Nafion ($E_a = 22,8$ кДж·моль⁻¹) энергия активации протонного переноса для композитных мембран ПВС/СЯК/ВЕА немного выше и имеет значения 26–27 кДж·моль⁻¹ (см. таблицу). Исключение составляет мембрана ПВС/СЯК/ВЕА (5 %), для которой $E_a = 16$ кДж·моль⁻¹, что значительно ниже, чем для Nafion. Следовательно, содержание цеолита оказывает существенное влияние как на протонную проводимость, так и на энергию активации протонного переноса.

Механические свойства мембран были исследованы при температуре 23 °С и относительной влажности 50 %. Прочность мембран ПВС/СЯК/ВЕА увеличивается с повышением содержания цеолита ВЕА. По сравнению с контрольной мембраной ПВС/СЯК при добавлении 25 % ВЕА прочность на разрыв увеличивается в 4 раза, а относительное удлинение при разрыве уменьшается более чем в 5 раз.

В дополнение к высокой протонной проводимости основным требованием для применения протонообменной мембраны в твердополимерном топливном элементе, работающем на метаноле, является высокая стойкость к проникновению топлива [20]. Обнаружено, что проницаемость по метанолу мембран

ПВС/СЯК/ВЕА уменьшается при повышении содержания ВЕА. Цеолит действует как барьер для движения метанола, который может быть вызван образованием системы каналов в структуре композитных мембран. Установлено, что проницаемость по метанолу мембраны ПВС/СЯК составляет $2,27 \cdot 10^{-6}$ см²·с⁻¹, а для образца ПВС/СЯК/ВЕА(25 %) этот показатель снижается до $6,91 \cdot 10^{-7}$ см²·с⁻¹.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены биоразлагаемые протонообменные композитные мембраны из поливинилового спирта, сульфоянтарной кислоты и цеолита ВЕА для прямого твердополимерного топливного элемента. Поливиниловый спирт сшивали с сульфоянтарной кислотой для улучшения его физико-химических свойств и введения ионогенных групп -SO₃H в структуру мембран. Увеличение содержания цеолита в мембране приводит к повышению ионообменной емкости мембран, снижению их водопоглощения и проницаемости по метанолу. Изучена температурная зависимость протонной проводимости композитных мембран в диапазоне от 30 до 80 °С при относительной влажности 100 %. Наилучший результат продемонстрировала мембрана, содержащая 25 % цеолита ВЕА, протонная проводимость которой составила $23,2$ мСм·см⁻¹.

REFERENCE

1. Maiti J, Kakati N, Lee SH, Jee SH, Viswanathan B, Yoon YS. Where do poly(vinyl alcohol) based membranes stand in relation to Nafion® for direct methanol fuel cell applications. *Journal of Power Sources*. 2012;216:48–66. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2012.05.057>
2. Dhanapal D, Xiao M, Wang S, Meng Y. A Review on sulfonated polymer composite/organic-inorganic hybrid membranes to address methanol barrier issue for methanol fuel cells. *Nanomaterials*. 2019;9:668. <https://doi.org/10.3390/na->

- no9050668
3. Wong CY, Wong WY, Loh KS, Daud WRW, Lim KL, Khalid M., et al. Development of development of poly(vinyl alcohol)-based polymers as proton exchange membranes and challenges in fuel cell application: A Review. *Polymer Reviews*. 2019;60(1):171–202. <https://doi.org/10.1080/15583724.2019.1641514>
4. Ghorbel N, Kallel A, Boufi S, Molecular dynamics of poly(vinyl alcohol)/cellulose nanofibrils nanocomposites highlighted by dielectric relaxa-

tion spectroscopy. *Composites Part A Applied Science and Manufacturing*. 2019;124:105465. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2019.05.033>

5. Oliveira PN, Catarino M, Müller CMO, Brandão L, Tanaka DAP, Bertolino JR, et al. Preparation and characterization of crosslinked PVAL membranes loaded with boehmite nanoparticles for fuel cell applications. *Journal of Applied Polymer Science*. 2013;131:40148. <https://doi.org/10.1002/app.40148>

6. Tutgun MS, Sinirlioglu D, Celik SU, Bozkurt A. Investigation of nanocomposite membranes based on crosslinked poly(vinyl alcohol)-sulfosuccinic acid ester and hexagonal boron nitride. *Journal of Polymer Research*. 2015;22(4). Article number 47; 11 p. <https://doi.org/10.1007/s10965-015-0678-6>

7. Kakati N, Das G Yoon Y-S. Proton-conducting membrane based on epoxy resin-poly(vinyl alcohol)-sulfosuccinic acid blend and its nanocomposite with sulfonated multiwall carbon nanotubes for fuel-cell application. *Journal of the Korean Physical Society*. 2016;68:311–316. <https://doi.org/10.3938/jkps.68.311>

8. Tomas M., Tomáš R, Gholami F. The determination of effective diffusion coefficient from the electrochemical impedance spectra of composite poly (vinyl alcohol) membranes. *Environmental Progress and Sustainable Energy*. 2019;38(5):13195. <https://doi.org/10.1002/ep.13195>

9. Ajith C, Deshpande AP, Varughese S. Proton conductivity in crosslinked hydrophilic ionic polymer system: Competitive hydration, crosslink heterogeneity, and ineffective domains. *Journal of Polymer Science. Part B: Polymer Physics*. 2016;54 (11):1087–1101. <https://doi.org/10.1002/polb.24012>

10. Li HQ, Liu XJ, Wang H, Yang H, Wang ZZ, He J. Proton exchange membranes with cross-linked interpenetrating network of sulfonated polyvinyl alcohol and poly(2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid): Excellent relative selectivity. *Journal of Membrane Science*. 2020;595:117511. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2019.117511>

11. Zhou T, Li Y, Wang WW, He L, Cai L, Zeng C. Application of a novel PVA-based proton exchange membrane modified by reactive black KN-B for low-temperature fuel cells. *International Journal of Electrochemical Science*. 2019;14:8514–8531. <https://doi.org/10.20964/2019.09.16>

12. Boroglu MS, Çelik SÜ, Bozkurt A, Boz I. The synthesis and characterization of anhydrous

proton conducting membranes based on sulfonated poly(vinyl alcohol) and imidazole. *Journal of Membrane Science*. 2011;375(1-2):157–164. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2011.03.041>

13. Kim DS, Park HB, Rhim JW, Lee YM. Preparation and characterization of crosslinked PVA/SiO₂ hybrid membranes containing sulfonic acid groups for direct methanol fuel cell applications. *Journal of Membrane Science*. 2004;240(1):37–48. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2004.04.010>

14. Tripathi BP, Shahi VK. Functionalized organic-inorganic nanostructured N-p-carboxy benzyl chitosan-silica-PVA hybrid polyelectrolyte complex as proton exchange membrane for DMFC applications. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2008;112:15678–15690. <https://doi.org/10.1021/jp806337b>

15. Beydaghi H, Javanbakht M, Badieli A. Cross-linked poly(vinyl alcohol)/sulfonated nanoporous silica hybrid membranes for proton exchange membrane fuel cell. *Journal of Nanostructure in Chemistry*. 2014;4. Article number 97. <https://doi.org/10.1007/s40097-014-0097-y>

16. Navarra MA, Fericola A, Panero S, Martinelli AA, Matic A. Effect of functionalized silica particles on cross-linked poly(vinyl alcohol) proton conducting membranes. *Journal of Applied Electrochemistry*. 2008;38(7):931–938. <https://doi.org/10.1007/s10800-008-9498-2>

17. Lebedeva OV, Pozhidaev YuN, Malakhova EA, Raskulova TV, Chesnokova AN, Kulshrestha V, et al. Sodium *p*-styrene sulfonate-1-vinylimidazole copolymers for acid-base proton-exchange membranes. *Membranes and Membrane Technologies*. 2020;2:76–84. <https://doi.org/10.1134/S2517751620020079>

18. Rodionova LI, Knyazeva EE Konnov SV, Ivanova II. Application of nanosized zeolites in petroleum chemistry: synthesis and catalytic properties. *Petroleum Chemistry*. 2019;59:455–470. <https://doi.org/10.1134/S096554419040133>

19. Marcos-Madrado A, Casado-Coterillo C, García-Cruz L, Iniesta J, Simonelli L, Sebastián V, et al. Preparation and identification of optimal synthesis conditions for a novel alkaline anion-exchange membrane. *Polymers*. 2018;10(8):913. <https://doi.org/10.3390/polym10080913>

20. Gahlot S, Sharma PP, Kulshrestha V, Jha PK. SGO/SPES-based highly conducting polymer electrolyte membranes for fuel cell application. *ACS Applied Materials and Interfaces*. 2014;6(8):5595–5601. <https://doi.org/10.1021/am5000504>

Критерии авторства

Чеснокова А.Н., Жамсаранжапова Т.Д., Закарчевский С.А., Кулшреста В., Скорникова С.А., Макаров С.С., Пожидаев Ю.Н. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, 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

Чеснокова Александра Николаевна,
к.х.н., заведующая лабораториями,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
* e-mail: chesnokova@istu.edu

Жамсаранжапова Татьяна Дмитриевна,
магистрант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: tanyazham@mail.ru

Закарчевский Сергей Андреевич,
аспирант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: serzh94lan@mail.ru

Кулшреста Вайбхав,
к.х.н., старший научный сотрудник,
Научно-исследовательский институт соли
и морских химических соединений,
364002, г. Бхавнагар, Гиджубхай Бадхека
Марг, Индия,
e-mail: vaibhavphy@gmail.com

Скорникова Светлана Афанасьевна,
к.х.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: sskornikova@mail.ru

Contribution

Alexandra N. Chesnokova, Tatyana D. Zhamsaranzhapova, Sergey A. Zakarchevskiy, Vaibhav Kulshrestha, Svetlana A. Skornikova, Sviatoslav S. Makarov, Yuriy N. Pozhidaev carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict 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.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Alexandra N. Chesnokova,
Cand. Sci. (Chemistry), Head of Laboratories,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: chesnokova@istu.edu

Tatyana D. Zhamsaranzhapova,
Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: tanyazham@mail.ru

Sergey A. Zakarchevskiy,
Postgraduate Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: serzh94lan@mail.ru

Vaibhav Kulshrestha
Ph. D (Chemistry), Senior Scientist,
CSIR-Centre Salt & Marine Chemicals
Research Institute,
Gijubhai Badheka Marg, Bhavnagar, 364002
(Guj.) India,
e-mail: vaibhavphy@gmail.com

Svetlana A. Skornikova,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: sskornikova@mail.ru

Макаров Святослав Станиславович,
магистрант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: makarov@mail.ru

Sviatoslav S. Makarov,
Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: makarov@mail.ru

Пожидаев Юрий Николаевич,
д.х.н., профессор,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
e-mail: pozhid@istu.edu

Yuriy N. Pozhidaev
Dr. Sc (Chemistry), Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
e-mail: pozhid@istu.edu

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 10 N 2 (33) 2020

12+

PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
Applied chemistry and biotechnology
Volume 10 N 2 2020

Редактор О.А. Терновская
Перевод на английский язык Томаса Бивитта, Е.А. Приваловой
Компьютерный набор и верстка А.В. Куртовой
Ответственный за выпуск Ю.Н. Пожидаев

Дата выхода в свет 30.06.2020. Формат 60 x 90 / 8.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. л. 25.
Тираж 500 экз. Зак. 134. 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