

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

12+

Том 12 N 1

2022



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ

**Прикладная химия
и биотехнология**

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ

ИРКУТСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия
и биотехнология

Том 12 N 1 2022



ИЗДАТЕЛЬСТВО
Иркутского национального исследовательского
технического университета



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия и биотехнология
Том 12 N 1 2022

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)

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

© ФГБОУ ВО «ИРНИТУ», 2022

PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
Applied chemistry and biotechnology
IZVESTIYA VUZOV.
Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya
Volume 12 N 1 2022
EDITORIAL BOARD

Editor in Chief :

Sergei N. Evstaf'ev

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

Deputy Editor:

Yuriy N. Pozhidaev

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

Editorial council:

Gennadiy B. Borovskii

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

Svetlana Yu. Bratskaya

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

Sergey D. Varfolomeyev

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

Francis Verpoort

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

Vladimir K. Voronov

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

Enjun Gao

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

Mirali N. Dadashev

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

Mikhail Ya. Ioelovich

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

Frank-Juergen Methner

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

Alexander I.

Nepomnyashchikh

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

Purevsuren Barnasan

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

Vasily V. Rogozhin

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

Valentina P. Salovarova

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

Sanjib Kumar Panda

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

Boris A. Ulyanov

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

Vitaliy V. Khutoryanskiy

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

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

© of FGBOU VO "INRTU", 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Пырко А. Н. Синтез и биологические испытания на пестицидную активность 8-азастероидов.....	8
Пресняков Р. В., Пещерова С. М., Чуешова А. Г., Бычинский В. А., Непомнящих А. И. Взаимодействие примесей при выращивании mc-Si на основе UMG-Si.....	15
Эфендиева Н. Т., Магеррамов А. М., Чырагов Ф. М. Сорбция ионов серебра (I) синтетическим сорбентом из водных растворов.....	30

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Насриддинов А. С., Ашуров А. И., Холов Ш. Ё., Исмоилов И. Б., Усманова С. Р., Мухидинов З. К. Самоагрегирующие свойства инулина в разбавленном растворе.....	38
Стом Д. И., Жданова Г. О., Юдина Н. Ю., Алферов С. В., Чеснокова А. Н., Толстой М. Ю., Купчинский А. Б., Саксонов М. Н., Закарчевский С. А., Энхдул Т., Францетти А., Рахимнеджад М. Комплексный биопрепарат «Доктор Робик 109» как биоагент для утилизации фитомассы водных растений в биотопливных элементах.....	50
Егорова Н. А., Загорская М. С., Абдурашитов С. Ф. Особенности длительного сохранения мяты сортов Ажурная и Бергамотная в коллекции <i>in vitro</i>	64
Китаевская С. В., Пономарев В. Я., Решетник О. А. Оценка протеолитической активности новых штаммов лактобацилл с криорезистентными свойствами.....	76
Нурминский В. Н., Лазукин А. В., Гундарева С. В., Столбиков А. С., Третьякова А. В. Сравнение действия озона и постоянного электрического поля на морфофизиологические характеристики проростков томата (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) и пшеницы (<i>Triticum aestivum</i> L.)...	87
Семенычева Л. Л., Уромичева М. А., Часова В. О., Фукина Д. Г., Корягин А. В., Валетова Н. Б., Сулейманов Е. В. Синтез привитого сополимера полибутилакрилата на рыбный коллаген при использовании фотокатализатора – сложного оксида $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$...	97
Лыков А. П., Уваров И. П., Геворгиз Р. Г., Железнова С. Н., Повещенко О. В. Исследование влияния экстрактов микроводорослей на гемопоэз и иммунитет.....	109
Олейниц Е. Ю., Суходолов И. А., Константинович А. В., Дейнека В. И., Блинова И. П., Дейнека Л. А. Накопление антоцианов и фенольных кислот и антиоксидантная активность некоторых сортов салата, выращенных в открытом грунте и методом гидропоники.....	121

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Белозерцева Н. Е., Торчакова О. М., Богданов И. А., Киргина М. В. Исследование целесообразности использования биодизельных топлив в качестве смесового компонента товарных дизельных топлив.....	130
Жанабаева А. К., Бишимбаева Г. К., Жумабаева Д. С., Налибаева А. М., Абдикалыков Е. Н. Разработка технологии получения электродных материалов для литий-ионных батарей из сподуменовой руды казахстанского месторождения.....	141

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Куаме К. Э., Львов А. Г. Энергетический профиль формальной 1,2-диотропной перегруппировки диарилэтенов.....	153
Евстафьев С. Н., Фомина Е. С., Тигунцева Н. П. Термохимическое ожигение соломы пшеницы в среде суб- и сверхкритического тетралина.....	160
Верочкина Е. А., Вчисло Н. В., Ларина Л. И., Титов Е. А. Синтез и характеристика тиосемикарбазонов 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пирана и их медных комплексов.....	167

CONTENTS

CHEMICAL SCIENCES

Pyrko A. N. Synthesis and biological testing for pesticidal activity of 8-azasteroids.....	8
Presnyakov R. V., Peshcherova S. M., Chueshova A. G., Bychinskii V. A., Nepomnyashchikh A. I. Impurity-impurity interaction during the growth of UMG-Si-based mc-Si.....	15
Afandiyeva N. T., Maharramov A. M., Chyragov F. M. Sorption of silver (I) ions from aqueous solutions using the synthetic sorbent.....	30

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

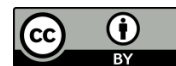
Nasriddinov A. S., Ashurov A. I., Kholov Sh. E., Ismoilov I. B., Usmanova S. R., Mukhidinov Z. K. Self-aggregating properties of inulin in a dilute solution.....	38
Stom D. I., Zhdanova G. O., Yudina N. Yu., Alferov S. V., Chesnokova A. N., Tolstoy M. Yu., Kupchinsky A. B., Saksonov M. N., Zakarchevskiy S. A., Enkhdul T., Franzetti A., Rahimnejad M. The "Doctor Robik 109" complex biopreparation as a bioagent for utilizing aquatic plant phytomass in biofu-el cells.....	50
Yegorova N. A., Zagorskaya M. S., Abdurashytov S. F. Features of long-term preservation of Azhurnaya and Bergamotnaya mint cultivars in an <i>in vitro</i> collection.....	64
Kitayevskaya S. V., Ponomarev V. Y., Reshetnik O. A. Evaluation of the proteolytic activity of new cryoresistant lactobacillus strains.....	76
Nurminsky V. N., Lazukin A. V., Gundareva S. V., Stolbikov A. S., Tretyakova A. V. Comparison of the effect produced by ozone and constant electric field on the morphophysiological characteristics of tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) and wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) seedlings.....	87
Semenycheva L. L., Uromicheva M. A., Chasova V. O., Fukina D. G., Koryagin A. V., Valetova N. B., Suleimanov E. V. Synthesis of a graft copolymer of polybutyl acrylate on fish collagen substratum using the RbTe _{1.5} W _{0.5} O ₆ complex oxide photocatalyst.....	97
Lykov A. P., Uvarov I. P., Gevorgiz R. G., Zheleznova S. N., Poveshchenko O. V. Study of the haematopoietic and immune effect of microalgae extracts.....	109
Oleinits E. Yu., Sukhodolov I. A., Konstantinovich A. V., Deineka V. I., Blinova I. P., Deineka L. A. Accumulation of anthocyanins and phenolic acids and antioxidant activity of lettuce cultivars grown hydroponically and in the open ground.....	121

CHEMICAL TECHNOLOGY

Belozertseva N. E., Torchakova O. M., Bogdanov I. A., Kirgina M. V. Feasibility study of using biodiesel fuels as a blendstock of commercial diesel fuels.....	130
Zhanabayeva A. K., Bishimbayeva G. K., Zhumabayeva D. S., Nalibayeva A. M., Abdikalykov Ye. N. A technology for producing electrode materials for lithium-ion batteries from Kazakhstan spodumene raw materials.....	141

BRIEF COMMUNICATION

Kouame E. K., Lvov A. G. Energy profile of formal 1,2-dyotropic rearrangement of diarylethenes.....	153
Evstaf'ev S. N., Fomina E. S., Tiguntceva N. P. Thermochemical liquefaction of wheat straw in sub- and supercritical tetralin.....	160
Verochkina E. A., Vchislo N. V., Larina L. I., Titov E. A. Synthesis and characterization of 2,5-dibutylthio-2,3-dihydro-2-formyl-4H-pyran thiosemicarbazones and their copper complexes.....	167



Synthesis and biological testing for pesticidal activity of 8-azasteroids

Anatoly N. Pyrko

International Sakharov Environmental Institute
of Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus
Corresponding author: Anatoly N. Pyrko, pyrko@yandex.ru

Abstract. The aim of the present study is the synthesis and testing for pesticidal activities of 2,3-dimethoxy-16,16-dimethyl-D-homo-8-azagona-1,3,5(10),13-tetraene-12,17a-one and 2,3-dimethoxy-16,16-dimethyl-D-homo-8-azagona-1,3,5(10),13-tetraene-12-imino-17a-one hydrochloride which could become the basis the basis of plant protection products. The first compound was obtained by condensation of 6,7-dimethoxy-2,3-dihydroisoquinoline with 2-acetyl-5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione. The second substance was synthesized by interaction of the first with ammonium chloride. 2-Acetyl-5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione was prepared by heating dimedone with acetic acid in polyphosphoric acid. 6,7-Dimethoxy-2,3-dihydroisoquinoline was synthesized in two steps. Boiling 2-(3,5-dimethoxyphenyl)ethylamine in formic acid gave the corresponding amide, which was cyclized in the presence of phosphorus oxychloride. The structure of the obtained compounds is confirmed by the data of IR, ^1H NMR, UV spectra and elemental analysis. In the IR absorption spectra of 2,3-dimethoxy-16,16-dimethyl-D-homo-8-azagona-1,3,5(10),13-tetraene-12,17a-dione and 2,3-dimethoxy-16,16-dimethyl-D-homo-8-azagona-1,3,5(10),13-tetraen-12-imino-17a-one hydrochloride, enaminodiketone bands are present (1535 , 1580 , 1615 , 1625 , 1670 cm^{-1}) and enimine ketone (1595 , 1650 , 3260 cm^{-1}) groups, respectively. Their UV absorption spectra recorded in ethanol contain two absorption bands (265.303 and 268.317 nm) corresponding to $\pi\pi^*$ transitions of the same molecular fragments. The mass spectra of the two obtained tetracycles contain peaks of molecular ions. ^1H NMR spectra correspond to the structures of all obtained compounds. The synthesized compounds were tested for certain types of insecticide (against *Toxoptera graminum*, *Musca domestica*, *Meloidogyne incognita*, *Heliothis virescens*, *Diabrotica undecimpunctata howardi*, *Caenorhabditis elegans*), fungicidal (against *Drechslera*, *Erysiphe*, *Puccinia*, *Peronospora*) and herbicidal (against *Amaranthus retroflexus*, *Brassica rapa*, *Abutilon theophrasti*, *Alopecurus myosuroides*, *Avena fatua*, *Echinochloa crus galli*) activities. Both synthesized compounds showed herbicidal activity against *Amaranthus retroflexus*, *Brassica rapa*, *Abutilon theophrasti* and insecticidal activity against *Toxoptera graminum*. Hydrochloride 2,3-dimethoxy-16,16-dimethyl-D-homo-8-azagon-1,3,5(10),13-tetraene-12-imino-17a-one showed insecticidal activity against *Musca domestica* and fungicidal activity against *Drechslera*.

Keywords: organic synthesis, heterocycles, azasteroids, herbicides, insecticides, fungicides

For citation: Pyrko A. N. Synthesis and biological testing for pesticidal activity of 8-azasteroids. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):8-14. (In English). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-8-14>.

Синтез и биологические испытания на пестицидную активность 8-азастероидов

Анатолий Николаевич Пырко

Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова
Белорусского государственного университета, г. Минск, Республика Беларусь
Автор, ответственный за переписку: Пырко Анатолий Николаевич, pyrko@yandex.ru

Аннотация. Целью данного исследования является синтез и тестирование на пестицидную активность 2,3-диметокси-16,16-диметил-D-гомо-8-азагона-1,3,5(10),13-тетраен-12,17а-диона и гидрохлорида 2,3-диметокси-16,16-диметил-D-гомо-8-азагона-1,3,5(10),13-тетраен-12-имино-17а-она, которые

могли бы стать основой средств защиты растений. Первое соединение было получено конденсацией 6,7-диметокси-2,3-дигидроизохинолина с 2-ацетил-5,5-диметилциклогексан-1,3-дионом. Второе – взаимодействием первого с хлористым аммонием. 2-Ацетил-5,5-диметилциклогексан-1,3-дион был получен нагреванием димедона с уксусной кислотой в полифосфорной кислоте. 6,7-Диметокси-2,3-дигидроизохинолин был синтезирован в две стадии. Кипячением 2-(3,5-диметоксифенил)этиламина в муравьиной кислоте получали соответствующий амид, циклизацию которого проводили в присутствии хлорокиси фосфора. Структура полученных соединений подтверждена данными ИК, ^1H ЯМР, УФ-спектров и элементного анализа. В ИК-спектрах поглощения 2,3-диметокси-16,16-диметил-D-гомо-8-азагона-1,3,5(10),13-тетраен-12,17а-диона и гидрохлорида 2,3-диметокси-16,16-диметил-D-гомо-8-азагона-1,3,5(10),13-тетраен-12-имино-17а-она присутствуют полосы енаминдикетонной (1535, 1580, 1615, 1625, 1670 cm^{-1}) и ениминдикетонной (1595, 1650, 3260 cm^{-1}) групп соответственно. В их УФ-спектрах поглощения, записанных в этаноле, имеются две полосы поглощения (265,303 и 268,317 нм), соответствующие $\pi\pi^*$ -переходам тех же фрагментов молекул. В масс-спектрах двух полученных тетрациклов присутствуют пики молекулярных ионов. ^1H ЯМР-спектры соответствуют структурам всех полученных соединений. Синтезированные соединения были испытаны на некоторых видах инсектицидной (против *Toxoptera graminum*, *Musca domestica*, *Meloidogyne incognita*, *Heliothis virescens*, *Diabrotica undecimpunctata howardi*, *Caenorhabditis elegans*), фунгицидной (против *Drechslera*, *Erysiphe*, *Puccinia*, *Peronospora*) и гербицидной активности (против *Amaranthus retroflexus*, *Brassica rapa*, *Abutilon theophrasti*, *Alopecurus myosuroides*, *Avena fatua*, *Echinochloa crusgalli*). Оба синтезированные соединения показали гербицидную активность против *Amaranthus retroflexus*, *Brassica rapa*, *Abutilon theophrasti* и инсектицидную против *Toxoptera graminum*. Гидрохлорид 2,3-диметокси-16,16-диметил-D-гомо-8-азагона-1,3,5(10),13-тетраен-12-имино-17а-она проявил инсектицидную активность против *Musca domestica* и фунгицидную против *Drechslera*.

Ключевые слова: органический синтез, гетероциклы, азастероиды, гербициды, инсектициды, фунгициды

Для цитирования: Пырко А. Н. Синтез и биологические испытания на пестицидную активность 8-азастероидов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 8–14. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-8-14>.

INTRODUCTION

The high intensity of work on the chemistry of steroids is due to their enormous physiological and therapeutic value. The total synthesis of natural and related biologically active compounds is one of the important tasks of modern organic and bioorganic chemistry. Closely related to it are the problems of creating new drugs, chemical agents for protecting and regulating the growth of plants and animals, establishing the mechanism of action of natural and synthetic bioregulators, etc. [1–3].

The synthesis of modified steroids is an important direction in the chemistry of steroids, since the widespread use of steroid compounds as drugs poses the task of separating their pharmacological effect from hormonal action. One of the modifying factors that make it possible to increase the selectivity of the biological action of steroids is the introduction of a heteroatom into the steroid skeleton [4]. Nitrogen, oxygen, sulfur, selenium and phosphorus are commonly used as a heteroatom. Works on the synthesis of azasteroids were widely developed [5–8]. As a result of replacing the carbon atom with nitrogen, there are practically no changes in the structure of the steroid skeleton, however, the presence of a nitrogen atom with a free pair of electrons causes profound changes in biological activity. Azasteroids have a wide range of biological activity, in particular, antitumor, anti-inflammatory, anti-ulcer,

antimicrobial [4–8]. Intensive research on complete synthesis, chemical modification and the study of biological activity in the 70–90s of the last century was carried out at the N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry of the USSR Academy of Sciences and the Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus under the guidance of Academician of the National Academy of Sciences of Belarus A. A. Akhrem [9–13]. It was shown that 8-azasteroids [14, 15] represent a new class of low-molecular nonantigenic agents modulating immune functions of the human organism and animals. Both stimulants and depressants of immune response were found among compounds of this type. In addition to the creation of new medicines, an important task of the practical use of the results of scientific research in agriculture is the creation of new chemical plant protection products, since over time, the development of pest resistance to the drugs used is observed. This work is devoted to the synthesis and research on various types of pesticide activity of the 8-azaanalogs of steroids.

MATERIALS AND METHODS

The starting compounds in the synthesis of imine **1** were 5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione (dimedone) existing in ketoenol form **2** and 2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethylamine (veratrylmethylamine) **3**. There are many publications on the synthesis of 6,7-

dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline **4** [16–18]. We obtained this substance by the reaction of 2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethylamine **3** with formic acid and cyclization corresponding formamide in toluene by heating with phosphorus oxychloride. Diketoneol **5** was obtained according to the previously developed method [19] by acylation of dimedone **2** with acetic acid in polyphosphoric acid. The synthesis of tetracycle **7** was carried out according to the AB → ABD → ABCD-scheme for constructing the tetracyclic

steroid skeleton [20, 21] by the interaction of diketoneol (**5**, D-fragment) with dihydroisoquinoline (**4**, AB-fragment) without isolation of the intermediate tricycle (**6**, ABD-fragment, fig. 1). The reaction was carried out in non-toxic, environmentally friendly ethanol, which corresponds to the principles of “green” chemistry. We have developed an efficient method for synthesis of imine hydrochloride **1** from diketone **7** by the reaction of the latter with ammonium chloride (Fig. 1).

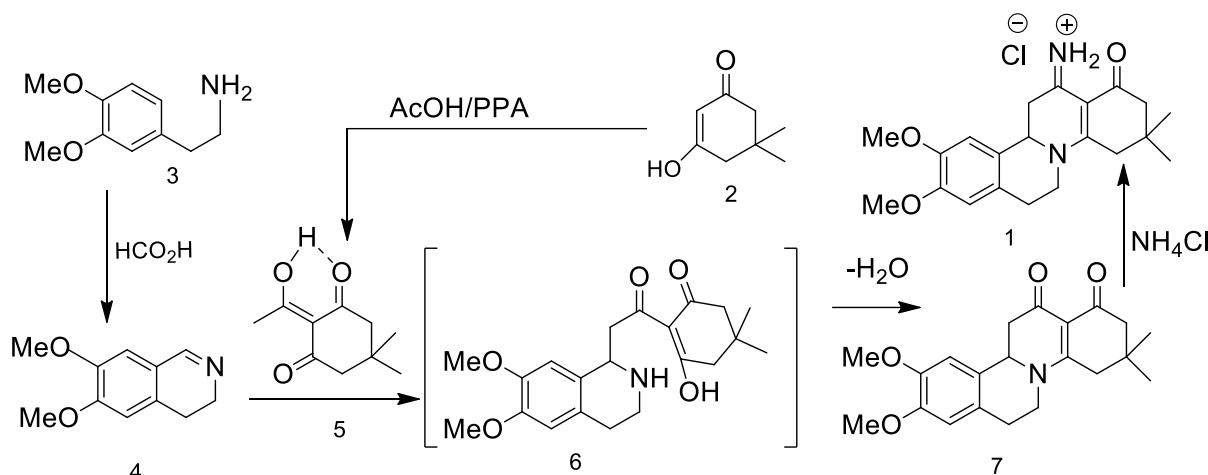


Fig. 1. Scheme of synthesis of 8-azasteroids **1** and **7**

Рис. 1. Схема синтеза 8-азастероидов **1** и **7**

EXPERIMENTAL

Dimedone, 2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethylamine, o-phosphoric acid, phosphorus pentoxide and acetic acid were acquired from Sigma-Aldrich and used without further purification. IR spectra were obtained on a spectrophotometer UR-20 in KBr tablets. The UV-Vis absorption spectra were recorded on a UV-2501 PC spectrophotometer. The ^1H NMR spectra of compound were examined on a Bruker Avance 500 spectrometer at 500 MHz; tetramethylsilane was used as internal reference. Mass spectra were determined on a Varian MAT-311 instrument at an ionizing radiation energy of 70 eV. The progress of reaction and the purity of product was monitored by TLC on Silufol UV-254 plates using EtOAc–hexane (1:1) as eluent; spots were visualized under UV radiation or by treatment with iodine vapor, followed by calcination at 250–350 °C. The melting point was determined on a Boetius hot stage.

Procedure for synthesis of 6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (4**).** A mixture of 36.2 g (0.2 mol) of 2-(3,5-dimethoxyphenyl)ethylamine **3** and 25 g of formic acid was boiled at a temperature of 185 °C for 4 hours. Then the excess acid was evaporated in vacuo and 200 ml of toluene and 120 ml of phosphorus oxychloride were added. The mixture was boiled for 3.5 hours. After cooling the mixture, 100 g of ice was slowly added. The acids were then carefully neutralized with solid potassium hydroxide and 300 ml of benzene were added. The toluene-

benzene solution was dried over KOH, the solvent was evaporated, and the residue was distilled in vacuum (3 mm Hg, 150–155 °C). Received 20.63 g (54%) of the product, yellow oily liquid. ^1H NMR spectrum in CDCl_3 , σ , ppm: 2.80 t (2H, J 7 Hz, 4-CH₂), 3.79 s (3H, OMe), 3.82 s (3H, OMe), 3.90 t (2H, J 7 Hz, 3-CH₂), 6.54 s (1H aromatic), 6.61 s (1H aromatic), 8.28 s (1H, 1-CH) Found%: C 68.98; H 6.90; N 7.38. $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N}$. Calculated %: C 69.09; H 6.85; N 7.32.

Procedure for synthesis of 2-acetyl-5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione (5**).** To 100 g of polyphosphoric acid (70 g of P_2O_5 + 30 ml of 85% H_3PO_4) was added with stirring at a temperature of 100 °C 13.8 g of glacial acetic acid and 14 g of dimedone **2**. Stirred at this temperature for 4 hours, then cooled to room temperature and slowly, (300 ml of water was added without overheating the mixture. Extracted with chloroform (5 × 50 ml), the extract was dried with anhydrous sodium sulfate. After evaporation of chloroform and the residue of acetic acid, the resulting oily liquid was passed through a layer of silica gel L – 100–400 μm , / 6 cm, eluting β -triketone **5** with 300 ml of hexane 16.8 g (92%) of the product was obtained. M.p. 34–36 °C, reported 34–36 °C [17]. ^1H NMR spectrum in CCl_4 , σ , ppm: 1.10 s (6H, 2CH₃), 2.48 s (4H, 2CH₂), 2.55 s (3H, CH₃), 18.05 s (enol. OH). Found %: C 65.82; H 7.83; $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_3$. Calculated %: C 65.91; H 7.74.

Procedure for synthesis of 2,3-dimethoxy-16,16-

dimethyl-D-homo-8-azagona-1,3,5(10),13-tetraene-12,17a-dione (**7**). A mixture of 382 mg (2 mmol) 6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline **4** and 364 mg (2 mmol) 2-acetyl-5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione **1** in 10 ml of ethyl alcohol is heated at the boil for 3 hours. The crystals that precipitated after cooling the reaction mixture were filtered off and crystallized from ethanol. Received 494 mg (70%) of the product, mp 271–274 °C; recorded 268–271 °C [18]. IR spectrum (KBr), cm^{-1} : 1535, 1580, 1615, 1625, 1670. UV spectrum in ethanol, nm (ϵ): 265 (13500), 303 (18500). ^1H NMR spectrum in CF_3COOH , σ , ppm: 1.26 s (3H, 16- CH_3), 1.29 s (3H, 16- CH_3), 2.76 s (2H, 15- CH_2), 2.82 m (2H, 11- CH_2), 2.86 t (2H, J 7 Hz, 6- CH_2), 2.97 s (2H, 17- CH_2), 3.83 s (3H, OMe), 3.86 s (3H, OMe), 3.90 t (2H, J 7 Hz, 7- CH_2), 4.82 qu (1H, proton X systems ABX, J_{AX} 12, J_{AX} 6 Hz, 9-CH), 6.56 s (1H aromatic), 6.60 s (1H aromatic). Mass spectrum (m/z) 355 [M^+], 340 [$\text{M} - \text{CH}_3$] $^+$. Found %: C 70.91; H 7.02; N 4.01. $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{O}_4\text{N}$. Calculated %: C 70.96; H 7.09; N 3.94.

Procedure for synthesis of 2,3-dimethoxy-16,16-dimethyl-d-homo-8-azagona-1,3,5(10),13-tetraen-12-imino-17a-one hydrochloride (1**).** A mixture of 3.55 g (10 mmol) of diketone **7**, 24 ml of ethyl alcohol, 0.6 ml of 25% aqueous ammonia solution, 1.07 g (20 mmol) of ammonium chloride was stirred at room temperature for a day until the precipitate was completely dissolved. The mixture was kept at room temperature for two days. The precipitate that formed was filtered off, washed with a water–alcohol solution (1:1, 10 ml). It was dried in vacuum (8 mm Hg) over phosphoric anhydride at room temperature (20 °C). 2.50 g (64%) of imine hydrochloride **1** were obtained, mp 152–154 °C (dec.), recorded 154 °C [21]. IR spectrum (KBr), cm^{-1} : 1595, 1650, 3260. UV spectrum in ethanol, nm (ϵ): 268 (1550), 317 (12500). Mass spectrum (m/z) 354 [$\text{M} - \text{HCl}$] $^+$, 339 [$\text{M} - \text{HCl} - \text{CH}_3$] $^+$. Found %: C 64.41; H 7.00; N 6.98; Cl 9.02. $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{ClO}_3\text{N}_2$. Calculated %: C 64.52; H 6.96; Cl 9.07; N 7.17.

Biological testing. The pesticide agents dealt with included insecticides (insect killers including adults, ova, and larvae), fungicides and phytotoxins (herbicides).

Fungi testing on plants was carried out by spray-

ing substances on plants and included the following pathogenic fungi: *Drechslera*, *Erysiphe*, *Puccinia*, *Peronospora*. The effectiveness of the action of the compounds was determined in comparison with untreated plants.

Insect pests are the main factor in the loss of crop yields. The insecticidal activity of compounds **1,7** was tested against the following insects: *Toxoptera graminum*, *Musca domestica*, *Meloidogyne incognita*, *Heliothis virescens*, *Diabrotica undecimpunctata howardi*, *Caenorhabditis elegans*.

The herbicidal activity of the compounds was carried out against the following plants: *Amaranthus retroflexus*, *Brassica rapa*, *Abutilon theophrasti*, *Alpecurus myosuroides*, *Avena fatua*, *Echinochloa crus galli*.

RESULTS AND DISCUSSION

The synthesis of 12-imino derivative **9** by the reaction of 6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline **4** with 2-(1-aminoethylidene)-5,5-dimethylcyclohexa-1,3-dione **8** obtained from 2-acetyl-5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione **5** was described in [22]. The reaction was carried out by boiling the mixture of components in ethanol for 72 hours or by heating the mixture in a sealed ampoule at a temperature of 100 degrees for 12 hours. The product yields were only 15% and 24%, respectively. The preparation of ketoimine hydrochloride **1** is described in [23]. The mixture of compounds **9** and **4** in a 3% isopropanol solution of HCl was heated in a sealed ampoule at a temperature of 150 °C for 8 hours (Fig. 2). The product yield was only 31.8%. We have developed a more efficient method for its synthesis from diketone **7** by the reaction of the latter with ammonium chloride. The product yield was 64%. Our method is energy-saving, as it is carried out without heating, and the product can be obtained in large quantities.

The structure of the obtained compounds was confirmed by the data of IR, NMR, UV spectra and elemental analysis. The IR absorption spectra of compounds **1,7** contain bands of the enamino-diketone (1535, 1580, 1615, 1625, 1670 cm^{-1}) eniminoketone (1595, 1650, 3260 cm^{-1}) groups, respectively. In their UV spectra there are two absorption bands (265.303 and 268.317 nm) corresponding to

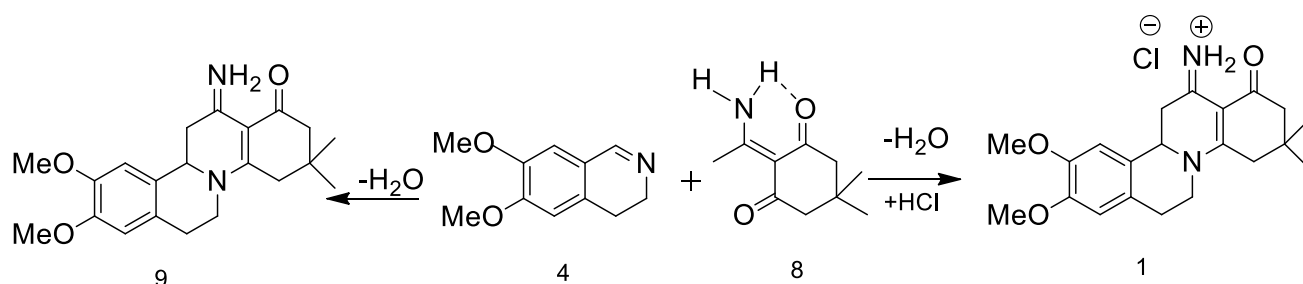


Fig. 2. Scheme of synthesis of 8-azasteroids **1** and **9**

Рис. 2. Схема синтеза 8-азастероидов **1** и **9**

$\pi\pi^*$ transitions of the same fragments of molecules. It should be noted that there are many publications on the spectral properties of 8-azasteroids containing the enamino-dicarbonyl group [24–26]. The ^1H NMR spectrum of compound **7** contains two signals of methyl protons (1.26 and 1.29 ppm), protons of methoxy groups (3.83 and 3.86 ppm). The quartet of the signal of the benzyl C^9H proton (4.82 ppm) represents the X-part of the ABX-system of the C^9H proton and the neighboring methylene group C^{11}H_2 . The value of one of the constants of the spin-spin interaction of a benzyl proton with methylene protons is greater than seven hertz (12 Hz), which indicates its axial orientation. The signals of the two aromatic protons appear as two singlets (6.56 and 6.60 ppm). The ^1H NMR spectrum of compound **1** is difficult to describe and interpret, as it contains a complex mixture of signals, probably due to the decomposition of imino-hydrochloride in DMSO-d_6 solution. In addition, the presence of dynamic equilibrium in the process of imino-hydrochloride conversion can lead to signal broadening. In the mass spectrum of compound **7** a peak of the molecular ion $[\text{M}]^+$ (355 m/z) and the ion corresponding to the elimination of the methyl group

$[\text{M} - \text{CH}_3]^+$ (340 m/z) is observed. The mass spectrum of imine **1** contains a peak (354 m/z) corresponding to the elimination of the hydrogen chloride molecule $[\text{M} - \text{HCl}]^+$ and a peak (339 m/z) corresponding to the elimination of hydrogen chloride and the methyl group $[\text{M} - \text{HCl} - \text{CH}_3]^+$.

Insect pests are a major factor in the loss of the world's agricultural crops. Insecticidal activities of compounds (**1,7**) were tested against following insects: *Toxoptera graminum*, *Musca domestica*, *Meloidogyne incognita*, *Heliothis virescens*, *Diabrotica undecimpunctata howardi*, *Caenorhabditis elegans*. Test results are presented in Table 1.

The results of herbicidal activity are shown in Table 2 and expressed as percentage of the untreated control plants.

Fungus greenhouse tests were performed by spraying a substance on plants which then were inoculated with following phytopathogenic fungi: *Drechslera*, *Erysiphe*, *Puccinia*, *Peronospora*.

The compound efficacy is expressed by comparing the fungus development with and without product. Test results are shown in Table 3.

Table 1. Data showing insecticidal activity of the synthesized compounds **1** and **7**

Таблица 1. Данные инсектицидной активности синтезированных соединений **1** и **7**

Organism, insect stage	plant	days	dose	unites	Compound, biological effect	
					1	7
<i>Toxoptera graminum</i> , mixed	sorghum	6	0.1	ppm	3	3
<i>Musca domestica</i> , pupae	–	6	1.0	ug/well	3	1
<i>Meloidogyne incognita</i> , J2	–	5	5.0	ppm	1	1
<i>Heliothis virescens</i> , egg	–	8	0.6	ug/well	1	1
<i>Diabrotica undecimpunctata howardi</i> , egg	cucumber	6	0.3	ppm	1	1
<i>Caenorhabditis elegans</i> , mixed	sorghum	7	5.0	ppm	1	1

key: 1 – 0–29% noticed death rate, 3 – 30–69% noticed death rate, 5 – 70–100% noticed death rate.

Table 2. Data showing the herbicidal activity of the synthesized compounds **1** and **7**

Таблица 2. Данные гербицидной активности синтезированных соединений **1** и **7**

Plant	Dose, ppm	Compound, Biological effect, %	
		1	7
<i>Amaranthus retroflexus</i>	100	30	80
<i>Brassica rapa</i>	100	10	10
<i>Abutilon theophrasti</i>	100	30	10
<i>Alopecurus myosuroides</i>	100	0	0
<i>Avena fatua</i>	100	0	0
<i>Echinochloa crus galli</i>	100	0	0

Table 3. Data of the results of the study of antifungal activity of synthesized compounds **1** and **7**

Таблица 3. Данные результатов изучения антигрибковой активности синтезированных соединений **1** и **7**

compound	dose, ppm	The name of the fungus and the and Greenhouse test results			
		<i>Drechslera</i>	<i>Erysiphe</i>	<i>Puccinia</i>	<i>Peronospora</i>
1	100.00	100	0	0	0
7	100.00	0	0	0	0

key: 100 – The product is active. It causes an inhibition of disease development > 80%;
50 – The product is slightly active. It causes an inhibition of disease development > 50% < 80%;
0 – The compound is regarded as inactive. It causes an inhibition of disease development < 50%.

CONCLUSIONS

1. Two 8-azacyclic steroid analogues have been synthesized by an environmentally safe method, corresponding to the principles of "green" chemistry.

2. The structure of the obtained compounds was confirmed by the data of IR, UV, ^1H NMR spectra and elemental analysis.

3. Synthesized 8-azasteroids were tested for several types of pesticidal activity. Both compounds showed herbicidal activity against *Amaranthus retro-*

flexus, *Brassica rapa*, *Abutilon theophrasti* and insecticidal activity against *Toxoptera graminum*. 2,3-Dimethoxy-16,16-dimethyl-D-homo-8-azagon-1,3,5(10),13-tetraen-12-imino-17a-one hydrochloride showed insecticidal activity against *Musca domestica* and fungicidal activity against *Drechslera*.

4. Thus, the conducted studies allow us to consider the search for substances with herbicidal, insecticidal and fungicidal activity among 8-azasteroids as promising.

REFERENCES

1. Ibrahim-Ouali M. Total synthesis of steroids and heterosteroids from BISTRO. *Steroids*. 2015;98(6):9-28. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.02.014>.
2. Kaplan W., Khatri H. R., Nagorny P. Concise enantioselective total synthesis of cardiotonic steroids 19-hydroxysarmentogenin and trewianin aglycone. *Journal of the American Chemical Society*. 2016;138(22):7194-7198. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b04029>.
3. Khatri H. R., Bhattarai B., Kaplan W., Li Zh., Long M. J., Aye Y., et al. Modular total synthesis and cell-based anticancer activity evaluation of ouabagenin and other cardiotonic steroids with varying degrees of oxygenation. *Journal of the American Chemical Society*. 2019;141(12):4849-4860. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b12870>.
4. Iqbal A., Siddiqui T. A review on synthesis and biological activities of D-ring modified pregnenolone. *Steroids*. 2021;170(6):108827. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2021.108827>.
5. Martínez-Gallegos A. A., Guerrero-Luna G., Ortiz-González A., Cárdenas-García M., Bernès S., Hernández-Linares M. G. Azasteroids from diosgenin: synthesis and evaluation of their antiproliferative activity. *Steroids*. 2021;166(2):108777. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2020.108777>.
6. Brito V., Santos A. O., Almeida P., Silvestre S. Novel 4-azaandrostenes as prostate cancer cell growth inhibitors: synthesis, antiproliferative effects and molecular docking studies. *Comptes Rendus Chimie*. 2019;22(1):73-83. <https://doi.org/S1631074818301838>.
7. Huang L. H., Xu H.-D., Yang Z.-Ya., Zheng Y.-F., Liu H.-M. Synthesis and anticancer activity of novel C6-piperazine substituted purine steroid-nucleosides analogues. *Steroids*. 2014;82(4):1-6. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2013.12.004>.
8. Yao Zh., Xu Y., Zhang M., Jiang Sh., Nicklaus M. C., Liao C. Discovery of a novel hybrid from finasteride and epristeride as 5 α -reductase inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2011;21(1):475-478. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.10.112>.
9. Mikhalschuk A. L. On the 95th birthday of Afanasy Andreevich Akhrem. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2008;44:243-246. <https://doi.org/10.1007/s10593-008-0039-z>.
10. Mikhail'chuk A. L. The most important publications of A. A. Akhrem on the chemistry of heterocyclic compounds. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2008;44:247-252. <https://doi.org/10.1007/s10593-008-0040-6>.
11. Lakhvich F. A., Lis L. G., Akhrem A. A. Total synthesis of 8-azasteroids. *Russian Chemical Reviews*. 1984;53(6):582-612. <http://dx.doi.org/10.1070/RC1984v053n06ABEH003076>.
12. Gulyakevich O. V., Mikhail'chuk A. L. Mechanism for annelation ([2+4] cyclocondensation of schiff bases by β -dicarbonyl and β,β' -tricarboxyl compounds in amphiprotic media (review). *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2008;44:253-262. <https://doi.org/10.1007/s10593-008-0041-5>.
13. Akhrem A. A., Lakhvich F. A., Pyrko A. N., Lis L. G. Heterocyclic analogs of steroids. xiii. new synthesis of 8-aza-16-oxasteroids. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 1985;16(18):2565-2570. <https://doi.org/10.1002/chin.198518300>.
14. Akhrem A. A., Borisevich N. A., Gulyakevich O. V., Mikhail'chuk A. L., Raichyonok T. F., Tikhomirov S. A., et al. Specific fluorescence properties and picosecond transient absorption of 8-azasteroids. *Journal of Fluorescence*. 1999;9:357-361. <https://doi.org/10.1023/A:1020596210145>.
15. Rao H. S. P., Senthilkumar S. P. Review on the synthesis of 8-azasteroids. *Current Organic Chemistry*. 2004;8(15):1521-1528. <https://doi.org/10.2174/1385272043369881>.
16. Aksenov N. A., Malyuga V. V., Abakarov G. M., Aksenov D. A., Voskressensky L. G., Aksenov A. V. Synthesis of 3,4-dihydroisoquinolines using nitroalkanes in polyphosphoric acid. *Russian Chemical Bulletin*. 2019;68:1047-1051. <https://doi.org/10.1007/s11172-019-2518-z>.
17. Shimizu M., Orita H., Hayakawa T., Suzuki K., Takehira K. Oxidation of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines to 3,4-dihydroisoquinolines with molecular oxygen catalyzed by copper(II) chloride. *Heterocycles*. 1995;41(4):773-779. <https://doi.org/10.3987/COM-94-6991>.
18. Akhrem A. A., Moiseenko A. M., Krivoruchko V. A., Lakhvich F. A., Poselenov A. I. Approach to synthesis of 8-azasteroids. *Russian Chemical Bulletin*. 1972;21(9):2078-2083. <https://doi.org/1007/BF00854629>.
19. Pyrko A. N. Method of preparation of cyclic β -triketones. *Zhurnal organicheskoi khimii = Russian Journal of Organic Chemistry*. 1991;27(10):1981-1982. (In Russian).

20. Akhrem A. A., Titov Yu. A. *Total steroid synthesis*. New York: Plenum Press; 1970. 306 p.

21. Blickenstaff R. T., Ghosh A. C., Wolf G. C. *Total synthesis of steroids*. New York: Academic Press; 1974. 318 p.

22. Pshenichny V. N., Gulyakevich O. V., Khripach V. A. Interaction of 6,7-dimethoxy-3,4-dihydroxy isoquinoline with enamines 2-acetyl-5,5-dimethyl-1,3-cyclohexanediones. *Proceedings of the Academy of Science of BSSR. Chemical series*. 1986;(5):114-116.

23. Gulyakevich O. V., Mikhal'chuk A. L., Khripach V. A. Enamino ketones. Annulation of cyclic Schiff bases with 2(1-aminoethylidene)-1,3-cyclohexanones. *Zhurnal organicheskoi khimii = Russian Journal of Organic Chemistry*. 1991;27(1):187-188. (In Russian).

24. Borisevich N. A., Raichyonok T. F., Sukhodola G. B., Tolstozheev V. A., Shashilov A. A. Absorption and fluorescence of 8-azasteroids in the gas phase. *Journal of Applied Spectroscopy*. 2005;72(1):49-58. <https://doi.org/10.1007/s10812-005-0030-8N>.

25. Borisevich N. A., Dubovskii V. L., Mikhal'chuk A. L., Raichenok T. F., Tikhomirov S. A., Tolstozheev G. B. Photochemical processes in aqueous solutions of immunoactive 8-azasteroid. *Journal of Applied Spectroscopy*. 2003;70:545-549. <https://doi.org/10.1023/a:1026146430668>.

26. Bagnich S. A., Gulyakevich O. V., Mikhal'chuk A. L. Spectral-luminescent properties of 12-oximino derivatives of 8-Aza-D-Homogona-12,17a-Diones and their concentration dependence. *Journal of Fluorescence*. 2008;18:277-283. <https://doi.org/10.1007/s10895-007-0267-0>.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Anatoly N. Pyrko,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Department of Environmental Chemistry
and Biochemistry,
International Sakharov Environmental Institute
of Belarusian State University,
23, Dolgobrodskaya St., Minsk, 220070, Belarus,
pyrko@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5838-1681>

Contribution of the author

Anatoly N. Pyrko carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript.

Conflict interests

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 article

The article was submitted 01.03.2022.
Approved after reviewing 15.03.2022.
Accepted for publication 21.03.2022.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

А. Н. Пырко,

к.х.н., доцент кафедры экологической химии
и биохимии,
Международный государственный
экологический институт имени А. Д. Сахарова
Белорусского государственного университета,
220070, г. Минск, ул. Долгобродская, 23/1,
Республика Беларусь,
pyrko@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5838-1681>

Вклад автора

А. Н. Пырко выполнил экспериментальную работу, на основании полученных результатов провел обобщение и написал рукопись.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Автор прочел и одобрил окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 01.03.2022.
Одобрена после рецензирования 15.03.2022.
Принята к публикации 21.03.2022.



Взаимодействие примесей при выращивании mc-Si на основе UMG-Si

Роман Валерьевич Пресняков, Светлана Михайловна Пещерова,
Анастасия Геннадьевна Чуешова, Валерий Алексеевич Бычинский,
Александр Иосифович Непомнящих

Институт геохимии им. А. П. Виноградова СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Пресняков Роман Валерьевич, ropr81@mail.ru

Аннотация. Предметом настоящего исследования является взаимосвязь химического состава и электрофизических свойств слитков мультикристаллического кремния p- и n-типа на основе металлургического кремния чистоты 99,99 ат.%. Целью работы является оценка роли примесных взаимодействий при получении мультикремния вертикальным методом Бриджмена для понимания пути эффективного управления этим процессом. Были проведены расчеты фазовых равновесий в системах кремний–все примеси и кремний–примесь–кислород на основе минимизации энергии Гиббса в программном комплексе «Селектор». Исследовали ранговые корреляции концентраций различных примесей между собой, а также с удельным электрическим сопротивлением (УЭС) и временем жизни неравновесных носителей заряда (ВЖ ННЗ) в направлении роста кристалла. Парные корреляции профилей распределения элементов рассматривались исходя из роли основного фактора, которым является соотношение растворимостей индивидуальной примеси в твердом или жидком кремнии (k_0), а также с позиции прямого взаимодействия двух элементов друг с другом. В целом установлено, что из величины k_0 для двух индивидуальных примесей в кремнии вовсе не следует парная корреляция их профилей распределения в слитке. Существенное влияние на профили распределения в мультикремнии примесей с $k_0 \rightarrow 0$ оказывает фактор связывания части примеси в форму, в которой она переходит в растущий кристалл как минимум «беспрепятственно». Связывание может быть обусловлено взаимодействием примеси в расплаве с кислородным фоном, сегрегацией примеси на границах зерен и ее захватом фронтом кристаллизации в составе жидкого включения. Заметную корреляцию профилей распределения примесей в слитке кремния показали пары, элементы которых не взаимодействуют с образованием химических соединений в интервале температур 25–1413 °С. Расчет фазовых равновесий в системе кремний–все примеси выявил возможность образования в расплаве твердых фаз VB_2 , TiB_2 , ZrB_2 и Mg_2TiO_4 .

Ключевые слова: мультикристаллический кремний, рафинированный металлургический кремний, направленная кристаллизация, взаимодействие примесей, электрофизические свойства

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ИГХ СО РАН (проект № 0284-2021-0004 «Материалы и технологии для разработки радиационных детекторов, люминофоров и оптических стекол»).

Для цитирования: Пресняков Р. В., Пещерова С. М., Чуешова А. Г., Бычинский В. А., Непомнящих А. И. Взаимодействие примесей при выращивании mc-Si на основе UMG-Si // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 15–29. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-15-29>.

Impurity-impurity interaction during the growth of UMG-Si-based mc-Si

Roman V. Presnyakov, Svetlana M. Peshcherova,
Anastasiya G. Chueshova, Valerii A. Bychinskii,
Aleksandr I. Nepomnyashchikh

Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

Corresponding author: Roman V. Presnyakov, ropr81@mail.ru

Abstract. This article investigates the relationship between the chemical composition and electrophysical properties of *p*- and *n*-type multicrystalline silicon ingots based on metallurgical silicon with a purity of 99.99 at.%. In particular, the role of impurity-impurity interactions in the production of multisilicon by the Bridgman vertical method is evaluated in order to identify approaches to controlling this process effectively. The phase equilibrium calculations in the “silicon–all impurities” and “silicon-impurity-oxygen” systems were carried out based on the Gibbs energy minimization in the Selector software package. The study investigates the rank correlations of the concentrations of various impurities with each other, as well as with the specified electrical resistivity (SER) and the lifetime of nonequilibrium charge carriers (NCC) in the direction of crystal growth. Pair correlations of the element distribution profiles were considered based on the role of the main factor represented by the ratio of individual impurity solubilities in solid or liquid silicon (k_0), as well as from the standpoint of direct interaction between two elements. It was found that the k_0 value for two individual impurities in silicon does not automatically lead to the pair correlation of their distribution profiles in the ingot. A significant effect on the distribution profiles of impurities in multisilicon with $k_0 \rightarrow 0$ has the factor of binding some part of the impurity into such a form that this impurity can be incorporated easily into a growing crystal. Binding may be induced by the interaction of the impurity in the melt with the oxygen background, its segregation at the grain boundaries, and its capture by the crystallization front in the composition of the liquid inclusion. Significant correlations of impurity distribution profiles in the ingot were demonstrated by the pairs whose elements interact without the formation of chemical compounds in the 25–1413 °C temperature range. The conducted phase equilibrium calculations for the “silicon–all impurities” system revealed the possibility of forming the VB_2 , TiB_2 , ZrB_2 , and $MgTiO_4$ solid phases in the melt.

Keywords: multicrystalline silicon, refined metallurgical silicon, directional crystallization, impurity interaction, electrical properties

Funding. The work was carried out within the framework of the state task of the Institute of Geochemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (project no. 0284-2021-0004 “Materials and Technologies for the Development of Radiation Detectors, Phosphors and Optical Glasses”).

For citation: Presnyakov R. V., Peshcherova S. M., Chueshova A. G., Bychinskii V. A., Nepomnyashchikh A. I. Impurity-impurity interaction during the growth of UMG-Si-based mc-Si. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):15-29. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-15-29>.

ВВЕДЕНИЕ

Мультикристаллический кремний (mc-Si), так же как и монокристаллический кремний, остается базовым материалом для солнечных элементов¹. Основным фактором сдерживания роста солнечной энергетики является цена полупроводникового кремния. Принято считать, что наиболее перспективным исходным сырьем для выращивания mc-Si является металлургический кремний (UMG) с чистотой, определяемой предельно допустимыми концентрациями основных примесей в слитке, сопоставимыми с областями существования их твердых растворов в кремнии [1]. Зависимость времени жизни неравновесных носителей

заряда (ВЖ ННЗ) от чистоты кремния не является безусловной из-за типа проводимости и дефектов структуры, участвующих в образовании глубоких уровней в запрещенной зоне [2, 3]. В решении проблемы промышленного освоения технологии mc-Si на основе UMG-Si традиционный подход основан на парциальном влиянии отдельно взятых элементов на ВЖ ННЗ [4] и эффективных коэффициентах распределения, определяемых конкретными условиями выращивания кристалла [5]. Наличие дефектов структуры определяет три группы возможных взаимодействий: ассоциаты дефектов структуры (например, декорирование границ зерен дислока-

¹EU Market Outlook for Solar Power, 2020-2024 // SolarPower Europe. Available from: <https://www.solarpower-europe.org/european-market-outlook-for-solar-power-2020-2024/> [Accessed 7th February 2022].

циями), дефектов структуры и примесей и, наконец, ассоциаты атомов примесей. Последний тип взаимодействий представляет наибольший интерес в разработке методов управления составом mc-Si с целью получения заданных электрофизических свойств на стадии его выращивания из UMG-Si, совмещающей конечную очистку кремния и формирование структуры полупроводникового кристалла.

В данной работе ведется анализ взаимосвязи экспериментальных данных послойного элементного анализа слитков p- и n-типа проводимости, данных по составу включений примесей в структуре слитков, результатов измерения ВЖ ННЗ и удельного электрического сопротивления (УЭС). Проводится расчет фазовых равновесий в системах кремний–все примеси и кремний–примесь–кислород на основе минимизации энергии Гиббса в программном комплексе «Селектор». В работе приводится расчет коэффициентов ранговой корреляции Спирмена между профилями распределения концентраций различных примесей, а также с электрофизическими характеристиками в направлении роста кристалла. Целью работы является оценка роли примесных взаимодействий при получении мультикремния вертикальным методом Бриджмена для понимания возможностей управления этим процессом.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Слитки mc-Si были выращены вертикальным методом Бриджмена в плоскодонном тигле со скоростью 5 мм/ч при градиенте температурного поля в направлении роста ~ 5 °С/см. Данные условия выращивания установлены экспериментально с привлечением численного моделирования сопряженного теплообмена и конвективного теплопереноса [6]. В тигель загружали 1 кг кремния полупроводниковой и металлургической чистоты для того, чтобы одновременно обеспечить чистоту исходного кремния на уровне UMG-Si (99,99 ат.%) и приемлемые концентрации примесей В и Р, эффективность удаления которых при направленной кристаллизации очень низкая.

Элементный анализ кремния проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) на масс-спектрометре высокого разрешения с двойной фокусировкой Element 2 (Finnigan MAT, Германия). Примеси концентрировали путем автоклавного разложения проб в кислотах HF и HNO₃ с последующей отгонкой матричного элемента. Чистота кремния более 99,99 ат.% задает высокие требования к чистоте реагентов, поэтому использовались кислоты Suprapur и Ultrapur (Merck, Германия), а также деионизованная вода с УЭС более 18,5 МΩ/см. Достоверность полученных результатов оценивали методом добавок и сравнением с аттестованными значениями стандартных образцов кристал-

лического кремния (ЗАО «Кремний», г. Шелехов). Предел обнаружения элемента рассчитывали для каждой примеси по 3-сигма критерию с учетом контрольного опыта.

Суммированный по всем слоям элементный состав слитка был использован в качестве набора независимых компонентов для расчета фазовых равновесий в системах типа кремний–все примеси и кремний–кислород–примесь на основе минимизации энергии Гиббса в ПК «Селектор».

Измерение ВЖ ННЗ осуществлялось бесконтактным СВЧ-резонаторным методом согласно стандарту SEMI MF1535. Поверхности пластин продольного распила слитков подвергались предварительному шлифованию микропорошком корунда 15 мкм и последующему травлению в 20%-м растворе KOH при температуре 70 °С для подавления центров поверхностной рекомбинации.

Измерение УЭС в кремнии проводили контактным 4-зондовым способом. Измерительная головка с линейным расположением зондов через 1,3 мм располагалась вдоль направления кристаллизации в позициях, в которых также осуществляли измерение ВЖ ННЗ и отбор проб для химического анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты измерения УЭС и ВЖ ННЗ в слитках mc-Si приведены на рис. 1.

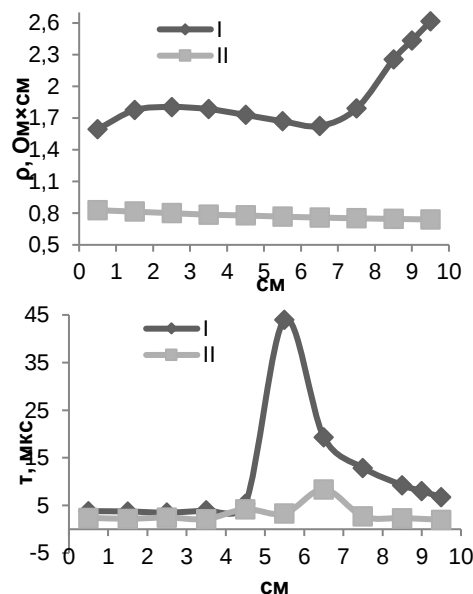


Рис. 1. Удельное электрическое сопротивление (вверху) и время жизни неравновесных носителей заряда (внизу) в слитках mc-Si n-типа (I) и p-типа (II)

Fig. 1. Electrical resistivity (top) and lifetime of nonequilibrium charge carriers (bottom) in n-type (I) and p-type (II) mc-Si ingots

Послойный химический состав слитков представлен в табл. 1. Слои пронумерованы по высоте слитка. Число слоев в слитке равно числу замеров УЭС и ВЖ ННЗ. Отсутствие параметров

Таблица 1. Элементный состав слоев n/p слитка (ppbw), коэффициент ранговой корреляции Спирмена между содержанием примеси и нумерацией слоев в направлении роста кристалла

Table 1. Elemental composition of ingot n/p layers (ppbw), Spearman's rank correlation coefficient between impurity content and layer numbering in the direction of crystal growth

	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9	№10	№11	Коэффициент корреляции
O	11400	11050	10700	10350	10000	9650	9300	8950	8600	8250	7900	-1/-1
Li	7,3/3,5	0,3/3,3	1,4/2,9	1,6/3,0	0,3/2,7	0,3/3,4	0,3/3,3	19,6/2,6	0,9/3,4	1,4/7,5	0,3/-	-0,13/0,15
B	67/168	40/136	59/112	65/105	70/93	75/70	80/56	69/190	89/212	84/214	76/-	0,82/0,32
Na	1192/1022	317/1220	1383/1181	952/1823	908/1485	935/1454	1329/2021	683/1937	976/1434	831/1722	728/-	-0,29/0,61
Mg	2255/241	298/290	1185/316	1339/359	1388/353	913/364	1245/496	593/489	1028/411	932/445	806/-	-0,39/0,88
Al	3681/1582	894/1667	2428/2197	3871/1351	2671/5473	1570/3321	602/3023	3265/910	3408/1229	1399/3055	1213/-	-0,08/0,01
P	188/103	174/100	240/103	210/108	266/119	231/141	257/183	292/213	336/264	355/427	501/-	0,93/0,96
K	166/603	22/552	243/376	161/759	227/605	157/478	102/547	289/356	98/291	36/408	55/-	-0,32/-0,6
Ca	5479/2036	914/2294	4040/2393	4172/3009	3373/2820	3539/3134	3843/4559	1758/4308	3155/3140	2682/3203	2342/-	-0,49/0,88
Ti	260/631	118/506	134/499	181/510	489/757	138/971	840/1156	891/590	238/1137	211/2283	367/-	0,44/0,73
V	6,71/1,46	1,07/1,75	4,15/2,21	6,76/1,69	3,73/1,74	1,31/2,03	0,62/1,58	4,54/1,56	6,66/1,38	1,08/1,9	1,89/-	-0,24/-0,14
Cr	1078,1	1047,5	904/3,6	1043,3	1054,3	1040	1054,2	1035,4	1086,7	1095	10/-	-0,30/0,21
Fe	412/1649	30/1060	30/1222	593/2513	30/1573	30/1144	30/1399	30/667	30/2386	30/3976	566/-	-0,09/0,24
Mn	1,0/10,2	0,5/8,4	1,3/13,1	4,8/22,3	2,9/18,3	0,5/9,4	0,5/11,0	0,5/16,8	0,5/18,2	0,5/18,3	0,5/-	-0,58/0,46
Co	0,04/1,12	0,04/1,19	0,04/1,08	0,04/1,41	0,04/1,55	0,04/1,14	0,04/0,96	0,04/1,01	0,04/1,64	0,04/1,90	0,04/-	-0,3
Ni	107,0	106,4	105,5	105,6	105,4	105,3	107,0	108,1	109,9	108,6	10/-	-0,5
Cu	30,5/86,7	40,1/46,1	23,8/61,2	17,9/45,1	22,1/71,3	24,5/47,2	14,8/49,6	14,6/58,6	18,4/100,3	32,2/178,1	24,7/-	-0,210,41
Zn	54/266	25/89	34/72	28/77	26/86	25/87	18/84	19/34	29/54	20/77	14/-	-0,69/-0,59
Ge	7,6/141,2	6,5/145,4	7,0/159,0	7,7/162,5	8,4/170,0	8,1/192,5	8,8/218,2	9,4/261,4	11,7/337,3	14,8/476,2	22,0/-	0,96/1
Zr	7,77/11,39	1,36/8,66	3,05/9,82	3,91/9,24	4,62/42,32	2,40/37,96	2,26/16,63	7,51/5,16	4,14/14,50	3,75/13,65	1,43/-	-0,15/0,26

* Курсивом выделены концентрации, приравненные к пределу обнаружения.

структуры в ряду с концентрациями примесей объясняется тем, что электрофизические свойства (в особенности ВЖ ННЗ) есть результат взаимообусловленности структуры и распределения примесей, за которую ответственны теплофизические условия выращивания (скорость, градиент температуры), одинаковые для двух кристаллов. Влияние структуры слитка будет рассмотрено при обсуждении результатов.

В табл. 2 приведены необходимые для анализа индивидуальные свойства примесей, включая их свойства в кремнии. Данные по числу акцепторных и донорных уровней в запрещенной зоне кремния приведены для двух способов его легирования соответствующим элементом – диффузии и ионной имплантации. Возможно, что в случае сегрегации примеси при направленной кристаллизации соотношение числа донорных и акцепторных уровней изменится.

Характер распределения и общий уровень содержания примеси кислорода, не определяемого методом ИСП-МС, заданы по следующим соображениям: а) равновесный коэффициент распределения $k_0=1,18$ [7]; б) материал тигля – стеклоуглерод. Его высокая стойкость к жидкому кремнию в отличие от кварца не предполагает непрерывного поступления данной примеси в расплав; с) в UMG-Si концентрация кислорода сопоставима с остальным примесным фоном [2].

Усредненный по всем слоям химический состав слитков мы использовали в качестве набора независимых компонентов (включая Si) в расчете фазовых равновесий для системы кремний–

все примеси. Нас интересовал равновесный состав твердой фазы при температуре чуть выше равновесной температуры плавления чистого кремния – 1413 °С, состав твердой и жидкой фазы при температуре чуть ниже равновесной температуры плавления чистого кремния – 1411 °С, состав твердой фазы при комнатной температуре 25 °С (табл. 3). Помимо одиночных элементов с температурой плавления ниже, чем у кремния, в равновесном составе жидкой фазы мы видим (в порядке уменьшения): а) чистый Si (~0,3 моль или ~1%); б) бинарные конгруэнтно плавящиеся соединения типа «примесь–примесь» и «примесь–Si»; с) исчезающе малые количества двойных и тройных соединений, содержащих кислород.

Следующие примеры включений в mc-Si чистоты 99,99 ат.%, найденных методом рентгено-спектрального микроанализа (РСМА), показывают состав исключительно из компонентов (в основном одиночных элементов) с температурой плавления ниже, чем у кремния:

Al(2,3%)Mn(2,9%)Si(61,8%)Fe(33%)
 или
 Al(2,3%)Mn(2,9%)FeSi(94,8%);
 Cu(57,2%)Zn(30,9%)Al(11,9%) без учета Si;
 O(72,05%)Al(26,17%)K(1,78%) без учета Si;
 Si(98,18%)Al(0,12%)O(1,7%);
 O(13,13%)Al(1,082%)Si(85,788%);
 O(13,13%)Al(1,1%)Si(85,765%)Na(0,005%);
 Na(0,015%)Mg(0,041%)Si(99,944%);
 Mg(2,994%)Al(97,006%) без учета Si;
 Na(2,994%)Al(97,006%) без учета Si;
 Si(99,932%)Na(0,068%).

Таблица 2. Электроотрицательность по практической шкале (χ^*), число возможных донорных/акцепторных состояний N_d/N_a , температура плавления $T_{пл.}$, равновесный коэффициент распределения k_0 , коэффициент диффузии D при разных температурах для элементов примесей в кремнии

Table 2. Electronegativity on a practical scale (χ^*), number of possible donor/acceptor states N_d/N_a , melting point T_{melt} , equilibrium distribution coefficient k_0 , diffusion coefficient D at different temperatures for impurity elements in silicon

	χ^*	N_d/N_a [3]	$T_{пл.}, ^\circ\text{C}$ [8]	k_0 [7,9]	$\lg(D) \text{ (cm}^2/\text{s)}$ [3]		
					840 °C (тв.)	1395 °C (жид.)	1450 °C (жид.)
O	8,11	2/2	-218,4	1,25; 1,4	-10,39	-6,55	-3,48
B	3,66	0/1	2210	0,8; 0,9	14,16	-11,06	-3,91
P	4,55	1/0	44,1	0,2; 0,35	-11,65	-6,47	-3,24
Si	3,41	2/1	1412	—	—	—	—
Al	2,40	0/4	660,4	0,002; 0,02	-10,75	-5,45	-3,15
Ge	3,24	2/1	937,4	0,33; 0,39	—	—	—
Zn	1,87	0/5	419,9	10^{-5} ; $2,3 \times 10^{-5}$	-8,92	-5,65	-3,65
Cu	2,30	1/5	1083,4	$2,4 \times 10^{-4}$; 4×10^{-4}	-6,39	-4,58	-4,06
Mg	1,54	3/0	648,8	0,02; 2×10^{-3}	-6,09	-5,00	—
Ni	1,92	0/2	1453	3×10^{-5} ; 10^{-4}	—	—	-4,39
Co	1,83	1/3	1495	8×10^{-6} ; 10^{-5}	-9,18	-3,50	-4,80
Fe	1,72	2/2	1535	10^{-5} ; 6×10^{-5}	-6,00	-4,93	-4,50
Mn	1,71	3/5	1244	10^{-5} ; 3×10^{-5}	—	—	-4,34
Cr	1,72	1/2	1857	5×10^{-6} ; 10^{-5}	-6,25	-5,02	—
Li	0,75	1/0	180,5	0,009; 0,01	-5,61	-4,60	-3,21
V	1,65	1/1	1890	4×10^{-6} ; 10^{-5}	—	—	—
Ti	1,57	1/1	1670	2×10^{-6} ; 10^{-5}	-10,32	-7,18	-4,55
Na	0,65	3/0	97,9	0,002; 0,02	—	—	—
Ca	1,15	2/0	839	$k_{eff} = 0,0039$	—	—	-3,66
Zr	1,40	1/0	1852	10^{-7} ; 10^{-8}	—	—	—
K	0,51	2/0	63,7	—	—	—	—

Таблица 3. Равновесный состав остаточной твердой фазы при температуре 1413 °С, состав твердой и остаточной жидкой фазы при температуре 1411 °С, состав твердой фазы при комнатной температуре 25 °С (всего чистого Si – 35,6 моль) n- и p-типа, моль (База данных JANAF [8])

Table 3. Equilibrium composition of the residual solid phase at a temperature of 1413 °C, composition of the solid and residual liquid phase at a temperature of 1411 °C, composition of the solid phase at room temperature 25 °C (total pure Si – 35.6 mol) of n- and p-type, mol (Database JANAF [8])

Слиток	Твердая фаза (1413 °C)	Жидкая фаза (1411 °C)	Твердая фаза (1411 °C)	Твердая фаза (25 °C)
n	Si(5,4E-07) Mg₂TiO₄(2,5E-04) TiB₂(2,9E-06) CrSi₂(3,32E-07) Ni(1,7E-07) VB₂(2,19E-12) ZrB₂(4,21E-08) CaSiO₃(7,2E-05)	Si(3,3E-01)Zn(4,1E-07)Ge(1,4E-07) Al(7,55E-05)Ca(4,92E-06) CaAl₂(4,28E-06)FeSi(2,24E-08) K(3,62E-06)K₂SiO₃(9,33E-10) Mg(2,14E-05)Mg₂Si(3,16E-07) Mn(2,01E-08)MnSi(2,93E-06) Na(4,1E-05)P(9,0E-06)Cu(3,8E-07) KBO₂(1,25E-11)Li(3,22E-09) Li₂SiO₃(1,84E-08) Li₂SiO₃(1,46E-07)LiBO₂(1,09E-07) NaBO₂(7,75E-11)B₂O₃(1,03E-11)	Si(35,2744) Mg₂TiO₄(2,5E-04) TiB₂(2,9E-06) CrSi₂(3,32E-07) Ni(1,7E-07) VB₂(2,19E-12) ZrB₂(4,21E-08) CaSiO₃(7,2E-05)	Si(35,5997)NaAlO₂(4,05E-05) MgAl₂O₄(1,17E-05)Ca₂MnSi₃ (2,95E-06)CaSi(5,69E-05) FeSi₂(2,24E-08)Mg₂TiO₄(1,14E-05) LiAlO₂(4,4E-07)AlB₂(2,75E-06) CrSi₂(3,32E-07)Cu₃P(1,26E-07) KAlO₂(3,62E-06)Mg₃P₂(3,43E-06) NiB(1,7E-07)AlP(1,96E-06) VB₂(6,87E-08)ZrB₂(4,21E-08) Ca₃Al₂Si₃O₁₂(5,77E-06)
p	Si(5,37E-07) Mg₂TiO₄(6E-06) SiO₂(6,58E-12) TiSi₂(6,61E-06) TiB₂(6,06E-06) CrSi₂(1,11E-06) Ni(1,17E-07) VSi₂(3,4E-08) ZrB₂(5,31E-09) ZrO₂(1,81E-07)	Si(3,0E-01)Zn(1,4E-06)Ge(3,2E-06) Al(8,37E-05)Ca(1,68E-06) CaAl₂(2,17E-06)FeSi(3,19E-05) K(1,26E-05)K₂SiO₃(6,50E-08) Mg(5,79E-07)Mg₂Si(2,53E-10) Mn(1,82E-09)MnSi(2,64E-07) Na(6,65E-05)P(5,68E-06) Cu(1,17E-06)KBO₂(2,77E-12) Li(4,07E-09)Li₂Si₂O₅(4,26E-08) Li₂SiO₃(2,10E-07)LiBO₂(3,99E-09) NaBO₂(8,89E-12)FeO(2,20E-12) Na₂O(2,37E-12)	Si(35,304) Mg₂TiO₄(6E-06) SiO₂(6,58E-12) TiSi₂(6,61E-06) TiB₂(6,06E-06) CrSi₂(1,11E-06) Ni(1,17E-07) VSi₂(3,4E-08) ZrB₂(5,31E-09) ZrO₂(1,81E-07)	Si(35,5996)NaAlO₂(6,65E-05) Ca₂MnSi₃(2,66E-07)CaSi(6,07E-05) FeSi₂(3,2E-05)K₂SiO₃(3,22E-06) Mg₂TiO₄(7,75E-06)TiSi₂(5,09E-06) LiAlO₂(5,13E-07)TiB₂(6,06E-06) CrSi₂(1,11E-06)Cu₃P(3,9E-07) KAlO₂(6,26E-06)Ni₃P(5,85E-08) AlP(4,34E-06)SiP(8,87E-07) VSi₂(3,4E-08)ZrB₂(1,86E-07) Ca₃Al₂Si₃O₁₂(5,3E-06)

При рассмотрении вопроса взаимодействия примесей отдельного внимания заслуживает *взаимодействие в расплаве кислорода и металлов*, для которых изобарный потенциал реакции окисления больше, чем изобарный потенциал реакции окисления кремния при температуре его плавления.

В предположении того, что кислород не испаряется из расплава (при 1450 °C) в виде SiO, а способен образовывать в нем только SiO₂ и все возможные оксиды/силикаты примесей, мы провели анализ на выявление примесей – геттеров кислорода (табл. 4). Для этого был проведен расчет фазовых равновесий в системе Si–O–X (X–примесь). Задачей анализа было установить характер изменения энергии Гиббса системы Si–O–X в результате постепенного замещения кремния примесью X с сохранением их суммарного количества вещества в слитке (35,6 моль). Содержание примеси при этом не превышало среднего содержания кислорода в слитке 0,000251 моль (10¹⁸ см⁻³).

Табл. 5–7 показывают результаты исследования парной корреляции в распределении примесей в слитках. Приведены значения коэффициентов ранговой корреляции Спирмена, а также физические факторы (при обсуждении результатов пронумерованные от 1 до 5), объединяющиеся либо противостоящие друг другу для каждой пары. Каждым из них может быть обусловлена как прямая, так и обратная корреляция распределения элементов в слитке.

Для качественной оценки коэффициента корреляции была использована шкала Чеддока: слабая связь (0,1–0,3); умеренная (0,3–0,5); заметная (0,5–0,7); высокая (0,7–0,9); сильная (0,9–1,0). Таким образом, критерием заметности корреляции являются значения $KK > 0,5$ и $KK < -0,5$.

В табл. 8 приведены результаты исследования ранговой корреляции между атомарной концентрацией примеси (либо его молярным количеством) и электрофизическими характеристиками в слоях слитков n- и p-типа.

Таблица 4. Изменение энергии Гиббса системы Si–O–X в результате взаимодействий с кислородом (образование оксидов, силикатов) при температуре 1450 °C, где X – примесь, содержание которой меньше либо равно содержанию кислорода 0,000251 моль (база данных [10])

Table 4. Change in the Gibbs energy of the Si–O–X system as a result of interactions with oxygen (oxides and silicates formation) at a temperature of 1450 °C, where X is an impurity, the content of which is less than or equal to the oxygen content of 0.000251 mol (database [10])

X	0,0000114 моль	0,000114 моль	0,000251 моль	Температуры плавления зависимых компонентов (кроме SiO ₂)
	ΔG, кал.			
Ca	-574669	-574675	-574680	CaO (2570 °C), CaSiO₃ (1544 °C)
Zr	-574669	-574674	–	
Mg	-574669	-574673	-574677	MgO (2825 °C), Mg₂SiO₃ (1525 °C)
K	-574669	-574673	–	K ₂ SiO ₃ (976 °C)
Ti	-574669	-574672	-574675	TiO (1750 °C), TiO₂ (1843 °C)
Li	-574669	-574672	-574674	Li₂O (1570 °C), Li₂SiO₃ (1201 °C)
Al	-574669	-574672	–	Al₂O₃ (2044 °C)
Na	-574669	-574669	-574670	Na ₂ O (1132 °C), Na ₂ SiO ₃ (1088 °C)
V	-574669	-574669	-574670	VO (670 °C)

Таблица 5. Факторы прямой и обратной парной корреляции распределения примесей в слитках (пары с коэффициентом корреляции больше 0,5 и меньше -0,5 в слитке n-типа)

Table 5. Factors of direct and inverse pair correlation of impurity distribution in ingots (pairs with a correlation criterion greater than 0.5 and less than -0.5 in an n-type ingot)

Пара	Коэффициент корреляции		Прямая корреляция	Обратная корреляция
	n-тип	p-тип		
K-Cu	-0,58	-0,41	1, 4, 5	3, 5
Mn-O	0,58	-0,47	3, 4, 5	1, 5
Mn-B	-0,52	0,30	1, 5	2, 3, 4
Ge-B	0,85	0,32	1, 5	4, 5
P-B	0,75	0,34	1, 5	–
B-O	-0,82	-0,32	5	1, 5
Fe-V	0,52	-0,13	1, 3, 5	4, 5
Mn-Mg	0,74	0,37	1, 4, 5	2, 3, 5
Al-Mn	0,60	-0,25	1, 4, 5	2, 3, 5
Na-Zn	0,52	-0,40	1, 4, 5	3
Al-Zn	0,67	0,47	1, 4	2, 3, 5

Окончание табл. 5

V-Li	0,71	-0,10	1, 5	2, 4, 5
Zr-V	0,74	0,11	1, 3, 5	2, 5
V-K	0,55	0,03	1, 3, 5	4, 5
V-Mn	0,59	-0,17	1, 3, 5	4, 5
Cr-Na	0,51	-0,12	1, 5	3, 4, 5
V-Zn	0,64	0,06	1, 3, 5	4, 5
Mg-Zr	0,53	0,11	1, 2	3, 4, 5
Zr-K	0,65	0,12	1, 3	2, 4, 5
Zr-Li	0,71	0,30	1, 2	3, 4, 5
Li-K	0,52	-0,02	1, 4	2, 3, 5
Al-K	0,56	0,29	1, 4, 5	2
K-Mn	0,56	-0,06	1, 3, 4, 5	5
Ca-Mn	0,66	0,32	1, 4, 5	2, 3, 5
Al-Li	0,71	0,16	1, 2, 4, 5	–

Таблица 6. Факторы прямой и обратной парной корреляции распределения примесей в слитках (пары с коэффициентом корреляции больше 0,5 и меньше -0,5 в слитке p-типа)

Table 6. Factors of direct and inverse pair correlation of impurity distribution in ingots (pairs with a correlation criterion greater than 0.5 and less than -0.5 in a p-type ingot)

Пара	Коэффициент корреляции		Прямая корреляция	Обратная корреляция
	p-тип	n-тип		
Al-B	-0,54	-0,18	1, 2	4, 5
K-B	-0,53	-0,34	1, 5	3, 4
K-P	-0,54	-0,13	1, 4	3, 5
Ge-K	-0,60	-0,25	1, 4, 5	3, 5
Ni-Al	-0,57	–	1	2, 3, 4, 5
V-Ni	-0,58	–	1, 3, 5	5
Ni-K	-0,56	–	1, 3, 5	4
Zn-Ni	-0,51	–	1, 3	4, 5
Ti-Cr	0,70	-0,40	1, 5	2, 3, 5
Fe-Cr	0,62	-0,19	1, 3, 5	4, 5
Fe-Mn	0,66	0,41	1, 3, 4, 5	5
Cu-B	0,62	-0,16	1, 5	3, 4, 5
Ti-Zr	0,67	0,43	1, 2, 5	3, 5
Na-P	0,61	-0,19	1, 4	5
Ge-Na	0,61	-0,25	1, 4, 5	5
Ge-Ni	0,57	–	1, 5	3, 4, 5
Ni-P	0,61	–	1, 5	3, 4
Co-Cr	0,55	–	1, 5	3, 5
Co-Mn	0,55	–	1, 5	4, 5
Ni-O	-0,57	–	3, 5	1, 5
Cr-Ni	0,58	–	1, 5	3, 5
Ni-Cu	0,57	–	1, 5	3, 4, 5
K-Zn	0,68	0,34	1, 3, 4, 5	–
K-O	0,60	0,32	3, 4, 5	1, 5
Ti-Li	0,58	0,12	1, 2, 5	3, 4, 5
Mg-Ti	0,59	0,19	1, 2, 5	3, 4, 5
Ca-Ti	0,62	-0,08	1, 2, 4, 5	3, 4, 5
Fe-Li	0,52	0,26	1, 4, 5	3, 5
Na-O	-0,61	0,29	4, 5	1, 5

Таблица 7. Факторы прямой и обратной парной корреляции распределения примесей в слитках (пары с коэффициентом корреляции больше 0,5 и меньше -0,5 в обоих слитках)

Table 7. Factors of direct and inverse pair correlation of impurity distribution in ingots (pairs with a correlation criterion greater than 0.5 and less than -0.5 in both ingots)

Пара	Коэффициент корреляции		Прямая корреляция	Обратная корреляция
	n-тип	p-тип		
Zr-Al	0,83	0,79	1, 2, 5	3, 4
V-Al	0,96	0,60	1, 5	2, 3, 4, 5
Mg-Na	0,72	0,86	1, 4	2, 5
Ca-Na	0,86	0,84	1, 4	2, 5
Zn-O	0,69	0,63	3, 4, 5	1
Ge-Ti	0,59	0,72	1, 3, 5	4, 5

Окончание табл. 7

Ge-P	0,94	0,99	1, 4, 5	5
P-O	-0,93	-0,99	4, 5	1, 5
Ge-O	-0,96	-1,00	4, 5	1, 5
Ti-P	0,51	0,78	1, 3, 5	2, 4, 5
Ca-Mg	0,85	0,99	1, 2, 4	5
P-Zn	-0,52	-0,55	1, 4, 5	3
Ge-Zn	-0,62	-0,63	1, 4	3, 5
Ti-Cu	-0,57	0,51	1, 5	2, 4, 5
Mg-Zn	0,56	-0,61	1, 4, 5	2, 3
Ca-Zn	0,58	-0,58	1, 4, 5	2, 3
Mn-Zn	0,63	-0,65	1, 4, 5	3, 5

Таблица 8. Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена между атомарной концентрацией примеси и временем жизни неравновесных носителей заряда / удельным электрическим сопротивлением (значения коэффициентов корреляции больше 0,5 и меньше -0,5 выделены)

Table 8. Spearman's rank correlation coefficients between the atomic impurity concentration and the lifetime of nonequilibrium charge carriers / electrical resistivity (correlation criteria values greater than 0.5 and less than -0.5 are highlighted)

Слиток	Время жизни неравновесных носителей заряда	Удельное электрическое сопротивление
n	Li(-0,17)B(0,73)Na(-0,08) Mg(-0,23)Al(0,08)P(0,44) K(-0,07)Ca(-0,19)Ti(0,48) V(-0,29)Cr(-0,5)Fe(-0,31) Mn(-0,6)Cu(-0,43)Zn(-0,6) Ge(0,62)Zr(-0,01)	Li(0,09)B(0,28)Na(-0,29) Mg(-0,43)Al(-0,13)P(0,7) K(-0,3)Ca(-0,46)Ti(-0,12) V(0,07)Cr(0,2)Fe(0,1) Mn(-0,2)Cu(0,1)Zn(-0,22) Ge(0,55)Zr(-0,2)
p	Li(-0,26)B(-0,59)Na(0,25) Mg(0,31)Al(0,44)P(0,13) K(-0,1)Ca(0,31)Ti(0,26) V(0,01)Cr(-0,19)Fe(-0,45) Mn(-0,3)Cu(0,03)Zn(0,08) Ge(0,12)Zr(0,57)Co(-0,55) Ni(-0,35)	Li(-0,15)B(-0,32)Na(-0,61) Mg(-0,88)Al(-0,01)P(-0,98) K(0,63)Ca(-0,86)Ti(-0,73) V(0,14)Cr(-0,21)Fe(-0,24) Mn(-0,44)Cu(-0,41)Zn(0,63) Ge(-1)Zr(-0,26)Co(-0,3) Ni(-0,54)

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Физический смысл прямой ($KK > 0$) и обратной ($KK < 0$) корреляции между концентрацией примеси и ВЖ ННЗ характеризуется следующим образом: 1) $KK < 0$. Образование связанных с данным элементом глубоких уровней в запрещенной зоне и рекомбинация на них ННЗ. Результат – уменьшение значения ВЖ ННЗ; 2) $KK > 0$. Действие механизмов внутреннего геттерирования, т.е. присутствие примеси в рекомбинационно-неактивной форме. Результат – сохранение или повышение значения ВЖ ННЗ.

Физический смысл прямой ($KK > 0$) и обратной ($KK < 0$) корреляции между концентрацией примеси и УЭС характеризуется следующим образом: 1) $KK < 0$. Создание концентрации равновесных носителей заряда (электронов в зоне проводимости или дырок в валентной зоне). Результат – уменьшение УЭС; 2) $KK > 0$. Компенсирующее действие примеси, снижающее концентрацию равновесных носителей заряда. Результат – сохранение или повышение значения УЭС.

Факторы (физические причины) прямой и обратной парной корреляции распределения примесей в слитке перечислены ниже, начиная с основополагающего.

1. *Индивидуальное поведение примеси в кремнии.* Прямая корреляция для пары элементов может быть простым следствием того, что

для каждой отдельно взятой примеси равновесный коэффициент распределения $k_0 < 1$ [7, 9]. Обратной корреляции следует ожидать для пар, включающих кислород с его значением $k_0 = 1,18$. Известно, что монокристаллический рост из расплава, содержащего плохо растворимую в твердой фазе примесь ($k_0 \rightarrow 0$), обычно заканчивается образованием в слитке полос сегрегации, обусловленных нестационарными воздействиями ростового оборудования, с периодичностью ~1 мкм. Они возникают из-за чередования процессов накопления примеси в пограничном слое и последующего скачкообразного ее захвата твердой фазой в связи с колебаниями скорости движения границы расплав-кристалл [11]. Микроскопические концентрационные колебания в твердой фазе и диффузионном слое модулированы ходом общего накопления примеси в расплаве. Установлена способность фронта кристаллизации проявлять морфологическую устойчивость и сдерживать значительную концентрацию примеси в пограничном слое [12]. Пограничный слой в нашем случае обладает переменной емкостью, обусловленной непостоянством поверхностной энергии границы раздела фаз. По оценкам, на основе энтропии плавления кремния столбчатая структура на границе с расплавом может включать и атомно-шероховатые (нормальный рост), и атомно-гладкие (рост атомных

слоев) участки поверхности с разной поверхностной энергией. На атомно-гладкой грани {111} возникает сильное кинетическое переохлаждение до ~4К (в случае полного отсутствия винтовых дислокаций), сопровождающее ее тангенциальный рост [13]. При вытеснении нормально растущего зерна послойно растущим зерном (или наоборот) происходит смена условий интеграции примеси в кристалл [11]. В результате концентрационные колебания в профилях распределения некоторых примесей приобретают макроскопический масштаб, показывая периодичность захвата, сопоставимую со средним размером материнского зерна в слитке (в направлении роста он составляет ~1 см и более). Такое поведение в слитке n-типа показывают примеси Li, B, Na, Mg, Al, Ca, Ti, V, Mn, Fe, Zn, Zr. Для слитка p-типа набор примерно такой же: B, K, Ti, Cr, Fe, Mn, Ni, Cu, Zn, Zr (см. абзац после п. 5).

2. *Взаимодействие примесей в расплаве.* С точки зрения того, что в полупроводнике должна быть создана требуемая концентрация равновесных носителей заряда, наибольший интерес представляет взаимодействие какого-либо элемента с В, Р или О, характеризующихся большей электроотрицательностью в сравнении с Si и равновесным коэффициентом распределения в Si $k_0 \sim 1$. Показателен пример такого взаимодействия в работе Л. Н. Лысенко², где говорится о том, что в процессе бестигельной зонной плавки кремния с увеличением добавки Mg происходит снижение эффективного коэффициента распределения Р. Термодинамические расчеты взаимодействия примесей В и Р с одной стороны и третьего компонента (О, Zr, Ni, Na, Mn, Mg, Cr, Cu, Zn, Ca, P, C, Al, V, Ti, Fe) с другой стороны показали положительное влияние О, Zr, Ni, Na, Mn, Mg, Cr, Cu на коэффициент активности (а значит, и растворимость) В и Р в расплаве Si при 1420–1620 °С [14]. Этим результатам противостоят ранние данные, полученные с привлечением этой базы данных и этого же программного комплекса PACT (SINTEF Materials and Chemistry). Ранние результаты говорят о том, что из всех примесей только As, Sb, Sn, Zn, выступающие в качестве третьего компонента, уменьшают равновесный коэффициент распределения в кремнии первичной примеси [15]. При объяснении дугообразной формы профиля распределения ряда элементов в слитках кремния предполагалась двойственность поведения примеси. Отмечалось, что в начальной части формируется концентрационный профиль со снижением концентрации, затем переходная область, за которой следует область нарастания концентрации вплоть до выпадения в конечную порцию расплава второй фазы. Суть такого поведения в

том, что одновременная интеграция в кристалл примеси, связанной и не связанной с О, происходит с разными коэффициентами сегрегации (в комплексах с О $k_0 \geq 1$, а в элементарной форме $k_0 < 1$). Дугообразный характер распределения в слитках наблюдали, например, для Ti, Zr, Hf (в Si) [19]. Начальная часть кривой распределения предположительно соответствовала растворению в кристалле кремния сложного комплекса, образовавшегося в расплаве и содержащего атомы металла, кремния и кислорода. Снижение содержания кислорода в монокристаллах, выращенных методом Чохральского с добавкой примеси-геттера, по сравнению с обычными монокристаллами косвенно подтверждает такое взаимодействие, однако противоречит гипотезе о растворении в кристалле сложного комплекса [17].

3. *Сегрегация на границах зерен.* Мы полагаем, что подобная двойственность поведения примеси, не являющейся геттером кислорода, может обеспечиваться границами зерен в месте их выхода на границу с расплавом. Являясь эффективной ловушкой захвата примеси из пограничного слоя, межзеренная граница в принципе способна обеспечить «беспрепятственный» переход части примеси через границу расплава-кристалл. Наибольшая плотность границ находится в нижней части слитка, чему, вероятно, способствует форма усеченного конуса у тигля с минимальным поперечным сечением на дне. Применительно к данному фактору обратную корреляцию профилей для какой-либо пары примесей, вероятно, следует связывать с существенным различием соответствующих равновесных коэффициентов распределения в кремнии сопоставляемых элементов и/или их коэффициентов диффузии в твердой фазе [18]. Сегрегация на границе зерен (рис. 2) в обоих слитках показана на примере примеси К.

4. *Захват жидких включений* легкоплавких соединений и одиночных элементов фронтом кристаллизации также предполагает значительную порцию поступления примеси в кристалл (см. табл. 3).

5. *Донорно-акцепторное взаимодействие* в твердом Si прежде всего влияет на электрофизические свойства полупроводника. Из общих представлений можно предположить, что примесь не задерживается у границы кристалл-расплав и диффундирует в наиболее выгодную ей кристаллохимическую позицию замещения или внедрения (октаэдрические или тетраэдрические поры). Процесс диффузии примеси в твердом теле в целом протекает медленнее, чем массоперенос при направленной кристаллизации, поэтому данный фактор мы указываем последним. Каналами усиленной диффузии примесей могут быть границы зерен и дислокации [18].

²Лысенко Л. Н. Использование нейтральных примесей, компенсированных основой, для производства монокристаллов кремния: дис. ... канд. тех. наук. М., 2001. 238 с.

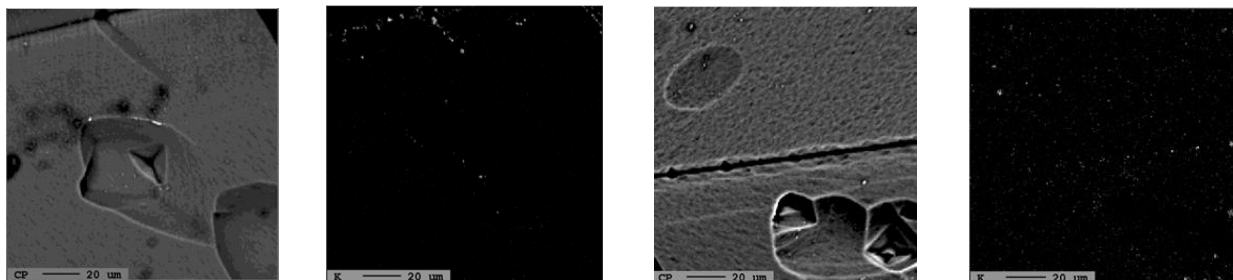


Рис. 2. Граница в слитке n-типа, включения К в слитке n-типа, граница в слитке p-типа, включения К в слитке p-типа (слева направо, масштаб $136 \times 136 \text{ мкм}^2$, содержание в относительных единицах от 0 до 1: 0 – черный; 1 – белый)

Fig. 2. Boundary in n-type ingot, K inclusions in n-type ingot, boundary in p-type ingot, K inclusions in p-type ingot (left to right, scale $136 \times 136 \text{ } \mu\text{m}^2$, content in relative units from 0 to 1: 0 – black; 1 – white)

Движение самих дислокаций и образование двойниковых границ возможны во всем интервале пластичности кремния от $0,6 \times T_{\text{пл}}$ до $T_{\text{пл}}$ [19]. И если какой-либо структурный дефект создает заряженные центры, то неравномерность его распределения способствует неравномерности распределения некой противоположно заряженной диффундирующей примеси. Например, диффузия атомов Си по междоузлиям в сторону вакансий кристаллической решетки Si, занятых Р [20]. Когда они их достигают, донорные атомы Р отдают электроны акцепторным атомам Си с образованием ионных пар Си–Р. По данным [3], примеси Р, Mg, Li, Na, Ca, Zr, К – доноры, примеси В, Al, Zn, Ni – акцепторы, примеси О, Ge, Си, Со, Fe, Mn, Cr, V, Ti являются амфотерными. Донорному состоянию амфотерной примеси, как правило, соответствует размещение атома в узле кристаллической решетки, а акцепторному – его размещение в междоузлии [3]. Пример с амфотерной примесью Си показывает способность атома (в числе прочих вариантов) к спариванию с таким же атомом Си [21]. Большое значение имеет состояние кислорода. На преципитатах SiO₂ адсорбируются, например, примеси щелочных металлов Li, Na, К (доноры). Перевод кислорода из междоузельной формы в преципитаты может происходить с образованием промежуточных донорных состояний, например, в результате прямого взаимодействия кислорода и вакансии. Отсюда следует, что возможна пассивация акцепторной формы примеси (Си, Fe) [19]. Некоторые пары отрицательно влияют на ВЖ NH₃, например, Al–О, В–О, Fe–В [2, 3]. Образование пар может приводить как к увеличению, так и уменьшению растворимости составных элементов [19, 20]. Тем не менее существенного влияния на эффективные коэффициенты распределения примесей от этого процесса ожидать не стоит.

Каждый из перечисленных выше факторов отвечает за прямую или обратную корреляцию в зависимости от свойств элементов в рассматриваемой паре, кроме k_0 (см. табл. 2). Формы профилей распределения примесей с нарушением синхронности в отношении друг друга по длине

кристалла объясняются факторами 2–5. Фактор индивидуального поведения примеси в кремнии не может за это отвечать по определению. При отсутствии нарушений синхронности профилей распределения коэффициенты парной корреляции должны принимать значения либо 1, либо -1, поскольку корреляция является ранговой.

Из данных, представленных в табл. 1 и 2, следует:

1. Фактор соотношения растворимостей индивидуальной примеси в твердом и жидком кремнии (k_0) не является универсальным объяснением парной корреляции элементов в слитке. В этом случае число корреляций концентрации примеси с номером слоя в слитке с $KK > 0,5$ и $KK < 0,5$ было бы равно 18, а не 5 в слитке n-типа, и 20, а не 9 в слитке p-типа.

2. Обращают на себя внимание примеси Zn и К. Равновесный коэффициент распределения Zn существенно меньше 1 (стремится к 0), но профиль его распределения в обоих слитках имеет обратную корреляцию с нумерацией слоев, что усиливает предыдущий пункт. В отношении Zn показано, что это единственная из нашего набора примесей, выделяющаяся тем, что соотношением ее активностей в твердом и жидком кремнии (в роли третьего компонента) обусловлено уменьшение k_0 первичной примеси [15]. При отсутствии диаграммы состояния бинарной системы Si–К в справочниках про калий в принципе что-либо сказать было бы нельзя, если бы мы не наблюдали повышенную его сегрегацию на границах зерен (см. рис. 2). На основе этого будем полагать, что К характеризуется равновесным коэффициентом распределения $k_0 \rightarrow 0$.

Анализ данных, представленных в табл. 4. Анализ примесей, перечисленных в табл. 1–2, показал, что только элементы, указанные в табл. 4, понижают ΔG системы Si–О–Х. Можно видеть, что элементы Ca, Mg, Ti, Zr, Li, Al способны взаимодействовать в расплаве кремния с кислородом с образованием комплексов (выделенных полужирным начертанием), имеющих высокую температуру плавления. Значения ΔG в табл. 4, характеризующие взаимодействие без компонента Х, выделены курсивом.

Анализ данных, представленных в табл. 3, 5–7. Еще раз заметим, что фактор соотношения растворимостей примеси в твердом и жидком кремнии (K_0) не является универсальным объяснением парной корреляции элементов в слитке. В этом случае число парных корреляций с $KK > 0,5$ и $KK < -0,5$: а) для п-слитка было бы не 42, а немногим менее 153 (число сочетаний в наборе – O, Li, B, Na, Mg, Al, P, K, Ca, Ti, V, Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, Ge, Zr); б) для р-слитка – не 48, а немногим менее 190 (тот же набор, а также Co и Ni).

Обратную корреляцию для пары V–Ni ($KK = -0,58$) в слитке р-типа объясняет только донорно-акцепторное взаимодействие в твердой фазе при том, что примесь V является амфотерной. Иначе остается предположить влияние взаимодействия в расплаве Ni, V с одной стороны и иных элементов с другой стороны.

В табл. 3 показана возможность образования в расплаве соединений VB_2 , TiB_2 , ZrB_2 . Для составляющих эти фазы элементов отсутствует заметная корреляция соответствующих профилей распределения. Исключение составляет пара Mg–Ti в слитке р-типа ($KK = 0,59$). Однако стоит заметить, что взаимодействие элементов в этой паре не прямое, а с участием кислорода (Mg_2TiO_4).

Аналогичным несоответствием характеризуются пары составных элементов фосфидов Cu_3P , Mg_3P_2 за исключением Ni_2P (для пары Ni–P в слитке р-типа $KK = 0,61$). Указанные фосфиды не отличаются высокой температурой плавления, поэтому о соответствующем взаимодействии в расплаве элементов данных пар говорить не приходится. Этому, в частности, противоречит объяснение распределения Mg и P при выращивании кремния методом бестигельной зонной плавки³. В данной работе автор полагает, что снижение эффективного коэффициента распределения P с увеличением добавки Mg происходит именно за счет их взаимодействия в расплаве с образованием малорастворимого в твердой фазе комплекса. При температурах 1412 ± 1 °C каких-либо соединений Mg и P расчет фазовых равновесий не выявил (см. табл. 3). Тем не менее результат расчета в работе [14], показывающий увеличение активности (а значит, и растворимости) P в расплаве Si в присутствии Mg, согласуется с самим результатом эксперимента⁴.

Низкие значения большинства коэффициентов корреляции в табл. 1, 5–7 (т.е. когда коэффициент корреляции заметно меньше 1, но больше 0,5) объяснимы противостоянием друг другу факторов прямой и обратной корреляции.

В большинстве случаев парная корреляция объясняется одним или несколькими физическими факторами, кроме соотношения растворимостей примеси в твердом и жидком кремнии. Можно наблюдать примеры того, как в одном слитке пара показывает прямую корреляцию ($KK > 0,5$) и в другом слитке обратную корреляцию ($KK < -0,5$). Число заметных обратных корреляций в слитках п- и р-типа равно 8 и 12 соответственно (без учета Co и Ni, показавших в слитке п-типа содержание ниже предела обнаружения).

Анализ данных, представленных в табл. 8. В слитке п-типа с элементами B, Ge связано положительное или как минимум отсутствие отрицательного влияния на ВЖ ННЗ, а с элементами Cr, Mn, Zn связано объяснимое отрицательное влияние на ВЖ ННЗ (см. табл. 2). В слитке р-типа с Zr связано положительное или как минимум отсутствие отрицательного влияния на ВЖ ННЗ, а с элементами B, Co связано отрицательное влияние на ВЖ ННЗ. Для примеси Co это влияние объяснимо (см. табл. 2).

Известно, что в общем случае образование прочных химических связей с основой предопределяет электрическую нейтральность примеси⁵. В этой связи не находит объяснения обратная корреляция содержания Ca и Mg со значением УЭС в обоих слитках (в слитке р-типа она заметно выше). Бинарные системы Ca–Si и Mg–Si характеризуются наличием конгруэнтно плавящихся соединений Ca_2Si и Mg_2Si , по которым каждая из диаграмм делится на 2 части. Аналогично не находит объяснения обратная корреляция УЭС в слитке р-типа с содержанием примеси Ti (в бинарной системе Ti–Si конгруэнтно плавящиеся соединения – Ti_5Si_3 и $TiSi_2$). Аналогичная ситуация с содержанием Ni в слитке р-типа. Поэтому будем считать обратную корреляцию содержания этих примесей со значением УЭС простым совпадением.

Также совпадением можно считать обратную корреляцию содержания P и Ge со значением УЭС в слитке р-типа, прямую корреляцию малых концентраций Zr, Ge со значением ВЖ ННЗ в слитке п-типа. Прямая корреляция содержания P с УЭС и содержания B с ВЖ ННЗ в слитке п-типа наводит на мысль о влиянии уровня компенсации на УЭС и ВЖ ННЗ. Положительное влияние компенсации на ВЖ ННЗ исследовали в работе [22].

Содержание примеси Zn имеет прямую корреляцию с УЭС в слитке р-типа, хотя Zn является электрически активным, т.к. не имеет соединений в бинарной системе с Si (простая эвтектика). Мы предполагаем его компенсирующее влияние путем донорно-акцепторного взаимодей-

³Лысенко Л. Н. Использование нейтральных примесей, компенсированных основой, для производства монокристаллов кремния: дис. ... канд. тех. наук. М., 2001. 238 с.

⁴Там же.

⁵Лысенко Л. Н. Использование нейтральных примесей, компенсированных основой, для производства монокристаллов кремния: дис. ... канд. тех. наук. М., 2001. 238 с.

ствия с примесью К, содержание которого также имеет прямую корреляцию с содержанием Zn и УЭС в слитке р-типа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что сходство в индивидуальном поведении примесей при направленной кристаллизации кремния, характеризуемого равновесным коэффициентом распределения k_0 , не является универсальным объяснением парной корреляции элементов в слитке. С позиции прямого взаимодействия примесей обратная корреляция профилей распределения элементов пары V–Ni в слитке р-типа объясняется только донорно-акцепторным взаимодействием в твердом кремнии при том, что примесь V является амфотерной. Существенное влияние на профили рас-

пределения элементов в слитке mc-Si со значением $k_0 \rightarrow 0$ оказывает фактор связывания части примеси в форму, в которой она переходит границу расплав–кристалл как минимум «беспрепятственно». Такое связывание может быть обусловлено взаимодействием примеси в расплаве с кислородным фоном, сегрегацией примеси на границах зерен и ее захватом фронтом кристаллизации в составе жидкого включения. Заметную корреляцию профилей распределения примесей в слитке кремния показали пары, элементы которых не взаимодействуют с образованием химических соединений в интервале температур 25–1413 °С. Расчеты фазовых равновесий в системе кремний–все примеси показали возможность образования в расплаве твердых фаз VB_2 , TiB_2 , ZrB_2 и Mg_2TiO_4 .

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Nakajima K., Usami N. Crystal growth of silicon for solar cells. Berlin: Springer, 2009. 269 p.
2. Osinniy V., Bomholt P., Nylandsted Larsen A., Enebak E., Søiland A.-K., Tronstad R., et al. Factors limiting minority carrier lifetime in solar grade silicon produced by the metallurgical route // *Solar Energy Materials and Solar Cells*. 2011. Vol. 95, no. 2. P. 564–572. <https://doi.org/10.1016/j.solmat.2010.09.017>.
3. Chen J.-W., Milnes A. G. Energy levels in silicon // *Annual Review of Materials Research*. 1980. Vol. 10. P. 157–228. <https://doi.org/10.1146/annurev.ms.10.080180.001105>.
4. Bathey B. R., Cretella M. C. Solar-grade silicon // *Journal of Materials Science*. 1982. Vol. 17. P. 3077–3096. <https://doi.org/10.1007/BF01203469>.
5. Непомнящих А. И., Пресняков Р. В. Распределение примесей в процессе выращивания мультикристаллического кремния // *Неорганические материалы*. 2018. Т. 54. N 4. С. 335–339. <https://doi.org/10.7868/S0002337X18040012>.
6. Непомнящих А. И., Пресняков Р. В., Антонов П. В., Бердников В. С. Влияние режима выращивания на макроструктуру слитка мультикристаллического кремния // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2012. N 1. С. 28–34.
7. Басин А. С., Шишкин А. В. Получение кремниевых пластин для солнечной энергетики. Методы и технологии. Новосибирск: Ин-т теплофизики СО РАН, 2000. 195 с.
8. Chase M. W., Davies C. A., Downey J. R., Frurip D. J., McDonald R. A., Syverud A. N. JANAF thermochemical tables // *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. 1985. Issue 14. P. 927–1856.
9. Martorano M. A., Ferreira Neto J. B., Oliveira T. S., Tsubaki T. O. Refining of metallurgical silicon by directional solidification // *Materials Science and Engineering: B*. 2011. Vol. 176, no. 3. P. 217–226. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2010.11.010>.
10. Yokokawa H. Tables of thermodynamic functions for inorganic compounds // *Journal National Chemical Laboratory for Industry*. 1988. Vol. 83. P. 27–121.
11. Мюллер Г. Выращивание кристаллов из расплава. Конвекция и неоднородности / пер. с англ. А. В. Бунэ. М.: Мир, 1991. 149 с.
12. Баранник С. В., Канищев В. Н. Особенности начального переходного процесса кристаллизации бинарного расплава // *Кристаллография*. 2010. Т. 55. N 5. С. 935–939.
13. Beatty K. M., Jackson K. A. Monte Carlo modeling of silicon crystal growth // *Journal of Crystal Growth*. 2000. Vol. 211, no. 1-4. P. 13–17. [https://doi.org/10.1016/S0022-0248\(99\)00836-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0248(99)00836-2).
14. Dalaker H. Thermodynamic computations of the interaction coefficients between boron and phosphorus and common impurity elements in liquid silicon // *Computer Methods in Materials Science*. 2013. Vol. 13, no. 3. P. 407–411.
15. Tang K., Øvrelid E. J., Tranell G., Tangstad M. A thermochemical database for the solar cell silicon materials // *Materials Transactions*. 2009. Vol. 50, no. 8. P. 1978–1984. <https://doi.org/10.2320/matertrans.M2009110>.
16. Прокофьева В. К., Соколов Е. Б., Суанов М. Е., Карамов А. Г. Влияние примесей Ti, Zr, Hf на процесс очистки кремния от кислорода // *Высококачественные вещества*. 1988. N 6. С. 72–74.
17. Соколов Е. Б., Прокофьева В. К., Белянина Е. В. Кремний, полученный с использованием геттерирования расплава // *Электронная промышленность*. 1995. Т. 4. N 5. С. 68–69.
18. Харбеке Г. Полукристаллические полупроводники. Физические свойства и применения / пер. с англ. М.: Мир, 1989. 341 с.
19. Рейви К. Дефекты и примеси в полупроводниковом кремнии / пер. с англ. М.: Мир, 1984. 475 с.
20. Красников Г. Я., Зайцев Н. А. Система кремний-диоксид кремния субмикронных СБИС. М.: Техносфера, 2003. 384 с.
21. Knack S. Copper-related defects in silicon // *Materials Science in Semiconductor Processing*. 2004. Vol. 7, no. 3. P. 125–141. <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2004.06.002>.

22. Dubois S., Enjalbert N., Garandet J. P. Effects of the compensation level on the carrier lifetime of crystalline silicon // *Applied Physics Letters*.

2008. Vol. 93, no. 3. P. 032114. <https://doi.org/10.1063/1.2961030>.

REFERENCES

1. Nakajima K., Usami N. *Crystal growth of silicon for solar cells*. Berlin: Springer; 2009. 269 p.
2. Osinniy V., Bomholt P., Nylandsted Larsen A., Enebak E., Søiland A.-K., Tronstad R., et al. Factors limiting minority carrier lifetime in solar grade silicon produced by the metallurgical route. *Solar Energy Materials and Solar Cells*. 2011;95(2):564-572. <https://doi.org/10.1016/j.solmat.2010.09.017>.
3. Chen J.-W., Milnes A. G. Energy levels in silicon. *Annual Review of Materials Research*. 1980;10:157-228. <https://doi.org/10.1146/annurev.ms.10.080180.001105>.
4. Bathey B. R., Cretella M. C. Solar-grade silicon. *Journal of Materials Science*. 1982;17:3077-3096. <https://doi.org/10.1007/BF01203469>.
5. Nepomnyashchikh A. I., Presnyakov R. V. Distribution of impurities in the process of growing multicrystalline silicon. *Neorganicheskie materialy = Inorganic Materials*. 2018;54(4):335-339. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0002337X18040012>.
6. Nepomnyashchikh A. I., Presnyakov R. V., Antonov P. V., Berdnikov V. S. Impact of growth mode on multicrystalline silicon ingot macrostructure. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2012;(1):28-34. (In Russian).
7. Basin A. S., Shishkin A. V. *Obtaining silicon wafers for solar energy. Methods and technologies*. Novosibirsk: Institut teplofiziki SO RAN; 2000. 195 p. (In Russian).
8. Chase M. W., Davies C. A., Downey J. R., Frurip D. J., McDonald R. A., Syverud A. N. JANAF thermochemical tables. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. 1985;(14):927-1856.
9. Martorano M. A., Ferreira Neto J. B., Oliveira T. S., Tsubaki T. O. Refining of metallurgical silicon by directional solidification. *Materials Science and Engineering: B*. 2011;176(3):217-226. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2010.11.010>.
10. Yokokawa H. Tables of thermodynamic functions for inorganic compounds. *Journal National Chemical Laboratory for Industry*. 1988;83:27-121.
11. Müller G. Crystal Growth from the Melt. Convection and inhomogeneities; 1988. 136 p. (Russ. ed.: Myuller G. *Vyrashchivanie kristallov iz rasplava. Konvektsiya i neodnorodnosti*. Moscow: Mir; 1991. 149 p.).
12. Barannik S. V., Kanishchev V. N. Features of the initial transient process of a binary melt crystallization. *Kristallografiya = Crystallography Reports*. 2010;55(5):935-939. (In Russian).
13. Beatty K. M., Jackson K. A. Monte Carlo modeling of silicon crystal growth. *Journal of Crystal Growth*. 2000;211(1-4):13-17. [https://doi.org/10.1016/S0022-0248\(99\)00836-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0248(99)00836-2).
14. Dalaker H. Thermodynamic computations of the interaction coefficients between boron and phosphorus and common impurity elements in liquid silicon. *Computer Methods in Materials Science*. 2013;13(3):407-411.
15. Tang K., Øvrelid E. J., Tranell G., Tangstad M. A thermochemical database for the solar cell silicon materials. *Materials Transactions*. 2009;50(8):1978-1984. <https://doi.org/10.2320/matertrans.M2009110>.
16. Prokof'eva V. K., Sokolov E. B., Suanov M. E., Karamov A. G. Influence of Ti, Zr, Hf impurities on the process of oxygen removal of silicon. *Vysokochistye veshchestva*. 1988;6:72-74. (In Russian).
17. Sokolov E. B., Prokof'eva V. K., Belyanina E. V. Silicon obtained using melt gettering. *Elektronnaya promyshlennost'*. 1995;4(5):68-69. (In Russian).
18. Harbeke G. Polycrystalline semiconductors. Physical properties and applications; 1985. 248 p. (Russ. ed.: Kharbeke G. *Polikristallicheskie poluprovodniki. Fizicheskie svoystva i primeneniya*. Moscow: Mir; 1989. 341 p.).
19. Ravi K. V. Imperfections and impurities in semiconductor silicon; 1981. 472 p. (Russ. ed.: Reivi K. *Defekty i primesi v poluprovodnikovom kremnii*. Moscow: Mir; 1984. 475 p.).
20. Krasnikov G. Ya., Zaitsev N. A. *Silicon-silicon dioxide submicron VLSI system*. Moscow: Tekhnosfera; 2003. 384 p. (In Russian).
21. Knack S. Copper-related defects in silicon. *Materials Science in Semiconductor Processing*. 2004;7(3):125-141. <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2004.06.002>.
22. Dubois S., Enjalbert N., Garandet J. P. Effects of the compensation level on the carrier lifetime of crystalline silicon. *Applied Physics Letters*. 2008;93(3):032114. <https://doi.org/10.1063/1.2961030>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Р. В. Пресняков,
к.ф.-м.н., научный сотрудник,
Институт геохимии им. А. П. Виноградова
СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1А,
Российская Федерация,
ropr81@mail.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Roman V. Presnyakov,
Cand. Sci. (Physics and Mathematics),
Researcher,
Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS,
1A, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
ropr81@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2717-7661>

С. М. Пещерова,
к.ф.-м.н., старший научный сотрудник,
Институт геохимии им. А. П. Виноградова
СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1А,
Российская Федерация,
spescherova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3447-4808>

А. Г. Чуешова,
аспирант, инженер-исследователь,
Институт геохимии им. А. П. Виноградова
СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1А,
Российская Федерация,
trill6521@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1107-3179>

В. А. Бычинский,
к.г.-м.н., старший научный сотрудник,
Институт геохимии им. А. П. Виноградова
СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1А,
Российская Федерация,
val@igc.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7120-089X>

А. И. Непомнящих,
д.ф.-м.н., профессор,
главный научный сотрудник,
Институт геохимии им. А. П. Виноградова
СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1А,
Российская Федерация,
ainep@igc.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5291-3432>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-
тельный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 30.09.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.

<https://orcid.org/0000-0002-2717-7661>

Svetlana M. Peshcherova,
Cand. Sci. (Physics and Mathematics),
Senior Researcher,
Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS,
1A, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
spescherova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3447-4808>

Anastasiya G. Chueshova,
Postgraduate Student, Research Engineer,
Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS,
1A, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
trill6521@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1107-3179>

Valerii A. Bychinskii,
Cand. Sci. (Geology and Mineralogy),
Senior Researcher,
Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS,
1A, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
val@igc.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7120-089X>

Aleksandr I. Nepomnyashchikh,
Dr. Sci. (Physics and Mathematics),
Chief researcher,
Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS,
1A, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
ainep@igc.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5291-3432>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests re-
garding the publication of this article.

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

Information about the article

The article was submitted 30.09.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.

Научная статья

УДК 543.05

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-30-37>



Сорбция ионов серебра (I) синтетическим сорбентом из водных растворов

Нармин Тофик кызы Эфендиева, Абель Мамедали оглы Магеррамов,
Фамиль Муса оглы Чырагов

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан

Автор, ответственный за переписку: Эфендиева Нармин Тофик кызы, afandiyeva.narmin@mail.ru

Аннотация. Цель настоящего исследования заключается в изучении сорбции ионов серебра синтетическим хелатообразующим сорбентом из водных растворов. В присутствии формальдегида синтезирован полимерный сорбент на основе сополимера стирола с малеиновым ангидридом, модифицированный N,N'-дифенилгуанидином, который впервые применен для извлечения Ag(I). Состав и строение синтезированного полимерного хелатообразующего сорбента были изучены методами ИК- и УФ-спектроскопии. Использован простой, недорогой и эффективный метод извлечения ионов Ag(I) из водных растворов. Исследовано влияние на процесс сорбции различных сорбционных параметров: кислотности среды (pH); начальной концентрации иона металла; времени, необходимого для установления полного сорбционного равновесия; ионной силы. Оптимальное значение pH для извлечения Ag(I) составляет 6. Процесс характеризуется высокой адсорбционной способностью, которая достигает значения 547,2 мг/г. В результате проведенных исследований определено, что время, необходимое для установления полного сорбционного равновесия для сорбента, модифицированного N,N'-дифенилгуанидином, составляет 60 мин. Адсорбция Ag(I) увеличивается с ростом ионной силы до $\mu = 1$, а затем уменьшается. На конечном этапе был проведен процесс десорбции поглощенных ионов серебра. В процессе десорбции было обнаружено, что лучшим элюирующим агентом для извлечения Ag(I) является 0,5 М HNO₃. Возможно многократное использование регенерированного сорбента для концентрирования. Соплимер стирола и малеинового ангидрида, модифицированного N,N'-дифенилгуанидином, имеет высокое значение сорбционной емкости и благодаря данному преимуществу может быть применен в качестве потенциального адсорбента для извлечения серебра (I) из водных растворов.

Ключевые слова: серебро (I), хелатообразующий синтетический сорбент, сорбция, концентрирование

Для цитирования: Эфендиева Н. Т., Магеррамов А. М., Чырагов Ф. М. Сорбция ионов серебра (I) синтетическим сорбентом из водных растворов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 30–37. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-30-37>.

CHEMICAL SCIENCES

Original article

Sorption of silver (I) ions from aqueous solutions using the synthetic sorbent

Narmin T. Afandiyeva, Abel M. Maharramov,
Famir M. Chyragov

Baku State University, Baku, Azerbaijan

Corresponding author: Narmin T. Afandiyeva, afandiyeva.narmin@mail.ru

Abstract. We study the sorption of silver ions from aqueous solutions by a synthetic chelating sorbent. In the presence of formaldehyde, a polymeric sorbent based on a copolymer of styrene with maleic anhydride, modified with N,N'-diphenylguanidine, was synthesized and further used for extracting Ag(I) ions. The composition and structure of the synthesized polymeric chelating sorbent were studied using IR and UV spectroscopy methods. A simple, inexpensive, and efficient method for extracting Ag(I) ions from aqueous solutions was used. The effect of various parameters on the sorption process was studied, including the acidity of the medium (pH), the initial concentration of the metal ion, the time required to establish complete sorption equilibrium, and ionic strength. The optimum pH value for the extraction of Ag(I) was found to be 6. The pro-

cess is characterized by a high adsorption capacity reaching 547.2 mg/g. The research results showed that the time required to establish a complete sorption equilibrium for the sorbent modified with N,N'-diphenylguanidine is 60 min. Ag(I) adsorption increases up to the value of ionic strength of $\mu = 1$, after which its intensity decreases. At the final stage, the process of desorption of absorbed silver ions was carried out. During desorption, the best eluting agent for the extraction of Ag(I) was determined to be 0.5 M HNO₃. The sorbent can be re-used after regeneration. The copolymer of styrene and maleic anhydride modified with N,N'-diphenylguanidine has a high sorption capacity and, therefore, can be used as a potential adsorbent for the extraction of silver (I) from aqueous solutions.

Keywords: silver (I), chelating synthetic sorbent, sorption, concentration

For citation: Afandiyeva N. T., Maharramov A. M., Chyragov F. M. Sorption of silver (I) ions from aqueous solutions using the synthetic sorbent. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):30-37. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-30-37>.

ВВЕДЕНИЕ

Серебро является одним из драгоценных металлов и с давних времен используется для изготовления зеркал, ювелирных украшений и монет. Обладая высокой электро- и теплопроводностью, серебро активно применяется в электронике, медицине, фотографии и других сферах. Металлическое серебро не является опасным для человека веществом. Однако при переходе в раствор в виде ионов серебра или химического соединения свойства серебра начинают меняться. Например, нитрат серебра действует раздражающе на кожу и слизистые оболочки, а при продолжительном воздействии может вызвать серьезные химические ожоги. Первым признаком хронического отравления серебром является усиленная пигментация радужной оболочки глаза. Продолжительное воздействие ионов серебра вызывает аргирию (или аргироз) [1], при этом мельчайшие частички серебра откладываются не только в коже, но и в волосах, на слизистых оболочках и во внутренних органах. При аргирии кожа принимает серовато-синий цвет. Происходит необратимая пигментация кожи: на открытых для солнца участках кожа темнеет, приобретая цвет загара, так как серебро стимулирует выработку меланина. Это заболевание может развиваться при длительном применении медицинских препаратов на основе серебра или при употреблении серебряной воды: природная вода, используемая для питья, в норме содержит 5 мг серебра на 1 л воды, а вода, в которую добавляют серебро с целью дезинфекции, – 50 мг, то есть в 10 раз больше. Всемирная организация здравоохранения определяет предел допустимых концентраций серебра как 100 мкг/л (0,1 мг/л)¹.

Серебро является тяжелым металлом, а ионное серебро называют клеточным ядом, поскольку его высокая концентрация вызывает нарушение работы ферментов внутри клетки, которые ответственны за метаболизм и размножение, что приводит к нарушению нормальной работы и последующей ее гибели. Санитарной

токсикологической службой серебро признано высокоопасным химическим веществом, имеющим 2-й класс опасности.

Известны такие методы извлечения серебра, как экстракция, ионный обмен, сорбция [2–11]. Среди указанных методов сорбция благодаря простоте и эффективности процесса используется как эффективный метод извлечения ряда ионов тяжелых металлов.

Х.-Г. Ли с соавторами [12] изучали адсорбцию ионов Ag(I) на микрочастицах поли(о-фенилендиамина), синтезированных путем химической окислительной полимеризации о-фенилендиамина. Максимальная адсорбционная способность по отношению к ионам серебра составила 533 мг·г⁻¹. В. J. Anderson и др. исследовали сорбцию серебра слабокристаллизованными оксидами марганца. Марганцевые манганиты показали наибольшую сорбцию при pH = 7 [13]. Т. Jintakosola с соавторами использовали композитные шарики хитозан/монтмориллонит в качестве адсорбентов для извлечения иона серебра (I) из водного раствора. Серебро (I) быстрее адсорбировалось в первые 30 мин [14]. А. А. Atia и др. применяли глицидилметакрилат/дивинилбензолную смолу для извлечения серебра (I) из водных растворов [15]. Н. Yirikoglu и др. использовали хелатирующие смолы меламина-формальдегид-тиомочевина (МФТ) для отделения и извлечения ионов серебра (I) от ионов щелочных металлов. Максимальная сорбционная емкость смолы МФТ по отношению к ионам серебра была определена как 60,05 мг/г пакетным методом и 11,08 мг/г коллоидным методом [16].

Широко применяется адсорбция с использованием синтетических хелатообразующих сорбентов, которые проявляют высокую сорбционную емкость по отношению к ионам тяжелых металлов и являются эффективными для их извлечения из водных растворов [17–19]. Известно, что для определения тяжелых металлов важны хелатообразующие лиганды, содержащие донорные атомы кислорода, азота, серы, йода и

¹Silver in Drinking-water, World Health Organization, 2003. Originally published in Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed. Vol. 2. Health criteria and other supporting information. Geneva: World Health Organization, 1996.

других элементов.

Цель настоящего исследования заключалась в сорбционном концентрировании ионов серебра (I) из водных растворов синтетическим сорбентом, полученным на основе сополимера стирола с малеиновым ангидридом (ССМА), модифицированным N,N'-дифенилгуанидином из водных растворов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты. Все химические вещества и реагенты, использованные в анализе, имеют классификацию ч.д.а. Стандартный раствор серебра (I) получали растворением соответствующего количества AgNO_3 в дистиллированной воде и добавлением 2–3-х капель концентрированной HNO_3 . Рабочие растворы готовили из стандартного раствора разбавлением дистиллированной водой. Раствор реагента концентрацией $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л готовили с использованием бидистиллированной воды. Оптическую плотность растворов измеряли на фотоколориметре КФК-2 (АО «Загорский оптико-механический завод», Россия) в кюветах с толщиной поглощающего слоя, равной 1 см.² Исследования адсорбции проводились с использованием $1,0 \cdot 10^{-2}$ моль/л водного раствора AgNO_3 .

Влияние pH на адсорбцию ионов серебра (I) изучали в диапазоне значений от 3 до 8, pH буферных растворов поддерживали постоянным с использованием растворов уксусной кислоты и гидроксида аммония. Влияние ионной силы на адсорбцию исследовали с применением 2 моль/л раствора KCl. В процессе десорбции использовали 0,5 моль/л раствора KOH.

Для синтеза сорбента применяли сополимер стирола с малеиновым ангидридом (рис. 1, а) и N,N'-дифенилгуанидином (рис. 1, б) в качестве амина.

Оборудование. pH растворов измеряли с помощью иономера PHS-25 со стеклянным электродом (Чжэцзян, Китай). Равновесные концентрации ионов металла были определены на фотоколориметре КФК-2 (АО «Загорский оптико-механический завод», Россия) в кюветах с толщиной поглощающего слоя $l=1$ см. Для перемешивания растворов использовали термомиксер Orbital Shaker TS-1 (Analytik Jena GmbH, Китай). Сорбент высушивали в сушильном шкафу Zymark TurboVar LV (Marshall Scientific, США). Инфракрасные измерения сорбента были получены с применением спектрометра Varian 3600 Fourier Transform (Varian Inc., Япония) в диапазоне от 400 до 4000 см^{-1} . УФ-спектр сорбента был получен с использованием спектрофотометра Specord 210 Plus (Analytic Jena AG, Германия) в диапазоне длин волн 190–1100 нм.

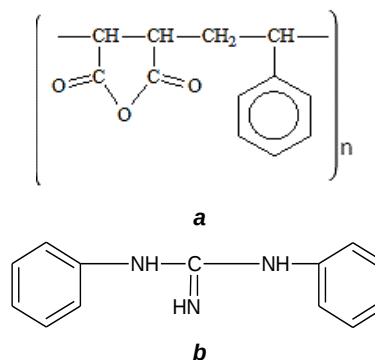


Рис. 1. Молекулярное строение сополимера стирола с малеиновым ангидридом (а) и N,N'-дифенилгуанидином (б)

Fig. 1. Molecular structure of the maleic anhydride styrene copolymer (a) and N,N'-diphenylguanidine (b)

Синтез хелатного адсорбента проводили по методике, представленной в работе³. Для синтеза сорбента в колбу добавляли 3 г сополимера малеинового ангидрида со стиролом и соответствующее количество амина. N,N'-дифенилгуанидин растворяли в воде. Реакция протекала в песчаной бане с непрерывным перемешиванием в присутствии формалина при температуре 333,15–343,15 К и длилась примерно 32–40 мин. Так как процесс синтеза происходит в водной среде, ангидридные группы сополимера подвергаются гидролизу. Из-за взаимного влияния формальдегида и амина образуется нестабильный карбониламин. Полученный карбониламин взаимодействует с карбоксильными группами макромолекулы, и аминный фрагмент входит в макромолекулу.

По окончании реакции полученный продукт отфильтровывали, промывали, высушивали, измельчали и использовали в дальнейших исследованиях. Состав и структура полученного сорбента были изучены методом ИК- и УФ-спектроскопии. Схематическое изображение процесса поликонденсации представлено на рис. 2.

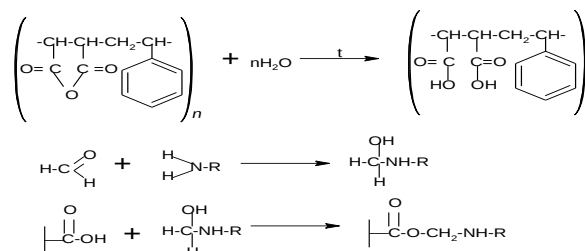


Рис. 2. Схематическое изображение процесса поликонденсации

Fig. 2. Schematic representation of the polycondensation process

²Булатов М. И., Калинин И. П. Практическое руководство по фотометрическим и спектрофотометрическим методам анализа. 5-е изд., перераб. Л.: Химия, 1986. 432 с.

³Акперов О. Г. Практикум по химии высокомолекулярных соединений: учеб. пособие. Баку, 2002. 224 с.

Концентрирование. Все эксперименты по адсорбции проводились в статических условиях при комнатной температуре. Аммиачно-ацетатные буферные растворы готовили, используя 0,1 моль/л NH_4OH и 0,1 моль/л CH_3COOH .

Сорбционную емкость сорбента, Q (мг/г), по отношению к ионам Ag(I) рассчитывали по уравнению:

$$Q = \frac{(C_0 - C_e)V}{m}, \quad (1)$$

где C_0 – начальная концентрация ионов серебра, моль/л; C_e – концентрация ионов серебра после сорбции, моль/л; V – объем раствора; m – масса сорбента, мг. Максимальная сорбционная емкость сорбента к ионам серебра составила 547,2 мг/г.

Процент извлечения ионов серебра, R , рассчитывали как отношение разницы концентраций ионов серебра в растворе до и после сорбции к концентрации ионов серебра в растворе до сорбции с использованием следующего уравнения:

$$\%R = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100, \quad (2)$$

где C_0 и C_e – начальная и равновесная концентрации ионов серебра соответственно. Максимальная степень извлечения ионов серебра из раствора при использовании сорбента, модифицированного N,N'-дифенилгуанидином, составила 97,2%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Методом ИК-спектроскопии изучено строение полученного сорбента⁴. Результаты исследования ИК-спектра ССМА–N,N'-дифенилгуанидин представлены на рис. 3. В ИК-спектре сорбента наблюдаются следующие колебания: валентные колебания –ОН-группы при 3448 cm^{-1} , –С=О-группы – при 1733 cm^{-1} , деформационные колебания –NH-группы – при 1641 cm^{-1} , валентные колебания –С-С-связей ароматического кольца – при 1539 cm^{-1} , деформационные колебания –С-С-связей в ароматическом кольце – при 1075–1027 cm^{-1} (в плоскости ароматического кольца) и при 914–693 cm^{-1} (вне плоскости ароматического кольца).

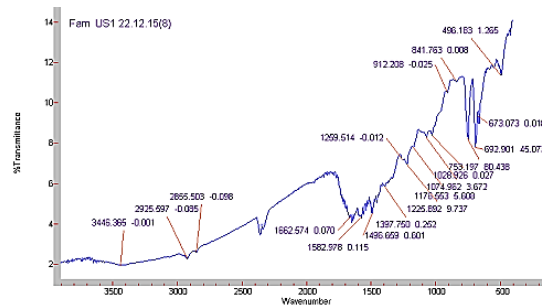


Fig. 1. IR-spectroscopy of S: before adsorption

Рис. 3. ИК-спектр сорбента

Fig. 3. FT-IR spectra of the sorbent

УФ-спектроскопия сорбента была исследована в диапазоне длин волн 190–1100 нм [20]. УФ-спектр сополимера стирола с малеиновым ангидридом, модифицированный N,N'-дифенилгуанидином, представлен на рис. 4. Полосы при длине волны ~1000 нм образуются $n \rightarrow \pi^*$ электронным переходом в молекуле сорбента.

Влияние кислотности среды. Концентрация ионов водорода в жидкой фазе является одним из важных факторов, влияющих на равновесие реакции комплексообразования ионов металлов с сорбентами. Сорбцию ионов Ag(I) проводили в статических условиях водных сред, изменяющимся параметром являлась только кислотность среды ($\text{pH} = 3\text{--}8$). В конические колбы одинаковой емкости и формы добавляли равное количество (50,000 мг) сорбента. Общий объем жидкой фазы и концентрация ионов металлов в каждой колбе оставались постоянными. По результатам экспериментов степень сорбции проходит через максимум при значении pH , равном 6. Это можно объяснить тем, что при более низких pH адсорбция ионов Ag(I) мала. Когда pH увеличивается и достигает значения 6, центры сорбции становятся доступными. Следовательно, адсорбция ионов серебра (I) увеличивается. Это указывает на то, что механизм сорбции ионов серебра (I) сильно зависит от pH . Значение pH , равное 6, использовалось в качестве оптимального pH для дальнейших исследований. На рис. 5 графически представлена зависимость сорбционной емкости сорбента от pH .

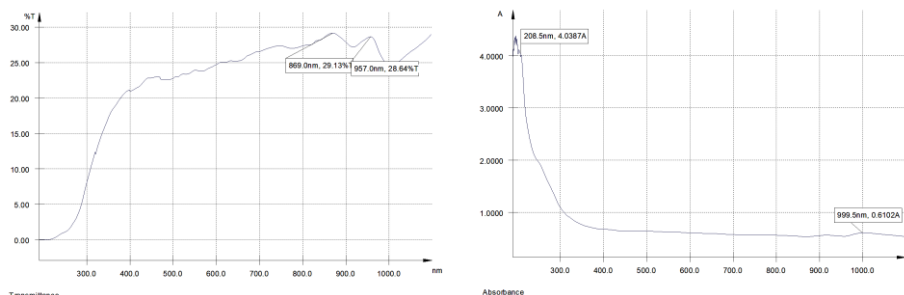


Рис. 4. УФ-спектр сорбента
 Fig. 4. UV spectra of the sorbent

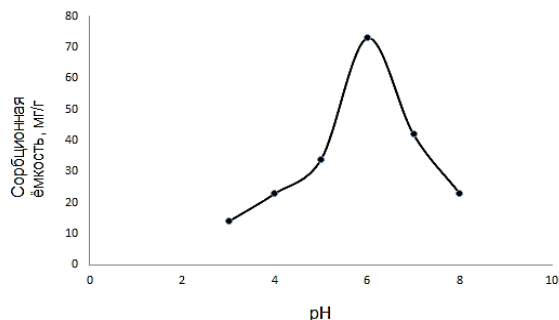


Рис. 5. Зависимость сорбционной емкости сорбента от pH; $m_{\text{сорб.}} = 30$ мг, $V_{\text{общ.}} = 20$ мл, $C_{\text{Me}} = 10^{-2}$ моль/л

Fig. 5. Sorption capacity of sorbent versus pH; $m_{\text{sorb.}} = 30$ mg, $V_{\text{total}} = 20$ ml, $C_{\text{Me}} = 10^{-2}$ mol/l

Время контакта является одним из критических параметров, влияющих на сорбцию и емкость ионов металлов. Для изучения влияния времени контакта в конические колбы объемом 50 мл было добавлено по 50 мг сорбента. Общий объем жидкой фазы составил 20 мл. Результаты экспериментов показали, что сорбция Ag(I) со временем увеличивается. Полная сорбция Ag(I) происходит через час в статических условиях. На рис. 6 графически представлена зависимость сорбционной емкости сорбента от времени контакта.

Влияние начальной концентрации Ag^+ . Для определения количества металла, адсорбированного твердой фазой, предварительно готовили растворы, в которых концентрация ионов Ag(I) варьировалась от $0,4 \cdot 10^{-3}$ до $8,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Результаты экспериментов показали, что при увеличении начальной концентрации металла количество адсорбированных ионов Ag(I) увеличивается и достигает максимума при $8,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Дальнейшее увеличение исходной концентрации металла не приводит к значительному изменению количества адсорбированных ионов Ag(I). Сорбционная емкость сорбента по отношению к ионам Ag(I) была вычислена по формуле (1). Рассчитанная максимальная адсорбционная емкость сорбента по отношению к поглощенным ионам Ag(I) составила 547,2 мг/г. Зависимость сорбционной емкости сорбента от начальной концентрации ионов серебра (I) графически изображена на рис. 7.

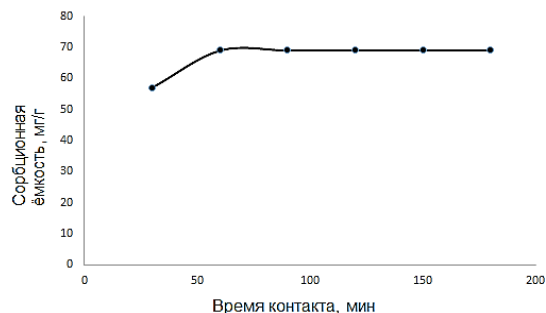


Рис. 6. Влияние времени контакта на сорбционную емкость сорбента; $m_{\text{сорб.}} = 30$ мг, $V_{\text{общ.}} = 20$ мл, $C_{\text{Me}} = 10^{-2}$ моль/л

Fig. 6. Relationship between contact time and sorption capacity of the sorbent; $m_{\text{sorb.}} = 30$ mg, $V_{\text{total}} = 20$ ml, $C_{\text{Me}} = 10^{-2}$ mol/l

Степень извлечения ионов Ag(I) была вычислена по формуле (2), результаты представлены в таблице.

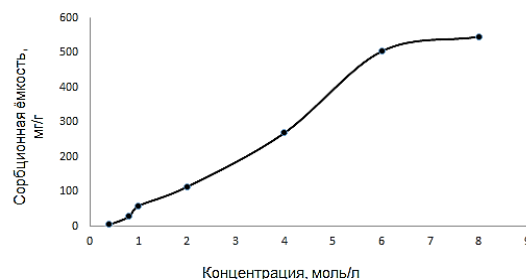


Рис. 7. Влияние начальной концентрации ионов Ag(I) на сорбционную емкость сорбента; $m_{\text{сорб.}} = 30$ мг, $V_{\text{общ.}} = 20$ мл

Fig. 7. Relationship between initial metal ion concentration and the sorption capacity of sorbent; $m_{\text{sorb.}} = 30$ mg, $V_{\text{total}} = 20$ ml

Влияние ионной силы. Изучена зависимость сорбционной емкости от ионной силы раствора. Серебро сорбировали из растворов, содержащих 0,1–1,4 М KCl. Присутствие KCl увеличивало адсорбционную способность до значения $\mu = 1,0$. Далее наблюдалось значительное снижение сорбции металла из растворов KCl с концентрацией более 1,0 М. Все дальнейшие эксперименты проводились в растворах с ионной силой 1,0 М.

Степень извлечения ионов Ag(I) синтезированным сорбентом

Ag(I) ions extraction ratio by a synthesized sorbent

Параметр	Значение						
Значение $C_{\text{Me}} \cdot 10^{-2}$, моль/л	0,4	0,8	1,0	2,0	4,0	6,0	8,0
R, %	19,9	50	83,3	80	93,75	95	97,2

⁴Казицина Л. А., Куплетская Н. Б. Применение УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии в органической химии: учеб. пособие для вузов. М.: Высш. шк., 1971. 264 с.

Десорбционные исследования. Регенерация и возможность повторного использования хелатообразующих сорбентов зависят от природы функциональных групп и стабильности комплекса, образующегося в фазе сорбента. Образцы сорбентов помещали в конические колбы одинаковой емкости и формы. Для извлечения ионов металла, поглощенных сорбентом, использовали минеральную и органическую кислоты HNO_3 , CH_3COOH различной концентрации (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 М). Результаты экспериментов показали, что наилучшими элюирующими свойствами по отношению к ионам серебра (I) из твердой фазы обладает 0,5 М раствор HNO_3 : сорбционная емкость после десорбции изменилась до значения

42,75 мг/г. Для сравнения, десорбция ионов серебра раствором CH_3COOH в той же концентрации (0,5 М) составила 8,44 мг/г.

ВЫВОДЫ

Таким образом, исследование сорбционного концентрирования ионов серебра (I) синтетическим сорбентом из водных растворов показало, что для извлечения Ag(I) сополимером ССМА, модифицированным N,N'-дифенилгуанидином, оптимальное значение pH равно 6, время контакта составляет 60 мин. Максимальная сорбционная емкость сорбента по отношению к ионам серебра (I) достигает значения 547,2 мг/г.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Hadrup N., Lam H. Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver // *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2014. Vol. 68, no. 1. P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.11.002>.
2. Kojiro S., Masahiro G. Solvent extraction and stripping of silver ions in room-temperature ionic liquids containing calixarenes // *Analytical Chemistry*. 2004. Vol. 76, no. 17. P. 5039–5044. <https://doi.org/10.1021/ac049549x>.
3. Mammadov P. R., Afandiyeva N. T., Chyragov F. M. Simple and rapid spectrophotometric determination method for trace level of silver using 2,2-di(2,3,4-trihydroksifenilazo)bifenil // *New Materials, Compounds and Applications*. 2018. Vol. 2, no. 2. P. 123–131.
4. Эфендиева Н. Т., Магеррамов А. М., Чырагов Ф. М. Концентрирование ионов серебра синтетическим сорбентом из водных растворов // *Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Естественные и точные науки*. 2019. Т. 13. N 1. С. 45–49. <https://doi.org/10.31161/1995-0675-2019-13-1-45-49>.
5. Akgül M., Karabakan A., Acar O., Yürüm Y. Removal of silver (I) from aqueous solutions with clinoptilolite // *Microporous and Mesoporous Materials*. 2006. Vol. 94, no. 1-3. P. 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2006.02.023>.
6. Afandiyeva N. T. Preconcentration of silver (I) on the modified sorbent from aqueous solutions // *New Materials, Compounds and Applications*. 2020. Vol. 4, no. 1. P. 54–60.
7. Virolainen S., Tyster M., Haapalainen M., Sainio T. Ion exchange recovery of silver from concentrated base metal-chloride solutions // *Hydrometallurgy*. 2015. Vol. 152. P. 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2014.12.011>.
8. Xie F., Lu D., Yang H., Dreisinger D. B. Solvent extraction of silver and gold from alkaline cyanide solution with LIX 7950 // *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*. 2014. Vol. 35, no. 4. P. 229–238. <https://doi.org/10.1080/08827508.2013.825615>.
9. Abd El-Ghaffar M. A., Mohamed M. H., Alwakeel K. Z. Adsorption of silver (I) on synthetic chelating polymer derived from 3-amino-1,2,4-triazole-5-thiol and glutaraldehyde // *Chemical Engineering Journal*. 2009. Vol. 151, no. 1-3. P. 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.01.039>.
10. Syafiuddin A., Fulazzaky M. A., Salmiati S., Kueh A. B. H., Fulazzaky M., Salim M. R. Silver nanoparticles adsorption by the synthetic and natural adsorbent materials: an exclusive review // *Nanotechnology for Environmental Engineering*. 2020. Vol. 5, no. 1. Article number 1. <https://doi.org/10.1007/s41204-019-0065-3>.
11. Kholmogorova A. S., Chernysh M. L., Neudachina L. K., Puzyrev I. S. Method of adsorption-atomic-absorption determination of silver (I) using a modified polysiloxane // *Reactive and Functional Polymers*. 2020. Vol. 152. Article number 104596. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2020.104596>.
12. Li X.-G., Ma X.-L., Sun J., Huang M.-R. Powerful reactive sorption of silver(I) and mercury(II) onto poly(o-phenylenediamine) microparticles // *Langmuir*. 2009. Vol. 25, no. 3. P. 1675–1684. <https://doi.org/10.1021/la802410p>.
13. Anderson B. J., Jenne E. A., Chao T. T. Sorption of silver by poorly crystallized manganese oxides // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1973. Vol. 37, no. 3. P. 611–622. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(73\)90222-6](https://doi.org/10.1016/0016-7037(73)90222-6).
14. Jintakosola T., Nitayaphat W. Adsorption of silver (I) from aqueous solution using chitosan/montmorillonite composite beads // *Materials Research*. 2016. Vol. 19, no. 5. P. 1114–1121. <https://doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2015-0738>.
15. Atia A. A., Donia A. M., Yousif A. M. Comparative study of the recovery of silver(I) from aqueous solutions with different chelating resins derived from glycidyl methacrylate // *Journal of Applied Polymer Science*. 2005. Vol. 97, no. 3. P. 806–812. <https://doi.org/10.1002/app.21751>.
16. Yirikoglu H., Gülfen M. Separation and recovery of silver(I) ions from base metal ions by melamine-formaldehyde-thiourea (MFT) chelating resin // *Separation Science and Technology*. 2008. Vol. 43, no. 2. P. 376–388. <https://doi.org/10.1080/01496390701787305>.

17. Iglesias M., Anticó E., Salvado V. The characterisation of silver sorption by chelating resins containing thiol and amine groups // *Solvent Extraction and Ion Exchange*. 2001. Vol. 19, no. 2. P. 315–327. <https://doi.org/10.1081/SEI-100102698>.

18. Afandiyeva N. T., Maharramov A. M., Chyragov F. M. Silver(I) preconcentration using *m*-aminophenol containing sorbent from aqueous solutions // *Azerbaijan Chemical Journal*. 2021. Issue 1. P. 37–42. <https://doi.org/10.32737/0005-2531-2021-1-37-42>.

19. Huang X., Cao X., Wang W., Cao Z.-F. Investigation of removal of Ag(I) from aqueous solution by a novel chelating resin containing acyl and thiourea groups // *Journal of Dispersion Science and Technology*. 2019. Vol. 40, no. 4. P. 477–486. <https://doi.org/10.1080/01932691.2018.1470011>.

20. Stuart B. H. *Infrared spectroscopy: Fundamentals and application*. Chichester, UK: John Wiley and Sons, 2004. 244 p.

REFERENCES

1. Hadrup N., Lam H. Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2014;68(1):1-7. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.11.002>.

2. Kojiro S., Masahiro G. Solvent extraction and stripping of silver ions in room-temperature ionic liquids containing calixarenes. *Analytical Chemistry*. 2004;76(17):5039-5044. <https://doi.org/10.1021/ac049549x>.

3. Mammadov P. R., Afandiyeva N. T., Chyragov F. M. Simple and rapid spectrophotometric determination method for trace level of silver using 2,2-di(2,3,4-trihidroksifenilazo)bifenil. *New Materials, Compounds and Applications*. 2018;2(2):123-131.

4. Efendieva N. T., Magerramov A. M., Chyragov F. M. Silver ion concentration by synthetic sorbent from the aqueous solutions. *Izvestiya Dagestanskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta. Estestvennye i tochnye nauki = Dagestan State Pedagogical University Journal. Natural and Exact Sciences*. 2019;13(1):45-49. (In Russian). <https://doi.org/10.31161/1995-0675-2019-13-1-45-49>.

5. Akgül M., Karabakan A., Acar O., Yürüm Y. Removal of silver (I) from aqueous solutions with clinoptilolite. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2006;94(1-3):99-104. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2006.02.023>.

6. Afandiyeva N. T. Preconcentration of silver (I) on the modified sorbent from aqueous solutions. *New Materials, Compounds and Applications*. 2020;4(1):54-60.

7. Virolainen S., Tyster M., Haapalainen M., Sainio T. Ion exchange recovery of silver from concentrated base metal-chloride solutions. *Hydrometallurgy*. 2015;152:100-106. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2014.12.011>.

8. Xie F., Lu D., Yang H., Dreisinger D. B. Solvent extraction of silver and gold from alkaline cyanide solution with LIX 7950. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*. 2014;35(4):229-238. <https://doi.org/10.1080/08827508.2013.825615>.

9. Abd El-Ghaffar M. A., Mohamed M. H., Alwakeel K. Z. Adsorption of silver(I) on synthetic chelating polymer derived from 3-amino-1,2,4-triazole-5-thiol and glutaraldehyde. *Chemical Engineering Journal*. 2009;151(1-3):30-38. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.01.039>.

10. Syafiuddin A., Fulazzaky M. A., Salmiati S.,

Kueh A. B. H., Fulazzaky M., Salim M. R. Silver nanoparticles adsorption by the synthetic and natural adsorbent materials: an exclusive review. *Nanotechnology for Environmental Engineering*. 2020;5(1). Article number 1. <https://doi.org/10.1007/s41204-019-0065-3>.

11. Kholmogorova A. S., Chernysh M. L., Neudachina L. K., Puzyrev I. S. Method of adsorption-atomic-absorption determination of silver (I) using a modified polysiloxane. *Reactive and Functional Polymers*. 2020;152. Article number 104596. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2020.104596>.

12. Li X.-G., Ma X.-L., Sun J., Huang M.-R. Powerful reactive sorption of silver(I) and mercury(II) onto poly(o-phenylenediamine) microparticles. *Langmuir*. 2009;25(3):1675-1684. <https://doi.org/10.1021/la802410p>.

13. Anderson B. J., Jenne E. A., Chao T. T. Sorption of silver by poorly crystallized manganese oxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1973;37(3):611-622. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(73\)90222-6](https://doi.org/10.1016/0016-7037(73)90222-6).

14. Jintakosola T., Nitayaphat W. Adsorption of silver (I) from aqueous solution using chitosan/montmorillonite composite beads. *Materials Research*. 2016;19(5):1114-1121. <https://doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2015-0738>.

15. Atia A. A., Donia A. M., Yousif A. M. Comparative study of the recovery of silver(I) from aqueous solutions with different chelating resins derived from glycidyl methacrylate. *Journal of Applied Polymer Science*. 2005;97(3):806-812. <https://doi.org/10.1002/app.21751>.

16. Yirikoglu H., Gülfen M. Separation and recovery of silver(I) ions from base metal ions by melamine-formaldehyde-thiourea (MFT) chelating resin. *Separation Science and Technology*. 2008;43(2):376-388. <https://doi.org/10.1080/01496390701787305>.

17. Iglesias M., Anticó E., Salvado V. The characterisation of silver sorption by chelating resins containing thiol and amine groups. *Solvent Extraction and Ion Exchange*. 2001;19(2):315-327. <https://doi.org/10.1081/SEI-100102698>.

18. Afandiyeva N. T., Maharramov A. M., Chyragov F. M. Silver(I) preconcentration using *m*-aminophenol containing sorbent from aqueous solutions. *Azerbaijan Chemical Journal*. 2021;(1):37-42. <https://doi.org/10.32737/0005-2531-2021-1-37-42>.

19. Huang X., Cao X., Wang W., Cao Z.-F. Investigation of removal of Ag(I) from aqueous solution by a novel chelating resin containing acyl and thiourea groups. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 2019;40(4):477-486. <https://doi.org/10.1080/01932691.2018.1470011>.

org/10.1080/01932691.2018.1470011.

20. Stuart B. H. *Infrared spectroscopy: Fundamentals and application*. Chichester, UK: John Wiley and Sons; 2004. 244 p.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Н. Т. Эфендиева,

аспирант,
старший лаборант кафедры аналитической химии,
Бакинский государственный университет,
AZ1148, г. Баку, ул. З. Халилова, 23,
Азербайджан,
afandiyeva.narmin@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6251-8989>

А. М. Магеррамов,

д.х.н., академик Национальной академии наук
Азербайджана,
профессор, заведующий кафедрой
органической химии,
Бакинский государственный университет,
AZ1148, г. Баку, ул. З. Халилова, 23,
Азербайджан,
amaharramov@bsu.edu.az
<https://orcid.org/0000-0003-1882-7519>

Ф. М. Чырагов,

д.х.н., профессор, заведующий кафедрой
аналитической химии,
Бакинский государственный университет,
AZ1148, г. Баку, ул. З. Халилова, 23, Азербай-
джан,
ciraqov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2677-9046>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 05.09.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Narmin T. Afandiyeva,

Postgraduate Student,
Senior Laboratory Assistant,
Baku State University,
23 Z. Khalilov St., Baku, AZ1148, Azerbaijan,
afandiyeva.narmin@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6251-8989>

Abel M. Maharramov,

Dr. Sci. (Chemistry), Academician of Azerbaijan
National Academy of Sciences,
Professor, Head of Organic Chemistry
Department,
Baku State University,
23 Z. Khalilov St., Baku, AZ1148, Azerbaijan,
amaharramov@bsu.edu.az
<https://orcid.org/0000-0003-1882-7519>

Famil M. Chyragov,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Head of Analytical Chemistry Department,
Baku State University,
23 Z. Khalilov St., Baku, AZ1148, Azerbaijan,
ciraqov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2677-9046>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.

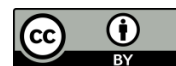
Information about the article

The article was submitted 05.09.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.

Научная статья

УДК 544.2/544.7; 612.396.114:663:542

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-38-49>



Самоагрегирующие свойства инулина в разбавленном растворе

Абубакр Саидкулович Насриддинов, Ашурбой Ильхомбойевич Ашуров,
Шавкат Ёрович Холов, Икромджон Бомуродович Исмоилов,
Сураё Рахматжоновна Усманова, Зайниддин Камарович Мухидинов

Институт химии им. В. И. Никитина Национальной академии наук Республики Таджикистан,
г. Душанбе, Республика Таджикистан

Автор, ответственный за переписку: Мухидинов Зайниддин Камарович, zainy@mail.ru

Аннотация. Создание функциональных пищевых продуктов на основе инулинсодержащего растительного сырья позволит обеспечить население функциональным питанием диабетического характера. В связи с этим обоснование технологических параметров процесса получения инулина из клубней топинамбура (*Helianthus tuberosus* L.) путем определения его количественных характеристик является актуальным. В данной работе с целью обоснования технологических параметров процесса получения инулина из клубней топинамбура флэш-экстракционным и традиционным методами были установлены его качественные характеристики, а именно гидродинамические свойства и молекулярная масса в растворе. Результаты гидродинамических свойств и молекулярной массы образцов инулина топинамбура, полученные флэш-экстракционным методом при высокой температуре 105 °С за короткое и более длительное время, традиционным методом при температуре 75 °С в нейтральной среде, продемонстрировали самоагрегирующие свойства этого биополимера. Инулин, экстрагированный флэш-экстракционным способом, состоит из двух фракций: низкомолекулярного инулина и высокомолекулярного агрегата, который представляет собой комплекс полисахарида. Эти агрегаты могут формироваться как межмолекулярными, так и внутримолекулярными взаимодействиями различных фракций инулина в растворе. Как и следовало ожидать, их разделение невозможно обычными методами, при концентрировании на УФ-мембране формировался ряд субфракций, образовывалось большое количество агрегированного не растворимого в воде микрогеля. В то время как инулин, полученный традиционным способом, состоит из одной фракции, но имеет высокую степень полидисперсности. Показано, что для получения качественного инулина, предназначенного для пищевых и профилактических целей, предпочтительно использовать флэш-метод экстракции за короткое время.

Ключевые слова: топинамбур, инулин, флэш-экстракция, молекулярная масса, конформация, агрегация

Для цитирования: Насриддинов А. С., Ашуров А. И., Холов Ш. Ё., Исмоилов И. Б., Усманова С. Р., Мухидинов З. К. Самоагрегирующие свойства инулина в разбавленном растворе // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 38–49. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-38-49>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Self-aggregating properties of inulin in a dilute solution

Abubakr S. Nasriddinov, Ashurboi I. Ashurov,
Shavkat E. Kholov, Ikromdzhon B. Ismoilov,
Surae R. Usmanova, Zainiddin K. Mukhidinov

V. I. Nikitin Institute of Chemistry, National Academy of Sciences of the Republic of Tajikistan,
Dushanbe, Republic of Tajikistan

Corresponding author: Zainiddin K. Mukhidinov, zainy@mail.ru

Abstract. The creation of functional food products based on inulin-containing vegetable raw materials can provide the population with functional diabetic nutrition. In this regard, investigation of the technological parameters of obtaining inulin from Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus* L.) and determination of its quantitative characteristics seem highly relevant. This study aims to determine the qualitative characteristics of inulin obtained from Jerusalem artichoke tubers by both flash extraction and conventional methods. Jerusalem artichoke inulin samples were obtained by the flash extraction method at a high temperature of 105 °C during both shorter and longer periods of time and by the conventional method at a temperature of 75 °C in a neutral medium. The hydrodynamic properties and molecular weight of the samples demonstrated the self-aggregating properties of this biopolymer. Inulin obtained by the flash extraction method consists of two fractions: low-molecular weight inulin and high-molecular weight aggregate represented by a polysaccharide complex. These aggregates can be formed both by inter- and intramolecular interactions of various inulin fractions in the solution. As expected, their isolation using conventional methods appeared impossible: the method of concentration yielded a number of subfractions on the UV membrane and a large amount of aggregated water-insoluble microgel. At the same time, inulin obtained by the conventional method consists of one fraction, although having a high degree of polydispersity. In order to obtain high-quality inulin intended for nutritional and prophylactic purposes, it is preferable to use the flash extraction method over short periods of time.

Keywords: Jerusalem artichoke, inulin, flash extraction, molecular weight, conformation, aggregation

For citation: Nasriddinov A. S., Ashurov A. I., Kholov Sh. E., Ismoilov I. B., Usmanova S. R., Mukhidinov Z. K. Self-aggregating properties of inulin in a dilute solution. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):38-49. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-38-49>.

ВВЕДЕНИЕ

Инулин – это природный аналог инсулина растительного происхождения, запасной полисахарид, присутствующий во многих растениях, таких как корень цикория, пшеница, спаржа, лук, чеснок, клубни георгина и топинамбур (*Helianthus tuberosus* L.) [1]. Известно, что инулин представляет собой линейный полидисперсный фруктан (степень полимеризации (СП) – 2–60 и выше), состоящий из молекул фруктозы, связанных β (2 $\rightarrow$ 1)-связями с остатками D-глюкозы в конце цепи [2, 3]. В природе существует несколько типов инулина, которые различаются по степени полимеризации и молекулярной массе в зависимости от источника, времени сбора и условий обработки [1–6].

Содержание инулина в цикории и топинамбуре доходит до 20%, в корнях одуванчика, пастернаке, овсяном корне, клубнях георгина, луке-порее – до 15%, репчатом луке – 2–6%, спарже – 10–15%, девясиле – 9–12%, банане – 0,3–0,7%, пшеничной и рисовой муке – 1–4% [7, 8]. Источники инулина в последнее время вызывают все больший интерес, поскольку они являются возобновляемым сырьем для производства биоэтанола, фруктозного сиропа, одноклеточного белка и одноклеточного масла, получения фруктоолигосахаридов и других полезных продуктов [6]. Одним из перспективных видов сырья для этих целей являются корнеклубни топинамбура (*Helianthus tuberosus* L.) [9]. Одна из важных особенностей топинамбура – это его сбалансиро-

ванность по макро- и микроэлементному составу, он содержит большое количество магния, калия, фосфора, кальция, железа, цинка, что имеет существенное значение для больных сахарным диабетом [10].

По оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), сахарный диабет занимает одно из первых мест по смертности и остается одной из наиболее актуальных проблем клинической медицины. В настоящее время в мире сахарный диабет II типа диагностирован у 425 млн человек¹, при этом имеется неуклонная тенденция к росту заболеваемости. Согласно оценкам экспертов ВОЗ, в 2019 г. диабет стал непосредственной причиной 1,5 млн случаев смерти. Прогнозируется, что к 2045 г. общая численность больных сахарным диабетом увеличится на 51% и составит 700 млн человек².

В Таджикистане от диабета страдают более 242,6 тыс. человек. Количество случаев смерти, которые можно отнести к высокому содержанию сахара в крови, составляет 2 413 человек. Препараты, используемые при лечении диабета, представляют собой таблетки (пероральные противодиабетические средства) и инсулин.

Известно о профилактических свойствах инулинсодержащего сырья для больных диабетом II типа, продукты переработки этого сырья способны повысить иммунозащитные свойства организма человека [11–13]. Диетологами рекомендовано его ежедневное потребление в количестве от 1 до 10 г, в зависимости от географи-

¹Диабет. Информационный бюллетень ВОЗ [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/southeastasia/home/search/> 2018 (01.10.2021).

²Международная федерация диабета IDF [Электронный ресурс]. URL: https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20201028_180116_Global-factsheet-final.pdf (12.10.2021).

ческих, демографических и других связанных параметров (возраст, пол, время года и т.д.) [12].

Уникальные физико-химические свойства инулина позволяют использовать его в пищевой и фармацевтической промышленности. Создание функциональных пищевых продуктов на основе инулинсодержащего растительного сырья позволит обеспечить население функциональным питанием диабетического характера. Важным аспектом при создании рецептуры функционального пищевого продукта является точно смоделированный ингредиентный состав с заданными физико-химическими показателями инулина в них [13–16].

При определении рациональных значений параметров процесса экстракции при производстве инулина основополагающими являются гидродинамические свойства и молекулярная масса. Например, при использовании в качестве заменителя жира высокомолекулярный инулин, смешанный с водой или водным раствором, образует гелевую сетку из частиц, в результате чего получается кремообразная структура с пастообразной консистенцией, которую можно легко добавлять в пищевые продукты для замены до 100% жира [16].

Для характеристики инулина был использован широкий спектр аналитических инструментов. Повышенное понимание химии и поведения полимера инулина привело к новому важному его применению в качестве средства доставки лекарств, иммуностимуляторов и адъюванта вакцины. Гели инулина важны для применения в различных областях, в настоящее время наиболее коммерчески значимым является производство продуктов питания, где он используется в качестве низкокалорийного наполнителя, заменяет жир, сахар и муку, обеспечивая при этом ценными пищевыми волокнами [17–19]. Гелеобразование инулина описывается как гель-частицы, в которых трехмерные сети образуют агрегированные коллоидные частицы инулина [17].

Возможно, наиболее полезным свойством инулина с медицинской точки зрения является его присутствие во множестве различных структур молекулярной упаковки (полиморфные или изоформные). Осаждение инулина этанолом дает β -форму, а в водном растворе при комнатной температуре или ниже он находится в форме α -инулина [17, 18]. Теоретические исследования показывают, что допустимы многие формы. На практике было обнаружено, что как α -, так и β -формы являются нестабильными конформациями. Структурные последствия существования таких изоформ представляют значительный интерес [18, 19].

Высокая молекулярная масса инулина топинамбура приближает его свойства к свойствам высокоэффективного инулина цикория, и он может быть использован для аналогичных целей в пищевой промышленности. Необходимость уве-

личения применения доступного и малоценного сырья побудила исследовать процессы экстракции, структуру и молекулярные параметры инулина для рекомендации его в качестве профилактического продукта для лечения сахарного диабета.

Цель данной работы – исследование поведения макромолекулы инулина, полученного двумя методами посредством анализа гидродинамических свойств и молекулярной массы в разбавленном растворе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образцы инулина были получены из корнеклубней топинамбура сорта Сарват (выведенные учеными и специалистами Центра инновационного развития и новых технологий НАН Таджикистана) с влажностью 76%, флэш-методом (ФМ) в автоклаве при 95 и 105 °C (образцы Инулин 1 и Инулин 2) в течение 7 мин [20] и традиционным методом (Инулин ТМ) – экстракцией водой при температуре 75 °C в течение 60 мин. pH в обоих случаях был постоянным и равнялся 6,8. Далее экстракты были концентрированы на роторном испарителе при низком давлении, затем из раствора гидролизата осаждением этиловым спиртом выделяли полисахарид [12]. Экстракт Инулин 2 также был концентрирован на ультрафильтрационной мембране (УФ) УМП-50 (ЗАО НТЦ «Владипор», Россия) с целью разделения полисахаридов: низкомолекулярного инулина и высокомолекулярного пектина. Таким образом, Инулин 3 получен из концентрированного раствора после ультрафильтрации.

Для определения молекулярной массы и молекулярно-массового распределения (ММР) полисахарида готовили его раствор (2,0–5,0 мг/мл) в растворе подвижной фазы путем перемешивания при комнатной температуре (20 °C) в течение 12 ч. Подвижная фаза состояла из 50 мМ NaNO₃, содержащей 0,01% NaN₃. Растворы полисахаридов фильтровали через 0,45 мкм фильтр (Millex-HV, PVDF, Millipore Corp., Billerica, MA, США) перед тем, как вводить его в систему высокоэффективной эксклюзионной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в сочетании с вискозиметрическим (Viscostar, Wyatt technology, США) и рефрактометрическим (Differential refractometer Waters 2410, США) детекторами. Система доставки растворителя состояла из вакуумного дегазатора, автосамплера (автоматического введения раствора образца) и насоса высокого давления. Объем ввода образца составлял 200 мкл, а скорость потока поддерживалась на уровне 0,8 мл/мин. Образец вводили трехкратно и в расчетах использовали среднее значение полидисперсности (M_w/M_n , M_z/M_n), среднечисловую молярную массу (M_n), средневесовую молярную массу (M_w), z-среднюю молярную массу (M_z), характеристическую вязкость $[\eta_w]$ и гидродинами-

ческий радиус $[R_h]$. Для защиты рабочей колонки были последовательно включены две защитные колонки (TSK-GEL® PWXL 6,0 мм; IDx4,0 см; L, 12 мкм, Япония). Для разделения инулина и пектина использованы две последовательно соединенные хроматографические колонки PL-Aquagel OH-60 и одна PL-Aquagel OH-40 (Agilent Technologies, США). Они были откалиброваны с использованием ряда стандартных образцов Пуллулана (Showa Denko KK, Япония) с M_w 788, 667, 404, 112, 47,3 и 22,8 кД соответственно. Температуру колонок поддерживали при 30 °С, они последовательно были подключены к основным детекторам системы ВЭЖХ. Процент выхода образца из колонки был получен из соотношения элюированной массы, найденной из интегрирования сигнала RI к введенной массе. Все сигналы от двух детекторов были проанализированы с помощью программного обеспечения ASTRA 5.3.4.13 (Wyatt Technology, США) [20]. Изменение коэффициента преломления в зависимости от концентрации полимера dn/dc в растворе 50 мМ $NaNO_3$, равное 0,132, было рассчитано согласно [21].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Данные выхода продуктов процесса экстракции приведены в работе [12]. Основную часть продуктов экстракции составили водорастворимые вещества, выход которых достиг до 97% от всей массы корнеплода топинамбура при экстракции ФМ и почти 75% при традиционном методе (ТМ). Наибольший выход инулина получен ФМ-экстракцией при повышенных температурах 95 и 105 °С и давлении 1,5 атм, которые составили 19,21 и 16,2% соответственно. В то время при ТМ-экстракции выход инулина составил 8,5%.

Молекулярная масса инулина напрямую зависит от типа растения (топинамбур, цикорий, девясил и др.) и времени сбора [22].

На рис. 1. приведены кривые ММР образцов инулина, полученные различными методами и режимами экстракции. Как видно из хроматограммы и кривых ММР, у образцов, полученных при ФМ-экстракции, наблюдаются два пика. Первый небольшой пик, имеющий высокую M_w , элюируется при объеме 14,5 мл, затем основная фракция полисахарида – инулин – вымывается из хроматографической ЭЖХ колонки при объеме 19,5–21,0 мл.

Результаты анализа ВЭЖХ хроматограммы и кривых распределения ММР образцов инулина, изолированных ФМ и ТМ, а также гидродинамические параметры изученных образцов инулина были обработаны с помощью программы ASTRA 5.3.4.13 и приведены в таблице.

Как видно из анализа полученных результатов, экстрагированный ФМ полисахарид (Инулин 1, Инулин 2 и Инулин 3) элюируется двумя пиками (А и В). Хотя выход из ЭЖХ колонки первой фракции (пик А) для образцов Инулин 1, Инулин 2 и Инулин 3 небольшой (4,05, 7,59 и 6,83%), а их молекулярная масса очень высокая (1003,2 кД). В то время как выход второй фракции (основная фракция инулина) для Инулин 1 и Инулин 2 максимальный – 95,47 и 91,14%. Молекулярная масса этих фракций низкая – 2,89 и 2,7 кД соответственно для Инулин 1 и Инулин 2.

Для разделения фракции полисахаридов нами была применена мембранная фильтрация из полупроницаемых мембран УМП-50 (ЗАО НТЦ «Владипор», Россия) с пропускающей способностью 50 кД по белку (альбумин).

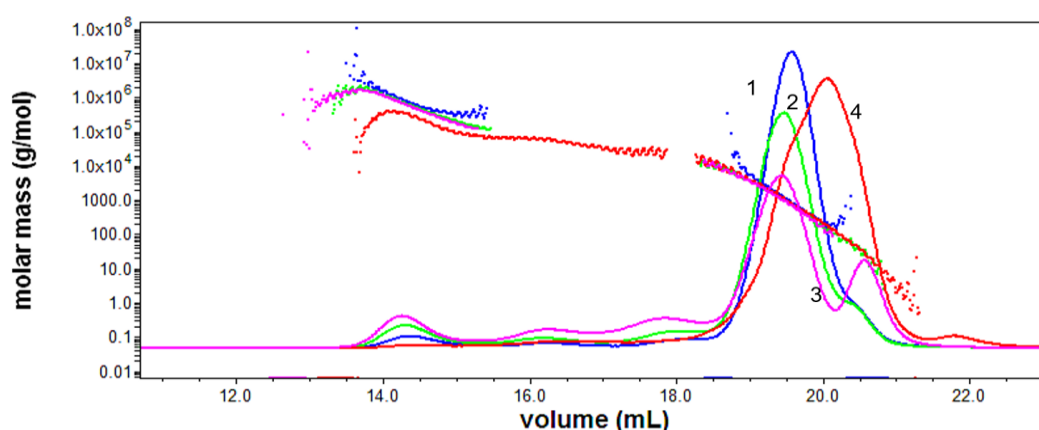


Рис. 1. ВЭЖХ хроматограммы и кривые молекулярно-массового распределения (ММР) экстрагированных из топинамбура полисахаридов, полученные с применением вискозиметрического в сочетании с рефрактометрическим детекторами:

(1) – Инулин 1; (2) – Инулин 2; (3) – Инулин 3; (4) – Инулин ТМ

Fig. 1. HPLC chromatogram and molecular weight distribution curves of extracted polysaccharides from Jerusalem artichoke obtained using viscometric detector in combination with refractometric detector:

(1) – Inulin 1; (2) – Inulin 2; (3) – Inulin 3; (4) – Inulin TM

Данные молекулярной массы и гидродинамические свойства образцов инулина, изолированных флэш-методом и традиционным методом

Molecular weight and hydrodynamic properties of inulin samples isolated by flash method and traditional method

Инулин	t °C экст.	Время экст., мин	R, %	MG, %	M _w , кД (г/моль)	M _w /M _n	η _w , мл/г	Rh(w), нм
Инулин 1 (А)	110	20	4,05	8,4	1173,90	1,36	49,8	17,6
Инулин 1 (В)			95,47		2,89	2,90	2,8	0,8
Инулин 2 (А)	100	20	7,59	15,2	1003,90	1,60	64,5	17,9
Инулин 2 (В)			91,14		2,70	7,90	3,7	0,9
Инулин 3 (А)	100	20	6,83	34,0	1025,40	1,50	70,1	18,6
Инулин 3 (В)			39,36		3,40	3,20	4,0	1,0
Инулин ТМ	80	30	85,2	9,1	1,49	69,8	1,3	0,5

Инулин 2 после концентрирования на УФ-мембране (Инулин 3) показал такие же параметры, но обладал несколько высоким значением M_w, причем выход второго пика заметно уменьшился (39,36%) из-за формирования ряда субфракций при концентрировании, которые элюировались (извлекались из колонки хроматографа) при объеме 16,2, 17,8 и 20,7 мл. Попытка разделить высокомолекулярную фракцию от низкомолекулярной не позволила достичь соответствующих результатов, наоборот, выход обеих фракций уменьшился, образовалось большое количество агрегированного микрогеля (24%).

Инулин, полученный ТМ, элюировался одним пиком со значением M_w = 1,49 кД, но с высоким показателем полидисперсности, равной 69,8.

Дифференциальные кривые (зависимость логарифма массовой доли полисахарида от M_w) изученных образцов ясно демонстрируют изменения в профиле распределения ММР в изученных образцах (рис. 2).

Как упоминалось во введении, СП инулина в значительной степени определяет его физико-химические характеристики. Авторами [8] представлен обзор СП различных типов инулина, который может служить источником информации.

Из данных таблицы также видно, что изменение гидродинамических свойств (характеристической вязкости ([η]) и гидродинамического радиуса Rh(w)) изученных полисахаридов (Инулин 1 и Инулин 2) аутентично изменениям M_w и профилю ММР. Значения [η] и Rh(w) для Инулин 1 и Инулин 2 равны 2,8 мл/г; 0,8 нм и 3,7 мл/г; 0,9 нм соответственно.

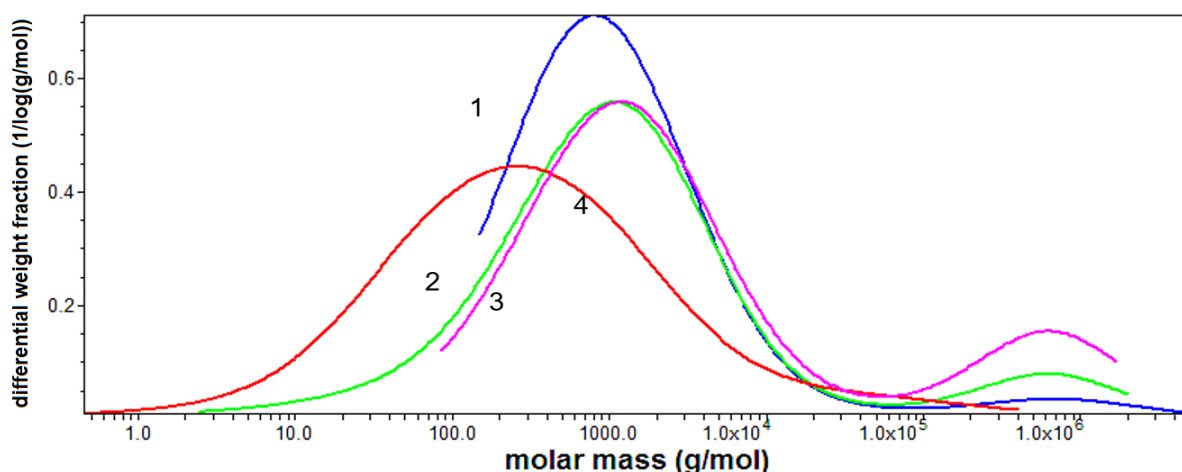


Рис. 2. Дифференциальные кривые (зависимость логарифма массовой доли полисахарида от молекулярной массы) экстрагированных полисахаридов из корневой клубневой топинамбура сгенерированы с помощью программы ASTRA V5.3.4.20 (Wyatt Technology, США) и Breeze (Waters, США): (1) – Инулин 1; (2) – Инулин 2; (3) – Инулин 3; (4) – Инулин ТМ

Fig. 2. Differential curves (mass fraction of the polysaccharide versus the molecular weight) of the polysaccharides extracted from Jerusalem artichoke generated by the ASTRA V5.3.4.20 (Wyatt Technology) and Breeze (Waters) software: (1) – Inulin 1; (2) – Inulin 2; (3) – Inulin 3; (4) – Inulin TM

Здесь необходимо отметить изменение этих параметров для Инулин ТМ и УФ-концентрата (Инулин 3): значение M_w , $[\eta]$ и $Rh(w)$ для этого образца выше, чем у исходного образца Инулин 2, хотя значение M_w остается почти одинаковым для высокомолекулярной фракции, равной 1025,4 кДа. Для образца Инулин ТМ все параметры были низкими. Хотя молярная масса, форма, размер и вязкостные свойства инулина с низкой и высокой степенью полимеризации были описаны в литературе [23–25], указанные значения характеристической вязкости $[\eta]$ не соответствовали молекулярной конформации.

Согласно данным вышеприведенных исследований, инулин как с низкой (4,0–6,5 кДа), так и с высокой M_w (1000 кДа) показал высокие значения $[\eta]$ в диапазоне 9,1–17,0 мл/г, что не соответствует компактной глобулярной форме инулина с высокой молярной массой [19]. Глобулярные полимеры (например, глобулярные белки) действительно проявляют довольно низкие и сопоставимые значения $[\eta]$ менее чем 4,0 мл/г.

В работе [19] результат гидратации инулина в растворе был связан с характеристической

вязкостью $[\eta]$ инулина, чтобы установить форму агрегатов биополимера в водном растворе с использованием сканирующего туннельного (СТМ) микроскопа и динамического светорассеивания (ДС). Критическая концентрация агрегации инулина как в водном органическом, так и в солевом растворах оценивалась флуориметрическим методом. В растворе диметилсульфоксида с помощью СТМ были обнаружены палочковидные гетерогенные агрегаты средней длины 174 нм и шириной 56 нм. Это была стержнеобразная геометрия агрегатов, которые давали более высокое значение $[\eta]$, чем глобулярные частицы, образующиеся в водном растворе. Показано, что инулин цикория со средней молекулярной массой 4,468 кДа может самоорганизовываться в водной среде, как и многие блочные и графт-сополимеры, демонстрирующие критическую концентрацию агрегации. Он образует мягкие глобулярные супрамолекулярные сборки в водной среде. Неагрегированные инулиновые мономеры также предполагают глобулярную геометрию [17–19].

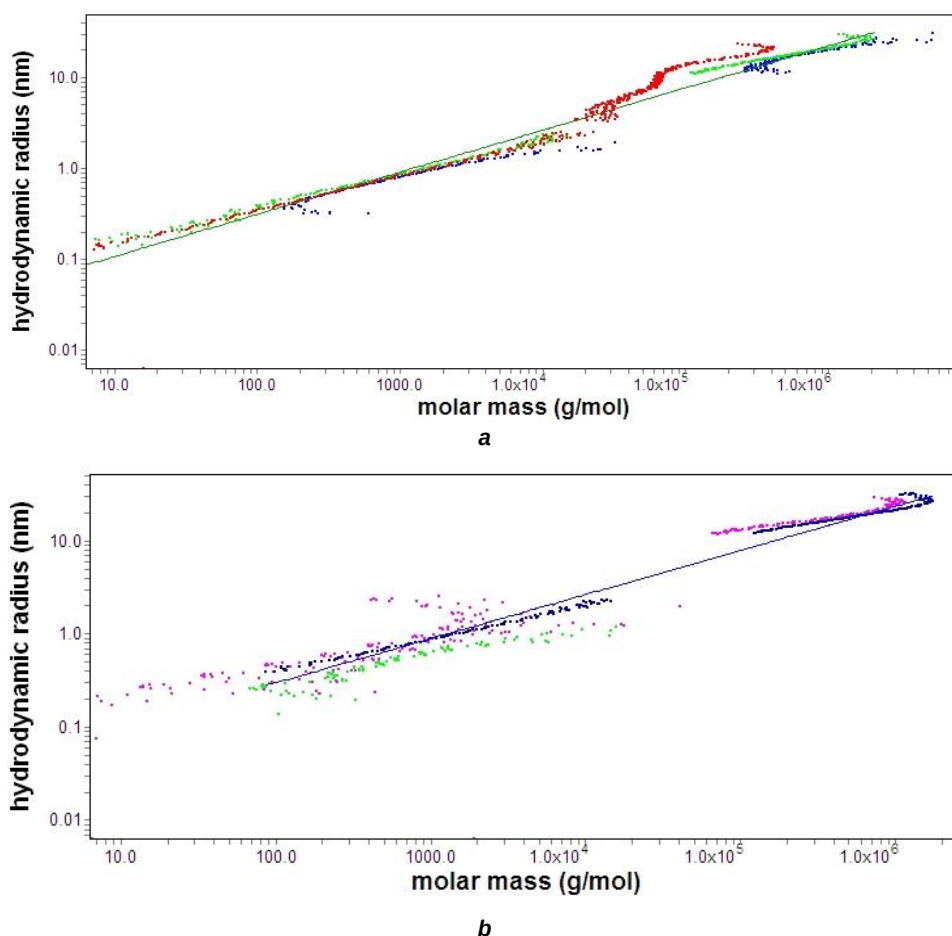


Рис. 3. Зависимость гидродинамического радиуса от молекулярной массы (конформационный график) для: а – Инулин 2 ($b = 0,46$); б – Инулин 3 ($b = 0,47$)

Fig. 3. Hydrodynamic radius versus molecular weight (conformational Plot) for: а – Inulin 2 ($b = 0.46$); б – Inulin 3 ($b = 0.47$)

На рис. 3. представлены конформационные графики, произведенные с помощью программы ASTRA (Wyatt Technology, США), для образцов Инулин 2 и его концентрированной формы Инулин 3. Величина коэффициента **b**, определяющая конформацию макромолекулы в растворе [26], найденная из наклона кривой зависимости гидродинамического радиуса и M_w , имеет одинаково низкие значения для обоих образцов. Найденные средние значения коэффициента **b** для смеси экстрагированного инулина показывают на конформацию случайных клубков с вытянутой формой ввиду их высокой агрегации, на что указывают высокие значения агрегированного микрогеля (см. таблицу).

А. D. French [27] рассчитал теоретически допустимые конформации для инулина в растворе и пришел к выводу, что допустимые конформации аналогичны конформации декстрана. Конечно, указанные конформации – это просто разрешенные конформации, основанные на определенных предположениях. Он также отметил, что существует множество факторов, влияющих на предпочтительную структуру олигосахаридов. Авторы [28] также обнаружили множество возможных конформаций для инулина на своих моделях, включая зигзагообразную конформацию с углом ω на 180° , которая оставалась стабильной в их моделировании. Следовательно, проявление множества возможных конформаций показывает молекулярную гибкость инулина.

В нескольких работах описано поведение широкого спектра конформации инулина в растворе [17]. Приводится, что спиральная конформация возможна для олигофруктозы с СП 5. Эта конформация, однако, невозможна для инулинов с более высокой M_w из-за стерического препятствия [17].

Инулин также богат гидроксильными группами, которые способны принимать участие в супрамолекулярных взаимодействиях, в частности через водородные связи. Эти взаимодействия могут быть как межмолекулярными, так и внутримолекулярными, хотя моделирование структуры инулина на основе рентгеноструктурного анализа твердой формы предполагает, что кристаллический инулин имеет только межмолекулярные водородные связи между цепями. В этом контексте гелеобразование инулина описывается как гель-частицы, в которых трехмерные сети образуют агрегированные коллоидные частицы инулина [17].

Из полученных нами результатов (дифференциальные кривые ММР (см. рис. 2) и конформационный график) кажется вероятным, что некоторая значительная самоорганизация начинается с низкомолекулярных фракций инулина, которые, как предполагается, благоприятствуют циклической или спиральной конформации [29]. Было показано [17, 29], что олигомеры с СП 6–8

имеют организованные, хотя и менее четко определенные конформации, и это изменение в структуре отвечает за необычную последовательность хроматографического элюирования в этом диапазоне СП. Олигомеры инулина с СП 9 и выше образуют регулярную спиральную структуру, которая, как утверждается, является как пяти- так и шестикратной спиралью [17, 29]. Правосторонняя шестигранная спиральная структура сейчас стала общепринятой. Спиральные структуры каждой цепи могут объединяться в ряд изоформ, природа которых зависит от кинетики и термодинамики образования [17].

В целом, исходя из полученных данных и данных других авторов, можно сделать следующие выводы: 1) результаты гидродинамических свойств и молекулярной массы образцов инулина топинамбура, полученного ФМ, как при высокой температуре 105°C за короткое время и ТМ, так и при низкой температуре 75°C , но более длительное время, демонстрировали самоагрегирующие свойства этого биополимера, при этом исключаются процессы деградации (гидролиза), так как процесс экстракции проводился при нейтральных условиях ($\text{pH} = 6,8$); 2) инулин, экстрагированный ФМ, состоит из двух фракций: низкомолекулярный инулин и высокомолекулярный агрегат, который представляет собой комплекс полисахарида. Как и следовало ожидать, невозможно их разделить обычными методами, при концентрировании на УФ-мембране формировался ряд субфракций, причем образовывалось большое количество агрегированного, не растворимого в воде микрогеля.

Необходимо продолжить дальнейшее исследование его конфигурационных свойств в неводных и смешанных растворителях, а также провести препаративное разделение субфракций инулина для детальной идентификации их структуры, что способствует его широкому применению на практике.

ВЫВОДЫ

Таким образом, данное исследование продемонстрировало новые результаты по структурным и молекулярным параметрам инулина из клубней топинамбура, выдвигалась гипотеза о структурном формировании инулина в водном растворе. Как уже отмечалось ранее, инулин, экстрагированный при высокой температуре и за короткое время флэш-методом, состоит из двух фракций: низкомолекулярный инулин и высокомолекулярный агрегат, который представляет собой комплекс полисахарида. Показано, что для получения качественного инулина, предназначенного для пищевых и профилактических целей, предпочтительно использовать флэш-метод экстракции за короткое время, чем традиционный метод за длительное время.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Anderson-Dekkers I., Nouwens-Roest M., Brigitte P., Vaughan E. Inulin. In: Handbook of Hydrocolloids. Third ed. Chapter 17. Amsterdam: Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 2021. P. 537–562. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820104-6.00015-2>.
2. Kontogiorgos V. Stabilisers. Inulin. In: Encyclopedia of Dairy Sciences. Third ed. NY: Academic Press, 2022. Vol. 2. P. 689–694. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00321-4>.
3. BeMiller J. N. Inulin and Konjac Glucomannan. In: Carbohydrate Chemistry for Food Scientists. Amsterdam: Elsevier Inc., AACC International, 2019. P. 253–259. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812069-9.00010-8>.
4. Kozhukhova M. A., Nazarenko M. N., Barkhatova T. V., Khripko I. A. Obtaining and identification of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tubers // Foods and Raw Materials. 2015. Vol. 3, no. 2. P. 13–22. <https://doi.org/10.12737/13115>.
5. Chiavaro E., Vittadini E., Corradini C. Physicochemical characterization and stability of inulin gels // European Food Research and Technology. 2007. Vol. 225. P. 85–94. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0385-y>.
6. Mensink M. A., Frijlink H. W., van der Voort Maarschalk K., Hinrichs W. L. J. Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics // Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 130. P. 405–419. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.026>.
7. Mudgil D., Barak S. Classification, Technological Properties, and Sustainable Sources. In: Dietary Fiber: Properties, Recovery, and Applications. Chapter 2. NY: Academic Press, 2019. P. 27–58. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816495-2.00002-2>.
8. Манукян Л. С., Кочикян В. Т., Андреасян Н. А., Афян К. Б., Балаян А. М. Выделение инулина из различного растительного сырья // Биологический журнал Армении. 2014. N 4. С. 71–75.
9. Ma X. Y., Zhang L. H., Shao H. B., Xu G., Zhang F., Ni F. T., et al. Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*), a medicinal salt-resistant plant has high adaptability and multiple-use values // Journal of Medicinal Plants Research. 2011. Vol. 5, no. 8. P. 1272–1279.
10. Ашуров А. И., Джонмуродов А. С., Мухидинов З. К., Усманова С. Р., Партоев К. Интенсификация процесса получения полисахаридов из корнеклубней топинамбура // Вестник Таджикского национального университета. Серия естественных наук. 2019. N 3. С. 208–214.
11. Shoaib M., Shehzada A., Omar M., Rakha A., Raza H., Sharif H. R., et al. Inulin: properties, health benefits, and food applications // Carbohydrate Polymers. 2016. Vol. 147. P. 444–454. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.020>.
12. Colwell J. A. Type II diabetes, pre-diabetes, and the metabolic syndrome // The Journal of the American Medical Association. 2011. Vol. 306, no. 2. P. 215–238. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.970>.
13. Jackson P. P. J., Wijeyesekera A., Theis S., Harsselaar J., Rastall R. A. Food for thought! Inulin-type fructans: does the food matrix matter? // Journal of Functional Foods. 2022. Vol. 90. P. 104987. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.104987>.
14. Шаненко Е. Ф., Силаева М. А., Ермолаева Г. А. Топинамбур – сырье профилактического питания // Вопросы питания. 2016. Т. 85. N S2. С. 219.
15. Amjadi S., Almasi H., Hamishehkar H., Khaledabad M. A., Lim L.-T. Cationic inulin as a new surface decoration hydrocolloid for improving the stability of liposomal nanocarriers // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2022. Vol. 213. P. 112401. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112401>.
16. Franck A. Technological functionality of inulin and oligofructose // British Journal of Nutrition. 2002. Vol. 87, no. S2. P. 287–291. <https://doi.org/10.1079/BJN/2002550>.
17. Barclay T., Ginic-Markovic M., Cooper P., Petrovsky N. Inulin – a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses // Journal of Excipients and Food Chemicals. 2010. Vol. 1, no. 3. P. 27–50.
18. Ronkart S. N., Deroanne C., Paquot M., Fougnes C., Blecker C. S. Impact of the crystallization pathway of inulin on its mono-hydrate to hemihydrate thermal transition // Food Chemistry. 2010. Vol. 119, no. 1. P. 317–322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.035>.
19. Dan A., Ghosh S., Moulik S. P. Physicochemical studies on the biopolymer inulin: a critical evaluation of its self-aggregation, aggregation-morphology, interaction with water, and thermal stability // Biopolymers. 2009. Vol. 91, no. 9. P. 687–699. <https://doi.org/10.1002/bip.21199>.
20. Muhidinov Z. K., Teshaev Kh., Jonmurodov A., Khalikov D., Fishman M. Physico-chemical characterization of pectic polysaccharides from various sources obtained by steam assisted flash extraction (SAFE) // Macromolecular Symposia. 2012. Vol. 317-318, no. 1. P. 142–148. <https://doi.org/10.1002/masy.201100108>.
21. Muhidinov Z. K., Bobokalonov J. T., Ismoilov I. B., Strahan G. D., Chau H. K., Hotchkiss A. T., et al. Characterization of two types of polysaccharides from *Eremurus hissaricus* roots growing in Tajikistan // Food Hydrocolloids. 2020. Vol. 105. P. 105768. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105768>.
22. Li W., Zhang J., Yu C., Li Q., Dong F., Wang G., et al. Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from Jerusalem artichoke // Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 121. P. 315–319. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.12.055>.
23. López-Molina D., Navarro-Martínez M. D., Melgarejo F. R., Hiner A. N. P., Chazarra S., Rodríguez-López J. N. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke

(*Cynara scolymus* L.) // *Phytochemistry*. 2005. Vol. 66, no. 12. P. 1476–1484. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.04.003>.

24. Kitamura S., Hirano T., Takeo K., Mimura M., Kajiwaru K., Stokke B. T., et al. Conformation of (2→1)-β-D-fructan in aqueous solution // *International Journal of Biological Macromolecules*. 1994. Vol. 16, no. 6. P. 313–317. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(94\)90062-0](https://doi.org/10.1016/0141-8130(94)90062-0).

25. Wolff D., Czaplá S., Heyer A. G., Radosta S., Mischnick P., Springer J. Globular shape of high molar mass inulin revealed by static light scattering and viscometry // *Polymer*. 2000. Vol. 41, no. 22. P. 8009–8016. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00168-3](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00168-3).

26. Podzimek S. Light scattering, size exclusion chromatography and asymmetric flow field flow fractionation powerful tools for the characterization of

polymers, protein and nanoparticles. New Jersey: Hoboken Publisher, 2011. P. 333. <https://doi.org/10.1002/9780470877975>.

27. French A. D. Accessible conformations of the B-D-(2–1)-and-(2–6)-linked D-fructans inulin and levan // *Carbohydrate Research*. 1988. Vol. 176, no. 1. P. 17–30.

28. Vereyken I. J., van Kuik J. A., Evers T. H., Rijken P. J., de Kruijff B. Structural requirements of the fructan–lipid interaction // *Biophysical Journal*. 2003. Vol. 84, no. 5. P. 3147–3154. [https://doi.org/10.1016/s0006-3495\(03\)70039-3](https://doi.org/10.1016/s0006-3495(03)70039-3).

29. Timmermans J. W., Slaghek T. M., Iizuka M., Van den Ende W., De Roover J., van Laere A. Isolation and structural analysis of new fructans produced by chicory // *Journal of Carbohydrate Chemistry*. 2001. Vol. 20, no. 5. P. 375–395. <https://doi.org/10.1081/CAR-100105711>.

REFERENCES

1. Anderson-Dekkers I., Nouwens-Roest M., Brigitte P., Vaughan E. Inulin. In: *Handbook of Hydrocolloids*. Third ed. Chapter 17. Amsterdam: Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; 2021, p. 537–562. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820104-6.00015-2>.

2. Kontogiorgos V. Stabilisers. Inulin. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Third ed. NY: Academic Press; 2022, vol. 2, p. 689–694. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00321-4>.

3. BeMiller J. N. Inulin and Konjac Glucomannan. In: *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*. Amsterdam: Elsevier Inc., AACC International; 2019, p. 253–259. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812069-9.00010-8>.

4. Kozhukhova M. A., Nazarenko M. N., Barkhatova T. V., Khripko I. A. Obtaining and identification of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tubers. *Foods and Raw Materials*. 2015;3(2):13–22. <https://doi.org/10.12737/13115>.

5. Chiavaro E., Vittadini E., Corradini C. Physicochemical characterization and stability of inulin gels. *European Food Research and Technology*. 2007; 225:85–94. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0385-y>.

6. Mensink M. A., Frijlink H. W., van der Voort Maarschalk K., Hinrichs W. L. J. Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. *Carbohydrate Polymers*. 2015;130:405–419. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.026>.

7. Mudgil D., Barak S. Classification, Technological Properties, and Sustainable Sources. In: *Dietary Fiber: Properties, Recovery, and Applications*. Chapter 2. NY: Academic Press; 2019, p. 27–58. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816495-2.00002-2>.

8. Manukyan L. S., Kochikyan V. T., Andreasyan N. A., Afyan K. B., Balayan A. M. Isolation of inulin from various plant materials. *Biologicheskii zhurnal Armenii*. 2014;(4):71–75. (In Russian).

9. Ma X. Y., Zhang L. H., Shao H. B., Xu G., Zhang F., Ni F. T., et al. Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*), a medicinal salt-resistant plant has high adaptability and multiple-use values. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011;5(8):1272–1279.

10. Ashurov A. I., Dzhonmurodov A. S., Mukhidinov Z. K., Usmanova S. R., Partoev K. The intensification of the process for the polysaccharides extraction from Jerusalem artichoke. *Vestnik Tadzhikskogo natsional'nogo universiteta. Seriya estestvennykh nauk = Bulletin of the Tajik National University. Series of natural sciences*. 2019;3:208–214. (In Russian).

11. Shoaib M., Shehzada A., Omar M., Rakha A., Raza H., Sharif H. R., et al. Inulin: properties, health benefits, and food applications. *Carbohydrate Polymers*. 2016;147:444–454. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.020>.

12. Colwell J. A. Type II diabetes, pre-diabetes, and the metabolic syndrome. *The Journal of the American Medical Association*. 2011;306(2):215–238. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.970>.

13. Jackson P. P. J., Wijeyesekera A., Theis S., Harsselaar J., Rastall R. A. Food for thought! Inulin-type fructans: does the food matrix matter? *Journal of Functional Foods*. 2022;90:104987. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.104987>.

14. Shanenko E. F., Silaeva M. A., Ermolaeva G. A. Jerusalem artichoke – raw materials for preventive nutrition. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2016;85(S2):219. (In Russian).

15. Amjadi S., Almasi H., Hamishehkar H., Khaledabad M. A., Lim L.-T. Cationic inulin as a new surface decoration hydrocolloid for improving the stability of liposomal nanocarriers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2022;213:112401. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112401>.

16. Franck A. Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*. 2002;87(S2):287–291. <https://doi.org/10.1079/BJN/2002550>.

17. Barclay T., Ginic-Markovic M., Cooper P., Petrovsky N. Inulin – a versatile polysaccharide with

multiple pharmaceutical and food chemical uses. *Journal of Excipients and Food Chemicals*. 2010;1(3):27-50.

18. Ronkart S. N., Deroanne C., Paquot M., Fournies C., Blecker C. S. Impact of the crystallization pathway of inulin on its mono-hydrate to hemihydrate thermal transition. *Food Chemistry*. 2010; 119(1):317-322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.035>.

19. Dan A., Ghosh S., Moulik S. P. Physico-chemical studies on the biopolymer inulin: a critical evaluation of its self-aggregation, aggregation-morphology, interaction with water, and thermal stability. *Biopolymers*. 2009;91(9):687-699. <https://doi.org/10.1002/bip.21199>.

20. Muhidinov Z. K., Teshayev Kh., Jonmurodov A., Khalikov D., Fishman M. Physico-chemical characterization of pectic polysaccharides from various sources obtained by steam assisted flash extraction (SAFE). *Macromolecular Symposia*. 2012;317-318(1):142-148. <https://doi.org/10.1002/masy.201100108>.

21. Muhidinov Z. K., Bobokalonov J. T., Ismoilov I. B., Strahan G. D., Chau H. K., Hotchkiss A. T., et al. Characterization of two types of polysaccharides from *Eremurus hissaricus* roots growing in Tajikistan. *Food Hydrocolloids*. 2020;105:105768. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105768>.

22. Li W., Zhang J., Yu C., Li Q., Dong F., Wang G., et al. Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from *Jerusalem artichoke*. *Carbohydrate Polymers*. 2015;121:315-319. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.12.055>.

23. Lo'pez-Molina D., Navarro-Mart'inez M. D., Melgarejo F. R., Hiner A. N. P., Chazarra S., Rodríguez-López J. N. Molecular properties and

prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry*. 2005;66 (12):1476-1484. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.04.003>.

24. Kitamura S., Hirano T., Takeo K., Mimura M., Kajiwar K., Stokke B. T., et al. Conformation of (2→1)-β-d-fructan in aqueous solution. *International Journal of Biological Macromolecules*. 1994;16(6):313-317. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(94\)90062-0](https://doi.org/10.1016/0141-8130(94)90062-0).

25. Wolff D., Czapl S., Heyer A. G., Radosta S., Mischnick P., Springer J. Globular shape of high molar mass inulin revealed by static light scattering and viscometry. *Polymer*. 2000;41(22):8009-8016. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00168-3](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00168-3).

26. Podzimek S. *Light scattering, size exclusion chromatography and asymmetric flow field flow fractionation powerful tools for the characterization of polymers, protein and nanoparticles*. New Jersey: Hoboken Publisher; 2011, p. 333. <https://doi.org/10.1002/9780470877975>.

27. French A. D. Accessible conformations of the B-D-(2→1)-and-(2→6)-linked D-fructans inulin and levan. *Carbohydrate Research*. 1988;176(1):17-30.

28. Vereyken I. J., van Kuik J. A., Evers T. H., Rijken P. J., de Kruijff B. Structural requirements of the fructan-lipid interaction. *Biophysical Journal*. 2003;84(5):3147-3154. [https://doi.org/10.1016/s0006-3495\(03\)70039-3](https://doi.org/10.1016/s0006-3495(03)70039-3).

29. Timmermans J. W., Slaghek T. M., Iizuka M., Van den Ende W., De Roover J., van Laere A. Isolation and structural analysis of new fructans produced by chicory. *Journal of Carbohydrate Chemistry*. 2001; 20(5):375-395. <https://doi.org/10.1081/CAR-100105711>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

А. С. Насриддинов,

к.х.н., докторант,
Институт химии им. В. И. Никитина
Национальной Академии наук
Республики Таджикистан,
734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
abubakr2583@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9897-2451>

А. И. Ашуров,

научный сотрудник,
Институт химии им. В. И. Никитина
Национальной Академии наук
Республики Таджикистан,
734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
ashurboy_1593@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4881-6944>

Ш. Ё. Холов,

к.т.н., ведущий научный сотрудник
лаборатории химии высокомолекулярных
соединений,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Abubakr S. Nasriddinov,

Cand. Sci. (Chemistry), Doctoral Student,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry,
National Academy of Sciences of Tajikistan,
299/2, Aini St., 734063, Dushanbe, Tajikistan,
abubakr2583@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9897-2451>

Ashurboi I. Ashurov,

Researcher,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry,
National Academy of Sciences of Tajikistan,
299/2, Aini St., 734063, Dushanbe, Tajikistan,
ashurboy_1593@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4881-6944>

Shavkat E. Kholov,

Cand. Sci. (Engineering), Leading Researcher,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry,
National Academy of Sciences of Tajikistan,

Институт химии им. В. И. Никитина
Национальной Академии наук
Республики Таджикистан,
734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
shavkat.kholov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5601-3255>

И. Б. Исмоилов,
соискатель кандидатской степени
при лаборатории химии высокомолекулярных
соединений,
Институт химии им. В. И. Никитина
Национальной Академии наук
Республики Таджикистан,
734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
ikromjon.bomurodi92@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4068-0739>

С. Р. Усманова,
к.х.н., ведущий научный сотрудник
лаборатории химии высокомолекулярных
соединений,
Институт химии им. В. И. Никитина
Национальной Академии наук
Республики Таджикистан,
734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
surayo.usmanova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-4254-7699>

З. К. Мухидинов,
д.х.н., профессор, главный научный сотрудник
лаборатории химии высокомолекулярных
соединений,
Институт химии им. В. И. Никитина
Национальной Академии наук
Республики Таджикистан,
734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
zainy@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0023-2229>

Вклад авторов

А. С. Насриддинов – научное руководство;
проведение экспериментов; обработка
полученных данных.
А. И. Ашуров – проведение экспериментов;
обработка полученных данных.
Ш. Ё. Холов – проведение экспериментов;
обработка полученных данных.
И. Б. Исмоилов – проведение экспериментов;
обработка полученных данных.
С. Р. Усманова – концепция исследования;
доработка текста; итоговые выводы.
З. К. Мухидинов – научное руководство;
концепция исследования; развитие
методологии; итоговые выводы.

299/2, Aini St., 734063, Dushanbe, Tajikistan,
shavkat.kholov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5601-3255>

Ikromdzhon B. Ismoilov,
Researcher,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry,
National Academy of Sciences of Tajikistan,
299/2, Aini St., 734063, Dushanbe, Tajikistan,
ikromjon.bomurodi92@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4068-0739>

Suray R. Usmanova,
Cand. Sci. (Chemistry), Leading Researcher,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry,
National Academy of Sciences of Tajikistan,
299/2, Aini St., 734063, Dushanbe, Tajikistan,
surayo.usmanova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-4254-7699>

Zainiddin K. Mukhidinov,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Chief Researcher,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry,
National Academy of Sciences of Tajikistan,
299/2, Aini St., 734063, Dushanbe, Tajikistan,
zainy@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0023-2229>

Contribution of the authors

Abubakr S. Nasriddinov – scientific guidance;
conducting experiments; data processing.
Ashurboi I. Ashurov – conducting experiments;
data processing.
Shavkat E. Kholov – conducting experiments;
data processing.
Ikromdzhon B. Ismoilov – conducting
experiments; data processing.
Suray R. Usmanova – conceptual studies;
text revision; final conclusions.
Zainiddin K. Mukhidinov – scientific management;
conceptual studies; development methodology;
final conclusions.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

*Поступила в редакцию 18.10.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.*

Conflict interests

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

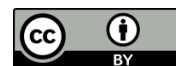
The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

*The article was submitted 18.10.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.*

Научная статья

УДК 579.6; 573.6; 504.064.45

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-50-63>



Комплексный биопрепарат «Доктор Робик 109» как биоагент для утилизации фитомассы водных растений в биотопливных элементах

Дэвард Иосифович Стом^{*,**,*}, Галина Олеговна Жданова^{*},
Наталья Юрьевна Юдина^{***}, Сергей Валерьевич Алферов^{****},
Александра Николаевна Чеснокова^{***}, Михаил Юрьевич Толстой^{***},
Александр Борисович Купчинский^{**}, Михаил Наумович Саксонов^{*},
Сергей Андреевич Закарчевский^{***}, Туугу Энхдул^{*****},
Андреа Францетти^{*****}, Мустафа Рахимнеджад^{*****}

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

^{**}Байкальский музей СО РАН, п. Листвянка, Российская Федерация

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

^{****}Тульский государственный университет, г. Тула, Российская Федерация

^{*****}Монгольский государственный университет, г. Улан-Батор, Монголия

^{*****}Миланский университет Бикокка, г. Милан, Италия

^{*****}Технологический университет Бабола Ноширвани, г. Баболь, Иран

Автор, ответственный за переписку: Стом Дэвард Иосифович, stomd@mail.ru

Аннотация. Показана возможность использования комплексного микробиологического препарата для выгребных ям и септиков «Доктор Робик 109» (ООО «ВИПЭКО», Россия) с целью получения электрического тока в биотопливных элементах при утилизации фитомассы водных растений *Ulothrix* sp., *Spirogyra* sp., *Eloдея canadensis*. При этом кинетика электрических параметров исследуемых биотопливных элементов отличалась устойчивым ростом в течение длительного времени – не менее 30 сут. Это может быть связано с медленной трансформацией используемого субстрата микроорганизмами, что, с другой стороны, обеспечивает длительную работу биотопливных элементов на их основе. В биотопливных элементах с фитомассой *Spirogyra* sp. биопрепарат генерировал напряжение (разомкнутой цепи) до 746 мВ, силу тока (в режиме короткого замыкания) – до 1745 мкА. В биотопливных элементах с добавлением *Ulothrix* sp. указанные показатели в течение 25 сут. достигали 360 мВ и 1120 мкА соответственно. При использовании в качестве субстрата *E. canadensis* изучаемые микроорганизмы-биоагенты в течение 25 сут. генерировали напряжение до 643 мВ, силу тока – до 568 мкА. Повышение электрических параметров биотопливных элементов на основе исследуемого биопрепарата и фитомассы высших водных растений и водорослей сопровождалось приростом численности жизнеспособных клеток микроорганизмов и уменьшением биомассы растений. Предлагаемое использование водных растений в биотопливных элементах является одним из перспективных подходов к утилизации их избыточной фитомассы. Последняя в значительных количествах накапливается после ее применения в фиторемедиационных мероприятиях доочистки сточных вод или разрастается в водоемах в результате их эвтрофирования.

Ключевые слова: генерирование электрического тока, биотопливные элементы, биотехнология, фитомасса, водные растения, микробиологический препарат «Доктор Робик 109»

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания в области научной деятельности (проект № FEWG-2021-0013).

Для цитирования: Стом Д. И., Жданова Г. О., Юдина Н. Ю., Алферов С. В., Чеснокова А. Н., Толстой М. Ю., Купчинский А. Б., Саксонов М. Н., Закарчевский С. А., Энхдул Т., Францетти А., Рахимнеджад М. Комплексный биопрепарат «Доктор Робик 109» как биоагент для утилизации фитомассы водных растений в биотопливных элементах // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 50–63. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-50-63>.

© Стом Д. И., Жданова Г. О., Юдина Н. Ю., Алферов С. В., Чеснокова А. Н., Толстой М. Ю., Купчинский А. Б., Саксонов М. Н., Закарчевский С. А., Энхдул Т., Францетти А., Рахимнеджад М., 2022

The "Doctor Robik 109" complex biopreparation as a bioagent for utilizing aquatic plant phytomass in biofuel cells

Devard I. Stom^{*,**,*}, Galina O. Zhdanova^{*},
Natalia Yu. Yudina^{****}, Sergey V. Alferov^{****},
Alexandra N. Chesnokova^{***}, Mikhail Yu. Tolstoy^{***},
Alexander B. Kupchinsky^{**}, Mikhail N. Saksonov^{*},
Sergey A. Zakarchevskiy^{***}, Tuugu Enkhdul^{*****},
Andrea Franzetti^{*****}, Mostafa Rahimnejad^{*****}

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

^{**}Baikal Museum of the SB RAS, Listvyanka, Russian Federation

^{***}Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

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

^{*****}Mongolian State University, Ulaanbaatar, Mongolia

^{*****}University of Milano – Bicocca, Milano, Italy

^{*****}Babol Noshirvani University of Technology, Babol, Iran

Corresponding author: Devard I. Stom, stomd@mail.ru

Abstract. The paper demonstrates the possibility of using the "Doctor Robik 109" complex microbiological preparation (OOO VIPEKO, Russia), applied in cesspools and sewage caissons, for obtaining electric current in biofuel elements during the utilization of the *Ulothrix* sp., *Spirogyra* sp., *Elodea canadensis* aqueous plant phytomass. The kinetics of electrical parameters of the studied biofuel cells was characterized by a steady and prolonged growth – for at least 30 days. This may be associated with the slow transformation of the used substrate by microorganisms, which additionally ensures the long-term operation of biofuel cells on their basis. In *Spirogyra* sp. biofuel cells, the biological preparation generated the voltage (broken circuit mode) and current strength (short circuit mode) equal up to 746 mV and 1745 A, respectively. In *Ulothrix* sp. biofuel cells, these values comprised 360 mV and 1120 μ A for a 25-day period, respectively. When using a *E. canadensis* substrate, the studied bioagent microorganisms generated the voltage and current of up to 643 mV and 568 μ A during a 25-day period, respectively. An increase in the electrical parameters of biofuel cells, which were based on the studied biological preparation and the phytomass of higher aquatic plants and algae, was accompanied by an increase in the number of viable microorganism cells and a decrease in the plant biomass. Since phytomass growth is activated by the phytoremediation measures of additional wastewater treatment or during the eutrophication of water bodies, the proposed method for applying aquatic plants in biofuel cells represents a promising approach to utilizing excess phytomass.

Keywords: electric current generation, biofuel cells, biotechnology, phytomass, aquatic plants, "Doctor Robik 109" microbiological preparation

Funding. The reported study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of a State assignment in the field of scientific activity (project no. FEWG-2021-0013).

For citation: Stom D. I., Zhdanova G. O., Yudina N. Yu., Alferov S. V., Chesnokova A. N., Tolstoy M. Yu., Kupchinsky A. B., Saksonov M. N., Zakarchevskiy S. A., Enkhdul T., Franzetti A., Rahimnejad M. The "Doctor Robik 109" complex biopreparation as a bioagent for utilizing aquatic plant phytomass in biofuel cells. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):50-63. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-50-63>.

ВВЕДЕНИЕ

В экологическом плане растительные отходы являются одними из наиболее безопасных. Они нетоксичны, имеют высокую ценность в сельском хозяйстве при их компостировании. Однако объемы растительных отходов очень велики, а продукты гниения растительной массы могут оказывать негативные эффекты на окружающую среду. Так, в водоемах зачастую происходит массо-

вое развитие водной растительности, которая при загрязнении вод биогенными элементами приводит к эвтрофированию [1, 2]. При этом избыточная фитомасса, накапливаясь, становится источником процессов гниения, продукты которого ведут к заморам, могут вызывать гибель или угнетение гидробионтов [3, 4]. Ярким примером таких процессов является массовое размножение в последние годы в Байкале нитчатых водо-

рослей рода *Spirogira* [5, 6]. Большую проблему составляет отмирающая и подвергающаяся процессам гниения фитомасса водорослей, метаболиты которых могут негативно влиять на гидробионты литорали Байкала [7].

Накопление фитомассы в значительных количествах происходит и в фиторемедиационных мероприятиях – в очистке загрязненных вод с помощью растений [8–10]. Этот подход основан как раз на способности водных растений к поглощению различных соединений из водных сред. Очистка вод ими сопровождается бурным ростом растений, в результате чего встает проблема дальнейшей переработки избыточной фитомассы после накопления ею загрязнителей, порой достаточно токсичных [11, 12].

Важнейшей задачей рационального природопользования является превращение отходов в сырье [13, 14]. Биотехнологические подходы к утилизации растительных отходов подразумевают получение из них биогаза [15, 16], биоэтанола [17–19], некоторых других продуктов [20–22]. Кроме того, эти отходы находят применение в пищевой и фармацевтической промышленности, поскольку являются богатым источником антиоксидантных молекул, проявляют множество биологических свойств, включая противодиабетические, гипотензивные, противораковые и антибактериальные свойства [23–27].

Еще одним из возможных путей утилизации растительных отходов является их использование в качестве субстрата в процессах генерирования электрической энергии в биотопливных элементах (БТЭ) [28–30]. Технология БТЭ занимает определенную нишу в области альтернативной энергетики. С одной стороны, электрическая энергия, получаемая в процессах микробной трансформации соединений в БТЭ, сегодня еще довольно мала. С другой стороны, эта технология позволяет совмещать получение электроэнергии с утилизацией различных отходов и очисткой сточных вод, т.е. играть важную роль и в сохранении окружающей среды. Таким образом, это направление открывает новые перспективы для развития энергетики, особенно на фоне ограничений использования и значительного снижения запасов основных энергоносителей (угля, нефти, природного газа) и непрерывного накопления различных отходов.

Ранее нами была продемонстрирована хорошая электрогенная активность в БТЭ биопрепарата «Доктор Робик 109» [31–33]. Под торговой маркой «Доктор Робик» скрывается целая линейка средств, биоактиваторов, бактерий для разложения, очистки, эксплуатации выгребных ям, септиков, дачных и деревенских туалетов¹.

Эта серия биопрепаратов выпускается в России компанией «ВИПЭКО», которая в том числе опирается на опыт и технологии всемирного лидера в области производства биотехнологических препаратов, направленных на очистку промышленных стоков, – компании ROEBIC Laboratories, Inc. (США).

В данной работе приводятся материалы по исследованию эффективности работы БТЭ на основе комплексного коммерческого микробиологического препарата для выгребных ям и септиков «Доктор Робик 109» при утилизации фитомассы различных водных растений (*Elodea canadensis*, *Spirogira* sp., *Ulothrix* sp.).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты и методы исследования. Эксперименты проводили в двухкамерных БТЭ [34]. В качестве материала для их изготовления использовали оргстекло Plexiglas (Германия) толщиной 3 мм. Две прямоугольные камеры (каждая объемом 400 мл) сообщались друг с другом через прямоугольные отверстия (размером 40×12 мм) в боковой части каждой из камер, в которых фиксировали протоннообменную мембрану МФ-4СК (ЗАО «Пластполимер», Россия) (рис. 1).

В верхней крышке каждой из камер имелись отверстия (диаметром 24 мм) для размещения рабочих электродов – углеродной ткани «Урал Т-22Р А» (ОАО «СветлогорскХимволокно», Беларусь). В катодной камере также располагалось дополнительное отверстие для аэрации католита. Анодную камеру закупоривали полностью для обеспечения анаэробных условий анолита.

Анолитом и католитом в БТЭ являлась стерильная модельная сточная вода следующего состава (мг/л): натрий углекислый 50,0; калий фосфорнокислый однозамещенный 25,0; аммоний фосфорнокислый двузамещенный 25,0; кальций хлористый 7,5; магний сернокислый 5,0 (ГОСТ Р 50595–1993). Стерилизацию проводили автоклавированием при 1 атм в течение 45 мин. Биоагентом в работе выступал комплексный коммерческий микробиологический препарат для выгребных ям и септиков «Доктор Робик 109» (ООО «ВИПЭКО», Россия). Он является сильнодействующей композицией из 4-х специально отобранных культур микроорганизмов – *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. pumilis*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*. Это почвенные спорообразующие бактериальные культуры, способные утилизировать жиры, белок, крахмал, целлюлозу, мочевины. В составе препарата бациллы представлены спорами в комплексе с пшеничными отрубями и пищевой содой. Титр микроорганизмов в препарате – 3×10^{10} КОЕ/г.

¹Сайт компании-производителя биопрепарата «Доктор Робик 109» (ООО «ВИПЭКО») [Электронный ресурс]. URL: <http://drrobik.ru/> (05.03.2022).

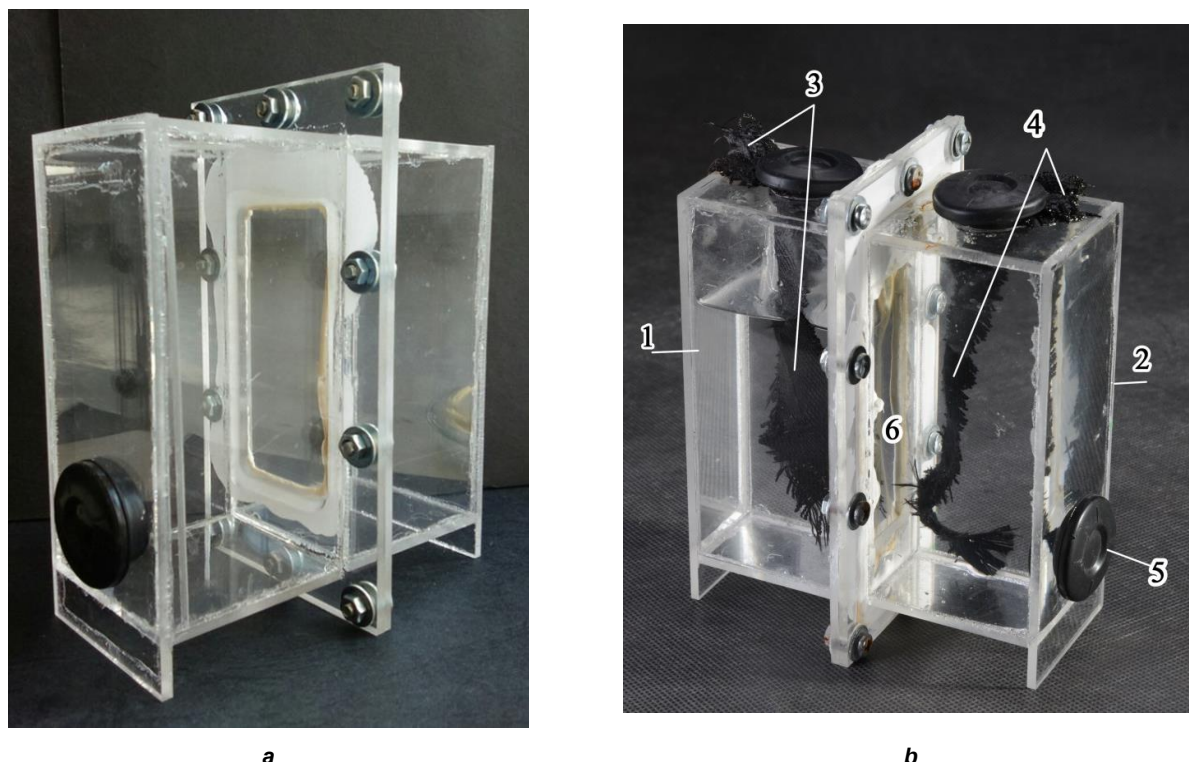


Рис. 1. Используемый в работе двухкамерный биотопливный элемент из оргстекла с расположенной между камерами протонообменной мембраной МФ-4СК (ЗАО «Пластполимер», Россия) (а), (б).

Обозначения (б): 1 – анодная камера; 2 – катодная камера; 3 – катодный электрод; 4 – анодный электрод; 5 – резиновые крышки, закрывающие и фиксирующие электроды; 6 – резиновая заглушка в анодной камере, через которую отбирают пробы и вносят субстраты и биоагенты при помощи шприца; 7 – протонообменная мембрана МФ-4СК

Fig. 1. Two-chamber biofuel plexiglass cell with MF-4SK proton-exchange membrane (CJSC Plastpolimer, Russia) located between the chambers (a), (b):

1 – anode chamber; 2 – cathode chamber; 3 – cathode electrode;
 4 – anode electrode; 5 – rubber covers covering and fixing the electrodes;
 6 – rubber plug for sampling and injecting substrates and bioagents;
 7 – proton exchange membrane MF-4SK

Биопрепарат вносили в БТЭ в виде суспензии спор. Для ее получения 1 г сухого препарата вводили в 30 мл стерильного физиологического раствора. Полученную взвесь в течение 20 мин перемешивали на магнитной мешалке. После этого отстаивали в течение 2–3 мин для оседания опилок и отбирали верхний слой жидкости. Этой суспензией, содержащей споры микроорганизмов препарата, инокулировали БТЭ. Титр клеток при внесении в БТЭ составлял $\sim 10^5$ КОЕ/мл.

Субстратом для микроорганизмов в БТЭ являлась растительная масса растений оз. Байкал и водоемов его водосборного бассейна: *Elodea canadensis* (элодея канадская), *Spirogyra* sp. (спирогира), *Ulothrix* sp. (улотрикс). Сбор *E. canadensis* осуществляли в р. Ангаре вручную при помощи «кошек», остальных растений – в оз. Байкал с привлечением водолазной техники и специалистов Байкальского музея СО РАН. После сбора растения высушивали при температуре 105 °С до постоянной массы. Затем высушенную биомассу измельчали до образования крошки размером около 1–2 мм. В анолит БТЭ вносили фитомассу

в количестве 1 г (из расчета на камеру).

Перед началом работы обе камеры БТЭ стерилизовали 3%-м раствором перекиси водорода в течение 20 мин. После этого каждый отсек БТЭ тщательно промывали стерильной водой, чтобы удалить остатки H_2O_2 . Далее БТЭ помещали под ультрафиолетовую лампу (МЕД-1, Россия) на 15 мин. После этого с соблюдением всех правил асептики камеры БТЭ заполняли модельной сточной водой: анодную ячейку – полностью до самого верха, а катодную – на 2–3 см ниже верхнего уровня отсека. Это позволяло минимизировать присутствие кислорода воздуха в анолите путем вытеснения его жидкостью, а католит, напротив, аэрировать. Через специальные отверстия в верхней части камер в БТЭ размещали анодный и катодный электроды, которые фиксировали резиновыми пробками, плотно прилегающими к крышке. Биоагенты и субстрат вносили при помощи стерильного шприца через специальную резиновую заглушку в боковой части анодной камеры.

Регистрацию силы тока и напряжения прово-

дили двумя способами: с использованием цифрового мультиметра Fluke 17 В (Fluke Corporation, США) и при помощи автоматической системы регистрации данных с биотопливных элементов. Система состоит из микропроцессорной платы Arduino Mega 2560 (Arduino, Италия), персонального компьютера и платы адаптера для подсоединения к топливным элементам.

Численность клеток микроорганизмов препарата в БТЭ оценивали методом Коха [35]. Отбор проб анолита производили при помощи стерильного шприца через специальную резиновую заглушку в боковой части анодной камеры. Инкубирование бактерий осуществляли на рыбо-пептонном агаре в течение 2-х сут.

Убыль субстрата (растительной массы) в анолите БТЭ анализировали весовым методом².

Все эксперименты проводили не менее чем в 3-х независимых опытах с 3-мя параллельными измерениями в каждом. Статистическая обработка экспериментальных данных была проведена с использованием пакета программ Microsoft Office. Выводы сделаны при вероятности безошибочного прогноза $P > 0,95$. В таблицах и графиках представлено стандартное отклонение средней арифметической.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Микроорганизмы биопрепарата «Доктор Робик 109» генерировали электрический ток в БТЭ при использовании в качестве субстрата фитомассы всех 3-х испытанных растений – *E. canadensis*, *Spirogira* sp., *Ulothrix* sp. При этом кинетика электрических параметров исследуемых БТЭ отличалась устойчивым ростом в течение длительного времени – до 25–30 сут. Это может быть связано с медленной трансформацией используемого субстрата микроорганизмами, что, с другой стороны, обеспечивает длительную работу БТЭ на их основе. Так, в БТЭ с фитомассой (1 г) *Spirogira* sp., добавленной в анодный отсек, напряжение (разомкнутой цепи), генерируемое биопрепаратом «Доктор Робик 109», возрастало на протяжении всех 25 сут. эксперимента. На момент его окончания оно достигало 746 мВ. Показатель значительно превышал значения контрольных БТЭ (субстрат без микроорганизмов – не более 80 мВ, микроорганизмы без субстрата – не выше 249 мВ). Это подтверждало утилизацию фитомассы растения микроорганизмами биопрепарата в процессе генерирования электрического тока в БТЭ (рис. 2).

Сила тока (измеренная в режиме короткого замыкания) в испытуемых БТЭ с микробиологическим препаратом «Доктор Робик 109» и фитомассой спирогиры к 25 сут. эксперимента возрастала до 1745 мкА. В контрольных БТЭ этот показатель не превышал 370 мкА (рис. 3).

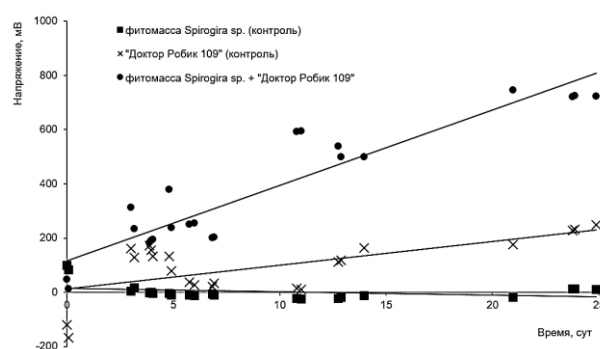


Рис. 2. Динамика напряжения (измерено в режиме разомкнутой цепи), генерируемого в биотопливном элементе микроорганизмами биопрепарата «Доктор Робик 109» при использовании высушенной фитомассы *Spirogira* sp. в качестве субстрата

Fig. 2. Dynamics of voltage (measured in open circuit mode) generated in biofuel cell with microorganisms of the "Doctor Robik 109" biopreparation using dried phytomass of *Spirogira* sp. as a substrate

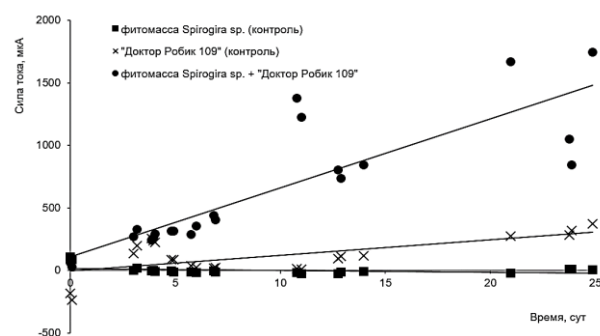


Рис. 3. Динамика силы тока (измерено в режиме короткого замыкания), генерируемого в биотопливном элементе микроорганизмами биопрепарата «Доктор Робик 109» при использовании высушенной фитомассы *Spirogira* sp. в качестве субстрата

Fig. 3. Dynamics of current strength (measured in short circuit mode) generated in biofuel cell with microorganisms of the biological product "Doctor Robik 109" using the dried phytomass of *Spirogira* sp. as a substrate

В БТЭ с добавлением *Ulothrix* sp. напряжение разомкнутой цепи, генерируемое препаратом «Доктор Робик 109», в течение 25 сут. возрастало до 360 мВ. При этом сила тока короткого замыкания увеличивалась до 1120 мкА (рис. 4, 5).

При использовании в качестве субстрата *E. canadensis* изучаемые микроорганизмы-биоагенты в течение 25 сут. генерировали напряжение до 643 мВ (рис. 6). Сила тока короткого замыкания в этом случае достигала 568 мкА (рис. 7).

Параллельно измерению электрических параметров анализировали и кинетику роста численности микроорганизмов «Доктор Робик 109» в ходе их работы в БТЭ при утилизации фитомассы водных растений. Наиболее интенсивный прирост численности микроорганизмов препара-

²ГОСТ Р 51437–99. Соки фруктов и овощей. Гравиметрический метод определения массовой доли общих сухих веществ по убыли массы при высушивании. Издание официальное. М.: Изд-во стандартов, 1999. 16 с.

та «Доктор Робик 109» отмечали в БТЭ с добавлением в качестве субстрата элодеи. Например, в течение 20 сут. эксперимента количество клеток этого препарата в БТЭ с элодеей повышалось с $(9,8 \pm 0,6) \times 10^5$ до $(4,67 \pm 0,47) \times 10^8$ КОЕ/мл. Несколько меньший прирост общего микробного числа препарата «Доктор Робик 109» наблюдали в БТЭ с добавлением спирогиры (с $(8,7 \pm 0,6) \times 10^5$ до $(3,5 \pm 0,1) \times 10^8$ КОЕ/мл) и улотрикса (с $(6,7 \pm 0,7) \times 10^5$ до $(2,5 \pm 0,2) \times 10^8$ КОЕ/мл). Наименее интенсивно увеличивалась численность клеток препарата при использовании в качестве субстрата эдогониума – титр возрастал с $(7,0 \pm 0,9) \times 10^5$ до $(1,5 \pm 0,2) \times 10^8$ КОЕ/мл (рис. 8).

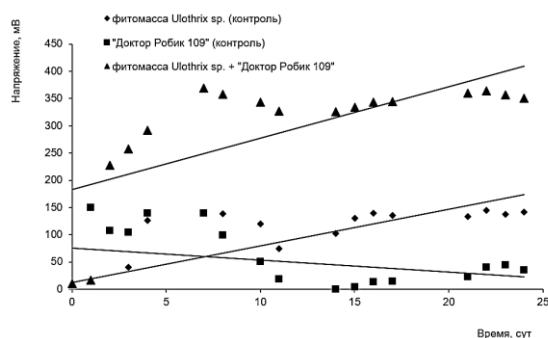


Рис. 4. Динамика напряжения (измерено в режиме разомкнутой цепи), генерируемого в биотопливном элементе микроорганизмами биопрепарата «Доктор Робик 109» при использовании высушенной фитомассы *Ulothrix* sp. в качестве субстрата

Fig. 4. Dynamics of voltage (measured in open circuit mode) generated in biofuel cell with microorganisms of the biological product "Doctor Robik 109" using dried phytomass *Ulothrix* sp. as a substrate

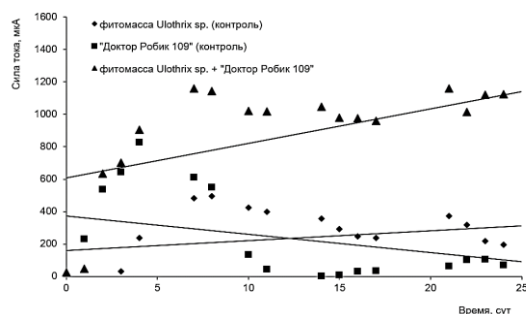


Рис. 5. Динамика силы тока (измерено в режиме короткого замыкания), генерируемого в биотопливном элементе микроорганизмами биопрепарата «Доктор Робик 109» при использовании высушенной фитомассы *Ulothrix* sp. в качестве субстрата

Fig. 5. Dynamics of the current strength (measured in short circuit mode) generated in biofuel cell with microorganisms of the biological product "Doctor Robik 109" using the dried phytomass of *Ulothrix* sp. as a substrate

С использованием гравиметрического метода оценивали убыль в БТЭ фитомассы *E. canadensis*, *Ulothrix* sp., *Spirogyra* sp. под воздействием микроорганизмов биопрепарата «Доктор Робик 109». Для этого определяли исходный сухой вес фитомассы, вносимой в среду, и вес после контакта с микроорганизмами в течение 30 сут.

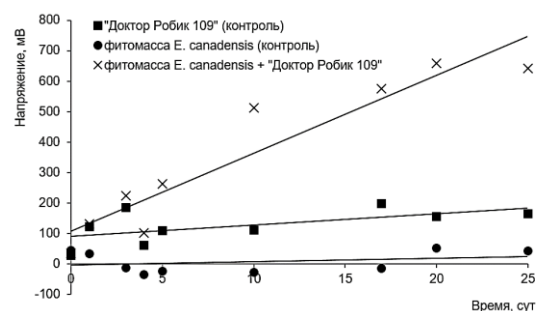


Рис. 6. Динамика напряжения (измерено в режиме разомкнутой цепи), генерируемого в биотопливном элементе микроорганизмами биопрепарата «Доктор Робик 109» при использовании высушенной фитомассы *E. canadensis* в качестве субстрата

Fig. 6. Dynamics of voltage (measured in open circuit mode) generated by in biofuel cell with microorganisms of the biological product "Doctor Robik 109" using dried *E. canadensis* phytomass as a substrate

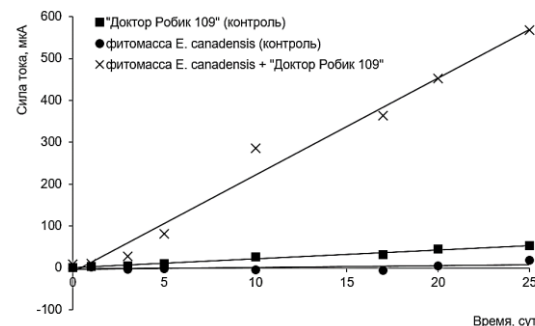


Рис. 7. Динамика силы тока (измерено в режиме короткого замыкания), генерируемого в биотопливном элементе микроорганизмами биопрепарата «Доктор Робик 109» при использовании высушенной фитомассы *E. canadensis* в качестве субстрата

Fig. 7. Dynamics of the current strength (measured in short circuit mode) generated in biofuel cell with microorganisms of the biological product "Doctor Robik 109" using dried *E. canadensis* phytomass as a substrate

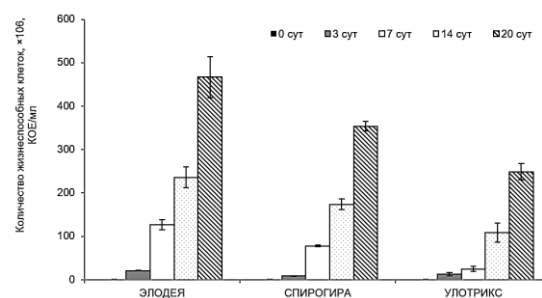


Рис. 8. Численность жизнеспособных клеток комплексного коммерческого микробиологического препарата «Доктор Робик 109» при его культивировании в условиях биотопливного элемента в модельной сточной воде с добавлением высушенной фитомассы *E. canadensis*, *Ulothrix* sp., *Spirogyra* sp. в качестве субстрата

Fig. 8. The number of viable cells of the complex commercial microbiological preparation "Doctor Robik 109" during its cultivation in a biofuel cell in model wastewater with the addition of dried phytomass *E. canadensis*, *Ulothrix* sp., *Spirogyra* sp. as a substrate

Исследование утилизации высушенной фитомассы водных растений микробиологическим препаратом «Доктор Робик 109» в анаэробных условиях биотопливного элемента

Study of the utilization of aquatic plants dried phytomass by the microbiological preparation "Doctor Robik 109" under anaerobic conditions in biofuel cell

Исходная масса навески фитомассы, мг		Масса навески фитомассы водных растений после ее обработки микробиологическими препаратами в течение 30 сут. в условиях биотопливного элемента, мг	
		Модельная сточная вода + фитомасса (контроль)	Модельная сточная вода + фитомасса + «Доктор Робик 109»
<i>E. canadensis</i>	80,0±0	79,0±0,5	53,3±6,8
<i>Ulothrix</i> sp.	80,0±0	77,1±0,4	49,4±3,0
<i>Spirogyra</i> sp.	80,0±0	79,0±0,2	52,6±5,9



Рис. 9. Работа светодиода при последовательном соединении 7-ми биотопливных элементов в автономный энергокомплекс (среда – модельная сточная вода, биоагент – микробный препарат «Доктор Робик 109», субстрат – высушенная растительная масса *E. canadensis*)

Fig. 9. LED operation with 7 biofuel cells connected in series into an autonomous energy complex (environment – model waste water, bioagent – microbial preparation "Doctor Robik 109", substrate – dried plant mass *E. canadensis*)

В результате было зафиксировано снижение массы навески *E. canadensis* после ее обработки препаратом «Доктор Робик 109». В частности, масса *E. canadensis* за 30 сут. эксперимента снижалась с 80,0±0 до 53,3±6,8 мг, *Ulothrix* sp. – до 49,4±3,0 мг, *Spirogyra* sp. – 52,6±5,9 мг (см. таблица).

Следует отметить, что достаточно низкая скорость разложения микроорганизмами фитомассы водных растений и водорослей (по сравнению с простыми углеводами, аминокислотами, пептидами и др. веществами, наиболее часто используемыми в качестве субстратов в БТЭ) обуславливает длительное и стабильное функционирование БТЭ на их основе.

Так, семь макетов БТЭ, анолит которых содержал биопрепарат «Доктор Робик 109К» и растительную массу *E. canadensis*, были собраны в электрическую цепь путем их последовательного соединения. Полученный энергокомплекс генерировал напряжение разомкнутой цепи около 4,1 В при токе короткого замыкания 1,4–1,5 мА. Энергия, генерируемая собранным энергокомплексом, обеспечила непрерывную работу светодиода

да (см. рис. 9) в течение 14 сут. эксперимента без дополнительного вмешательства в работу системы – без дополнительного внесения новых порций субстрата или биоагента.

Предлагаемое использование водных растений является одним из перспективных подходов к утилизации их избыточной фитомассы, которая в значительных количествах накапливается после ее применения в фиторемедиационных мероприятиях доочистки сточных вод или разрастается в водоемах в результате их эвтрофирования. Такая ситуация, например, складывается в настоящее время в Байкальском регионе. Прибрежные зоны Байкала, его заливы являются наиболее широко используемыми для рекреационных целей, соответственно, в них обнаруживаются повышенные концентрации биогенных элементов как следствие антропогенного загрязнения. Избыточное накопление растительной массы и ее последующее разложение создает угрозу уникальным биоценозам оз. Байкал. Таким образом, предлагаемый путь использования фитомассы водных растений в представленных энергокомплексах имеет и экологическое значение.

Возможность переработки в БТЭ растительных отходов открывает перспективы использования этой технологии не только в крупных масштабах, но и в рамках приусадебных участков, личных хозяйств. Возможно создание небольших автономных устройств на основе БТЭ, субстратом в которых могли бы выступать растительные остатки, которые обычно претерпевают компостирование либо просто подвергаются сжиганию после высушивания. Утилизация растительной массы в БТЭ ранее была показана разными авторами [36–39]. Однако использование чистых штаммов бактерий, описанных авторами цитируемых выше работ, в рамках приусадебных подсобных хозяйств затруднительно. Это потребует возможности поддержания культуры, приготовления питательных сред, владения микробиологической техникой и оборудованием и пр. Поэтому использование готового коммерческого биопрепарата, такого как «Доктор Робик 109», значительно упрощает процесс запуска работы БТЭ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, экспериментально показана возможность применения фитомассы высших водных растений, используемых для фиторемедиации водных сред, а также водорослей, активно размножающихся и вызывающих эвтрофирование водоемов, в качестве субстрата для получения электрической энергии микроорганизмами в БТЭ. Высокую электрогенную активность при применении в качестве субстрата биомассы

Ulothrix sp., *Spirogyra* sp., *E. canadensis* показал комплексный коммерческий микробиологический препарат «Доктор Робик 109». Повышение генерируемых электрических параметров БТЭ на основе исследуемого биопрепарата и фитомассы водных растений и водорослей (*Ulothrix* sp., *Spirogyra* sp., *Elodea canadensis*) сопровождалось приростом численности жизнеспособных клеток микроорганизмов и уменьшением биомассы растений.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Bhagowati B., Ahamad K. U. A review on lake eutrophication dynamics and recent developments in lake modeling // *Ecohydrology & Hydrobiology*. 2019. Vol. 19, no. 1. P. 155–166. <https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2018.03.002>.
2. Kobanova G. I., Takhteev V. V., Rusanovskaya O. O., Timofeyev M. A. Lake Baikal ecosystem faces the threat of eutrophication // *International Journal of Ecology*. 2016. Vol. 2016. P. 1–8. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6058082>.
3. Kai W. U., Xuzhou M. A., Youcheng W., Wu W., Yuelin L. Effect of three water plants decomposition on water quality // *Journal of Shanghai Ocean University*. 2016. Vol. 25, no. 5. P. 726–734.
4. Tang J.-Y., Cao P.-P., Xu Ch., Liu M.-S. Effects of aquatic plants during their decay and decomposition on water quality // *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. 2013. Vol. 24, no. 1. P. 83–89.
5. Timoshkin O. A., Samsonov D. P., Yamamuro M., Moore M. V., Belykh O. I., Malnik V. V., et al. Rapid ecological change in the coastal zone of Lake Baikal (East Siberia): Is the site of the world's greatest freshwater biodiversity in danger? // *Journal of Great Lakes Research*. 2016. Vol. 42, no. 3. P. 487–497. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2016.02.011>.
6. Kravtsova L. S., Izhboldinalgor L. A., Khanaev I. V., Pomazkina G. V., Rodionova E. V., Domyshva V. M., et al. Nearshore benthic blooms of filamentous green algae in Lake Baikal // *Journal of Great Lakes Research*. 2014. Vol. 40, no. 2. P. 441–448. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2014.02.019>.
7. Khanaev I. V., Kravtsova L. S., Maikova O. O., Bukshuk N. A., Sakirko M. V., Kulakova N. V., Butina T. V., et al. Current state of the sponge fauna (Porifera: Lubomirskiidae) of Lake Baikal: Sponge disease and the problem of conservation of diversity // *Journal of Great Lakes Research*. 2018. Vol. 44, no. 1. P. 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2017.10.004>.
8. Malaviya P., Singh A., Anderson T. A. Aquatic phytoremediation strategies for chromium removal // *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. 2020. Vol. 19. P. 897–944. <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09552-y>.
9. Delgado-González C. R., Madariaga-Navarrete A., Fernández-Cortés J. M., Islas-Pelcastre M., Oza G., Iqbal H. M. N., et al. Advances and applications of water phytoremediation: a potential biotechnological approach for the treatment of heavy metals from contaminated water // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021. Vol. 18, no. 10. P. 5215. <https://doi.org/10.3390/ijerph18105215>.
10. Jeevanantham S., Saravanan A., Hemavathy R. V., Senthil Kumar P., Yaashikaa P. R., Yuvaraj D. Removal of toxic pollutants from water environment by phytoremediation: A survey on application and future prospects // *Environmental Technology & Innovation*. 2019. Vol. 13. P. 264–276. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2018.12.007>.
11. Kathi S. Chapter 6 – Bioenergy from phytoremediated phytomass of aquatic plants via gasification // *Bioremediation and Bioeconomy*. 2016. P. 111–128. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802830-8.00006-X>.
12. Rezanian S., Park J., Rupani P. F., Darajeh N., Xu X., Shahrokhishahraki R. Phytoremediation potential and control of *Phragmites australis* as a green phytomass: an overview // *Environmental Science and Pollution Research*. 2019. Vol. 26. P. 7428–7441. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04300-4>.
13. Castillo-Llamas A. D., del Río P. G., Pérez-Pérez A., Yáñez R., Garrote G., Gullón B. Recent advances to recover value-added compounds from avocado by-products following a biorefinery approach // *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 2021. Vol. 28. P. 100433. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.100433>.
14. Abdel-Shafy H. I., Mansour M. S. M. Solid waste issue: sources, composition, disposal, recycling, and valorization // *Egyptian Journal of Petroleum*. 2018. Vol. 27, no. 4. P. 1275–1290. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2018.07.003>.
15. Saravanan A., Kumar P. S., Khoo K. Sh., Show P.-L., Carolin C. F., Jackulin C. F., et al. Biohydrogen from organic wastes as a clean and environment-friendly energy source: Production pathways, feedstock types, and future prospects // *Biorenewable Technology*. 2021. P. 126021. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126021>.
16. da Silva Mazareli R. C., Montoya A. C. V., Delforno T. P., Centurion V. B., de Oliveira V. M., Silva E. L., et al. Enzymatic routes to hydrogen and organic acids production from banana waste fermentation by autochthonous bacteria: optimization of pH and temperature // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2021. Vol. 46, no. 12. P. 8454–8468. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.12.063>.

17. Байбакова О. В. Химико-энзиматическая конверсия в биоэтанол отходов злаковых культур // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. Т. 6. N 2. С. 51–56. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2016-6-2-51-56>.
18. Ledesma B., Beltramone A. Revalorization of agro-industrial waste as a catalyst source for production of biofuels // Renewable Energy. 2021. Vol. 174. P. 747–757. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.04.131>.
19. Zanivan J., Bonatto C., Scapini T., Dalastra C., Bazoti S. F., Júnior S. L. A., et al. Evaluation of bioethanol production from a mixed fruit waste by *Wickerhamomyces* sp. UFFS-CE-3.1.2 // BioEnergy Research. 2021. P. 1–8. <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10273-5>.
20. Reshmy R., Philip E., Madhavan A., Sindhu R., Binod P., Balakumaran P. A., et al. Potential utilisation of fruit and vegetable waste: an overview // Sustainable Bioconversion of Waste to Value Added Products. 2021. P. 179–191. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61837-7_11.
21. Shrestha S., Khatiwada J. R., Sharma H. K., Qin W. Bioconversion of fruits and vegetables wastes into value-added products // Sustainable Bioconversion of Waste to Value Added Products. 2021. P. 145–163. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61837-7_9.
22. Mehmood T., Nadeem F., Qamar S. A., Bilal M., Iqbal H. M. N. Bioconversion of agro-industrial waste into value-added compounds // Sustainable Bioconversion of Waste to Value Added Products. 2021. P. 349–368. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61837-7_22.
23. Santhi V. P., Sriramavaratharajan V., Murugan R., Masilamani P., Gurav Sh. S., Sarasu V. P., et al. Edible fruit extracts and fruit juices as potential source of antiviral agents: a review // Journal of Food Measurement and Characterization. 2021. Vol. 15. P. 5181–5190. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01090-7>.
24. Abari A. H., Rourani H. A., Ghasemi S. M., Kim H., Kim Y.-G. Investigation of antioxidant and anticancer activities of unsaturated oligogalacturonic acids produced by pectinase of *Streptomyces hydrogenans* YAM1 // Scientific Reports. 2021. Vol. 11. Article number 8491. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87804-9>.
25. Lizárraga-Velázquez C. E., Leyva-López N., Hernández C., Gutiérrez-Grijalva E. P., Salazar-Leyva J. A., Osuna-Ruiz I., et al. Antioxidant molecules from plant waste: extraction techniques and biological properties // Processes. 2020. Vol. 8, no. 12. P. 1566. <https://doi.org/10.3390/pr8121566>.
26. Varadavenkatesan T., Vinayagam R., Selvaraj R. Structural characterization of silver nanoparticles phyto-mediated by a plant waste, seed hull of *Vigna mungo* and their biological applications // Journal of Molecular Structure. 2017. Vol. 1147. P. 629–635. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.07.002>.
27. Annegowda H. V., Majumder P. Valuable bioactives from vegetable wastes // Valorization of Agri-Food Wastes and By-Products. 2021. P. 83–109. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824044-1.00003-9>.
28. Pandit S., Savla N., Sonawane J. M., Sani A. M., Gupta P. K., Mathuriya A. S., et al. Agricultural waste and wastewater as feedstock for bioelectricity generation using microbial fuel cells: recent advances // Fermentation. 2021. Vol. 7, no. 3. P. 169. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030169>.
29. Javed M. M., Nisar M. A., Ahmad M. U. Effect of NaCl and pH on bioelectricity production from vegetable waste extract supplemented with cane molasses in dual chamber microbial fuel cell // Pakistan Journal of Zoology. 2021. Vol. 54, no. 1. P. 247–254. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20180611050622>.
30. Chandra M. S., Srinivasulu M., Yadav P. S., Ramesh B., Narasimha G., Chandrasekhar T. Value added products from agriculture, paper and food waste: a source of bioenergy production. In: Clean Energy Production Technologies. Srivastava M., Srivastava N., Singh R. (eds.). Singapore: Springer, 2021. https://doi.org/10.1007/978-981-16-1190-2_3.
31. Zhdanova G. O., Konovalova E. Yu., Tolstoy M. Yu., Kashevsky A. V., Barbora L., Goswami P., et al. Comparative analysis of electrogenic activity of complex microbial preparations in microbial fuel cells // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2019. Vol. 272, no. 3. P. 032161. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/272/3/032161>.
32. Rudenko R. R., Vasilevich E. E., Zhdanova G. O., Chizhick K. I., Topchiy I. A., Stom D. I. The use of urban sewage sludge as a substrate in a microbial fuel cell // International Journal of Engineering & Technology. 2018. Vol. 7, no. 2. P. 277–280. <https://doi.org/10.14419/ijet.v7i2.23.11931>.
33. Коркина О. С., Сарапулова Г. И., Жданова Г. О., Горбунова Ю. О., Иванчиков Е. А., Стом Д. И. [и др.]. Микробиологический препарат «Доктор Робик 109» как биоагент для получения электрического тока в МТЭ при добавлении жиров // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. 2019. Т. 28. С. 17–25. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2019.28.17>.
34. Stom D. I., Zhdanova G. O., Kashevskii A. V. New designs of biofuel cells and their work testing // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. 2017. Vol. 262. P. 012219. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/262/1/012219>.
35. Grigorova R., Norris J. R. Methods in microbiology. Academic Press, 1990. Vol. 22. 618 p.
36. Kaur M., Kumar M., Sachdeva S., Puri S. K. Aquatic weeds as the next generation feedstock for sustainable bioenergy production // Bioresource Technology. 2018. Vol. 251. P. 390–402. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.082>.
37. Varanasi J. L., Kumari S., Das D. Improvement of energy recovery from water hyacinth by using integrated system // International Journal of Hydrogen Energy. 2018. Vol. 43, no. 3. P. 1303–1318. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.11.110>.
38. Ndayisenga F., Yu Z., Kabera T., Wang B., Liang H., Phulpoto I. A., et al. Co-substrate facilitated

charge transfer for bioelectricity evolution in a toxic blue-green alga-fed microbial fuel cell technology // *Clean Technologies and Environmental Policy*. 2021. <https://doi.org/10.1007/s10098-021-02173-1>.

39. Sani A. M., Savla N., Pandit S., Mathuriya A. S., Gupta P. K., Khanna N., et al. Recent advances in

bioelectricity generation through the simultaneous valorization of lignocellulosic biomass and wastewater treatment in microbial fuel cell // *Sustainable Energy Technologies and Assessments*. 2021. Vol. 48. P. 101572. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2021.101572>.

REFERENCES

1. Bhagowati B., Ahamad K. U. A review on lake eutrophication dynamics and recent developments in lake modeling. *Ecohydrology & Hydrobiology*. 2019;19(1):155-166. <https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2018.03.002>.

2. Kobanova G. I., Takhteev V. V., Rusanovskaya O. O., Timofeyev M. A. Lake Baikal ecosystem faces the threat of eutrophication. *International Journal of Ecology*. 2016;2016:1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6058082>.

3. Kai W. U., Xuzhou M. A., Youcheng W., Wu W., Yuelin L. Effect of three water plants decomposition on water quality. *Journal of Shanghai Ocean University*. 2016;25(5):726-734.

4. Tang J.-Y., Cao P.-P., Xu Ch., Liu M.-S. Effects of aquatic plants during their decay and decomposition on water quality. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. 2013;24(1):83-89.

5. Timoshkin O. A., Samsonov D. P., Yamamuro M., Moore M. V., Belykh O. I., Malnik V. V., et al. Rapid ecological change in the coastal zone of Lake Baikal (East Siberia): Is the site of the world's greatest freshwater biodiversity in danger? *Journal of Great Lakes Research*. 2016;42(3):487-497. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2016.02.011>.

6. Kravtsova L. S., Izhboldinalgor L. A., Khanaev I. V., Pomazkina G. V., Rodionova E. V., Domyshcheva V. M., et al. Nearshore benthic blooms of filamentous green algae in Lake Baikal. *Journal of Great Lakes Research*. 2014;40(2):441-448. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2014.02.019>.

7. Khanaev I. V., Kravtsova L. S., Maikova O. O., Bukshuk N. A., Sakirko M. V., Kulakova N. V., Butina T. V., et al. Current state of the sponge fauna (Porifera: Lubomirskiidae) of Lake Baikal: Sponge disease and the problem of conservation of diversity. *Journal of Great Lakes Research*. 2018;44(1):77-85. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2017.10.004>.

8. Malaviya P., Singh A., Anderson T. A. Aquatic phytoremediation strategies for chromium removal. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 2020;19:897-944. <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09552-y>.

9. Delgado-González C. R., Madariaga-Navarrete A., Fernández-Cortés J. M., Islas-Pelcastre M., Oza G., Iqbal H. M. N., et al. Advances and applications of water phytoremediation: a potential biotechnological approach for the treatment of heavy metals from contaminated water. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021;18(10):5215. <https://doi.org/10.3390/ijerph18105215>.

10. Jeevanantham S., Saravanan A., Hemavathy R. V., Senthil Kumar P., Yaashikaa P. R., Yuvaraj D. Removal of toxic pollutants from water envi-

ronment by phytoremediation: A survey on application and future prospects. *Environmental Technology & Innovation*. 2019;13:264-276. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2018.12.007>.

11. Kathi S. Chapter 6 – Bioenergy from phytoremediated phytomass of aquatic plants via gasification. *Bioremediation and Bioeconomy*. 2016:111-128. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802830-8.00006-X>.

12. Rezanian S., Park J., Rupani P. F., Darajeh N., Xu X., Shahrokhishahraki R. Phytoremediation potential and control of *Phragmites australis* as a green phytomass: an overview. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019;26:7428-7441. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04300-4>.

13. Castillo-Llamas A. D., del Río P. G., Pérez-Pérez A., Yáñez R., Garrote G., Gullón B. Recent advances to recover value-added compounds from avocado by-products following a biorefinery approach. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 2021;28:100433. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.100433>.

14. Abdel-Shafy H. I., Mansour M. S. M. Solid waste issue: sources, composition, disposal, recycling, and valorization. *Egyptian Journal of Petroleum*. 2018;27(4):1275-1290. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2018.07.003>.

15. Saravanan A., Kumar P. S., Khoo K. Sh., Show P.-L., Carolin C. F., Jackulin C. F., et al. Biohydrogen from organic wastes as a clean and environment-friendly energy source: Production pathways, feedstock types, and future prospects. *Biore-source Technology*. 2021;126021. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126021>.

16. da Silva Mazareli R. C., Montoya A. C. V., Delforno T. P., Centurion V. B., de Oliveira V. M., Silva E. L., et al. Enzymatic routes to hydrogen and organic acids production from banana waste fermentation by autochthonous bacteria: optimization of pH and temperature. *International Journal of Hydrogen Energy*. 2021;46(12):8454-8468. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.12.063>.

17. Baibakova O. V. Chemicoenzymatic conversion of cereal crop residues into bioethanol. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biokhimiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2016;6(2):51-56. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2016-6-2-51-56>.

18. Ledesma B., Beltramone A. Revalorization of agro-industrial waste as a catalyst source for production of biofuels. *Renewable Energy*. 2021;174:747-757. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.04.131>.

19. Zanivan J., Bonatto C., Scapini T., Dalastra C., Bazoti S. F., Júnior S. L. A., et al. Evaluation of bio-

ethanol production from a mixed fruit waste by *Wickerhamomyces* sp. UFFS-CE-3.1.2. *BioEnergy Research*. 2021;1-8. <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10273-5>.

20. Reshmy R., Philip E., Madhavan A., Sindhu R., Binod P., Balakumaran P. A., et al. Potential utilisation of fruit and vegetable waste: an overview. *Sustainable Bioconversion of Waste to Value Added Products*. 2021:179-191. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61837-7_9.

21. Shrestha S., Khatiwada J. R., Sharma H. K., Qin W. Bioconversion of fruits and vegetables wastes into value-added products. *Sustainable Bioconversion of Waste to Value Added Products*. 2021:145-163. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61837-7_9.

22. Mehmood T., Nadeem F., Qamar S. A., Bilal M., Iqbal H. M. N. Bioconversion of agro-industrial waste into value-added compounds. *Sustainable Bioconversion of Waste to Value Added Products*. 2021:349-368. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61837-7_22.

23. Santhi V. P., Sriramavaratharajan V., Murugan R., Masilamani P., Gurav Sh. S., Sarasu V. P., et al. Edible fruit extracts and fruit juices as potential source of antiviral agents: a review. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2021;15:5181-5190. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01090-7>.

24. Abari A. H., Rourani H. A., Ghasemi S. M., Kim H., Kim Y.-G. Investigation of antioxidant and anticancer activities of unsaturated oligo-galacturonic acids produced by pectinase of *Streptomyces hydrogenans* YAM1. *Scientific Reports*. 2021;11. Article number 8491. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87804-9>.

25. Lizárraga-Velázquez C. E., Leyva-López N., Hernández C., Gutiérrez-Grijalva E. P., Salazar-Leyva J. A., Osuna-Ruiz I., et al. Antioxidant molecules from plant waste: extraction techniques and biological properties. *Processes*. 2020;8(12):1566. <https://doi.org/10.3390/pr8121566>.

26. Varadavenkatesan T., Vinayagam R., Selvaraj R. Structural characterization of silver nanoparticles phyto-mediated by a plant waste, seed hull of *Vigna mungo* and their biological applications. *Journal of Molecular Structure*. 2017;1147:629-635. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.07.002>.

27. Annegowda H. V., Majumder P. Valuable bioactives from vegetable wastes. *Valorization of Agri-Food Wastes and By-Products*. 2021:83-109. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824044-1.00003-9>.

28. Pandit S., Savla N., Sonawane J. M., Sani A. M., Gupta P. K., Mathuriya A. S., et al. Agricultural waste and wastewater as feedstock for bioelectricity generation using microbial fuel cells: recent advances. *Fermentation*. 2021;7(3):169. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030169>.

29. Javed M. M., Nisar M. A., Ahmad M. U. Effect of NaCl and pH on bioelectricity production from vegetable waste extract supplemented with cane molasses in dual chamber microbial fuel cell. *Pakistan Journal of Zoology*. 2021;54(1):247-254. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20180611050622>.

30. Chandra M. S., Srinivasulu M., Yadav P. S., Ramesh B., Narasimha G., Chandrasekhar T. Value added products from agriculture, paper and food waste: a source of bioenergy production. In: *Clean Energy Production Technologies*. Srivastava M., Srivastava N., Singh R. (eds.). Singapore: Springer; 2021. https://doi.org/10.1007/978-981-16-1190-2_3.

31. Zhdanova G. O., Konovalova E. Yu., Tolstoy M. Yu., Kashevsky A. V., Barbora L., Goswami P., et al. Comparative analysis of electrogenic activity of complex microbial preparations in microbial fuel cells. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019;272(3):032161. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/272/3/032161>.

32. Rudenko R. R., Vasilevich E. E., Zhdanova G. O., Chizhick K. I., Topchii I. A., Stom D. I. The use of urban sewage sludge as a substrate in a microbial fuel cell. *International Journal of Engineering & Technology*. 2018;7(2):277-280. <https://doi.org/10.14419/ijet.v7i2.23.11931>.

33. Korkina O. S., Sarapulova G. I., Zhdanova G. O., Gorbunova Yu. O., Ivanchikov E. A., Stom D. I., et al. Microbiological preparation "Doctor Roebic 109" as a bioagent for obtaining electrical current in MFC with the addition of fats. *Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya. Ekologiya = The Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology*. 2019;28:17-25. (In Russian). <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2019.28.17>.

34. Stom D. I., Zhdanova G. O., Kashevskii A. V. New designs of biofuel cells and their work testing. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2017;262:012219. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/262/1/012219>.

35. Grigorova R., Norris J. R. *Methods in microbiology*. Academic Press; 1990. Vol. 22. 618 p.

36. Kaur M., Kumar M., Sachdeva S., Puri S. K. Aquatic weeds as the next generation feedstock for sustainable bioenergy production. *Bioresource Technology*. 2018;251:390-402. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.082>.

37. Varanasi J. L., Kumari S., Das D. Improvement of energy recovery from water hyacinth by using integrated system. *International Journal of Hydrogen Energy*. 2018;43(3):1303-1318. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.11.110>.

38. Ndayisenga F., Yu Z., Kabera T., Wang B., Liang H., Phulpoto I. A., et al. Co-substrate facilitated charge transfer for bioelectricity evolution in a toxic blue-green alga-fed microbial fuel cell technology. *Clean Technologies and Environmental Policy*. 2021. <https://doi.org/10.1007/s10098-021-02173-1>.

39. Sani A. M., Savla N., Pandit S., Mathuriya A. S., Gupta P. K., Khanna N., et al. Recent advances in bioelectricity generation through the simultaneous valorization of lignocellulosic biomass and wastewater treatment in microbial fuel cell. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*. 2021;48:101572. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2021.101572>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Д. И. Стом,

д.б.н., профессор,
заведующий лабораторией водной
токсикологии,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация;
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация;
главный научный сотрудник,
Байкальский музей СО РАН,
664520, п. Листвянка, ул. Академическая, 1,
Российская Федерация,
stomd@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9496-2961>

Г. О. Жданова,

научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
zhdanova86@ya.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8355-9517>

Н. Ю. Юдина,

к.х.н., старший научный сотрудник,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр-т Ленина, 92,
Российская Федерация,
tysia21-05-90@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4054-9642>

С. В. Алферов,

к.х.н., заведующий лабораторией,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр-т Ленина, 92,
Российская Федерация,
chem@tsu.tula.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5217-7815>

А. Н. Чеснокова,

к.х.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
chesnokova@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-0326-7224>

М. Ю. Толстой,

к.т.н., доцент, заведующий кафедрой
инженерных коммуникаций
и систем жизнеобеспечения,
директор инновационного
центра «Энергоэффективность»,
научный руководитель лаборатории качества

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Devard I. Stom,

Dr. Sci. (Biology), Professor,
Head of the laboratory of Aquatic Toxicology,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation;
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation;
Chief Researcher,
Baikal Museum of the SB RAS,
1, Academicheskaya St., Listvyanka, 664520,
Russian Federation,
stomd@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9496-2961>

Galina O. Zhdanova,

Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
zhdanova86@ya.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8355-9517>

Natalia Yu. Yudina,

Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
tysia21-05-90@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4054-9642>

Sergey V. Alferov,

Cand. Sci. (Chemistry), Head of the Laboratory,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
chem@tsu.tula.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5217-7815>

Alexandra N. Chesnokova,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
chesnokova@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-0326-7224>

Mikhail Yu. Tolstoy,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Head of the Department of Engineering
Communications and Life Support Systems,
Director of the Energy Efficiency Innovation
Center,
Scientific Director of the Water Quality

воды,
Иркутский национальный
исследовательский технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
tolstoi@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-1573-060X>

А. Б. Купчинский,
к.б.н., директор,
Байкальский музей СО РАН,
664520, п. Листвянка, ул. Академическая, 1,
Российская Федерация,
albor67@mail.ru
bm@isc.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8884-8636>

М. Н. Саксонов,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
msaksonov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0094-2447>

С. А. Закарчевский,
аспирант,
Иркутский национальный
исследовательский технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
serzh94lan@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5384-1992>

Т. Энхдул,
кандидат наук, доцент,
Монгольский государственный университет,
210646, г. Улан-Батор, ул. Университетская, 1,
Монголия,
enkhdul@seas.num.edu.mn
enkhdult@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-6147-2130>

А. Францетти,
доктор наук, доцент кафедры наук о Земле
и окружающей среде,
Миланский университет Бикокка,
20126, г. Милан, Piazza della Scienza, 1, Италия,
andrea.franzetti@unimib.it
<https://orcid.org/0000-0003-1279-9940>

М. Рахимнеджад,
доктор наук, профессор кафедры
химического машиностроения,
Технологический университет
Бабола Ноширвани,
а/я: 484, г. Баболь, ул. Шариати, Иран,
Rahimnejad@nit.ac.ir
Rahimnejad_mostafa@yahoo.com

Laboratory,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
tolstoi@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-1573-060X>

Alexander B. Kupchinsky,
Cand. Sci. (Biology), Director,
Baikal Museum of the SB RAS,
1, Academicheskaya St., Listvyanka, 664520,
Russian Federation,
albor67@mail.ru
bm@isc.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8884-8636>

Mikhail N. Saksonov,
Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
msaksonov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0094-2447>

Sergey A. Zakarchevskiy,
Postgraduate Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
serzh94lan@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5384-1992>

Tuugu Enkhdul,
PhD, Associate Professor,
Mongolian State University,
1, University St., 210646, Ulaanbaatar,
Mongolia,
enkhdul@seas.num.edu.mn
enkhdult@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-6147-2130>

Andrea Franzetti,
PhD, Associate Professor,
Department of Earth and Environmental
Sciences,
University of Milano – Bicocca,
1, Piazza della Scienza, 20126, Milano, Italy,
andrea.franzetti@unimib.it
<https://orcid.org/0000-0003-1279-9940>

Mostafa Rahimnejad,
PhD, Professor,
Department of Chemical Engineering,
Babol Noshirvani University of Technology,
Shariati St., P.O. Box: 484, Babol, Iran,
Rahimnejad@nit.ac.ir
Rahimnejad_mostafa@yahoo.com
Rahimnejad_mostafa@gmail.com

Rahimnejad.mostafa@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3582-5876>

<https://orcid.org/0000-0002-3582-5876>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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.

Информация о статье

*Поступила в редакцию 07.06.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.*

Information about the article

*The article was submitted 07.06.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.*

Научная статья

УДК 633.81:57.085.2+577.2

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-64-75>



Особенности длительного сохранения мяты сортов Ажурная и Бергамотная в коллекции *in vitro*

Наталья Алексеевна Егорова, Маргарита Сергеевна Загорская,
Сулейман Февзиевич Абдурашитов

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма,
г. Симферополь, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Егорова Наталья Алексеевна, yegorova.na@mail.ru

Аннотация. Мята – ценное лекарственное и эфиромасличное растение, которое широко применяется в фармакологии, парфюмерно-косметической и пищевой промышленности. Для поддержания коллекций сортов, ценных образцов и проведения селекции перспективно использование биотехнологии сохранения *in vitro* растительных объектов в условиях замедленного роста при низких положительных температурах. Цель работы – изучить морфометрические показатели и генетическую стабильность эксплантов двух сортов мяты при сохранении *in vitro* при 4–6 °С без освещения в течение года. Меристемы с двумя листовыми примордиями культивировали на питательной среде в культуральной комнате при 26 °С и освещенности 2–3 клк с 16-часовым фото-периодом. Развивающиеся из меристем микропобеги разделяли на сегменты стебля с одним узлом, которые использовали в качестве эксплантов для депонирования. Установлено, что после года депонирования при 4–6 °С без освещения у сортов Ажурная и Бергамотная количество жизнеспособных эксплантов составило 56,5 и 85,7% соответственно. У эксплантов отмечено развитие до 2,5 побегов длиной до 13,2 мм и ризогенез с частотой до 52,3%. После депонирования микропобеги черенковали и переносили в культуральную комнату для возобновления роста. Показано, что после двух субкультивирований полностью восстановились жизнеспособность (100%), морфометрические показатели микропобегов и коэффициент размножения (до 5,5–7,3). С помощью ISSR-анализа по четырем изученным ДНК-маркерам выявлено, что микропобеги этих сортов после хранения *in vitro* полностью идентичны исходным растениям. Проведенные исследования показали эффективность используемых условий для хранения *in vitro* эксплантов мяты и подтвердили их генетическую стабильность после года депонирования при 4–6 °С.

Ключевые слова: *Mentha* spp., эксплант, морфометрические параметры, депонирование *in vitro*, ISSR-анализ

Финансирование. Работа выполнена в рамках госзадания Министерства образования и науки РФ FNZW-2022-0008.

Для цитирования: Егорова Н. А., Загорская М. С., Абдурашитов С. Ф. Особенности длительного сохранения мяты сортов Ажурная и Бергамотная в коллекции *in vitro* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 64–75. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-64-75>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Features of long-term preservation of Azhurnaya and Bergamotnaya mint cultivars in an *in vitro* collection

Natalia A. Yegorova, Margarita S. Zagorskaya,
Suleiman F. Abdurashytov

Research Institute of Agriculture of Crimea,
Simferopol, Russian Federation

Corresponding author: Natalia A. Yegorova, yegorova.na@mail.ru

Abstract. Mint represents a valuable medicinal and essential oil plant widely used in pharmacology, perfumery, cosmetics, and food industry. In order to maintain collections of cultivars and valuable samples, as well as to carry out breeding, the application of biotechnology appears to be promising for *in vitro* preservation of

plant objects under the conditions of slow growth at low positive temperatures. The present study is focused on the morphometric parameters and genetic stability of the explants of two mint cultivars during their *in vitro* preservation at 4–6 °C for a year without illumination. Meristems with two leaf primordia were cultivated on a nutrient medium in a culture room at 26 °C and illumination of 2–3 klx with a 16-hour photoperiod. Microshoots developing from meristems were divided into single-node stem segments to be used as explants for deposition. After a year of deposition at 4–6 °C without illumination, the number of viable explants in the Azhurnaya and Bergamotnaya cultivars was established to be 56.5 and 85.7%, respectively. The explants under study were characterized by the development of up to 2.5 shoots up to 13.2 mm long and rhizogenesis with a frequency of up to 52.3%. Following the deposition, microshoots were cut and transferred to a culture room to resume growth. After two subcultivations, viability (100%), morphometric parameters of microshoots, and multiplication index (up to 5.5–7.3) were fully restored. The ISSR-analysis performed according to four studied DNA markers revealed the microshoots of these cultivars to be completely identical to the original plants after *in vitro* preservation. The conducted studies proved the effectiveness of the conditions used for *in vitro* preservation of mint explants and confirmed the explant genetic stability after a year of deposition at 4–6 °C.

Keywords: *Mentha* spp., explant, morphometric parameters, *in vitro* deposition, ISSR analysis

Funding. The work was performed within the state assignment of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation FNZW-2022-0008.

For citation: Yegorova N. A., Zagorskaya M. S., Abdurashytov S. F. Features of long-term preservation of Azhurnaya and Bergamotnaya mint cultivars in an *in vitro* collection. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):64-75. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-64-75>.

ВВЕДЕНИЕ

Мята – широко известное многолетнее травянистое лекарственное, эфиромасличное и пряно-ароматическое растение семейства *Lamiaceae* (Martinov). Различные виды рода *Mentha* L. используются в фармакологии, косметической и пищевой промышленности, а также в медицине [1]. Для широкого применения мяты, в том числе в разнообразных селекционных программах, и сохранения генетического разнообразия необходимы эффективные методы поддержания сортов и коллекционных образцов. Мята относится к вегетативно размножаемым культурам, а наиболее используемым методом сохранения подобных видов является поддержание растительных образцов в полевых коллекциях, которые могут легко предоставить исходный материал для размножения ценных генотипов, проведения исследовательских работ и других целей [2, 3]. Однако у данного метода есть и серьезные недостатки: занимаемые обширные площади и высокие трудозатраты, повреждение образцов болезнями и вредителями, а также нежелательное смешивание образцов. Эти риски могут быть уменьшены с помощью другой стратегии сохранения – в медленно растущей коллекции *in vitro*. Благодаря развитию методов культивирования изолированных тканей и органов методики депонирования *in vitro*, и в частности создание медленнорастущих коллекций, активно используются в настоящее время в качестве эффективной альтернативы полевым коллекциям [3–5]. Поддержание медленного роста и удлинение периода между пересадками культур *in vitro* обеспечи-

ваются в таких технологиях путем снижения температуры культивирования до 2–10 °C, введения в состав питательной среды осмотически активных веществ или ингибиторов роста, снижения освещенности и некоторыми другими приемами [3, 4]. Такие биотехнологические методы особенно важны для вегетативно размножаемых видов растений. При разработке методик сохранения эксплантов в условиях низких положительных температур необходимо подобрать такие режимы, которые будут способствовать длительному сохранению эксплантов, а затем реализации их морфогенетического потенциала [4, 6]. Правильный выбор типа экспланта, состава питательной среды, условий депонирования и культивирования *in vitro* позволяет эффективно сохранять образцы и сводить к минимуму риск появления соматоклональных вариантов [5–8].

Известно, что культивирование тканей и органов на искусственных питательных средах может вызывать соматоклональную изменчивость, которая обусловлена кариологическими изменениями (вариабельность количества и морфологии хромосом), перестройками хромосом, транспозицией подвижных генетических элементов, соматическим кроссинговером, изменениями в метилировании последовательностей ДНК и другими причинами¹ [9]. Поэтому важным аспектом при использовании технологий *in vitro* для сохранения ценных генотипов является проверка генетической стабильности культивируемых растений. На сегодняшний день одними из наиболее точных и достоверных инструментов для выявления и изучения соматоклональной изменчи-

¹Калашникова Е. А. Клеточная инженерия растений: учебник и практикум для вузов. М.: Юрайт, 2020. 333 с.

ности являются молекулярно-генетические методы, основанные на применении полимеразной цепной реакции (ПЦР) при амплификации специфических ДНК-маркеров. Наиболее подходящим методом изучения является ISSR-анализ (Inter Simple Sequence Repeats), основанный на полиморфизме межмикросателлитных локусов генома. Использование метода электрофореза межмикросателлитных участков геномной ДНК является хорошо воспроизводимым, удобным, чувствительным и полиморфным среди анонимных методов фрагментного анализа [10]. Поэтому этот метод широко используется для оценки молекулярно-генетического полиморфизма растений, регенерируемых в культуре тканей и органов, в том числе получаемых в процессе микроразмножения или депонирования *in vitro* [11–14]. В ряде исследований при использовании ПЦР-анализа выявлено появление при микроразмножении или депонировании генетически измененных растений [11, 13–15]. С другой стороны, у многих видов и сортов растений в процессе длительного микроразмножения или поддержания коллекций в изолированной культуре отмечали генетическое сходство с исходными донорными растениями, например, у тополя и осины [12], картофеля [15], рябчика [16] и растений других видов [11].

В Научно-исследовательском институте сельского хозяйства Крыма в течение многих лет ведется селекция мяты, в результате которой получены уникальные ценные генотипы (межвидовые гибриды, полиплоиды, анеуплоиды и др.) и высокопродуктивные эфиромасличные сорта различного направления [17, 18]. Для сохранения разнообразных образцов и сортов необходимо применение современных приемов поддержания коллекций.

В литературе представлено относительно много работ, касающихся разноплановых биотехнологических исследований видов мяты [19–23]. В частности, изучено влияние некоторых факторов на индукцию каллусогенеза, непрямого морфогенеза и получение растений-регенерантов [21, 24]. В ряде публикаций затронуты проблемы получения вторичных метаболитов (компонентов эфирного масла, розмариновой кислоты) в культуре изолированных клеток, каллусов или побегов у некоторых видов и сортов мяты [22, 25]. Большинство публикаций посвящено оптимизации питательных сред и условий культивирования для основных этапов клонального микроразмножения *Mentha piperita* L., *M. spicata* L., *M. viridis* L. и других видов или гибридов мяты [19, 20, 22, 25]. Имеются сведения о влиянии питательных сред на компонентный состав эфирного масла у размноженных в культуре органов растений [26]. Ранее нами изучены некоторые вопросы, связанные с микроразмножением сортов мяты, в частности, подобраны питательные среды для размножения в культуре меристем *in vitro* [27], показано влияние

количества субкультивирований на коэффициент размножения [28].

Публикаций, касающихся депонирования *in vitro* ароматических растений, в том числе и мяты, крайне мало. Так, Е. R. J. Keller с соавторами провели успешный опыт по сохранению двух тетраплоидов *M. villosa* Huds. и *M. piperita* L., а также октоплоида *M. piperita* L. при 2 и 10 °C на безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга в течение 6 месяцев [29]. Некоторые вопросы депонирования изучены на образцах *M. villosa* и *M. piperita*, которые депонировали 6 месяцев при 2 °C [30]. На примере нескольких сортов мяты (Удайчанка, Прилукская Карвонная, Украинская Перечная, Прилукская б) проанализировано развитие эксплантов в течение 24 месяцев с использованием разных типов экспланта и концентраций сахарозы в питательной среде [31]. Тем не менее в ряде публикаций приводятся достаточно противоречивые или неполные данные [29–31], а вопросы генетической гетерогенности растений мяты при культивировании *in vitro* освещены в единичных работах [2].

Цель настоящей работы – изучить морфометрические показатели и генетическую стабильность эксплантов двух сортов мяты при сохранении *in vitro* при 4–6 °C без освещения в течение года.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для исследования использовали растения двух сортов мяты – Ажурная и Бергамотная. Сорт Ажурная – высокоментольный сорт (содержание ментола в эфирном масле составляет 67,1–68,5%), который получен путем свободного переопыления полиплоида *Mentha canadensis* L. с коллекционными образцами дикорастущих видов. Сорт Бергамотная – нементольный сорт (основные компоненты эфирного масла – линалоол (61,0%) и линалилацетат (18,0%)), созданный путем поэтапной гибридизации трех видов (*M. citrata* Ehrh. × *M. longifolia* L.) × *M. spicata* L. [18]. Исходные донорные растения выращивали в условиях закрытого грунта. Подготовку оборудования и материалов для работы в асептических условиях, питательных сред и анализ ростовых процессов проводили согласно общепринятым методам¹ [5].

В культуру *in vitro* вводили меристемы с двумя листовыми примордиями (0,5–0,7 мм), выделенные из пазушных почек донорных растений. Меристемы вычленили под стереоскопическим микроскопом МСП-1 (Россия) в условиях ламинарного бокса БАВип-01-«Ламинар-С»-1,2 (Россия). Экспланты культивировали на ранее оптимизированной для микроразмножения мяты [27] модификации питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) [32] с добавлением 1,0 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП) и 0,5 мг/л индолилуксусной кислоты (ИУК) (Sigma, США).

При культивировании в условиях культураль-

ной комнаты (при 26 °С, влажности воздуха 70% и освещенности 2–3 клк с 16-часовым фотопериодом) из меристем развивались микропобеги. Далее проводили их черенкование, в качестве эксплантов для сохранения *in vitro* использовали сегменты стебля с одним узлом. В пробирки с 10 мл агаризованной питательной среды помещали по одному экспланту, закрывали их ватно-марлевыми пробками и депонировали в холодильной камере при 4–6 °С без освещения в течение одного года без пересадки. После года хранения подсчитывали количество жизнеспособных и развивающихся эксплантов (%), а также определяли морфометрические показатели: число (шт.) и длину (мм) побегов, число узлов на побеге (шт.), частоту ризогенеза (%), число (шт.) и длину (мм) корней. Далее в асептических условиях микропобеги черенковали, пересаживали на свежую питательную среду того же состава и помещали в условия культуральной комнаты (при 26 °С, влажности 70% и освещенности 2–3 клк с 16-часовым фотопериодом), где дважды проводили субкультивирование. После каждого субкультивирования определяли те же морфометрические показатели. Коэффициент размножения рассчитывали как количество микрочеренков, которое можно получить за одно субкультивирование, для этого среднее количество образовавшихся побегов умножали на среднее число узлов на побеге.

Геномную ДНК выделяли из молодых верхних листьев (0,2–0,3 г) растений мяты исходных сортов (выращенных в условиях закрытого грунта) и из побегов микрорастений после года депонирования *in vitro* и последующего отрастания в культуральной комнате. Для этого использовали ЦТАБ-буфер (цетилтриметиламмония бромид), а затем проводили очистку хлороформом [33]. Выделенную ДНК хранили при -20 °С. Для изучения влияния длительного хранения эксплантов при низкой положительной температуре на генетическую стабильность изучаемых сортов мяты провели ISSR-анализ генома растений мяты с праймерами М2, М3, М4, М8 [34] (табл. 1).

Таблица 1. ISSR праймеры, использованные для постановки ПЦР

Table 1. ISSR primers used for PCR

Праймер	Нуклеотидная последовательность 5'–3'	Температура отжига, °С
М2	(AC) ₈ (C/T)G	50,0
М3	(GA) ₈ (C/T)C	52,7
М4	(AG) ₈ YC	50,0
М8	(GTG) ₅	52,7

Для постановки ПЦР-реакции использовали компоненты, произведенные компанией «Евроген» (Россия). Общий объем реакционной смеси со-

ставлял 20 мкл: 1х TaqTurbo буфер с 2,5 mM Mg²⁺, 0,2 mM каждого dNTP (нуклеозидтрифосфат), 5 пкМ праймера, HSTaq ДНК-полимераза 2 единицы/порцию, в качестве матрицы применяли выделенную ДНК исследуемых растений в количестве 10–20 нг/реакцию. ПЦР проводили с использованием следующего режима амплификации: 1) начальная денатурация ДНК при 95 °С (3 мин); 2) далее 35 циклов 95 °С (30 с), 50,0 или 52,7 °С (30 с), 72 °С (1 мин); 3) окончательный синтез цепи ДНК при 72 °С (5 мин). Для работы использовали амплификатор T-100 Thermal Cycler (Bio-Rad, США). Оценку ПЦР-продуктов проводили электрофоретическим разделением в 2,0%-м агарозном геле с добавлением бромистого этидия в ТАЕ-буфере и последующей визуализацией в ультрафиолетовом свете. Полученные электрофореграммы обработаны с помощью программы TotalLab 2.01 (trial version) (Phoretix, Великобритания).

При культивировании *in vitro* (депонировании и микроразмножении) в каждом варианте опыта использовали 20 эксплантов в 2-кратной повторности. Данные обработаны статистически с использованием программы Statistica 10,0. Полученные результаты представлены в таблицах в виде средней арифметической величины со стандартной ошибкой. Для анализа достоверности различий применяли многодиапазонный тест Дункана при $p \leq 0,05$.

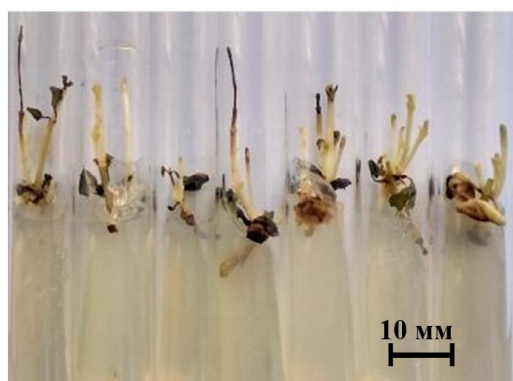
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Созданию медленно растущей коллекции *in vitro* предшествует целый комплекс процессов: введение в асептическую культуру меристем, выделенных из донорного растения; собственно микроразмножение; подбор условий для роста культуры при низкой положительной температуре с сохранением жизнеспособности после депонирования. При введении в культуру *in vitro* меристем мяты у изученных сортов наблюдали 100%-ю приживаемость эксплантов. Для культивирования меристем использовали питательную среду Мурасиге и Скуга с добавлением БАП (1,0 мг/л) и ИУК (0,5 мг/л), оптимизированную нами ранее [27]. После недели культивирования на этой среде отмечено начало развития меристем, а через 4 недели наблюдали 1–3 побега. В дальнейшем для второго этапа (собственно микроразмножения) или депонирования в качестве эксплантов использовали сегменты стебля с одним узлом, которые получали при микрочеренковании основного и дополнительных побегов, сформировавшихся *in vitro*. Далее пробирки с эксплантами помещали в холодильную камеру на 1 год, где их культивировали при 4–6 °С без пересадки и освещения.

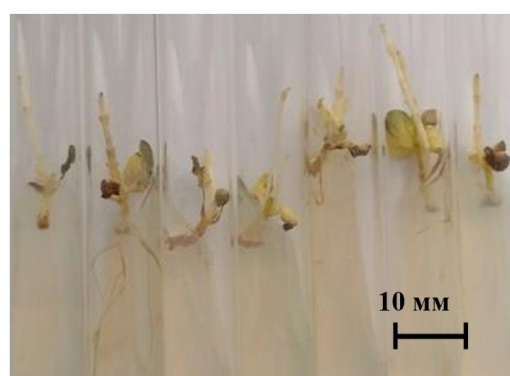
После одного года сохранения *in vitro* визуально оценивали количество жизнеспособных и развивающихся эксплантов (рис. 1, табл. 2).

Установлено, что все жизнеспособные экспланты после такого длительного хранения медленно развивались. Они формировали светлые этиолированные микропобеги с мелкими редуцированными листьями. Образования каллуса у основания побегов не отмечено ни у одного из сортов. Это очень важный аспект при депонировании, так как необходимо исключить индукцию соматональных вариантов из морфогенного каллуса, что может привести к потере генетической стабильности. На верхушках некоторых микропобегов у сорта Ажурная отмечены некро-

тические поражения (рис. 1, А). У этого сорта способность переносить холодный стресс оказалась достоверно ниже, так как количество жизнеспособных побегов составило 56,5%, а у сорта Бергамотная – 85,7% (см. табл. 2). Ранее для мяты сорта Удайчанка установлено, что число жизнеспособных эксплантов после года хранения при низкой положительной температуре *in vitro* составило 58,0% [31]. В работе Т. Islam с соавторами данные о жизнеспособности культур после депонирования 4-х образцов мяты, к сожалению, не представлены [30].



А



В



С



Д

Рис. 1. Микропобеги мяты сортов Ажурная (А) и Бергамотная (В) после одного года депонирования *in vitro* при 4–6 °С без освещения и микропобеги сортов Ажурная (С) и Бергамотная (Д) после второго субкультивирования при отрастании в условиях культуральной комнаты после года хранения *in vitro*

Fig. 1. Microshoots of Azhurnaya (A) and Bergamotnaya (B) mint cultivars after one year of *in vitro* deposition at 4–6 °C without illumination and microshoots of cultivars Azhurnaya (C) and Bergamotnaya (D) after the 2nd subculturing during regrowth in a culture room after a year of conservation *in vitro*

Таблица 2. Влияние хранения *in vitro* при 4–6 °С в течение 1-го года на морфометрические показатели эксплантов мяты сортов Ажурная и Бергамотная

Table 2. Influence of *in vitro* conservation at 4–6 °C for a year on the morphometric parameters of explants of mint cultivars Azhurnaya and Bergamotnaya

Морфометрические показатели	Сорт	
	Ажурная	Бергамотная
Число жизнеспособных эксплантов, %	56,5±5,8 ^b	85,7±7,1 ^a
Число развивающихся побегов, %	56,5±5,8 ^b	85,7±7,1 ^a
Число побегов, шт./эксплант	2,5±0,2 ^a	1,2±0,1 ^b
Длина побега, мм	13,2±0,9 ^a	11,8±1,2 ^a
Число узлов, шт./побег	1,4±0,1 ^a	1,6±0,1 ^a
Частота ризогенеза, %	8,6±1,5 ^b	52,3±8,1 ^a
Число корней, шт./побег	0,09±0,06 ^b	0,71±0,17 ^a
Длина корня, мм	40,5±4,4 ^a	39,2±5,2 ^a

Примечание. Значения, обозначенные одной и той же буквой в пределах строки, существенно не различаются (многодиапазонный тест Дункана при $p \leq 0,05$).

В работах многих исследователей показано, что низкая положительная температура при хранении в изолированной культуре выступает в качестве фактора, замедляющего рост растений [3–6, 35]. При анализе морфометрических показателей изучаемых нами сортов мяты также было установлено, что развитие микропобегов происходило с меньшей скоростью, чем в обычных культуральных условиях при микроразмножении *in vitro*. При этом у эксплантов сорта Ажурная наблюдали в 2 раза больше побегов, чем у сорта Бергамотная, однако длина побегов, число узлов и длина корней достоверно не различались. Частота ризогенеза у микропобегов 'Ажурной' была существенно ниже, чем у 'Бергамотной' (8,6 и 52,3% соответственно), как и число корней (см. табл. 2). При исследовании 4-х образцов мяты видов *M. villosa* Huds. и *M. piperita* L. также было выявлено наличие корней, при этом частота ризогенеза варьировалась от 16,0 до 86,0% [30].

После года депонирования при низкой положительной температуре жизнеспособные микропобеги черенковали, пересаживали на свежую питательную среду и помещали в условия культуральной комнаты (26 °С, освещенность – 2–3 клк) для оценки способности к восстановлению роста. Анализ морфометрических параметров проводили в течение двух субкультивирований (табл. 3). После первого субкультивирования число развивающихся побегов у 'Ажурной' и 'Бергамотной' составило 45,0 и 40,0% соответственно. Побеги были тонкими, с мелкими листьями. После второго субкультивирования количество развивающихся побегов достоверно возросло и достигло 100% у обоих сортов, что свидетельствует о полном восстановлении культур после длительного сохранения в условиях замедленного роста *in vitro*. Побеги имели насыщенный зеленый цвет, хорошо развитые листья и корни (см. рис. 1).

Таблица 3. Влияние количества субкультивирований при отрастании после хранения *in vitro* в течение 1-го года на морфометрические показатели эксплантов двух сортов мяты

Table 3. Influence of subcultures number during regrowth after conservation *in vitro* for a year on the morphometric parameters of two mint cultivars explants

Морфометрические показатели	Количество субкультивирований			
	1		2	
	Сорт		Сорт	
	Ажурная	Бергамотная	Ажурная	Бергамотная
Число развивающихся побегов, %	45,0±11,4 ^b	40,0±11,2 ^b	100±0,0 ^a	100±0,0 ^a
Число побегов, шт./эксплант	1,5±0,3 ^b	1,6±0,1 ^b	2,3±0,2 ^a	1,9±0,2 ^{ab}
Длина побега, мм	39,5±7,7 ^a	39,0±8,9 ^a	47,0±4,6 ^a	48,3±5,6 ^a
Число узлов, шт./побег	3,0±0,5 ^a	2,6±0,4 ^a	3,1±0,2 ^a	2,9±0,3 ^a
Частота ризогенеза, %	11,1±2,1 ^b	37,5±4,6 ^a	30,0±3,1 ^a	35,0±3,3 ^a
Число корней, шт./побег	0,2±0,1 ^c	1,0±0,0 ^b	1,5±0,2 ^a	1,3±0,1 ^{ab}
Длина корня, мм	21,6±4,4 ^a	15,6±7,2 ^a	17,8±5,1 ^a	22,2±3,1 ^a
Коэффициент размножения	4,6±1,5 ^b	4,3±0,5 ^b	7,3±0,8 ^a	5,5±0,3 ^{ab}

Примечание. Значения, обозначенные одной и той же буквой в пределах строки, существенно не различаются (многодиапазонный тест Дункана при $p \leq 0,05$).

Число побегов ко второму субкультивированию возросло у обоих сортов: с 1,5 до 2,3 шт./эксплант – у сорта Ажурная, с 1,6 до 1,9 шт./эксплант – у сорта Бергамотная. По длине побегов и числу узлов достоверных изменений не выявлено, однако наблюдалась тенденция к увеличению этих показателей. У сорта Ажурная ко второму субкультивированию достоверно увеличились частота ризогенеза (с 11,1 до 30,0%) и число корней (с 0,1 до 1,5 шт./побег). При этом отмечена тенденция уменьшения длины корней. У 'Бергамотной' достоверных различий влияния количества субкультивирований на данные параметры не наблюдали. Коэффициент размножения у обоих сортов достоверно вырос ко второму субкультивированию по сравнению с первым: у 'Ажурной' – с 4,6 до 7,3, у 'Бергамотной' – с 4,3 до 5,5. Такие коэффициенты размножения сопоставимы с этим параметром у изученных сортов мяты при клоновом микроразмножении *in vitro* [27, 28].

Для сортов Удайчанка, Прилукская Карвонная и Украинская Перечная ранее также было показано, что после депонирования (при низкой положительной температуре) при последующем отрастании в культуральной комнате количество жизнеспособных микропобегов и их морфометрические параметры ко второму субкультивированию почти полностью восстановились [31].

В одном из исследований после депонирования двух видов мяты (*M. villosa* Huds. и *M. piperita* L.) микропобеги для адаптации сразу высаживали в условия закрытого грунта и выращивали около месяца [30]. К сожалению, данные о количестве жизнеспособных побегов *ex vitro* авторы не привели. Высота развивающихся побегов в зависимости от генотипа достигала от 70,2 до 180,4 мм. При изучении образцов мяты тех же видов (*M. villosa* Huds. и *M. piperita* L.) Е. R. J. Keller с соавторами депонировали экспланты в общей сложности 3,5 года и каждые 6 месяцев переносили их

на свежую питательную среду [29]. При этом было показано постепенное увеличение количества узлов на побегах: через 6 месяцев – 9,0 шт./побег, через 3,5 года – до 20,0 шт./побег. Для адаптации микрорастения мяты после депонирования высаживали в тепличные условия, где приживаемость побегов достигала практически 100%. В работе С. Martin с соавторами показано успешное сохранение образцов *M. piperita* L. в течение 1,5–2 лет при температуре 2 и 10 °C с 16-часовым фотопериодом и интенсивностью освещения 2–4 мкМ м⁻²с⁻¹ [2].

Важнейшей задачей при создании коллекций *in vitro* является сохранение генотипа исходных образцов и сортов. Для выявления генетической стабильности при депонировании *in vitro* провели сравнительный анализ ISSR-участков геномной ДНК исходных донорных растений мяты сортов Ажурная и Бергамотная и микрорастений этих сортов после года депонирования при низкой положительной температуре (рис. 2). В результате ISSR-анализа, выполненного с четырьмя праймерами, детектировано от 2 до 8 амплифицированных фрагментов размером от 189 до 1280 п.н. (табл. 4). Праймер М3 оказался наименее информативным, так как с его помощью получено наименьшее количество ампликонов. При анализе ДНК-матриц не выявлен полиморфизм амплифицированных ISSR-ПЦР-фрагментов. Таким образом, генетических различий между материнскими растениями и микрорастениями *in vitro* мяты сортов Ажурная и Бергамотная после депонирования в течение 12-ти месяцев не обнаружено.

Полученные результаты показали, что ISSR-профили ДНК микропобегов после года сохранения *in vitro* при низкой положительной температуре полностью идентичны по количеству и длине ампликонов растениям исходных сортов (выращенным в условиях закрытого грунта) по всем четырем использованным маркерам (см. табл. 4).

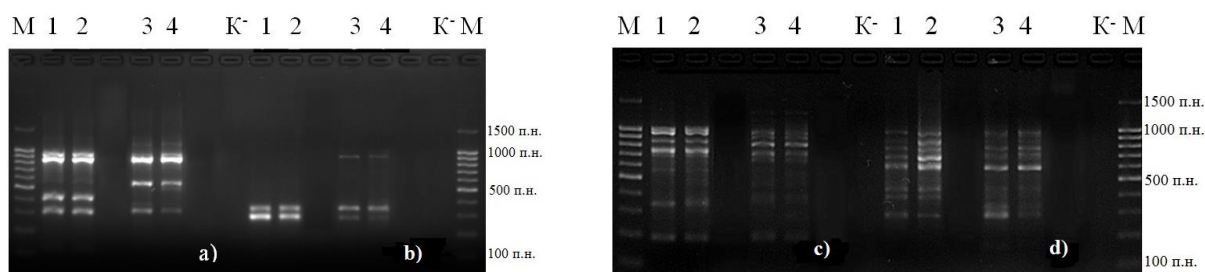


Рис. 2. Электрофореграммы результатов ISSR-ПЦР ДНК исходных растений сортов мяты Ажурная (1) и Бергамотная (3) и микропобегов этих сортов (соответственно – 2 и 4) после 1-го года сохранения *in vitro*, полученные с использованием ISSR-праймеров М2 (а), М3 (б), М4 (с), М8 (д). М – маркер молекулярных весов 100+ bp DNA Ladder; К – отрицательный контроль

Fig. 2. Electrophoregrams of the ISSR-PCR DNA results of initial plants mint cultivars Azhurnaya (1) and Bergamotnaya (3) and microshoots of these cultivars (2 and 4, respectively) after 1 year of *in vitro* conservation, obtained using ISSR primers M2 (a), M3 (b), M4 (c), M8 (d). M – molecular weight marker 100+ bp DNA Ladder; K – negative control

Таблица 4. Длина ампликонов (п.н.), полученных с использованием ISSR-праймеров, у растений исходных сортов мяты и микропобегов после 1-го года сохранения *in vitro* при 4–6 °C

Table 4. Length of amplicons (bp) obtained using ISSR primers at initial plants of mint cultivars and microshoots after 1 year of conservation *in vitro* at 4–6 °C

Праймер	Сорт Ажурная		Сорт Бергамотная	
	исходные растения	депонирование 1 год	исходные растения	депонирование 1 год
M2	900; 836; 413; 311	900; 836; 413; 311	1118; 913; 824; 513; 311	1118; 913; 824; 513; 311
M3	323; 269	323; 269	887; 330; 264	887; 330; 264
M4	1011; 939; 850; 735; 675; 553; 336; 189	1011; 939; 850; 735; 675; 553; 336; 189	1280; 939; 890; 810; 700; 636; 375; 192	1280; 939; 890; 810; 700; 636; 375; 192
M8	949; 840; 753; 659; 579; 424; 380; 276	949; 840; 753; 659; 579; 424; 380; 276	939; 850; 753; 675; 566; 419; 313; 276	939; 850; 753; 675; 566; 419; 313; 276

Литературные данные, касающиеся генетической гетерогенности растений, полученных в культуре изолированных органов и тканей, очень отличаются. Это объясняется тем, что авторы используют различные виды или сорта растения, различные биотехнологии и условия культивирования *in vitro* [11]. Л. Samarina с соавторами провели изучение растений чая после длительного микроразмножения в течение 7 лет с использованием пролиферации пазушных почек [14]. С помощью ПЦР-анализа на ISSR-маркерах они выявили небольшие генетические дистанции между размноженными проростками и исходным сортом Колхида. В некоторых других работах при проведении молекулярно-генетического анализа с использованием ISSR- и RAPD-маркеров также обнаружена генетическая нестабильность сортов и клонов чая после клонального микроразмножения *in vitro* [цит. по 14]. Н. Ali с соавторами при микроразмножении *Orthosiphon stamineus* Benth. после трех субкультивирований *in vitro* выявили относительно низкий уровень полиморфизма (7,32%) среди полученных образцов [13]. Интересные данные получены при сравнительном анализе генетической стабильности 14-ти образцов картофеля, которые хранились *in vitro* от года до 26-ти лет, и их полевых аналогов [15]. Авторы установили, что 11 образцов картофеля в условиях *in vitro* были идентичны материнским растениям по изученным ДНК-маркерам. Однако у 3-х сортов обнаружены несоответствия между образцами *in vitro* и их исходными образцами *in vivo*.

В то же время во многих исследованиях показана генетическая стабильность растений в ходе клонального микроразмножения или длительного сохранения *in vitro*. Так, для гибридов тополя белого (*Populus alba* L.) и сереющего (*P. canescens* Sm.) установлено, что полученные с использованием меристемных культур клоны, находящиеся в коллекции длительного депонирования *in vitro* (21 год и 7 лет соответственно), не имели изменений в ДНК-спектрах по всем локусам в сравнении с материнскими деревьями [12]. Длительное хранение микроклонов *Fritillaria sonnikovae* Schaulo et A. Erst. в условиях замедленного роста *in vitro* при температуре 7 °C в те-

чение 12-ти месяцев также не вызвало генетической изменчивости у регенерантов, сформированных в ходе прямого органогенеза в первом пассаже, следующем за депонированием [16].

Что касается аналогичных исследований мяты, то имеются сведения о проведении молекулярно-генетической оценки 161 образца *M. piperita* L. при использовании разных методов хранения (криохранение, депонирование *in vitro* в течение 2–3-х лет, полевая коллекция) [2]. Установлено, что образцы, сохраненные с помощью биотехнологических методик, проявили генетическую стабильность, тогда как часть образцов из полевой коллекции отличалась от аналогичных образцов из двух других коллекций на 30–40%.

Представленная нами работа по изучению сохранения *in vitro* мяты на примере сортов Ажурная и Бергамотная показала, что длительное депонирование эксплантов при используемых условиях в течение года не привело к возникновению соматоклональной изменчивости, что свидетельствует о перспективности применения данных методических приемов для создания коллекции ценных генотипов *in vitro*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что растения мяты сортов Ажурная и Бергамотная можно успешно депонировать *in vitro* без освещения при низкой положительной температуре (4–6 °C) в течение 1-го года. Жизнеспособность эксплантов после 12-ти месяцев хранения составила 56,5–85,7%. После 2-х субкультивирований в условиях культуральной комнаты (при 26 °C и освещенности 2–3 клк) наблюдали полное восстановление всех морфометрических параметров микропобегов (высоты и числа побегов, количества узлов на побеге, частоты ризогенеза). После второго субкультивирования количество жизнеспособных развивающихся побегов достигло 100%, при этом коэффициент размножения составил: у 'Ажурной' – 7,3, у 'Бергамотной' – 5,5. С помощью ISSR-анализа по 4-м изученным ДНК-маркерам выявлено, что исследованные сорта сохранили генетическую стабильность после года хранения в условиях медленно растущей культуры *in vitro*.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Eftekhari A., Khusro A., Ahmadian E., Dizaj S. M., Dinparast L., Bahadori M. B., et al. Phytochemical and nutra-pharmaceutical attributes of *Mentha* spp.: A comprehensive review // *Arabian Journal of Chemistry*. 2021. Vol. 14, no. 5. Article number 103106. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103106>.
2. Martin C., Senula A., González-González I., Acosta A., Keller E. R. J., Gonzalez-Benito M. E. Genetic identity of three mint accessions stored by different conservation procedures: field collection, *in vitro* and cryopreservation // *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2013. Vol. 60, no. 1. P. 243–249. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9830-x>.
3. Engelmann F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity // *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2011. N 47. P. 5–16. <https://doi.org/10.1007/s11627-010-9327-2>.
4. Cruz-Cruz C. A., Gonzalez-Arnao M. T., Engelmann F. Biotechnology and conservation of plant biodiversity // *Resources*. 2013. N 2. P. 73–95. <https://doi.org/10.3390/resources2020073>.
5. Основы создания генобанка *in vitro* видов, сортов и форм декоративных, ароматических и плодовых культур: колл. монография; под общ. ред. И. В. Митрофановой. Симферополь: ИТ «Ариал», 2018. 260 с. <https://doi.org/10.32514/978-5-907118-87-4>.
6. Chauhan R., Singh V., Quraishi A. *In vitro* conservation through slow-growth storage. In: M. Faisal, A. Alatar (ed.). *Synthetic seeds. Germplasm Regeneration, Preservation and Prospects*. Springer Nature Switzerland AG. 2019. P. 397–416. https://doi.org/10.1007/978-3-030-24631-0_19.
7. Молканова О. И., Коновалова Л. Н., Стахеева Т. С. Особенности размножения и сохранения коллекции ценных и редких видов растений в условиях *in vitro* // *Бюллетень государственного Никитского ботанического сада*. 2016. N 120. С. 17–23.
8. Спиридович Е. В., Фоменко Т. И., Власова А. Б., Козлова О. Н., Вайновская И. Ф., Юхимук А. Н. [и др.]. Асептическая коллекция и банк ДНК Центрального ботанического сада НАН Беларуси как эффективные инструменты сохранения редких растений // *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук*. 2017. N 3. С. 117–128.
9. Рябушкина Н. А. Клональная и микроклональная изменчивость растений // *Биотехнология. Теория и практика*. 2014. N 2. С. 17–27. <https://doi.org/10.11134/btp.2.2014.3>.
10. Wolfe A. D. ISSR techniques for evolutionary biology // *Methods in Enzymology*. 2005. Vol. 395. P. 134–144. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)95009-X](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)95009-X).
11. Teixeira Silva J. A., Bolibok H., Rakoczy-Trojanowska M. Molecular markers in micro-propagation, tissue culture and *in vitro* plant research // *Genes, Genomes and Genomics*. 2007. Vol. 1, no. 1. P. 66–72.
12. Машкина О. С., Федулова Т. П., Табацкая Т. М., Кондратьева А. М., Шабанова Е. А. Молекулярно-генетическая и цитогенетическая оценка перспективных гибридов и размноженных *in vitro* клонов тополя и осины // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2016. N 2. С. 60–69.
13. Ali H., Musa I. F., Bakar N. A. A., Karsani S. A., Yaacob J. S. *In vitro* regeneration and ISSR-based genetic fidelity analysis of *Orthosiphon stamineus* Benth. // *Agronomy*. 2019. Vol. 9, no. 12. P. 778. <https://doi.org/10.3390/agronomy9120778>.
14. Samarina L., Gvasaliya M., Koninskaya N., Rakhmangulov R., Efremov A., Kiselyova N., et al. A comparison of genetic stability in tea [*Camellia sinensis* (L.) Kuntze] plantlets derived from callus with plantlets from long-term *in vitro* propagation // *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2019. Vol. 138, no. 4. P. 467–474. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01642-2>.
15. Антонова О. Ю., Трускинов Э. В., Фролова Д. В., Гавриленко Т. А. Анализ генетической стабильности образцов картофеля, сохраняемых в условиях *in vitro* // *Аграрная Россия*. 2004. N 6. С. 25–30. <https://doi.org/10.30906/1999-5636-2004-6-25-29>.
16. Мурасева Д. С., Звягина Н. С., Новикова Т. И., Дорогина О. В. Сохранение эндемика Западного Саяна *Fritillaria sonnikovae* Schaulo et A. Erst (Liliaceae) в коллекции *in vitro* // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017. Т. 21. N 5. С. 554–560. <https://doi.org/10.18699/VJ17.272>.
17. Бугаенко Л. А., Шило Н. П. Полиплоидия и межвидовая гибридизация у мяты. Симферополь: Бизнес-Информ, 2012. 296 с.
18. Шульга Е. Б. Новые сорта мяты для Крыма и других регионов юга России // *Таврический вестник аграрной науки*. 2017. N 1 (9). С. 28–36.
19. Laslo V., Zăpârțan M., Vicas S., Agud E. Use of nodal explants in "*in vitro*" micro-propagation of *Mentha piperita* L. // *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Protectia Mediului*. 2011. Vol. 16. P. 247–251.
20. Bolouk S. G., Kazemitabar A. S. K., Sinaki J. M. *In vitro* culture of the peppermint plant (*Mentha piperita*) without the use of hormones // *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 2013. Vol. 6, no. 18. P. 1279–1283.
21. Islam A. T. M. R., Alam M. F. *In vitro* callus induction and indirect organogenesis of *Mentha piperita* (L.) – an aromatic medicinal plant // *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. 2018. Vol. 4, no. 3. P. 49–60. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2018.4.3.0078>.
22. Wijaya B. K., Hardjo P. H., Emantoko S. Menthol from the stem and leaf *in vitro* *Mentha piperita* Linn. // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019. Vol. 293, no. 1. Article number 012009. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/293/1/012009>.
23. Vaidya B. N., Asanakunov B., Shahin L.,

Jernigan H. L., Joshee N., Dhekney S. A. Improving micropropagation of *Mentha × piperita* L. using a liquid culture system // *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2019. Vol. 55, no. 1. P. 71–80. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-09952-4>.

24. Ghiorghe G. A journey into of the universe of *in vitro* cultures of plants. Callogenesis // *Environment and Natural Resources Research*. 2019. Vol. 9, no. 4. P. 45–60. <https://doi.org/10.5539/enrr.v9n4p45>.

25. Егорова Н. А. Биотехнология эфиромасличных растений: создание новых форм и микроразмножение *in vitro*. Симферополь: ИД «Автограф», 2021. 315 с. <https://doi.org/10.33952/2542-0720-2021-978-5-6045452-9-4>.

26. Benahmed A., Harfi B., Belkhiri A. Biological activity of essential oils of *Mentha pulegium* from field-grown and acclimated *in vitro* plants // *Current Science*. 2019. Vol. 116, no. 11. P. 1897–1911. <https://doi.org/10.18520/cs/v116/i11/1897-1904>.

27. Загорская М. С., Егорова Н. А. Оптимизация состава питательной среды для клонального микроразмножения *in vitro* сортов мяты Ажурная и Бергамотная // *Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия*. 2018. Т. 4 (70). N 2. С. 73–84.

28. Zagorskaya M., Yegorova N. Effect of prolonged cultivation on the micropropagation *in vitro* of mint cultivars and breeding samples // *BIO Web of Conferences*. 2018. Vol. 11. Article number 00049. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20181100049>.

29. Keller E. R. J., Senula A., Dreiling M. Gene-banking of vegetatively propagated medicinal plants – two cases: *Allium* and *Mentha* // *Acta Horticulturae*. 2005. N 676. P. 103–109. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.676.12>.

30. Islam T., Leunufna S., Dembele D. P., Keller E. R. J. *In vitro* conservation of four mint (*Mentha* spp.) accessions // *Plant Tissue Culture*. 2003. Vol. 13, no. 1. P. 37–46.

31. Егорова Н. А., Ставцева И. В., Якимова О. В., Каменек Л. И., Кривохатко А. Г. Некоторые аспекты клонального микроразмножения и сохранения *in vitro* эфиромасличных растений // *Таврический вестник аграрной науки*. 2015. N 1 (3). С. 18–24.

32. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15, no. 3. P. 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.

33. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // *Phytochemical Bulletin*. 1987. Vol. 19. P. 11–15.

34. Семёнова М. В., Енина О. Л., Шелепова О. В. Внутри- и межвидовая изменчивость *Mentha arvensis* L. и *M. canadensis* L. // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019. Вып. 23. N 8. С. 1067–1075. <https://doi.org/10.18699/VJ19.582>.

35. Дорошенко Н. П. К вопросу создания коллекции генофонда винограда *in vitro* // *Русский виноград*. 2017. N 5. С. 68–86.

REFERENCES

1. Eftekhari A., Khusro A., Ahmadian E., Dizaj S. M., Dinparast L., Bahadori M. B., et al. Phytochemical and nutra-pharmaceutical attributes of *Mentha* spp.: A comprehensive review. *Arabian Journal of Chemistry*. 2021;14(5). Article number 103106. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103106>.

2. Martin C., Senula A., González-González I., Acosta A., Keller E. R. J., Gonzalez-Benito M. E. Genetic identity of three mint accessions stored by different conservation procedures: field collection, *in vitro* and cryopreservation. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2013;60(1):243–249. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9830-x>.

3. Engelmann F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2011;47:5–16. <https://doi.org/10.1007/s11627-010-9327-2>.

4. Cruz-Cruz C. A., Gonzalez-Arnao M. T., Engelmann F. Biotechnology and conservation of plant biodiversity. *Resources*. 2013;2:73–95. <https://doi.org/10.3390/resources2020073>.

5. Mitrofanova I. V. (ed.) *Fundamentals of in vitro genebank creation of species, cultivars and forms in ornamental, aromatic and fruit crops*. Simferopol: Arial; 2018. 260 p. (In Russian). <https://doi.org/10.32514/978-5-907118-87-4>.

6. Chauhan R., Singh V., Quraishi A. *In vitro* conservation through slow-growth storage. In: Faisal M.,

Alatar A. (eds.). *Synthetic seeds. Germplasm Regeneration, Preservation and Prospects*. Springer Nature Switzerland AG; 2019, p. 397–416. https://doi.org/10.1007/978-3-030-24631-0_19.

7. Molkanova O. I., Konovalova L. N., Stakheyeva T. S. Propagation and conservation characteristics of valuable and rare species collection *in vitro*. *Byulleten' gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada = Bulletin of the State Nikitsky Botanical Garden*. 2016;120:17–23. (In Russian).

8. Spiridovich E. V., Fomenko T. I., Vlasava N. B., Kozlova O. N., Vaynovskaya I. F., Yukhimuk A. N., et al. Conservation of rare plants in the aseptic collection and DNA bank of the Central Botanical Garden of NAS of Belarus. *Izvestiya Natsional'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biologicheskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*. 2017;3:117–128. (In Russian).

9. Ryabushkina N. A. Clonality and somaclonal variations in plants. *Biotehnologiya. Teoriya i praktika = Biotechnology. Theory and practice*. 2014;2:17–27. (In Russian). <https://doi.org/10.11134/btp.2.2014.3>.

10. Wolfe A. D. ISSR techniques for evolutionary biology. *Methods in Enzymology*. 2005;395:134–144. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)95009-X](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)95009-X).

11. Teixeira da Silva J. A., Bolibok H., Rakoczy-Trojanowska M. Molecular markers in micropropagation, tissue culture and *in vitro* plant research.

Genes, Genomes and Genomics. 2007;1(1):66-72.

12. Mashkina O. S., Fedulova T. P., Tabatskaya T. M., Kondratyeva A. M., Shabanova E. A. Molecular-genetic and cytogenetic assessment of promising hybrids and clones of poplar and aspen propagated *in vitro*. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2016;2:60-69. (In Russian).

13. Ali H., Musa I. F., Bakar N. A. A., Karsani S. A., Yaacob J. S. *In vitro* regeneration and ISSR-based genetic fidelity analysis of *Orthosiphon stamineus* Benth. *Agronomy*. 2019;9(12):778. <https://doi.org/10.3390/agronomy9120778>.

14. Samarina L., Gvasaliya M., Koninskaya N., Rakhmangulov R., Efremov A., Kiselyova N., et al. A comparison of genetic stability in tea [*Camellia sinensis* (L.) Kuntze] plantlets derived from callus with plantlets from long-term *in vitro* propagation. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2019;138(4):467-474. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01642-2>.

15. Antonova O. Yu., Truskinov E. V., Frolova D. V., Gavrilenko T. A. Analysis of the genetic stability of potato samples preserved under *in vitro* conditions. *Agrarnaya Rossiya = Agrarian Russia*. 2004;6:25-30. (In Russian). <https://doi.org/10.30906/1999-5636-2004-6-25-29>.

16. Muraseva D. S., Zvyagina N. S., Novikova T. I., Dorogina O. V. Conservation of the West Sayan endemic *Fritillaria sonnikovae* Schaulo et A. Erst (Liliaceae) in *in vitro* collection. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(5):554-560. (In Russian). <https://doi.org/10.18699/VJ17.272>.

17. Bugaenko L. A., Shilo N. P. *Polyploidy and interspecies hybridization in mint*. Simferopol: Business-Inform; 2012. 296 p. (In Russian).

18. Shulga E. B. New varieties of mint for Crimea and other southern regions of Russia. *Tavricheskii vestnik agrarnoi nauki = Taurida Herald of the Agrarian Sciences*. 2017;1:28-36. (In Russian).

19. Laslo V., Zăpârțan M., Vicas S., Agud E. Use of nodal explants in "*in vitro*" micro-propagation of *Mentha piperita* L. *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Protectia Mediului*. 2011;16:247-251.

20. Bolouk S. G., Kazemitabar A. S. K., Sinaki J. M. *In vitro* culture of the peppermint plant (*Mentha piperita*) without the use of hormones. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 2013;6(18):1279-1283.

21. Islam A. T. M. R., Alam M. F. *In vitro* callus induction and indirect organogenesis of *Mentha piperita* (L.) – an aromatic medicinal plant. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. 2018;4(3):49-60. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2018.4.3.0078>.

22. Wijaya B. K., Hardjo P. H., Emantoko S. Menthol from the stem and leaf *in vitro* *Mentha piperita* Linn. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019;293(1). Article number 012009. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/293/1/012009>.

23. Vaidya B. N., Asanakunov B., Shahin L.,

Jernigan H. L., Joshee N., Dhekney S. A. Improving micropropagation of *Mentha × piperita* L. using a liquid culture system. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2019;55(1):71-80. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-09952-4>.

24. Ghiorghe G. A journey into of the universe of *in vitro* cultures of plants. Callogenesis. *Environment and Natural Resources Research*. 2019;9(4):45-60. <https://doi.org/10.5539/enrr.v9n4p45>.

25. Yegorova N. A. *Biotechnology of essential oil plants: creation of new forms and micropropagation in vitro*. Simferopol: Izdatel'skii dom "Aftograf"; 2021. 315 p. (In Russian). <https://doi.org/10.33952/2542-0720-2021-978-5-6045452-9-4>.

26. Benahmed A., Harfi B., Belkhiri A. Biological activity of essential oils of *Mentha pulegium* from field-grown and acclimated *in vitro* plants. *Current Science*. 2019;116(11):1897-1911. <https://doi.org/10.18520/cs/v116/i11/1897-1904>.

27. Zagorskaya M. S., Yegorova N. A. Optimization of the nutrient medium composition for the clonal micropropagation *in vitro* mint cultivars Azhurnaya and Bergamotnaya. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. Biologiya. Khimiya = Scientific Notes of V. I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*. 2018;4(2):73-84. (In Russian).

28. Zagorskaya M., Yegorova N. Effect of prolonged cultivation on the micropropagation *in vitro* of mint cultivars and breeding samples. *BIO Web of Conferences*. 2018;11. Article number 00049. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20181100049>.

29. Keller E. R. J., Senula A., Dreiling M. Genebanking of vegetatively propagated medicinal plants – two cases: *Allium* and *Mentha*. *Acta Horticulturae*. 2005;676:103-109. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.676.12>.

30. Islam T., Leunufna S., Dembele D. P., Keller E. R. J. *In vitro* conservation of four mint (*Mentha* spp.) accessions. *Plant Tissue Culture*. 2003;13(1):37-46.

31. Yegorova N. A., Stavtzeva I. V., Yakimova O. V., Kamenyok L. I., Krivochatko A. G. Some aspects of clonal micropropagation and conservation *in vitro* of essential oil plants. *Tavricheskii vestnik agrarnoi nauki = Taurida Herald of the Agrarian Sciences*. 2015;1:18-24. (In Russian).

32. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.

33. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 1987;19:11-15.

34. Semenova M. V., Enina O. L., Shelepov O. V. Intra- and interspecific variability of *Mentha arvensis* L. and *M. canadensis* L. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(8):1067-1075. (In Russian). <https://doi.org/10.18699/VJ19.582>.

35. Doroshenko N. P. About creation of vine gene pool collection *in vitro*. *Russkii vinograd*. 2017;5:68-86. (In Russian).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Н. А. Егорова,

д.б.н., доцент, заведующая лабораторией биотехнологии отдела эфиромасличных и лекарственных культур, Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, 295043, г. Симферополь, ул. Киевская, 150, Российская Федерация, yegorova.na@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-5455-3044>

М. С. Загорская,

младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, 295043, г. Симферополь, ул. Киевская, 150, Российская Федерация, zagorskayamargo@gmail.com <https://orcid.org/0000-0003-0300-3031>

С. Ф. Абдурашитов,

к.б.н., заведующий лабораторией молекулярной генетики, протеомики и биоинформатики в сельском хозяйстве, Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, 295043, г. Симферополь, ул. Киевская, 150, Российская Федерация, asuleyman83@rambler.ru <https://orcid.org/0000-0003-1631-4840>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 12.01.2022.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Natalia A. Yegorova,

Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, Head of the Laboratory of Biotechnology, Department of Essential Oil and Medicinal Crops, Research Institute of Agriculture of Crimea, 150, Kievskaya St., Simferopol, 295043, Russian Federation, yegorova.na@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-5455-3044>

Margarita S. Zagorskaya,

Junior Researcher, Research Institute of Agriculture of Crimea, 150, Kievskaya St., Simferopol, 295043, Russian Federation, zagorskayamargo@gmail.com <https://orcid.org/0000-0003-0300-3031>

Suleiman F. Abdurashytov,

Cand. Sci. (Biology), Head of Laboratory of Molecular Genetics, Proteomics and Bioinformatics in Agriculture, Research Institute of Agriculture of Crimea, 150, Kievskaya St., Simferopol, 295043, Russian Federation, asuleyman83@rambler.ru <https://orcid.org/0000-0003-1631-4840>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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 article

The article was submitted 12.01.2022.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.

Научная статья

УДК 664.6, 579.67

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-76-86>



Оценка протеолитической активности новых штаммов лактобацилл с криорезистентными свойствами

Светлана Владимировна Китаевская, Всеволод Ярославович Пономарев,
Ольга Алексеевна Решетник

Казанский национальный исследовательский технологический университет,
г. Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Китаевская Светлана Владимировна, kitaevskayas@mail.ru

Аннотация. Поиск новых функционально-активных штаммов молочнокислых бактерий и разработка отечественных конкурентоспособных заквасок на их основе – важные направления современной пищевой биотехнологии. Протеолитическая активность является одним из критериев отбора штаммов молочнокислых бактерий в отношении использования их в пищевом производстве и во многом определяет качественные характеристики готовой продукции. Цель работы – оценка протеолитической активности пятнадцати новых криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus*, обладающих рядом функционально-технологических свойств. Результаты исследования показали, что все штаммы демонстрируют более высокую протеолитическую активность в щелочной среде и в среде, близкой к нейтральной ($pH = 6,5$), в слабокислой среде протеолитическая активность лактобацилл имеет минимальные значения, за исключением штаммов *L. fermentum* 12 и *L. plantarum* 21. Максимальную протеолитическую активность проявляют штаммы *L. casei* 32, *L. casei* 36, *L. fermentum* 10, *L. acidophilum* 9 (48,9–52,3 мкг тирозина/мл·мин), минимальную – *L. fermentum* 12, *L. fermentum* 24 и *L. plantarum* 1 (27,7–28,9 мкг тирозина/мл·мин). Установлено, что исследуемый параметр зависит от условий протеолиза (субстрата, pH среды) и является индивидуальной характеристикой штамма, не зависящей от видовой принадлежности лактобацилл. На основании проведенных исследований криорезистентные штаммы *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10, проявляющие высокую протеолитическую активность и эффективно воздействующие на различные белковые субстраты (казеин, альбумин и гемоглобин) в широком интервале значений pH среды, можно рекомендовать для включения в состав заквасок для производства ферментированных продуктов питания.

Ключевые слова: *Lactobacillus*, молочнокислые бактерии, протеолитическая активность, ферментация

Для цитирования: Китаевская С. В., Пономарев В. Я., Решетник О. А. Оценка протеолитической активности новых штаммов лактобацилл с криорезистентными свойствами // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 76–86. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-76-86>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Evaluation of the proteolytic activity of new cryoresistant lactobacillus strains

Svetlana V. Kitaevskaya, Vsevolod Y. Ponomarev,
Olga A. Reshetnik

Kazan National Research Technological University,
Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Svetlana V. Kitaevskaya, kitaevskayas@mail.ru

Abstract. The search for new functionally active strains of lactic acid bacteria, together with the development of domestic competitive starter cultures on their basis, are important directions of contemporary food biotechnology. Proteolytic activity represents one of the criteria for selecting lactic acid bacteria strains for their subsequent use in food production and largely determines the quality characteristics of the finished product.

The present study aims to evaluate the proteolytic activity of 15 new cryoresistant strains of *Lactobacillus* genus lactic acid bacteria having a number of functional and technological properties. According to the results obtained, all strains demonstrated higher proteolytic activity in alkaline media and those close to neutral (pH = 6.5). In slightly acidic media, the strains under study showed minimal values of proteolytic activity, except for *L. fermentum* 12 and *L. plantarum* 21 strains. Strains *L. casei* 32, *L. casei* 36, *L. fermentum* 10, and *L. acidophilum* 9 (48.9–52.3 µg tyrosine/mL·min) showed the maximum proteolytic activity. The minimal proteolytic activity was characteristic of *L. fermentum* 12, *L. fermentum* 24, and *L. plantarum* 1 (27.7–28.9 µg tyrosine/mL·min). The studied parameter depends on the conditions of proteolysis (substrate, medium pH) and represents an individual strain characteristic independent of the *Lactobacillus* species membership. According to the results obtained, *L. casei* 32, *L. casei* 36, and *L. fermentum* 10 cryoresistant strains, manifesting high proteolytic activity and effectively affecting various protein substrates (casein, albumin, haemoglobin) in a wide range of medium pH values, can be recommended for inclusion in the composition of starter cultures for the production of fermented food products.

Keywords: *Lactobacillus*, lactic acid bacteria, proteolytic activity, fermentation

For citation: Kitaevskaya S. V., Ponomarev V. Y., Reshetnik O. A. Evaluation of the proteolytic activity of new cryoresistant *Lactobacillus* strains. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):76-86. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-76-86>.

ВВЕДЕНИЕ

Молочнокислые бактерии обладают разнообразными биотехнологическими свойствами и представляют интерес как объект изучения для получения пробиотических препаратов для человека и животных, способов коррекции микробиологических нарушений, а также разработки функциональных и специализированных продуктов питания [1–7]. Молочнокислые бактерии способны продуцировать гидролитические ферменты, участвующие в пищеварительном процессе, расщепляя сложные компоненты пищи с образованием биоактивных молекул, таких как короткоцепочечные жирные кислоты, пребиотические полисахариды, галактоолигосахариды, линолевые кислоты, фенольные соединения и биоактивные пептиды [8–12].

Промышленно-ценными культурами являются молочнокислые бактерии, относящиеся к роду *Lactobacillus*, которые традиционно включаются в состав большинства заквасок прямого внесения и применяются в технологии широкого спектра ферментированных пищевых продуктов из растительного и животного сырья – в производстве сыров, сметаны, йогурта, кисломолочных напитков и т.п., сырокопченых и сыровяленых мясных продуктов, ржаных и ржано-пшеничных сортов хлеба, квашеных овощей, фруктов, ферментированных соков, соусов и др. [13–16].

Среди биологически активных веществ, продуцируемых молочнокислыми бактериями, особый интерес представляют протеолитические ферменты, которые в основном формируют органолептические и структурно-механические характеристики ферментированных пищевых продуктов, а также оказывают влияние на их биологическую ценность [13, 17].

Протеолитические ферменты лактобактерий играют важную роль в снабжении клеток соединениями азота, в первую очередь аминокисло-

тами, поскольку потребность в них у молочнокислых бактерий очень высока. Доступное количество таких соединений в естественной среде обычно невелико, поэтому основной функцией этих ферментов является гидролиз белков до компонентов, поглощаемых бактериальной клеткой.

Протеолитическая система молочнокислых бактерий образована протеиназой, связанной с клеточной стенкой, специфическими транспортными системами для переноса пептидов и аминокислот и различными цитоплазматическими пептидазами [17, 18].

Трансформация белков пищевых систем при участии молочнокислых бактерий на начальных стадиях протеолиза происходит под влиянием внеклеточных и связанных с клеточной стенкой протеиназ, которые являются мономерными сериновыми протеиназами с молекулярной массой 180–190 кДа. Дальнейшее расщепление пептидов протекает под воздействием пептидаз, лактобактерий, представляющих собой металло-, серин- и цистеинпептидазы с молекулярной массой от 30 до 100 кДа [19, 20]. Следует отметить, что активность протеаз и пептидаз способствует гомеостазу клеток за счет поддержания адекватных внутриклеточных концентраций аминокислот, ди- и трипептидов, которые действуют как осмопротекторы [21].

Существенное влияние на регуляцию протеолитического комплекса лактобактерий оказывают температура, pH среды, концентрация растворенного кислорода, наличие в среде пептидов и аминокислот. Исследователи отмечают, что оптимальное значение pH для роста бактерий не всегда совпадает с оптимальным pH для биосинтеза ферментов [18, 20].

От протеолитической способности отдельных штаммов, входящих в состав стартовых заквасок, зависит содержание и количество определенного набора аминокислот в пищевых фер-

ментированных продуктах, что во многом предопределяет их органолептические и структурно-механические свойства [13, 14, 17]. В результате протеолиза в ферментированных пищевых продуктах накапливаются аминокислоты (валин, аргинин, лейцин, глютаминовая кислота, пролин, триптофан, фенилаланин, лизин и др.) в зависимости от исходного субстрата и протеолитической активности конкретного штамма молочнокислых бактерий. Свободные аминокислоты, образующиеся в результате протеолиза, могут быть преобразованы в различные ароматические соединения (аммиак, амины, альдегиды, фенольные соединения, индол и спирты), которые могут способствовать приданию вкуса и запаха ферментированным пищевым продуктам [20].

В последние годы возрос интерес к протеолитической системе молочнокислых бактерий с точки зрения получения и применения биоактивных пептидов из пищевых источников. Большое внимание ученых всего мира сосредоточено на изучении антиоксидантной активности данных соединений, их способности оказывать иммуномодулирующее, антигипертензивное и гипохолестеринемическое действие [21–23].

Поскольку свойства заквасок существенно зависят от свойств конкретных штаммов, в состав заквасок для ферментации пищевого сырья следует включать производственно-ценные штаммы, проявляющие прежде всего высокую протеолитическую активность. Актуальными и перспективными направлениями в пищевой биотехнологии являются поиск и разработка отечественных конкурентоспособных заквасок молочнокислых бактерий для функциональных и специализированных продуктов питания, имеющих высокую биохимическую активность и ряд функционально-технологических свойств.

Интенсивное внедрение в пищевую промышленность технологий с использованием замораживания полуфабрикатов и готовой продукции требует новых подходов к разработке стартовых культур для ферментированных продуктов питания, в том числе отличающихся высокой выживаемостью при длительном низкотемпературном хранении.

Цель настоящей работы – оценка протеолитической активности новых функционально-активных штаммов *Lactobacillus* с криорезистентными свойствами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектами исследования служили ранее выделенные из различных пищевых источников растительного и животного происхождения молочнокислые бактерии *Lactobacillus*, отличающиеся устойчивостью к низкотемпературному воздействию (выживаемость клеток при температуре -30 °C не менее 80%) и обладающие высоким биотехнологическим потенциалом – широким

спектром антибактериального действия, устойчивостью к антибиотикам и неблагоприятным факторам окружающей среды (высоким концентрациям NaCl, желчи, кислот и фенола) [24, 25]. Данные штаммы хорошо размножаются в широком диапазоне температур – от 15 до 45 °C, температурный оптимум составляет 30–37 °C, оптимальное значение pH – от 5,5 до 6,2.

Для выявления активности казеиназы использовали молочный агар Эйкмана, где в качестве субстрата применяли обезжиренное молоко. Способность к образованию протеолитических ферментов определяли по прозрачным ореолам вокруг зоны роста бактерий, что обуславливает пептонизацию казеина.

Способность молочнокислых бактерий гидролизировать саркоплазматические и миофибриллярные белки оценивали по диаметру прозрачной зоны на плотной питательной среде, обогащенной стерильными вытяжками саркоплазматических или миофибриллярных белков, полученных методом экстрагирования, в количестве 1 мг/мл [26, 27].

Степень воздействия микробных протеаз на белковые субстраты (казеин, альбумин) оценивали по изменению содержания белков, пептидов и свободных аминокислот спектофотометрическими методами согласно рекомендациям, данным в работах [28–30]. Степень гидролиза белка определяли как отношение аминного азота к общему [31], содержание аминного азота в растворе устанавливали методом формольного титрования.

Активность протеаз оценивали модифицированным методом Ансона [32], о протеолитической активности судили по количеству высвободившегося тирозина, накапливающегося в субстрате за 1 ч под действием протеаз, секретируемых в культуральную жидкость лактобациллами через 12 и 24 ч культивирования в жидкой питательной среде MRS. В качестве субстрата использовали 2%-й раствор гемоглобина на универсальном буфере (уксусная, ортофосфорная и борная кислоты с концентрацией 0,1 моль/дм³ в равных соотношениях) со значениями pH 5,0, 6,5 и 8,0 для определения протеолитической активности слабокислых, нейтральных и щелочных протеаз молочнокислых бактерий соответственно.

Полученные результаты исследований обработаны статистически при помощи программы Microsoft Excel. Данные представляют собой средние арифметические значения трех повторностей эксперимента и их среднееквадратичное отклонение. Достоверность различий между группами данных определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента ($p \leq 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Молочнокислые бактерии способны продуци-

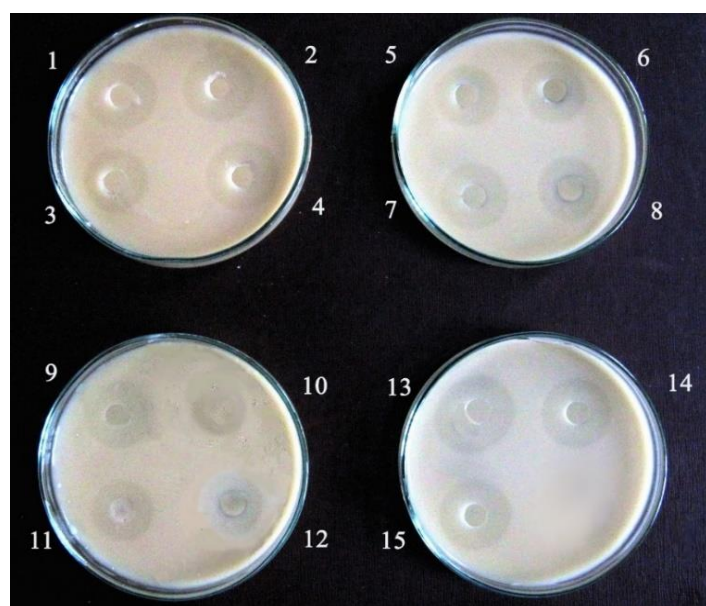
ровать внутриклеточные и внеклеточные протеазы и пептидазы [18–23, 31]. Знание о протеолитической активности лактобактерий имеет решающее значение при подборе заквасочных культур.

Проведенные экспериментальные исследования показали, что все исследуемые штаммы образуют прозрачные ореолы пептизации казеина на агаризованной среде с добавлением обезжиренного молока, что свидетельствует о способности штаммов образовывать протеолитические ферменты, гидролизующие молочный белок (рис. 1).

Диаметр зон просветления, свидетельствующий о пептизации молочного белка у штаммов

молочнокислых бактерий, колеблется от 10,5 до 25,3 мм. Максимальную зону просветления образует штамм *L. acidophilum* 9, наименьшую – штамм *L. fermentum* 24. Диаметр ореолов пептизации казеина остальных штаммов находится приблизительно в одинаковых пределах – 18–20 мм (табл. 1).

Выявлено, что штаммы способны гидролизовать как саркоплазматические, так и миофибриллярные белки, диаметр прозрачной зоны гидролизованых саркоплазматических белков составляет 7,4–16,8 мм, миофибриллярных белков – 8,6–21,6 мм. Максимальную активность демонстрируют штаммы *L. casei* 23, *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10.



Штаммы:

1. *L. casei* 1
2. *L. casei* 7
3. *L. casei* 16
4. *L. casei* 23
5. *L. casei* 32
6. *L. casei* 36
7. *L. fermentum* 10
8. *L. fermentum* 12
9. *L. fermentum* 13
10. *L. fermentum* 24
11. *L. plantarum* 1
12. *L. plantarum* 21
13. *L. acidophilum* 9
14. *L. bavaricus* 6
15. *L. brevis* 3

Рис. 1. Способность штаммов *Lactobacillus* spp. пептонизировать белки молока

Fig. 1. *Lactobacillus* spp. strains ability to peptonize milk proteins

Таблица 1. Способность к гидролизу белков животного происхождения криорезистентными штаммами *Lactobacillus* spp.

Table 1. *Lactobacillus* spp. strains ability to hydrolyze proteins of animal origin

Штамм	Диаметр зоны просветления, мм		
	Молочный белок	Саркоплазматические белки мяса	Миофибриллярные белки мяса
<i>L. casei</i> 1	18,8±0,1	12,3±0,2	15,9±0,1
<i>L. casei</i> 7	18,0±0,1	11,1±0,2	14,4±0,1
<i>L. casei</i> 16	19,7±0,2	10,2±0,1	14,8±0,1
<i>L. casei</i> 23	19,2±0,1	15,5±0,2	16,7±0,2
<i>L. casei</i> 32	20,6±0,2	16,8±0,2	21,6±0,2
<i>L. casei</i> 36	20,1±0,1	15,9±0,1	19,2±0,1
<i>L. fermentum</i> 10	19,6±0,1	15,0±0,1	20,4±0,3
<i>L. fermentum</i> 12	18,8±0,1	10,5±0,1	13,2±0,1
<i>L. fermentum</i> 13	19,2±0,1	9,8±0,1	12,4±0,1
<i>L. fermentum</i> 24	10,5±0,1	7,4±0,1	8,6±0,1
<i>L. plantarum</i> 1	15,9±0,1	8,8±0,1	7,5±0,1
<i>L. plantarum</i> 21	18,4±0,1	14,4±0,2	17,0±0,2
<i>L. acidophilum</i> 9	25,3±0,2	11,9±0,1	13,2±0,1
<i>L. bavaricus</i> 6	14,8±0,1	7,8±0,1	8,8±0,1
<i>L. brevis</i> 3	17,9±0,1	8,3±0,1	9,6±0,1

Таким образом, результаты исследования показывают, что изучаемые штаммы лучше гидролизуют миофибриллярные белки, чем саркоплазматические белки, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [26].

Следует отметить, что штамм *L. acidophilum* 9, обладающий высокой способностью гидролизовать белки молока, демонстрирует слабую активность по отношению к белковым фракциям, выделенным из мясного сырья.

Для выявления активности внеклеточных протеолитических ферментов рассматриваемых штаммов были проведены исследования по оценке содержания растворимых азотистых соединений в модельных субстратах (1%-е растворы казеина и сывороточного альбумина) после ферментации их лактобациллами.

Результаты исследования содержания отдельных фракций азотистых соединений показали, что в процессе ферментации казеина лактобациллами наблюдается интенсивное снижение общего количества белка относительно исходных значений и увеличение содержания пептидов и свободных кислот (табл. 2). Наиболее выраженные изменения характерны для штаммов *L. casei* 32, *L. casei* 36, *L. fermentum* 10, *L. fermentum* 13 и *L. acidophilum* 9, для данных молочнокислых бактерий степень гидролиза казеина составила в среднем 80% (рис. 2). Наименьшую способность гидролизовать белки продемонстрировали штаммы *L. casei* 16, *L. plantarum* 1, *L. bavaricus* 6, степень гидролиза казеина данными бактериями составила 45,2, 32,8 и 36,7% соответственно. Степень гидролиза казеина остальными штаммами составила в среднем 58,2%.

Аналогичные результаты были получены при оценке протеолитической активности криоре-

зистентных штаммов *Lactobacillus* при ферментации альбумина, однако способность микроорганизмов гидролизовать данный белок ниже в среднем на 10–15% по сравнению со степенью протеолиза, продемонстрированной на казеине (см. рис. 2).

При ферментации казеина в среде накапливается большее количество пептидов и свободных аминокислот, чем при ферментации альбумина. Ферментные системы штаммов *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10 оказывают интенсивное воздействие как на казеин, так и на альбумин, тогда как штаммы *L. fermentum* 13, *L. casei* 7 и *L. acidophilum* 9 активно пептонизируют молочный белок, однако показывают низкую активность при ферментации альбумина.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что активность протеолитической системы криореистентных бактерий существенно зависит от природы исходного субстрата, в связи с чем при подборе штаммов для стартовых заквасок, разрабатываемых для пищевой промышленности, требуется изучение активности протеолитических ферментов не только общепринятыми методами, но и проведение их тестирования на конкретных субстратах в зависимости от производственных целей.

Специалисты отмечают, что характер гидролиза белковых молекул до пептидов и аминокислот зависит не только от природы субстрата, но и от внешних условий, в первую очередь значений pH среды. Протеолитические ферменты лактобактерий способны проявлять активность в широком интервале значений pH, и по этому признаку они делятся на слабокислые, нейтральные и щелочные.

Таблица 2. Изменение фракций растворимых азотистых соединений при ферментации казеина и альбумина криореистентными штаммами лактобацилл

Table 2. Changes in soluble nitrogenous compounds during casein and albumin fermentation by lactobacilli cryoresistant strains

Штамм	Содержание фракций, мг/100 мл					
	Казеин			Альбумин		
	Белки	Пептиды	Аминокислоты	Белки	Пептиды	Аминокислоты
<i>L. casei</i> 1	501,9±14,8	377,4±12,3	25,8±4,1	705,6±28,2	247,3±16,3	16,7±4,1
<i>L. casei</i> 7	434,7±16,1	479,9±18,6	28,9±5,3	785,9±22,5	159,1±12,8	14,8±3,6
<i>L. casei</i> 16	547,5±20,3	325,2±15,2	23,9±3,9	762,2±26,3	184,2±14,6	16,5±4,2
<i>L. casei</i> 23	348,6±11,4	557,0±16,7	36,5±4,7	626,5±18,3	285,4±18,1	21,3±4,7
<i>L. casei</i> 32	163,1±10,6	762,8±30,1	43,4±6,2	418,8±19,2	461,4±16,5	30,9±5,4
<i>L. casei</i> 36	205,5±15,7	724,7±26,2	41,9±5,8	499,1±17,4	448,2±17,9	29,5±5,9
<i>L. fermentum</i> 10	184,4±13,4	713,9±22,7	43,4±5,1	454,6±18,6	394,9±14,7	34,2±6,5
<i>L. fermentum</i> 12	428,9±24,1	518,4±20,4	29,6±4,5	604,4±20,8	277,3±11,8	15,4±3,6
<i>L. fermentum</i> 13	371,2±16,6	510,4±19,8	33,4±5,6	632,9±25,1	275,6±15,2	13,6±2,9
<i>L. fermentum</i> 24	480,6±17,2	434,8±17,2	27,1±5,4	705,3±29,6	259,5±19,2	11,8±3,1
<i>L. plantarum</i> 1	671,5±21,4	275,4±15,4	15,3±3,1	892,5±34,5	85,6±10,8	18,7±4,4
<i>L. plantarum</i> 21	432,9±15,6	515,1±17,7	32,7±6,4	638,7±19,2	276,6±12,5	20,1±4,9
<i>L. acidophilum</i> 9	211,3±12,8	680,1±21,1	45,3±7,1	593,2±21,7	311,7±17,3	12,5±2,7
<i>L. bavaricus</i> 6	632,7±20,9	336,1±14,8	23,9±4,8	859,8±36,4	112,5±11,5	10,4±2,4
<i>L. brevis</i> 3	427,4±18,5	484,6±12,6	28,3±5,2	715,6±30,2	197,1±16,7	6,2±1,6

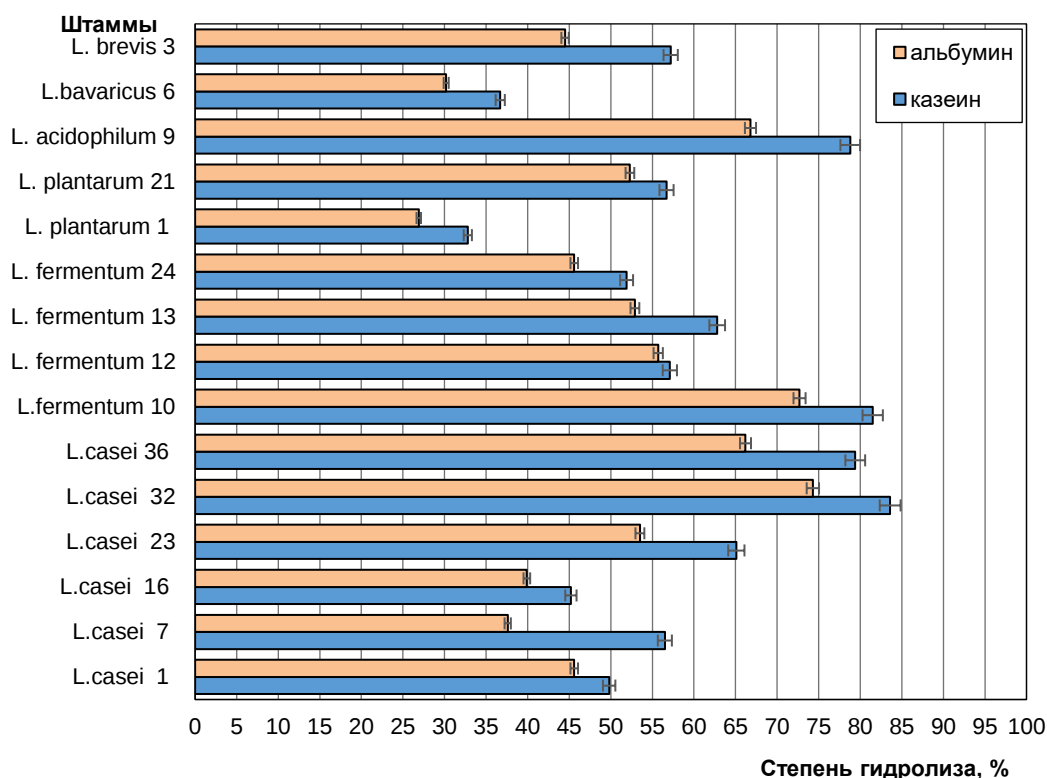


Рис. 2. Степень гидролиза белков при их ферментации лактобациллами

Fig. 2. Protein hydrolysis degree during their fermentation by lactobacilli

В табл. 3 представлены данные по оценке активности внеклеточных протеаз криоре-зистентных штаммов *Lactobacillus* в зависимости от pH среды. Для учета субстрат-специфичности протеолитических ферментов, получения досто-верных результатов и корректного их сравнения в качестве субстрата использовали 2%-й гемо-глобин, приготовленный на универсальном бу-фере [32].

Установлено, что протеолитическая активность криоре-зистентных молочнокислых бактерий не зависит от вида и является индивидуальной осо-бенностью конкретного штамма, что еще раз под-тверждает выводы о необходимости тщательного анализа функционально-технологических свойств каждого «кандидата» для включения в состав стартовых заквасок, предназначенных для фер-ментированных продуктов питания.

Таблица 3. Протеолитическая активность криоре-зистентных штаммов лактобацилл, мкг тирозина/мл·мин

Table 3. Proteolytic activity of cryoresistant strains of lactobacilli, μg tyrosine/(ml·min)

Штамм	pH=5,0		pH=6,5		pH=8	
	12 ч	24 ч	12 ч	24 ч	12 ч	24 ч
<i>L. casei</i> 1	12,29±0,62	8,52±0,43	19,24±0,97	16,71±0,80	32,89±1,60	20,60±1,08
<i>L. casei</i> 7	10,70±0,51	6,15±0,31	23,82±1,17	17,42±0,86	34,49±1,73	11,41±0,52
<i>L. casei</i> 16	14,03±0,69	9,21±0,42	28,53±1,39	20,18±0,97	43,38±2,09	22,26±1,11
<i>L. casei</i> 23	10,32±0,52	7,33±0,36	15,65±0,76	12,29±0,61	30,06±1,48	15,73±0,73
<i>L. casei</i> 32	19,53±0,94	11,60±0,55	36,61±1,83	30,04±1,47	48,86±2,39	22,18±1,02
<i>L. casei</i> 36	17,86±0,87	12,08±0,61	34,75±1,71	28,33±1,41	47,92±2,40	20,69±1,06
<i>L. fermentum</i> 10	20,08±1,09	10,19±0,49	31,12±1,54	25,92±1,30	52,34±2,61	21,90±0,67
<i>L. fermentum</i> 12	18,84±0,96	16,56±0,82	7,35±0,37	4,84±0,23	30,11±1,49	14,51±0,84
<i>L. fermentum</i> 13	11,07±0,52	8,77±0,43	24,91±1,22	16,59±0,82	36,48±1,76	17,03±0,49
<i>L. fermentum</i> 24	9,12±0,41	6,07±0,29	12,73±0,60	11,45±0,58	28,86±1,29	10,24±0,42
<i>L. plantarum</i> 1	5,62±0,28	2,31±0,14	9,9±0,48	6,58±0,32	27,72±1,75	8,57±0,89
<i>L. plantarum</i> 21	18,72±0,95	14,03±0,68	10,37±0,51	9,05±0,43	37,44±1,46	17,94±0,94
<i>L. acidophilum</i> 9	21,41±1,06	11,17±0,53	26,38±1,28	17,24±0,85	31,28±1,38	19,93±0,99
<i>L. bavaricus</i> 6	6,20±0,30	4,42±0,21	20,44±0,99	9,10±0,42	28,95±1,44	9,42±0,40
<i>L. brevis</i> 3	10,31±0,52	7,75±0,39	16,37±0,81	10,74±0,53	25,02±1,16	11,56±0,56

Все исследованные штаммы проявляют более высокую активность в фазу интенсивного роста через 12 ч культивирования клеток в питательной среде (см. табл. 3), что свидетельствует об активном синтезе протеаз в первые часы развития лактобацилл.

Для всех изучаемых штаммов лактобацилл максимальная протеолитическая активность была зарегистрирована при pH = 8, тогда как оптимальное значение для роста и развития данных штаммов лежит в диапазоне от 5,5 до 6,2.

Показано, что в слабокислой среде самую высокую протеолитическую активность проявляют штаммы *L. casei* 32, *L. fermentum* 10 и *L. acidophilum* 9 (19,53–21,41 мкг тирозина/мл·мин.), в нейтральной – *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10 (31,12–36,61 мкг тирозина/мл·мин.), в щелочной – *L. casei* 16, *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10 (43,38–52,34 мкг тирозина/мл·мин.).

Следует отметить, что протеолитическая активность для каждого отдельно взятого штамма молочнокислых бактерий в слабокислой среде отличается низкими значениями по сравнению с ее показателями в нейтральной зоне pH, за исключением штаммов *L. fermentum* 12 и *L. plantarum* 21. Данные штаммы характеризуются достаточно высокой активностью протеаз в слабокислой среде (21,41 и 18,72 мкг тирозина/мл·мин соответственно) при значениях pH = 5,0.

Штаммы *L. fermentum* 24, *L. plantarum* 1, *L. bavaricus* 6 и *L. brevis* 3 демонстрируют наименьшую протеолитическую активность среди изученных лактобацилл вне зависимости от pH среды и продолжительности культивирования клеток.

Результаты, полученные при количественном измерении протеолитической активности исследуемых штаммов, показывают, что значение pH оказывает большое влияние на активность внеклеточных протеаз, продуцируемых лактобактериями, что, вероятно, обусловлено изменением водородно-ионного равновесия, вызывающего модификацию структуры ферментов и снижение доступности субстрата [21, 28].

Среди пятнадцати новых функционально-активных штаммов *Lactobacillus* с криорезистентными свойствами штаммы *L. casei* 32, *L. ca-*

sei 36 и *L. fermentum* 10 продемонстрировали самую высокую протеолитическую активность на различных белковых субстратах и в широком диапазоне значений pH, что свидетельствует об универсальности протеолитического комплекса данных штаммов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Протеолиз является одним из наиболее важных биохимических процессов, связанных с производством многих ферментированных продуктов питания, в связи с чем при подборе заквасочных культур следует особое внимание уделять изучению протеолитической активности индивидуальных штаммов и их комбинаций с целью получения высококачественной продукции.

Криорезистентные штаммы лактобацилл, представленные в данном исследовании, являются продуцентами внеклеточных протеаз и проявляют активность на различных пищевых субстратах, при этом наиболее высокие значения протеолитической активности зарегистрированы в нейтральной и щелочной средах.

Штаммы *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10 обладают универсальной внеклеточной протеолитической активностью в широком диапазоне pH и эффективно воздействуют не только на модельные белковые субстраты (казеин, альбумин и гемоглобин), но и на белковые комплексы мясного сырья и молока.

Представленные в данной статье результаты по оценке протеолитической активности новых штаммов молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами в дальнейшем послужат основой разработки промышленных заквасок для производства пищевых продуктов, подвергающихся низкотемпературной обработке, таких как замороженные тестовые полуфабрикаты, кисломолочные десерты, сыры и сыровяленые колбасные изделия. Кроме того, штаммы *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10 в дальнейшем могут быть использованы в качестве продуцентов аминокислот и биоактивных пептидов, а также специализированной продукции биотехнологического профиля.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Rajoka M. S. R., Shi J. L., Zhu J., Shao D., Huang Q., Jang H., et al. Capacity of lactic acid bacteria in immunity enhancement and cancer prevention // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2017. Vol. 101, no. 1. P. 35–45. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8005-7>.
2. Yousefi B., Eslami M., Ghasemian A., Kokhaei P., Farrohi S. A., Darabi N. Probiotics importance and their immunomodulatory properties // *Journal of Cellular Physiology*. 2019. Vol. 234, no. 6. P. 8008–8018. <https://doi.org/10.1002/jcp.27559>.
3. Kerry R. G., Patra J. K., Gouda S., Park Y., Shin H.-S., Das G. Benefaction of probiotics for human health: A review // *Journal of Food and Drug Analysis*. 2018. Vol. 26, no. 3. P. 927–939. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>.
4. Головин М. А., Ганина В. И., Машенцева Н. Г. Холестеринредуцирующие пробиотические бактерии в молочной продукции // *Молочная промышленность*. 2014. N 5. С. 46–47.
5. Liu C.-F., Tseng K.-C., Chiang S.-S., Lee B.-H., Hsu W.-H., Pan T.-M. Immunomodulatory and antioxidant potential of *Lactobacillus* exopolysaccharides // *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

ture. 2011. Vol. 91, no. 12. P. 2284–2291. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4456>.

6. Ускова М. А., Кравченко Л. В. Антиоксидантные эффекты молочнокислых бактерий – пробиотиков и йогуртных заквасок // Вопросы питания. 2009. Т. 78. N 2. С. 18–24.

7. Вековцев А. А., Сербя Е. М., Бямбаа Б., Позняковский В. М. Микробиом и биохакинг: парадигма управления здоровьем // Индустрия питания. 2021. Т. 6. N 2. С. 16–22. <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2021-6-2-2>.

8. Raveschot C., Cudennec B., Coutte F., Flahaut C., Fremont M., Drider D., et al. Production of bioactive peptides by lactobacillus species: from gene to application // *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9. Article number 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>.

9. Shah N. P. Functional cultures and health benefits // *International Dairy Journal*. 2007. Vol. 17, no. 11. P. 1262–1277. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.01.014>.

10. Rajoka M. S. R., Wu Y. G., Mehwish H. M., Bansal M., Zhao L. Q. *Lactobacillus* exopolysaccharides: New perspectives on engineering strategies, physiochemical functions, and immunomodulatory effects on host health // *Trends in Food Science and Technology*. 2020. Vol. 103. P. 36–48. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.003>.

11. Lynch K. M., Zannini E., Coffey A., Arendt E. K. Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: Isolation, properties, characterization, and health benefits // *Annual Review of Food Science and Technology*. 2018. Vol. 9, no. 9. P. 155–176. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012537>.

12. Maske B. L., de Melo Pereira G. V., S Vale A., de Garvalho Neto D. P., Karp S. G., Viesser J. A., et al. A review on enzyme-producing lactobacilli associated with the human digestive process: From metabolism to application // *Enzyme and Microbial Technology*. 2021. Vol. 149. Article number 109836. <https://doi.org/10.1016/j.enzymtec.2021.109836>.

13. Leroy F., Verluyten J., de Vuyst L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation // *International Journal of Food Microbiology*. 2006. Vol. 106, no. 3. P. 270–285. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.027>.

14. Артюхова С. И., Гаврилова Ю. А. Использование пробиотиков и пребиотиков в биотехнологии производства биопроductов: монография. Омск: ОмГТУ, 2010. 112 с.

15. Sanlier N., Gokcen B. B., Sezgin A. C. Health benefits of fermented foods // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019. Vol. 59, no. 3. P. 506–527. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1383355>.

16. Просеков А. Ю., Остроумов Л. А. Инновационный менеджмент биотехнологий заквасочных культур // *Техника и технология пищевых производств*. 2016. Т. 43. N 4. С. 64–69.

17. Chen C., Zhao S., Hao G., Yu H., Tian H., Zhao G. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavor: A review // *International Journal of Food Properties*. 2017. Vol. 20, no. 1. P. 316–330. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988>.

18. Kieliszek M., Pobiega K., Piwowarek K., Kot A. M. Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria // *Molecules*. 2021. Vol. 26, no. 7. P. 1858. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>.

19. Lim Y. H., Foo H. L., Loh T. C., Mohamad R., Abdullah N. Comparative studies of versatile extracellular proteolytic activities of lactic acid bacteria and their potential for extracellular amino acid productions as feed supplements // *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2019. Vol. 10. Article number 15. 13 p. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0323-z>.

20. Sun F., Hu Y., Yin X., Kong B., Qin L. Production, purification and biochemical characterization of the microbial protease produced by *Lactobacillus fermentum* R6 isolated from Harbin dry sausages // *Process Biochemistry*. 2020. Vol. 89. P. 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.10.029>.

21. Raveschot C., Cudennec B., Coutte F., Flahaut C., Fremont M., Drider D., et al. Production of bioactive peptides by *Lactobacillus* species: from gene to application // *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9. Article number 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>.

22. Elias R. J., Kellerby S. S., Decker E. A. Antioxidant activity of proteins and peptides // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2008. Vol. 48, no. 5. P. 430–441. <https://doi.org/10.1080/10408390701425615>.

23. Tagliazucchi D., Martini S., Solieri L. Bio-prospecting for bioactive peptide production by lactic acid bacteria isolated from fermented dairy food // *Fermentation*. 2019. Vol. 5, no. 4. P. 96. <https://doi.org/10.3390/fermentation5040096>.

24. Agafonova A. N., Bagaeva T. V., Kitaevskaya S. V., Romanova N. K., Reshetnik O. A. Study of the influence of lactic acid bacteria on hydrolytic and oxidation processes in stuffed meat // *Helix*. 2019. Vol. 9, no. 5. P. 5318–5322. <https://doi.org/10.29042/2019-5318-5322>.

25. Китаевская С. В. Исследование резистентности молочнокислых бактерий к низкотемпературной обработке // *Вестник Казанского технологического университета*. 2014. Т. 17. N 23. С. 214–217.

26. Cao C.-C., Feng M.-Q., Sun J., Xu X.-L., Zhou G.-H. Screening of lactic acid bacteria with high protease activity from fermented sausages and antioxidant activity assessment of its fermented sausages // *CyTA – Journal of Food*. 2019. Vol. 17, no. 1. P. 347–354. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1583687>.

27. Grujić R., Savanović D. Analysis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins in pork meat by capillary gel electrophoresis // *Foods and Raw Materials*. 2018. Vol. 6, no. 2. P. 421–428. <http://doi.org/10.21>

603/2308-4057-2018-2-421-428.

28. Atanasova J., Moncheva P., Ivanova I. Proteolytic and antimicrobial activity of lactic acid bacteria grown in goat milk // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2014. Vol. 28, no. 6. P. 1073–1078. <http://doi.org/10.1080/13102818.2014.971487>.

29. Bah C. S., Bekhit A. E.-D. A., Carne A., McConnell M. A. Production of bioactive peptide hydrolysates from deer, sheep and pig plasma using plant and fungal protease preparations // *Food Chemistry*. 2015. Vol. 176. P. 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.025>.

30. Nielsen P. M., Petersen D., Dambmann C.

Improved method for determining food protein degree of hydrolysis // *Journal of Food Science*. 2001. Vol. 66, no. 5. P. 642–646. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x>.

31. Хамагаева И. С., Жеребятыева О. А., Щёкотова А. В. Протеолитическая активность лактобактерий // *Молочная промышленность*. 2016. N 11. С. 29–31.

32. Серб Е. М., Оверченко М. Б., Агашичева К. Л., Римарева Л. В. Универсальный метод определения протеолитической активности ферментных препаратов для пищевой промышленности // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2010. N 6. С. 33–35.

REFERENCES

1. Rajoka M. S. R., Shi J. L., Zhu J., Shao D., Huang Q., Jang H., et al. Capacity of lactic acid bacteria in immunity enhancement and cancer prevention. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2017;101(1):35-45. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8005-7>.

2. Yousefi B., Eslami M., Ghasemian A., Kokhaei P., Farrohi S. A., Darabi N. Probiotics importance and their immunomodulatory properties. *Journal of Cellular Physiology*. 2019;234(6):8008-8018. <https://doi.org/10.1002/jcp.27559>.

3. Kerry R. G., Patra J. K., Gouda S., Park Y., Shin H.-S., Das G. Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2018;26(3):927-939. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>.

4. Golovin M. A., Ganina V. I., Mashentseva N. G. Probiotic bacteria reducing cholesterol in milk products. *Molochnaya promyshlennost' = Dairy Industry*. 2014;5:46-47. (In Russian).

5. Liu C.-F., Tseng K.-C., Chiang S.-S., Lee B.-H., Hsu W.-H., Pan T.-M. Immunomodulatory and antioxidant potential of *Lactobacillus* exopolysaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2011;91(12):2284-2291. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4456>.

6. Uskova M. A., Kravchenko L. V. Antioxidant properties of lactic acid bacteria – probiotic and yogurt strains. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2009;78(2):18-24. (In Russian).

7. Vekovtsev A. A., Serba E. M., Byambaa B., Poznyakovskiy V. M. Microbiome and biohacking: health management paradigm. *Industriya Pitaniya = Food Industry*. 2021;6(2):16-22. (In Russian). <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2021-6-2-2>.

8. Raveschot C., Cudennec B., Coutte F., Flahaut C., Fremont M., Drider D., et al. Production of bioactive peptides by *Lactobacillus* species: from gene to application. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9. Article number 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>.

9. Shah N. P. Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*. 2007;17(11):1262-1277. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.01.014>.

10. Rajoka M. S. R., Wu Y. G., Mehwish H. M., Bansal M., Zhao L. Q. *Lactobacillus* exopolysaccha-

rides: New perspectives on engineering strategies, physiochemical functions, and immunomodulatory effects on host health. *Trends in Food Science and Technology*. 2020;103:36-48. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.003>.

11. Lynch K. M., Zannini E., Coffey A., Arendt E. K. Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: Isolation, properties, characterization, and health benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2018;9(9):155-176. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012537>.

12. Maske B. L., de Melo Pereira G. V., S Vale A., de Garvalho Neto D. P., Karp S. G., Viesser J. A., et al. A review on enzyme-producing lactobacilli associated with the human digestive process: From metabolism to application. *Enzyme and Microbial Technology*. 2021;149. Article number 109836. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109836>.

13. Leroy F., Verluyten J., de Vuyst L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 2006;106(3):270-285. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.027>.

14. Artyukhova S. I., Gavrilova Yu. A. *Probiotics and prebiotics in biotechnology for bio products production*. Omsk: Izdatel'stvo Omskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta; 2012. 112 p. (In Russian).

15. Sanlier N., Gokcen B. B., Sezgin A. C. Health benefits of fermented foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019;59(3):506-527. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1383355>.

16. Prosekov A. Yu., Ostroumov L. A. Innovation management biotechnology of starter cultures. *Tekhnika i tehnologiya pishchevych proizvodstv = Food Processing: Techniques and Technology*. 2016;43(4):64-69. (In Russian).

17. Chen C., Zhao S., Hao G., Yu H., Tian H., Zhao G. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavor: A review. *International Journal of Food Properties*. 2017;20(1):316-330. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988>.

18. Kieliszek M., Pobiega K., Piwowarek K., Kot A. M. Characteristics of the proteolytic enzymes Produced by lactic acid bacteria. *Molecules*. 2021;26(7):1858.

<https://doi.org/10.3390/molecules26071858>.

19. Lim Y. H., Foo H. L., Loh T. C., Mohamad R., Abdullah N. Comparative studies of versatile extracellular proteolytic activities of lactic acid bacteria and their potential for extracellular amino acid productions as feed supplements. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2019;10. Article number 15. 13 p. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0323-z>.

20. Sun F., Hu Y., Yin X., Kong B., Qin L. Production, purification and biochemical characterization of the microbial protease produced by *Lactobacillus fermentum* R6 isolated from Harbin dry sausages. *Process Biochemistry*. 2020;89:37-45. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.10.029>.

21. Raveschot C., Cudennec B., Coutte F., Flahaut C., Fremont M., Drider D., et al. Production of bioactive peptides by *Lactobacillus* species: from gene to application. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9. Article number 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>.

22. Elias R. J., Kellerby S. S., Decker E. A. Antioxidant activity of proteins and peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2008;48(5):430-441. <https://doi.org/10.1080/10408390701425615>.

23. Tagliazucchi D., Martini S., Solieri L. Bioprospecting for bioactive peptide production by lactic acid bacteria isolated from fermented dairy food. *Fermentation*. 2019;5(4):96. <https://doi.org/10.3390/fermentation5040096>.

24. Agafonova A. N., Bagaeva T. V., Kitaevskaya S. V., Romanova N. K., Reshetnik O. A. Study of the influence of lactic acid bacteria on hydrolytic and oxidation processes in stuffed meat. *Helix*. 2019;9(5):5318-5322. <https://doi.org/10.29042/2019-5318-5322>.

25. Kitaevskaya S. V. Resistance of lactic acid bacteria for low temperature processing. *Vestnik Kazanskogo tehnologicheskogo universiteta = Bulletin of Kazan Technological University*. 2014;17

(23):214-217. (In Russian).

26. Cao C.-C., Feng M.-Q., Sun J., Xu X.-L., Zhou G.-H. Screening of lactic acid bacteria with high protease activity from fermented sausages and antioxidant activity assessment of its fermented sausages. *CyTA – Journal of Food*. 2019;17(1):347-354. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1583687>.

27. Grujić R., Savanović D. Analysis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins in pork meat by capillary gel electrophoresis. *Foods and Raw Materials*. 2018;6(2):421-428. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-2-421-428>.

28. Atanasova J., Moncheva P., Ivanova I. Proteolytic and antimicrobial activity of lactic acid bacteria grown in goat milk. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2014;28(6):1073-1078. <http://doi.org/10.1080/13102818.2014.971487>.

29. Bah C. S., Bekhit A. E.-D. A., Carne A., McConnell M. A. Production of bioactive peptide hydrolysates from deer, sheep and pig plasma using plant and fungal protease preparations. *Food Chemistry*. 2015;176:54-63. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.025>.

30. Nielsen P. M., Petersen D., Dambmann C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*. 2001;66(5):642-646. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x>.

31. Hamagaeva I. S., Zherebjat'eva O. A., Shchekotova A. V. Proteolytic activity of lactobacilli. *Molochnaya promyshlennost' = Dairy Industry*. 2016;11:29-31. (In Russian).

32. Serba E. M., Overchenko M. B., Agashicheva K. L., Rimareva L. V. Universal method of definition of proteolytic activity of fermental preparations for the food-processing industry. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyrya = Storage and Processing of Farm Products*. 2010;6:33-35. (In Russian).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

С. В. Китаевская,

к.т.н., доцент,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68,
Российская Федерация,
kitaevskayas@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2211-8742>

В. Я. Пономарев,

к.т.н., доцент,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68,
Российская Федерация,
v.y.ponomarev@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-1320-4881>

О. А. Решетник,

д.т.н., профессор,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Svetlana V. Kitaevskaya,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Kazan National Research Technological
University,
68, K. Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
kitaevskayas@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2211-8742>

Vsevolod Y. Ponomarev,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Kazan National Research Technological
University,
68, K. Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
v.y.ponomarev@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-1320-4881>

Olga A. Reshetnik,

Dr. Sci. (Engineering), Professor,

заведующая кафедрой технологии пищевых производств,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68,
Российская Федерация,
roa.olga@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5322-0769>

Вклад авторов

С. В. Китаевская – выполнение экспериментальной работы; обобщение результатов; написание рукописи.
В. Я. Пономарев – выполнение экспериментальной работы; обобщение результатов; написание рукописи.
О. А. Решетник – обобщение результатов; написание рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

*Поступила в редакцию 04.12.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.*

Head of the Department of Food production technology,
Kazan National Research Technological University,
68, K. Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
roa.olga@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5322-0769>

Contribution of the authors

Svetlana V. Kitaevskaya – performance of experimental work; generalization of results; writing a manuscript.
Vsevolod Y. Ponomarev – performance of experimental work; generalization of results; writing a manuscript.
Olga A. Reshetnik – generalization of results; writing a manuscript.

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 article

*The article was submitted 04.12.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.*

Научная статья

УДК 631.53.027.3:635.64:633.11

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-87-96>



Сравнение действия озона и постоянного электрического поля на морфофизиологические характеристики проростков томата (*Solanum lycopersicum* L.) и пшеницы (*Triticum aestivum* L.)

Вадим Николаевич Нурминский*, Александр Вадимович Лазукин**,
Светлана Вячеславовна Гундарева**, Алексей Сергеевич Столбиков*,***,
Анастасия Валерьевна Третьякова***

*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,

г. Иркутск, Российская Федерация

**НИУ «Московский энергетический институт», г. Москва, Российская Федерация

***Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Нурминский Вадим Николаевич, vadyanurm@mail.ru

Аннотация. Целью работы являлось изучение влияния озона и постоянного электрического поля на морфофизиологические характеристики проростков томата и пшеницы с целью создания эффективной и экологически безопасной технологии повышения ростового потенциала семян сельскохозяйственных культур. Обработку семян томата (*Solanum lycopersicum* L.) сорта Вентура и мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Иркутская проводили в течение 15 и 30 мин: при воздействии озона в дозах 1, 3 и 5 г/м³ и электрического поля при напряженности 1,6 и 2 кВ/см. Как озон, так и постоянное электрическое поле расширяют разброс данных по длине побега и корня, а также изменяют энергию прорастания семян. Выявлено, что в зависимости от концентрации озона и степени воздействия электрическим полем влияние обработки семян может быть как положительным, так и отрицательным. Лучший режим при озонировании семян томата достигался при обработке озоном в концентрации 5 г/м³ в течение 15 мин. Оптимальный режим воздействия электрического поля на семена томата – 1,6 кВ/см в течение 15 мин. Обнаружено, что пшеница реагирует на обработку не так интенсивно, как томат. В случае обработки семян пшеницы более предпочтительным является озонирование, обеспечивающее стимуляцию прорастания уже при воздействии 1 г/м³ озона продолжительностью 15 мин. Результаты экспериментов также показывают, что даже небольшие изменения режима воздействия как при выдержке в электрическом поле, так и при озонировании могут привести к повреждению семян, выраженному не только в ингибировании развития, но и в снижении энергии прорастания семян.

Ключевые слова: семена, проростки, озон, электрическое поле, морфофизиологические характеристики, предпосевная обработка

Благодарности. Авторы выражают благодарность О. И. Грабельных, д.б.н., заведующей лабораторией физиологической генетики Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН, за оказание методической помощи.

Работа выполнена с использованием коллекции ЦКП «Биоресурсный центр» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН.

Финансирование. Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 18-76-10019 (разработка систем электрофизической обработки, подбор концентрации и доз обработки).

Для цитирования: Нурминский В. Н., Лазукин А. В., Гундарева С. В., Столбиков А. С., Третьякова А. В. Сравнение действия озона и постоянного электрического поля на морфофизиологические характеристики проростков томата (*Solanum lycopersicum* L.) и пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 87–96. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-87-96>.

Comparison of the effect produced by ozone and constant electric field on the morphophysiological characteristics of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings

Vadim N. Nurminsky*, Alexander V. Lazukin**, Svetlana V. Gundareva**, Alexey S. Stolbikov*,***, Anastasia V. Tretyakova***

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

**National Research University «Moscow Power Engineering Institute», Moscow, Russian Federation

***Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

Corresponding author: Vadim N. Nurminsky, vadyanurm@mail.ru

Abstract. This study investigated the effect of ozone and constant electric field on the morphological and physiological characteristics of tomato and wheat seedlings with the purpose of creating an effective and environmentally friendly technology for increasing the growth potential of crop seeds. Seeds of cv. Ventura tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and cv. Irkutskaya soft winter wheat (*Triticum aestivum* L.) were exposed to ozone concentrations of 1, 3, and 5 g/m³ and electric field strengths of 1.6 and 2 kV/cm. The exposure time was 15 and 30 min. Both ozone and constant electric field were found to expand the spread of data on the shoot and root length, as well as alter the energy of seed germination. Depending on ozone concentrations and electric field strengths, the effect of seed treatment was established to be both positive and negative. The most optimal mode for ozonization of tomato seeds was achieved at an ozone concentration of 5 g/m³ for 15 minutes. The optimal mode for treating tomato seeds by electric field was achieved at an electric field strength of 1.6 kV/cm for 15 min. Wheat was determined to respond to treatment not as intensively as tomato. When treating wheat seeds, ozonization is a more preferable method, since it stimulates germination even at an ozone concentration of 1 g/m³ for 15 minutes. However, our experimental results showed that even small changes in the mode of exposure both to ozonization and electric field can result in seed damage, thereby inhibiting the development of plants and decreasing the seed germination energy.

Keywords: seeds, seedlings, ozone, electric field, morphophysiological characteristics, presowing treatment

Acknowledgements. The authors are grateful to O. I. Grabelnykh, Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Physiological Genetics, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, for providing methodological assistance.

The work was carried out using the collection of the Central Collective Use "Bioresource Center" of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences.

Funding. The work was partially supported by the Russian Science Foundation, grant no. 18-76-10019 (development of electrophysical treatment systems, choosing concentration and treatment doses).

For citation: Nurminsky V. N., Lazukin A. V., Gundareva S. V., Stolbikov A. S., Tretyakova A. V. Comparison of the effect produced by ozone and constant electric field on the morphophysiological characteristics of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):87-96. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-87-96>.

ВВЕДЕНИЕ

Формирование высокого урожая культурных растений зависит от качества посадочного материала. Состояние семян влияет на дружность всходов, устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессовым факторам и учитывается при расчете нормы посева [1, 2]. Даже при условии выполнения необходимых агротехнических рекомендаций (обеспечение надлежащего севооборота, своевременная уборка урожая и

послеуборочных отходов, соблюдение сроков внесения и концентраций химических средств защиты растений) качество используемого посевного материала часто оказывается невысоким. Кроме того, в биотехнологии существует ряд технологических приемов, снижающих всхожесть семян. Например, применение агентов для стерилизации поверхности семян, а также процесс трансформации [3].

Проблема повышения качества семян реша-

ется путем применения методов предпосевной подготовки, которые подразделяются на химические, биологические и электрофизические. Группа электрофизических методов в последнее время привлекает значительное внимание исследователей, поскольку данные методы экологически безопасны и просты в исполнении. Под электрофизическими методами предпосевной подготовки понимается обработка семян электрическим разрядом, электрическими и магнитными полями, в том числе статическими, облучением волнами различной длины (лазеры, ультрафиолет и т.д.), электроозонирование [4, 5]. Воздействие постоянного электрического поля и озона входит в число наиболее простых методов обработки растений, так как при этом эффективность полностью определяется экспозицией и геометрией электродной системы, обстоятельствами положения семян в ней, направлением поля и его напряженностью [6]. При электроозонировании эффективность воздействия определяется экспозицией и концентрацией озона в протоке воздуха [7].

В настоящее время предполагается, что электрофизические виды обработки создают кратковременный стресс в семенах, который выражается в повышении уровня активных форм кислорода (АФК) [8], запускающих активацию каскада защитных программ растительной клетки. Озон и другие АФК, образующиеся в низкотемпературной плазме (НТП), могут влиять на метаболизм растений, вызывая окислительное повреждение. Защитные механизмы растений от окислительного стресса включают активацию антиоксидантных ферментов [9, 10]. Есть работы, авторы которых исследовали влияние НТП-обработки на активность ферментов, деактивирующих АФК, включая супероксиддисмутазу, пероксидазу и каталазу [11]. Были обнаружены некоторые изменения в уровнях экспрессии генов, кодирующих эти ферменты в растениях, выращенных из семян, подвергшихся воздействию НТП, и такие изменения зависели от возраста проростков и времени воздействия. Однако не совсем ясно, является ли индуцированный НТП окислительный стресс причиной этих изменений, поскольку более высокая метаболическая активность обработанных плазмой семян также может генерировать АФК и тем самым вызывать изменение содержания антиоксидантных ферментов. Также исследованы изменения в уровнях эндогенных гормонов (ауксинов и цитокининов) в семенах при воздействии плазмы. Обнаружено, что они коррелировали с усиленным ростом семян [12]. Было высказано предположение, что НТП-обработка семян влияет на биохимические процессы, происходящие внутри проростков. Однако подробности подобного влияния до сих пор не исследованы. Механизм стимуляции семян, обработанных НТП, основанный на антиоксидант-

ной активности проростков, предложен также в работе [13] на основании измерения концентраций соединений с сульфгидрильными группами в тканях проростков и их связи с динамикой роста растений [14]. В результате воздействия НТП наблюдается также интенсификация различных метаболических процессов, в том числе синтеза хлорофилла, который напрямую связан с обеспечением качества и количества получаемого урожая. Накопление хлорофилла, морфофизиологические характеристики проростков и качественно-количественные характеристики урожая исследовались, например, авторами работы [15]. Было установлено, что между этими показателями существует прямая связь. Таким образом, с учетом проведенных к настоящему времени исследований для оценки эффективности метода на первом этапе исследований можно использовать относительно простые и информативные биометрические методы анализа морфометрических показателей проростков. Растения различных видов отвечают на электрофизическую обработку семян неодинаково [16], различается их реакция на интенсивность воздействия и дозу экспозиции, в том числе и по сортам.

В обзоре [17] обобщены результаты газоразрядной обработки семян, которая считается наиболее многофакторной среди других электрофизических методов и сочетает в себе воздействия электрического поля и озона. Так, в работе [18] сравнивается 6 культур, включая пшеницу и томат, по ответу на газоразрядную обработку. Пшеница часто выбирается объектом исследований подобной направленности, поскольку эта культура – космополит, и во многих странах является основой продуктовой безопасности наряду с другими злаками. Из пасленовых культур в мировом сельском хозяйстве большой популярностью пользуются томаты благодаря высокой урожайности плодов, обилию питательных веществ в них, в том числе витаминов, необходимых в рационе питания. Также томаты уже много лет используются в биотехнологии для производства фармацевтических препаратов [19].

В настоящем исследовании проведено сравнение действия озона и постоянного электрического поля на морфофизиологические характеристики проростков пшеницы и томата с целью создания эффективной и экологически безопасной технологии для повышения ростового потенциала семян данных сельскохозяйственных культур.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для экспериментов по исследованию влияния озона и постоянного электрического поля на всхожесть и прорастание семян томатов (*Solanum lycopersicum* L.) сорта Вентура (урожай 2018 г.) и мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Иркутская (урожай 2019 г.) проводили обработку

семян в течение 15 и 30 мин: при воздействии озона – в дозах 1, 3 и 5 г/м³ (при обработке семян томата), в дозах 1, 2 и 3 г/м³ (при обработке семян пшеницы), и электрического поля – при напряженности 1,6 и 2 кВ/см. Все эксперименты выполнялись в течение 2019–2020 гг.

Озонирование семян проводилось в слабом протоке влажного воздуха. Озон синтезировался в реакторе поверхностного разряда, концентрация озона в протоке воздуха поддерживалась постоянной. Обработка постоянным электрическим полем проводилась в электродной системе из двух параллельных алюминиевых пластин: на пластине, находящейся под положительным напряжением, раскладывались семена в один слой, вторая пластина заземлена. Расстояние между пластинами – 3 см (рис. 1).

Обработанные семена проращивали в индивидуальных контейнерах в темноте на двух слоях фильтровальной бумаги, увлажненной дистиллированной водой, при температуре 20 °С: томаты – в течение 5 сут., пшеница – в течение 3 сут. Энергию прорастания культур определяли

в соответствии с ГОСТ 12038-84 «Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести». В конце эксперимента измеряли длину побегов, индивидуальных корней и рассчитывали энергию прорастания.

Эксперимент проводили в трех биологических повторностях, в каждом варианте брали 75–100 семян.

Статистическая обработка данных была проведена с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с применением программы SigmaPlot v.12.5. На гистограммах приведено распределение значений длины побега и корня, энергия прорастания семян (G), медиана длины побега (Me_n) и корня (Me_k).

Энергию прорастания G определяли как:

$$G = N_g / N_t \times 100,$$

где N_g – количество проросших семян, шт.; N_t – общее количество семян, шт.

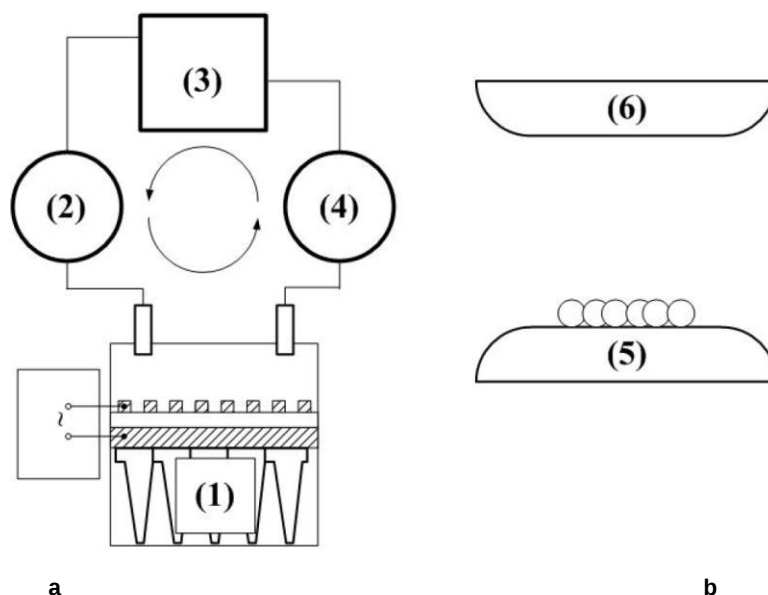


Рис. 1. Схема обработки семян: а – озонирование; б – постоянное электрическое поле;
 1 – озонатор поверхностного разряда; 2 – измеритель концентрации озона;
 3 – емкость с пробой; 4 – перистальтический насос;
 5 – электрод под положительным высоким напряжением; 6 – заземленный электрод

Fig. 1. Scheme of seed treatment: а – ozonation; б – constant electric field;
 1 – surface discharge ozonizer; 2 – tester of ozone concentration; 3 – sample container;
 4 – peristaltic pump; 5 – electrode under positive high voltage; 6 – grounded electrode

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В наших экспериментах обработка семян как озоном, так и постоянным электрическим полем влияла на энергию прорастания и морфометрические показатели проростков томата (рис. 2). При воздействии озоном характер распределения проростков по длине побега и корня заметно менялся, с увеличением концентрации озона разброс дан-

ных по длине побега и корня возрастал.

Отмечено, что уже в концентрации 1 г/м³ озон существенно влиял на длину корня проростков, увеличивая ее почти в 2 раза, что особенно хорошо видно на гистограммах распределения (рис. 2, б). Максимальное удлинение побега и корня происходило в вариантах воздействия 5 г/м³ озона в течение 15 мин и электрического

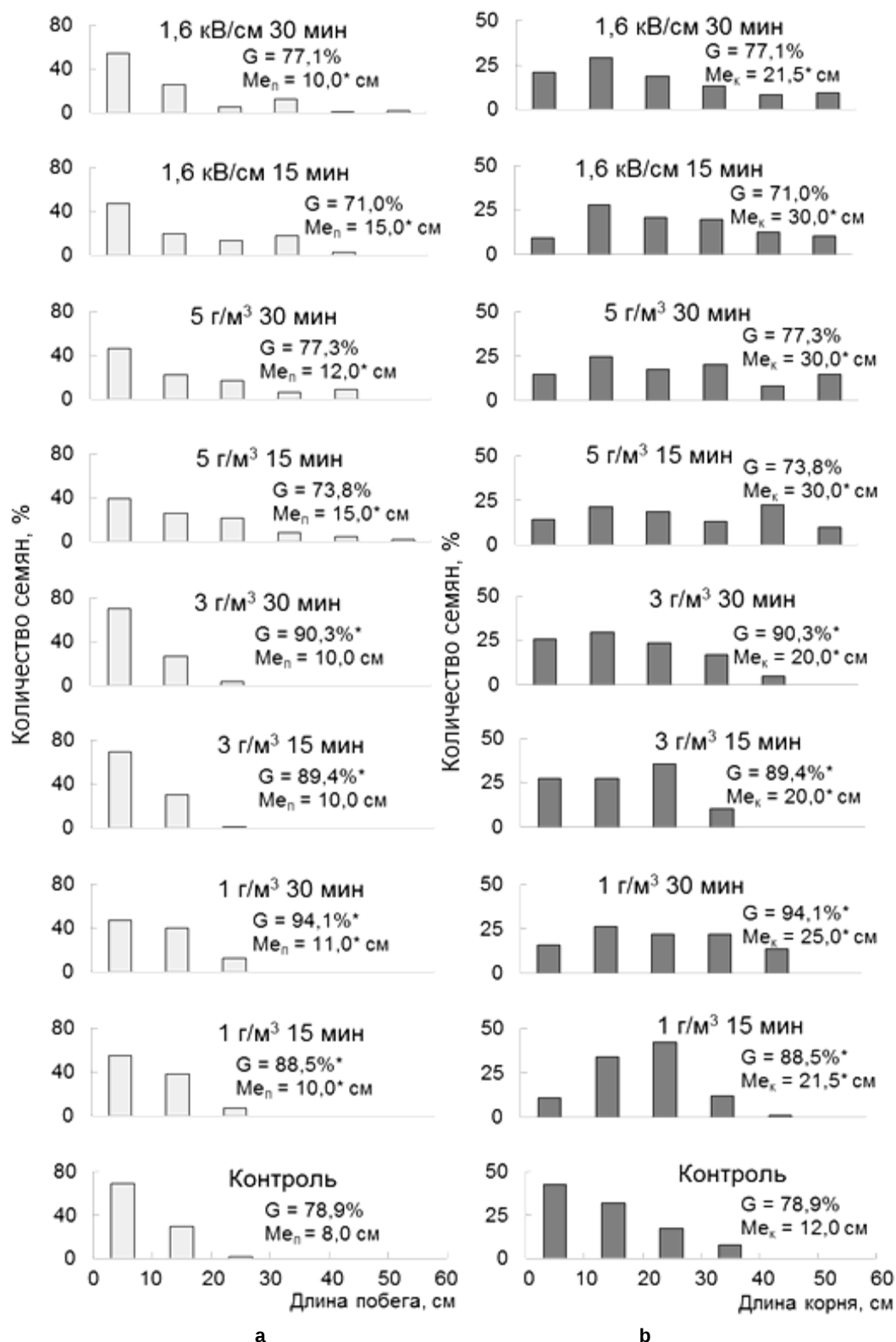


Рис. 2. Распределение растений томата в зависимости от длины побега (а) и корня (б) после обработки семян озонном и электрическим полем.

G – энергия прорастания семян, %; Me_n и Me_k – медианы длины побега и корня соответственно, см.* – достоверные отличия от контроля (тест Манна – Уитни, $p < 0,05$)

Fig. 2. Distribution of tomato plants depending on the length of (a) shoots and (b) roots after treatment with ozone and electric field. G – germination energy of seeds, %; Me_{sh} and Me_r are the medians of shoot and root length respectively, cm.* – significant differences from control (Mann – Whitney test, $p < 0.05$)

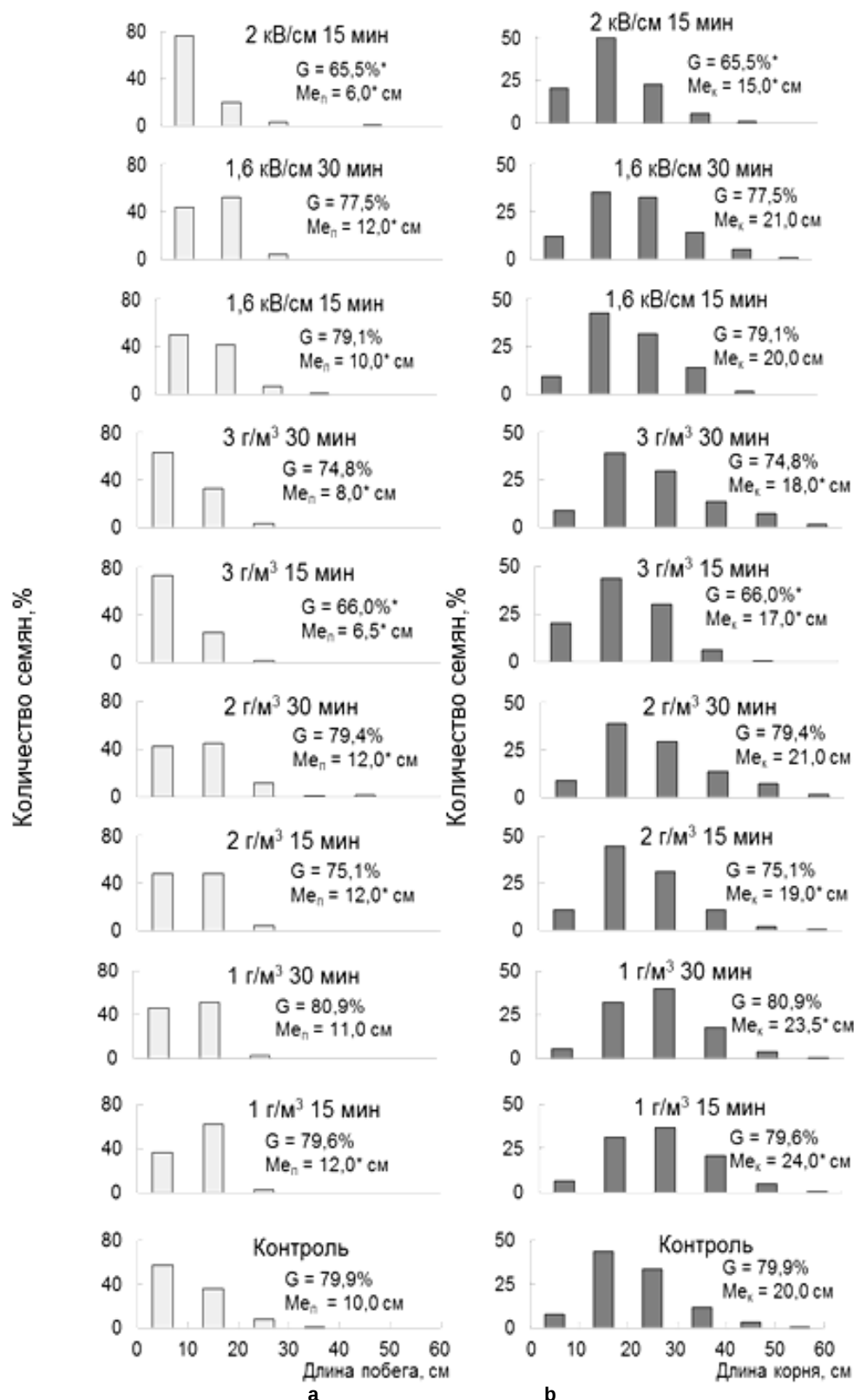


Рис. 3. Распределение растений пшеницы в зависимости от длины побега (а) и корня (б) после обработки семян озонem и электрическим полем.

G – энергия прорастания семян, %; Me_n и Me_k – медианы длины побега и корня соответственно, см.* – достоверные отличия от контроля (тест Манна – Уитни, $p < 0,05$)

Fig. 3. Distribution of wheat plants depending on the length of (a) shoots and (b) roots after treatment with ozone and electric field.

G – germination energy of seeds, %; Me_{sn} and Me_r are the medians of shoot and root length respectively, cm.* – significant differences from control (Mann – Whitney test, $p < 0,05$)

поля напряжением 1,6 кВ/см также в течение 15 мин. Энергия прорастания семян томата при воздействии озона 1 и 3 г/м³ достоверно повышалась, особенно сильно при концентрации озона 1 г/м³ в течение 30 мин. Эффект электрического поля 1,6 кВ/см на прорастание семян томатов был схож с вариантом 5 г/м³ озона.

Подобные результаты ускорения прорастания были получены при обработке семян томата низкотемпературной плазмой в течение 5 мин: средняя длина корня увеличивалась почти в 3 раза, побега – в 1,65 раза [20]. В нашем случае лучший режим озонирования достигался при сочетании 15-минутной экспозиции и дозы озона 5 г/м³: средняя длина корня возрастала в 2,5 раза, побега – в 1,9. Оптимальный режим воздействия электрического поля (15 мин и 1,6 кВ/см) обеспечивал аналогичное возрастание побега и корня (см. рис. 2). Полученные результаты указывают на то, что электрофизическая обработка, несмотря на различия методов, работает однотипно, и эффективность ответа во многом определяется реакцией семени, что справедливо, по крайней мере, на семенах томатов.

Озон и электрическое поле также оказывали эффект на прорастание семян пшеницы (см. рис. 3). При действии озона в концентрации 1 г/м³ увеличивалась длина побега и корня по сравнению с контролем. Результаты экспериментов показали, что 15-минутной обработки было достаточно для повышения анализируемых показателей, увеличение времени воздействия до 30 мин не оказывало усиления эффекта. В варианте концентрации озона 2 г/м³ длина побега также была больше, чем в контроле, однако в этом случае достоверного увеличения длины корня зафиксировано не было, наоборот, отмечалось небольшое его уменьшение при обработке в течение 15 мин (см. рис. 3, а). При этом наблюдалась тенденция к снижению энергии прорастания семян, которая в этом варианте обработки снизилась почти на 5%. Значимое снижение энергии прорастания наблюдалось в варианте обработки 3 г/м³ озона 15 мин. Рост побега и корня также заметно отставал от контрольных значений при увеличении концентрации озона.

Воздействие электрическим полем 1,6 кВ/см увеличивало длину побега проростков пшеницы, не влияя на длину корня. Однако увеличение

напряженности до 2 кВ/см приводило к существенному уменьшению длины побега и корня в сравнении с контролем и к снижению всхожести (см. рис. 3, б). Пшеница реагировала на обработку не так интенсивно, как томат. Результаты показывают, что даже небольшие изменения режима воздействия как при выдержке в электрическом поле, так и при озонировании могут привести к повреждению семян, выраженному не только в значимом ингибировании развития, но и в тенденции к снижению энергии прорастания. В случае обработки семян пшеницы более предпочтительным является озонирование, обеспечивающее стимуляцию уже при дозе озона 1 г/м³ и воздействии в течение 15 мин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявлено, что как озон, так и постоянное электрическое поле в рассмотренных режимах влияют на морфофизиологические характеристики проростков томата и пшеницы, расширяя разброс данных по длине побега и корня и изменяя энергию прорастания. В зависимости от концентрации озона и степени воздействия электрическим полем влияние обработки семян может быть как положительным, так и отрицательным. Наибольший положительный эффект был отмечен при обработке семян томатов озоном в концентрации 5 г/м³ в течение 15 мин и электрическим полем 1,6 кВ/см в течение 15 мин (в каждом из режимов равнозначное увеличение длины корней проростков в 2,5 раза, побегов – в 1,9 раза от показателей контроля), а семян пшеницы – озоном в концентрации 1–2 г/м³ (увеличение длины корней и побегов в 1,2 раза от контроля).

Полученные результаты позволяют рассматривать обработку посадочного материала озоном и постоянным электрическим полем как технологию, обеспечивающую повышение качественных характеристик прорастания растений томата и пшеницы. Эффект от обработки семян томатов озоном и электрическим полем сравним с эффектом, вызываемым низкотемпературной плазмой газового разряда [20], однако, на наш взгляд, техника применения озона и электрического поля более проста в использовании и лучше подходит для дальнейшего внедрения в сельскохозяйственную практику.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Тихонова О. С., Фатыхов И. Ш. Влияние нормы высева семян на качество зерна озимых зерновых культур в Среднем Предуралье // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. 2012. N 4 (24). С. 14–16.
2. Торопова Е. Ю., Захаров А. Ф. Предпосевная подготовка семян яровой пшеницы в условиях ресурсосберегающих технологий // Защита и карантин растений. 2017. N 3. С. 28–31.
3. Khadeeva N. V., Yakovleva E. Yu., Sydoruk K. V.,

Korostyleva T. V., Istomina E. A., Dunaevsky Ya. E., et al. Molecular genetic analysis of collection of transgenic tobacco plants with buckwheat serine proteases inhibitor gene during long-term subculture // Russian Journal of Genetics. 2017. Vol. 53, no. 11. P. 1200–1210. <https://doi.org/10.1134/S1022795417110047>.

4. Aladjadjiyan A. Physical factors for plant growth stimulation improve food quality. In: A. Aladjadjiyan (ed.). Food production – approaches, challenges and tasks. Chapter 9. Rijeka: In Tech Publish-

ing, 2012. P. 145–168. <https://doi.org/10.5772/32039>.

5. Rifna E. J., Ramanan K. R., Mahendran R. Emerging technology applications for improving seed germination // *Trends in Food Science & Technology*. 2019. Vol. 86. P. 95–108. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.029>.

6. Krivov S. A., Lazukin A. V., Serdyukov Y. A., Gundareva S. V., Romanov G. A. Effect of constant high-voltage electric field on wheat seed germination // *IOP SciNotes*. 2020. Vol. 1, no. 2. P. 024002. <https://doi.org/10.1088/2633-1357/aba1f6>.

7. Avdeeva V., Zorina E., Bezgina J., Kolosova O. Influence of ozone on germination and germinating energy of winter wheat seeds // *Engineering for Rural Development: 17th International Scientific Conference*. 23–25 May 2018, Jelgava, Latvia. 2018. P. 543–546. <https://doi.org/10.22616/ERDev2018.17.N128>.

8. Hayashi N., Ono R., Nakano R., Shiratani M., Tashiro K., Kuhara S., et al. DNA microarray analysis of plant seeds irradiated by active oxygen species in oxygen plasma // *Plasma Medicine*. 2016. Vol. 6, no. 3-4. P. 459–471. <https://doi.org/10.1615/PlasmaMed.2016018933>.

9. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends in Plant Science*. 2002. Vol. 7, no. 9. P. 405–410. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(02)02312-9).

10. Gill S. S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2010. Vol. 48, no. 12. P. 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.

11. Henselová M., Slováková L., Martinka M., Zahoranová A. Growth, anatomy and enzyme activity changes in maize roots induced by treatment of seeds with low-temperature plasma // *Biologia*. 2012. Vol. 67, no. 3. P. 490–497. <https://doi.org/10.2478/s11756-012-0046-5>.

12. Stolárik T., Henselová M., Martinka M., Novák O., Zahoranová A., Černák M. Effect of low-temperature plasma on the structure of seeds, growth and metabolism of endogenous phytohormones in pea (*Pisum sativum* L.) // *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 2015. Vol. 35, no. 4. P. 659–676. <https://doi.org/10.1007/s11090-015-9627-8>.

13. Hayashi N., Ono R., Shiratani M., Yonesu A. Antioxidative activity and growth regulation of Brassicaceae induced by oxygen radical irradiation // *Japanese Journal of Applied Physics*. 2015. Vol. 54, no. 6. Article number 06GD01. <https://doi.org/10.7567/JJAP.54.06GD01>.

14. Los A., Ziuzina D., Boehm D., Cullen P. J., Bourke P. Investigation of mechanisms involved in germination enhancement of wheat (*Triticum aestivum*) by cold plasma: Effects on seed surface chemistry and characteristics // *Plasma Processes and Polymers*. 2019. Vol. 16, no. 4. Article number 1800148. <https://doi.org/10.1002/ppap.201800148>.

15. Roy N. C., Hasan M. M., Kabir A. H., Reza M. A., Talukder M. R., Chowdhury A. N. Atmospheric pressure gliding arc discharge plasma treatments for improving germination, growth and yield of wheat // *Plasma Science and Technology*. 2018. Vol. 20, no. 11. Article number 115501. <https://doi.org/10.1088/2058-6272/aac647>.

16. Bourke P., Ziuzina D., Boehm D., Cullen P. J., Keener K. The potential of cold plasma for safe and sustainable food production // *Trends in Biotechnology*. 2018. Vol. 36, no. 6. P. 615–626. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.11.001>.

17. Šerá B., Šerý M. Non-thermal plasma treatment as a new biotechnology in relation to seeds, dry fruits, and grains // *Plasma Science and Technology*. 2018. Vol. 20, no. 4. Article number 044012. <https://doi.org/10.1088/2058-6272/aaacc6>.

18. Liu B., Honnorat B., Yang H., Arancibia J., Rajjou L., Rousseau A. Non-thermal DBD plasma array on seed germination of different plant species // *Journal of Physics D: Applied Physics*. 2018. Vol. 52, no. 2. Article number 025401. <https://doi.org/10.1088/1361-6463/aae771>.

19. Van Eck J., Kirk D. D., Walmsley A. M. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) // *Methods in Molecular Biology book series*. 2006. Vol. 343. P. 459–473. <https://doi.org/10.1385/1-59745-130-4:459>.

20. Măgureanu M., Sîrbu R., Dobrin D., Gîdea M. Stimulation of the germination and early growth of tomato seeds by non-thermal plasma // *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 2018. Vol. 38. P. 989–1001. <https://doi.org/10.1007/s11090-018-9916-0>.

REFERENCES

1. Tikhonova O. S., Fatykhov I. Sh. Of grain of winter grain crops on the average preduralye influence of norm of seeding of seeds on quality. *Vestnik Bashkirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Vestnik Bashkir State Agrarian University*. 2012;4:14-16. (In Russian).

2. Toropova E. Yu., Zakharov A. F. Pre-sowing treatment of seeds of spring wheat under the conditions of resource-saving. *Zashchita i karantin rastenii = Plant protection and quarantine*. 2017;3:28-31. (In Russian).

3. Khadeeva N. V., Yakovleva E. Yu., Sydoruk K. V., Korostyleva T. V., Istomina E. A., Dunaevsky Ya. E., et al. Molecular genetic analysis of collection of trans-

genic tobacco plants with buckwheat serine proteases inhibitor gene during long-term subculture. *Russian Journal of Genetics*. 2017;53(11):1200-1210. <https://doi.org/10.1134/S1022795417110047>.

4. Aladjadjian A. Physical factors for plant growth stimulation improve food quality. In: A. Aladjadjian (ed.). *Food production – approaches, challenges and tasks*. Chapter 9. Rijeka: In Tech Publishing, 2012. p. 145-168. <https://doi.org/10.5772/32039>.

5. Rifna E. J., Ramanan K. R., Mahendran R. Emerging technology applications for improving seed germination. *Trends in Food Science & Technology*. 2019;86:95-108. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.029>.

6. Krivov S. A., Lazukin A. V., Serdyukov Y. A., Gundareva S. V., Romanov G. A. Effect of constant high-voltage electric field on wheat seed germination. *IOP SciNotes*. 2020;1(2):024002. <https://doi.org/10.1088/2633-1357/aba1f6>.
7. Avdeeva V., Zorina E., Bezgina J., Kolosova O. Influence of ozone on germination and germinating energy of winter wheat seeds. In: *Engineering for Rural Development: Proceedings of 17th International Scientific Conference*, 23–25 May 2018, Jelgava, Latvia. 2018, p. 543-546. <https://doi.org/10.22616/ERDev2018.17.N128>.
8. Hayashi N., Ono R., Nakano R., Shiratani M., Tashiro K., Kuhara S., et al. DNA microarray analysis of plant seeds irradiated by active oxygen species in oxygen plasma. *Plasma Medicine*. 2016;6(3-4):459-471. <https://doi.org/10.1615/PlasmaMed.2016018933>.
9. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*. 2002;7(9):405-410. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(02)02312-9).
10. Gill S. S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2010;48(12):909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.
11. Henselová M., Slováková L., Martinka M., Zahoranová A. Growth, anatomy and enzyme activity changes in maize roots induced by treatment of seeds with low-temperature plasma. *Biologia*. 2012;67(3):490-497. <https://doi.org/10.2478/s11756-012-0046-5>.
12. Stolárik T., Henselová M., Martinka M., Novák O., Zahoranová A., Černák M. Effect of low-temperature plasma on the structure of seeds, growth and metabolism of endogenous phytohormones in pea (*Pisum sativum* L.). *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 2015;35(4):659-676. <https://doi.org/10.1007/s11090-015-9627-8>.
13. Hayashi N., Ono R., Shiratani M., Yonesu A. Antioxidative activity and growth regulation of Brassicaceae induced by oxygen radical irradiation. *Japanese Journal of Applied Physics*. 2015;54(6). Article number 06GD01. <https://doi.org/10.7567/JJAP.54.06GD01>.
14. Los A., Ziuzina D., Boehm D., Cullen P. J., Bourke P. Investigation of mechanisms involved in germination enhancement of wheat (*Triticum aestivum*) by cold plasma: Effects on seed surface chemistry and characteristics. *Plasma Processes and Polymers*. 2019;16(4). Article number 1800148. <https://doi.org/10.1002/ppap.201800148>.
15. Roy N. C., Hasan M. M., Kabir A. H., Reza M. A., Talukder M. R., Chowdhury A. N. Atmospheric pressure gliding arc discharge plasma treatments for improving germination, growth and yield of wheat. *Plasma Science and Technology*. 2018;20(11). Article number 115501. <https://doi.org/10.1088/2058-6272/aac647>.
16. Bourke P., Ziuzina D., Boehm D., Cullen P. J., Keener K. The potential of cold plasma for safe and sustainable food production. *Trends in Biotechnology*. 2018;36(6):615-626. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.11.001>.
17. Šerá B., Šerý M. Non-thermal plasma treatment as a new biotechnology in relation to seeds, dry fruits, and grains. *Plasma Science and Technology*. 2018;20(4). Article number 044012. <https://doi.org/10.1088/2058-6272/aaacc6>.
18. Liu B., Honnorat B., Yang H., Arancibia J., Rajjou L., Rousseau A. Non-thermal DBD plasma array on seed germination of different plant species. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 2018;52(2). Article number 025401. <https://doi.org/10.1088/1361-6463/aae771>.
19. Van Eck J., Kirk D. D., Walmsley A. M. Tomato (*Lycopersicon esculentum*). In: Walker J. M. (ed.) *Methods in Molecular Biology*. 2006;343:459-473. <https://doi.org/10.1385/1-59745-130-4:459>.
20. Măgureanu M., Sirbu R., Dobrin D., Gîdea M. Stimulation of the germination and early growth of tomato seeds by non-thermal plasma. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 2018;38:989-1001. <https://doi.org/10.1007/s11090-018-9916-0>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

В. Н. Нурминский,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
vadyanurm@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1265-1639>

А. В. Лазукин,
инженер,
НИУ «Московский энергетический институт»,
111250, г. Москва, ул. Красноказарменная, 14,
Российская Федерация,
lazukin_av@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9771-7013>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Vadim N. Nurminsky,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
vadyanurm@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1265-1639>

Alexander V. Lazukin,
Engineer,
NRU "Moscow Power Engineering Institute",
14, Krasnokazarmennaya St., Moscow, 111250,
Russian Federation,
lazukin_av@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9771-7013>

С. В. Гундарева,
младший научный сотрудник,
НИУ «Московский энергетический институт»,
111250, г. Москва, ул. Красноказарменная, 14,
Российская Федерация,
gundareva-sv@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9671-1373>

А. С. Столбиков,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация;
доцент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1, Россий-
ская Федерация,
valkir5@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6392-9365>

А. В. Третьякова,
к.б.н., доцент,
Иркутский государственный университет,
664025, г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 5,
Российская Федерация,
anastasiya_chepi@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1995-0909>

Вклад авторов

В. Н. Нурминский – выполнение эксперимен-
тальной части работы; обобщение результа-
тов; написание рукописи.
А. В. Лазукин – подготовка приборной базы;
выполнение экспериментальной части работы;
обобщение результатов; написание рукописи.
С. В. Гундарева – подготовка приборной базы;
обобщение результатов; написание рукописи.
А. С. Столбиков – выполнение эксперимен-
тальной части работы; обобщение результа-
тов; написание рукописи.
А. В. Третьякова – выполнение эксперимен-
тальной части работы; обобщение результа-
тов; написание рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-
тельный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 02.02.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.

Svetlana V. Gundareva,
Junior Researcher,
NRU “Moscow Power Engineering Institute”,
14, Krasnokazarmennaya St., Moscow, 111250,
Russian Federation,
gundareva-sv@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9671-1373>

Aleksey S. Stolbikov,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation;
Associate Professor,
Irkutsk State University,
1, K. Marx St., Irkutsk, 664003, Russian Federa-
tion,
valkir5@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6392-9365>

Anastasia V. Tretyakova,
Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Irkutsk State University,
5, Sukhbaatar St., Irkutsk, 664025, Russian Fed-
eration,
anastasiya_chepi@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1995-0909>

Contribution of the authors

Vadim N. Nurminsky – implementation of the ex-
perimental part of the work; generalization of re-
sults; writing a manuscript.
Alexander V. Lazukin – preparation of the instru-
ment base; implementation of the experimental
part of the work; generalization of results; writing
a manuscript.
Svetlana V. Gundareva – preparation of the in-
strument base; generalization of results; writing a
manuscript.
Aleksey S. Stolbikov – implementation of the ex-
perimental part of the work; generalization of re-
sults; writing a manuscript.
Anastasia V. Tretyakova – implementation of the
experimental part of the work; generalization of
results; writing a manuscript.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests re-
garding the publication of this article.

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

Information about the article

The article was submitted 02.02.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.

Научная статья

УДК 54.057:577.112.4

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-97-108>



Синтез привитого сополимера полибутилакрилата на рыбный коллаген при использовании фотокатализатора – сложного оксида $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$

Людмила Леонидовна Семенычева, Марина Алексеевна Уромичева,
Виктория Олеговна Часова, Диана Георгиевна Фукина,
Андрей Владимирович Корягин, Наталья Борисовна Валетова,
Евгений Владимирович Сулейманов

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Семенычева Людмила Леонидовна, llsem@yandex.ru

Аннотация. С целью получения привитого сополимера полибутилакрилата (ПБА) на поверхности рыбного коллагена в эмульсии в качестве фотокатализатора использовали сложный оксид $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$ при облучении видимым светом ($\lambda = 400\text{--}700\text{ нм}$). Эмульсию готовили путем смешивания мономера и водного раствора коллагена в соотношении 1:2. В полученную смесь вводили катализатор, перемешивали смесь и обрабатывали ультразвуком. Перед проведением реакции эмульсию барботировали аргоном в течение 15 мин. Реакцию проводили в токе аргона при непрерывном перемешивании. Источником излучения являлась светодиодная лампа видимого света с мощностью 30 Вт, помещенная на расстоянии не более 10 см от реакционной смеси. По окончании реакции органическую фазу эмульсии экстрагировали толуолом с последующим разделением фаз, для отделения катализатора водную часть раствора центрифугировали в течение 30 мин, затем порошок многократно промывали в дистиллированной воде при температуре 50 °С. Промытый катализатор высушивали и изучали на электронном сканирующем микроскопе с целью исследования поверхности оксида после эмульсионной полимеризации. Для выделенного из водной фазы эмульсии графт-сополимера ПБА–коллаген получены молекулярно-массовые характеристики, подтверждающие образование привитого сополимера. Кроме того, выявлено, что содержание азота аминокислотных остатков в графт-сополимере ПБА–коллаген значительно меньше, чем в коллагене, что свидетельствует об образовании привитого сополимера. При анализе пленок и губок образцов привитого сополимера ПБА–коллаген методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) при сопоставлении с коллагеном наблюдается новая структурно-рельефная организация. Анализ поверхности порошка $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$ после синтеза графт-сополимера ПБА–коллаген методом электронной микроскопии позволил обнаружить на его поверхности фрагменты полимерных макромолекул. Это связано с тем, что катализатор является не только источником иницирующих гидроксильных радикалов, но и способен участвовать в образовании полимера на поверхности порошка за счет отрыва атома водорода от гидроксильных групп на его поверхности гидроксильным радикалом.

Ключевые слова: коллаген, бутилакрилат, графт-сополимер, гель-проникающая хроматография (ГПХ), сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

Благодарности. Для проведения исследований использовано оборудование Центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н. И. Лобачевского, г. Нижний Новгород).

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект № 0729-2020-0053).

Для цитирования: Семенычева Л. Л., Уромичева М. А., Часова В. О., Фукина Д. Г., Корягин А. В., Валетова Н. Б., Сулейманов Е. В. Синтез привитого сополимера полибутилакрилата на рыбный коллаген при использовании фотокатализатора – сложного оксида $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$ // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 97–108. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-97-108>.

Synthesis of a graft copolymer of polybutyl acrylate on fish collagen substratum using the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ complex oxide photocatalyst

Lyudmila L. Semenycheva, Marina A. Uromicheva,
Viktoriya O. Chasova, Diana G. Fukina,
Andrei V. Koryagin, Natal'ya B. Valetova,
Evgenii V. Suleimanov

National Research Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod,
Nizhny Novgorod, Russian Federation

Corresponding author: Lyudmila L. Semenycheva, llsem@yandex.ru

Abstract. In order to obtain a graft copolymer of polybutyl acrylate (PBA) on the substratum of emulsified fish collagen, $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ complex oxide was used as a photocatalyst under visible light irradiation ($\lambda = 400\text{--}700\text{ nm}$). The emulsion was prepared by mixing the monomer and the aqueous collagen solution in a ratio of 1:2. Next, the catalyst was introduced into the resulting mixture, followed by stirring and ultrasound treatment. Before the reaction, the emulsion was bubbled with argon for 15 min. The reaction was carried out in an argon flow with continuous stirring. The radiation source was a 30 W visible light LED lamp placed at a distance of no more than 10 cm from the reaction mixture. At the end of the reaction, the emulsified organic phase was extracted with toluene, followed by phase isolation. In order to isolate the catalyst, the aqueous part of the solution was centrifuged for 30 min. Subsequently, the powder was repeatedly washed in distilled water at a temperature of 50 °C. The washed catalyst was dried, and the surface of the oxide after emulsion polymerization was examined using a scanning electron microscope. For the PBA–collagen graft copolymer emulsion isolated from the aqueous phase, molecular weight characteristics confirming the formation of a graft copolymer were obtained. It was established that the nitrogen content of amino acid residues in the PBA–collagen graft copolymer is significantly lower than in collagen, which indicates the formation of a graft copolymer. An analysis of films and sponges of PBA–collagen graft copolymer samples by scanning electron microscopy (SEM) showed a new structural-relief organization compared to collagen. A SEM analysis of the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ powder surface after the synthesis of the PBA–collagen graft copolymer detected fragments of polymer macromolecules on its surface. This can be explained by the fact that the catalyst used not only is a source of hydroxyl radicals, but can also participate in the formation of a polymer on the powder surface due to the abstraction of a hydrogen atom from hydroxyl groups on its surface under the action of a hydroxyl radical.

Keywords: collagen, butyl acrylate, graft copolymer, gel permeation chromatography (GPC), scanning electron microscopy (SEM)

Acknowledgements. The equipment of the Center for Collective Use “New Materials and Resource-Saving Technologies” (National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod) was used for the research.

Funding. The work was supported financially by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (the basic part of the state task, project no. 0729-2020-0053).

For citation: Semenycheva L. L., Uromicheva M. A., Chasova V. O., Fukina D. G., Koryagin A. V., Valetova N. B., Suleimanov E. V. Synthesis of a graft copolymer of polybutyl acrylate on fish collagen substratum using the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ complex oxide photocatalyst. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):97-108. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-97-108>.

ВВЕДЕНИЕ

Композиционные материалы на основе природных и синтетических полимеров обладают целым рядом уникальных свойств, сочетая технологичность синтетических полимеров со структурой и функциональностью биополимеров. Прием получения новых материалов на основе природных белков введением в их состав фрагментов синтетических полимеров, которые спо-

собствуют формированию необходимых пространственно-геометрических структур, изменению механических и других характеристик, хорошо известен [1–6]. Среди природных полимеров самое широкое распространение получил коллаген, так же как и продукт его денатурации – желатин [1, 7–13]. Известно, например, что гидрогелевые композиты на основе коллагена и акрилатов обладают улучшенными механическими

свойствами и цитосовместимостью [14–16]. В ряде работ описаны подобные исследования с целью получения композитов для 3D-печати материалов в интересах биомедицины [5] или наряду с контролируемой сополимеризацией по механизму обратимой передачи цепи присоединения–фрагментации для синтеза блоксополимеров акриловых мономеров с определенным составом [6]. Отмечается, что фрагменты полибутилакрилата (ПБА) в составе композитов с коллагеном (желатином) не только улучшают механические и термические характеристики, но и повышают адгезию в сравнении с белком [17, 18].

В последнее время фотокаталитические реакции привлекают внимание исследователей благодаря соответствию принципам зеленой химии и широкому спектру возможностей с их использованием. Особенно привлекательны оксиды ряда металлов, способные катализировать реакции при облучении их не ультрафиолетом, а видимым светом. Применение такого подхода для разложения загрязнителей разной природы в воде и воздухе уже хорошо исследовано на примере разных оксидов [19–23]. Разрушение органических соединений происходит за счет того, что при облучении оксидов образуются активные частицы разной природы: заряженные частицы, радикалы, синглетный кислород, пероксид водорода, способные активно взаимодействовать с загрязнителями [24–34].

Активный гидроксильный радикал, образующийся в условиях облучения оксидов металлов, способен инициировать образование полимерных превращений с участием мономерных и полимерных молекул, в том числе прививку мономера на полимер. Это привлекательно по целому ряду причин: возможности осуществления процесса при комнатной температуре, отсутствию в макромолекулах осколков вещественных инициаторов органической природы и т.д. Получение полимерных продуктов с помощью фотокатализа путем радикальной полимеризации при невысоких температурах известно более всего для оксида титана как фотоинициатора [25, 34]. Ранее для получения привитых сополимеров метилметакрилата (ММА) с рыбным коллагеном и пектином использован фотокатализ в присутствии сложного оксида $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ при облучении видимым светом $\lambda = 400\text{--}700$ нм при температуре 20–25 °C [35, 36]. Эти композиционные материалы охарактеризованы физико-химическими методами [35, 36]. Хорошо известно, что в полимеризационных превращениях акрилаты и метакрилаты заметно отличаются не только по своей активности в реакции полимеризации, но и образуют композиционные материалы с разными характеристиками, такими как молекулярная масса (ММ), морфология поверхности, состав. Это связано с разной реакционной способностью как мономеров, так и образующихся из них радикалов [37].

В данной работе поставлена цель – получить в тех же условиях, что и привитой сополимер полиметилметакрилата (ПММА) на рыбный коллаген при облучении видимым светом ($\lambda = 400\text{--}700$ нм) сложного оксида $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$, сравнительные данные по синтезу привитого сополимера ПБА на рыбный коллаген, а также установить важнейшие свойства образовавшегося графт-сополимера, такие как ММ, морфология поверхности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Подготовка исходных веществ для эксперимента. Коллаген выделяли из кожи трески по методике [38]. Шкуру очищали от чешуи, прорезей мышечной ткани и жира, промывали водой, замораживали. Подготовленное и замороженное сырье измельчали ножницами и помещали в 3%-ю уксусную кислоту на сутки, после чего полученную коллагеновую дисперсию отфильтровывали через фильтр с размером пор 1 мкм. В опытах использовали 5%-й раствор коллагена в 3%-й уксусной кислоте (далее – раствор коллагена).

Бутилакрилат (БА) для очистки от ингибитора промывали 5%-м раствором гидроксида натрия и затем дистиллированной водой до нейтральной среды. Промытый БА сушили безводным хлористым кальцием и далее подвергали вакуумной перегонке.

Соединение $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ получали твердофазным методом синтеза [24]. В качестве исходных реактивов использовали нитрат рубидия, оксиды теллура и вольфрама с молярным соотношением $\text{Rb}:\text{Te}:\text{W} = 1:1.5:0.5$. Реактивы перетирали и прокаливали в платиновом тигле в течение 10 ч при 700 °C. Далее температуру поднимали до 750 °C до образования расплава, который выдерживали в течение 1–2 ч. После этого образец резко охлаждали до комнатной температуры и перетирали в планетарной мельнице в этиловом спирте в течение 16–18 ч.

Методика эмульсионной сополимеризации БА с коллагеном. Эмульсию готовили путем смешивания мономера и водного раствора коллагена в соотношении 1:2. Затем добавляли эмульгатор «Эдискан» (3 об.% / об. мономера). В полученную смесь вводили катализатор – оксид $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ – и перемешивали на магнитной мешалке в течение 6 мин при 950 об/мин. После этого грубую макроэмульсию обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин с использованием ультразвукового диспергатора УЗДН-А650 мощностью 650 Вт (НПП «Академприбор», Россия). Перед проведением реакции эмульсию барботировали аргоном в течение 15 мин при перемешивании на магнитной мешалке (100 об/мин).

Реакцию проводили в токе аргона при непрерывном перемешивании (400 об/мин). Источником излучения являлась светодиодная лампа видимого света с мощностью 30 Вт, помещенная

на расстоянии не более 10 см от реакционной смеси. Суммарное время полимеризации под лампой – 4 ч.

Органическую фазу эмульсии экстрагировали толуолом с последующим разделением в делительной воронке. Эмульсию разделяли на фазы добавлением 10 мл толуола при перемешивании и последующим расслаиванием в течение 3 ч.

Анализ катализатора после синтеза. После окончания реакции для отделения катализатора раствор центрифугировали в течение 30 мин (4000 об/мин), затем порошок многократно промывали в дистиллированной воде при температуре 50 °С. Промытый катализатор высушивали и изучали на электронном сканирующем микроскопе JSM-IT300 (JEOL Ltd., Япония) с целью получения картины поверхности оксида после эмульсионной полимеризации.

Методики определения состава водной фазы материала на основе коллагена. Исследовали получаемые материалы электронной растровой микроскопией. Анализ проводили на микроскопе JEOL JSM-IT300LM с энерго- и волнодисперсным элементным анализатором (JEOL Ltd., Япония).

Концентрацию выделяемого коллагена определяли гравиметрическим анализом. Для этого прокачивали при 100 °С навеску раствора коллагена. По разнице в массе до и после прокаливания вычисляли концентрацию коллагена в образце. Данный метод использовали и при анализе сополимеров. В уксуснокислом растворе коллагена сухой остаток считаем коллагеном, в водном слое сополимера – привитым сополимером коллагена с БА.

Исследовали молекулярно-массовые характеристики водной фазы сополимеров с помощью гель-проникающей хроматографии (ГПХ). Этот метод основан на разделении молекул по объемным размерам. Пробоподготовку образцов осуществляли фильтрованием с использованием насадочных мембран Millipore Millex-LCR (PTFE 0,45 µm) (Millex, Германия) со скоростью около 1,2 мл/мин.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В соответствии с поставленной целью прививка БА на рыбный коллаген проводилась в тех же условиях, что и в случае MMA [36]: при температуре 20–25 °С при облучении видимым светом ($\lambda = 400–700$ нм) дисперсии БА и коллагена в присутствии сложного оксида $RbTe_{1,5}W_{0,5}O_6$ в токе аргона при интенсивном перемешивании. При облучении сложного оксида образуются электронно-дырочные пары, которые могут приводить к ряду превращений по схемам 1–7, представленным на рис. 1 [24].

Очевидно, что одновременно в реакционной смеси фотокатализатора, мономера и коллагена могут параллельно протекать несколько химических реакций и реализация той или иной химической реакции определяется ее кинетическими параметрами и концентрацией реагирующих частиц.

В плане поставленной цели работы особый интерес представляет образование радикалов $OH^\bullet$, активных в радикальной полимеризации, которое происходит как при взаимодействии с адсорбированными на поверхности молекулами воды, так и в объеме раствора (см. рис. 1, схема 2, 3), а также при восстановлении растворенного в воде кислорода (см. рис. 1, схема 6, 7).

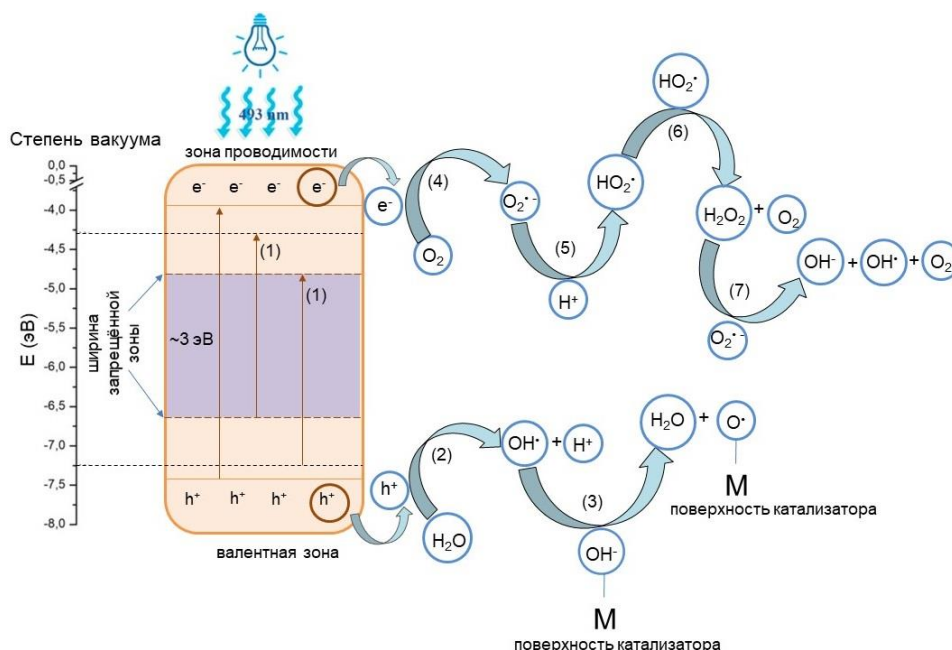


Рис. 1. Схема процессов на катализаторе под действием света

Fig. 1. Scheme of processes on a catalyst under the influence of light

Несмотря на то, что гидроксильный радикал обладает высокой реакционной способностью, как и в случае ММА [35], процесс радикальной полимеризации с образованием привитого сополимера БА проходит не количественно: только часть синтетического мономера прививается на коллаген. В результате масса привитого сополимера после выделения из реакционной смеси на 25–30% больше исходного коллагена, и это свидетельствует об осуществлении прививки БА на коллаген. В отличие от процессов синтеза графт-сополимеров БА на коллаген, проведенных ранее с инициатором динитрил азобисизомасляной кислоты (ДАК) и триэтилборан-кислород, когда параллельно с графт-сополимером проходило образование заметных количеств гомополимера БА [39], при использовании фотоинициатора $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$ выделить и охарактеризовать из органической фазы заметных количеств ПБА не удалось. БА остается в органической фазе непрореагировавшим.

Образование графт-сополимера подтверждает молекулярно-массовые характеристики (рис. 2, таблица) полученного привитого сополимера БА на коллаген в сравнении с исходным коллагеном: происходит увеличение ММ получаемого материала. По данным элементного анализа образцов привитого сополимера БА (см. таблицу), содержания азота аминокислотных остатков в них за счет прививки БА заметно меньше, чем в коллагене. В таблице для сравнения приведены значения ММ и элементного анализа образцов привитого полимера ММА на коллаген из работы [35]. Видно, что в сопоставимых условиях фотокатализа в присутствии сложного оксида $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$ доля привитого акрилата сопоставима для ММА и БА, хотя активность этих мономеров и их радикалов заметно различаются [40].

Присоединение синтетических мономеров к коллагену происходит за счет радикальных центров в полимерной цепи белка, образовавшихся при взаимодействии гидроксильного радикала (см. рис. 1, схема 2, 3, 6, 7) с углеводородными фрагментами, а также гидроксильными группами

(гидроксипролин (~15%), серин (~4%), гидроксизин (~1%) [39]) в коллагене по схемам 8, 9 (рис. 3).

При сравнении микроструктуры пленок и губок исходного коллагена соответственно (рис. 4, а, с) и полученного графт-сополимера БА на коллаген (рис. 4, b, d) видно, что выделенный из эмульсии сополимер имеет более сложную структурно-рельефную организацию.

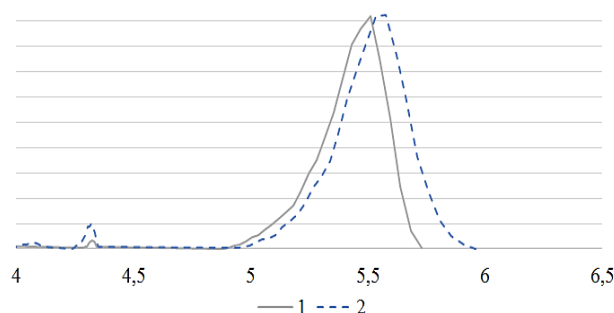


Рис. 2. Молекулярно-массовое распределение (ММР) раствора коллагена (1), водной фазы сополимера коллагена и бутилакрилата, инициированного перовскитоподобным оксидом $\text{RbTe}^{4+}_{0,5}(\text{Te}^{6+}\text{W}^{6+}_{0,5})\text{O}_6$ (2)

Fig. 2. Molecular weight distribution (MWD) of the collagen solution (1), the aqueous phase of the collagen and butyl acrylate copolymer initiated by perovskite-like oxide $\text{RbTe}^{4+}_{0,5}(\text{Te}^{6+}\text{W}^{6+}_{0,5})\text{O}_6$ (2)

Так же, как в случае синтеза графт-сополимера ПММА [35] на коллаген, анализ поверхности порошка $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$ после синтеза графт-сополимера ПБА–коллаген методом электронной микроскопии позволил обнаружить на его поверхности фрагменты полимерных макромолекул (см. рис. 4, f) в сравнении с поверхностью исходного катализатора (см. рис. 4, e). Это связано с тем, что соединение $\text{RbTe}_{1,5}\text{W}_{0,5}\text{O}_6$ является не только источником гидроксильных радикалов, но и способно участвовать в образовании полимера на поверхности порошка за счет отрыва атома водорода от гидроксильных групп на его поверхности гидроксильным радикалом.

Характеристики полимерных продуктов

Characteristics of polymer products

№ п/п	Исходный субстрат	Mn [kDa]	M _w /M _n	Массовая доля азота, %	Содержание коллагена в образце, %*
Синтез с бутилакрилатом					
1	Коллаген	240	1,1	16,2±1,6	91,0±9
2	Полимер из водной фазы синтеза	290	1,2	11,8±1,2	66,3±7
Синтез с метилметакрилатом [35]					
3	Коллаген	240	1,1	16,2±1,6	91,0±9
4	Полимер из водной фазы синтеза	270	1,2	12,1±1,2	68±7

*В пересчете на коллаген по известной формуле путем умножения количества азота в образце на коэффициент (5,62) [39].

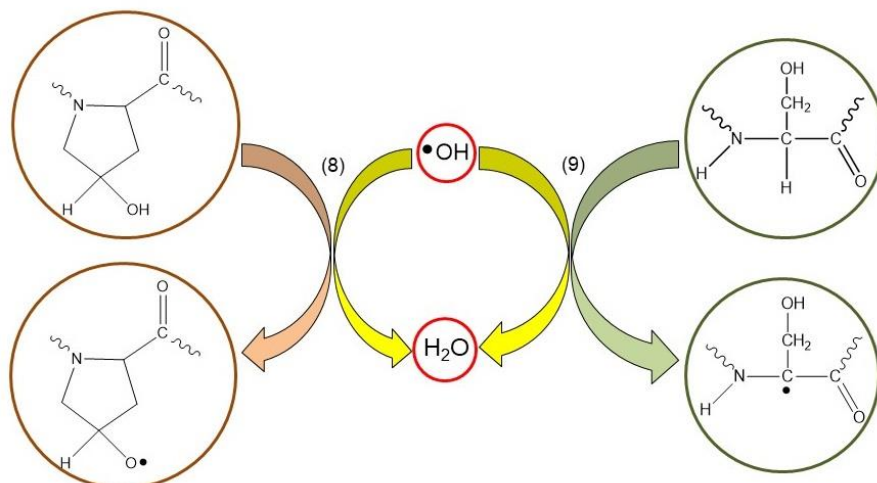


Рис. 3. Схема прививки бутилакрилата на коллаген
 Fig. 3. Scheme of butyl acrylate grafting for collagen

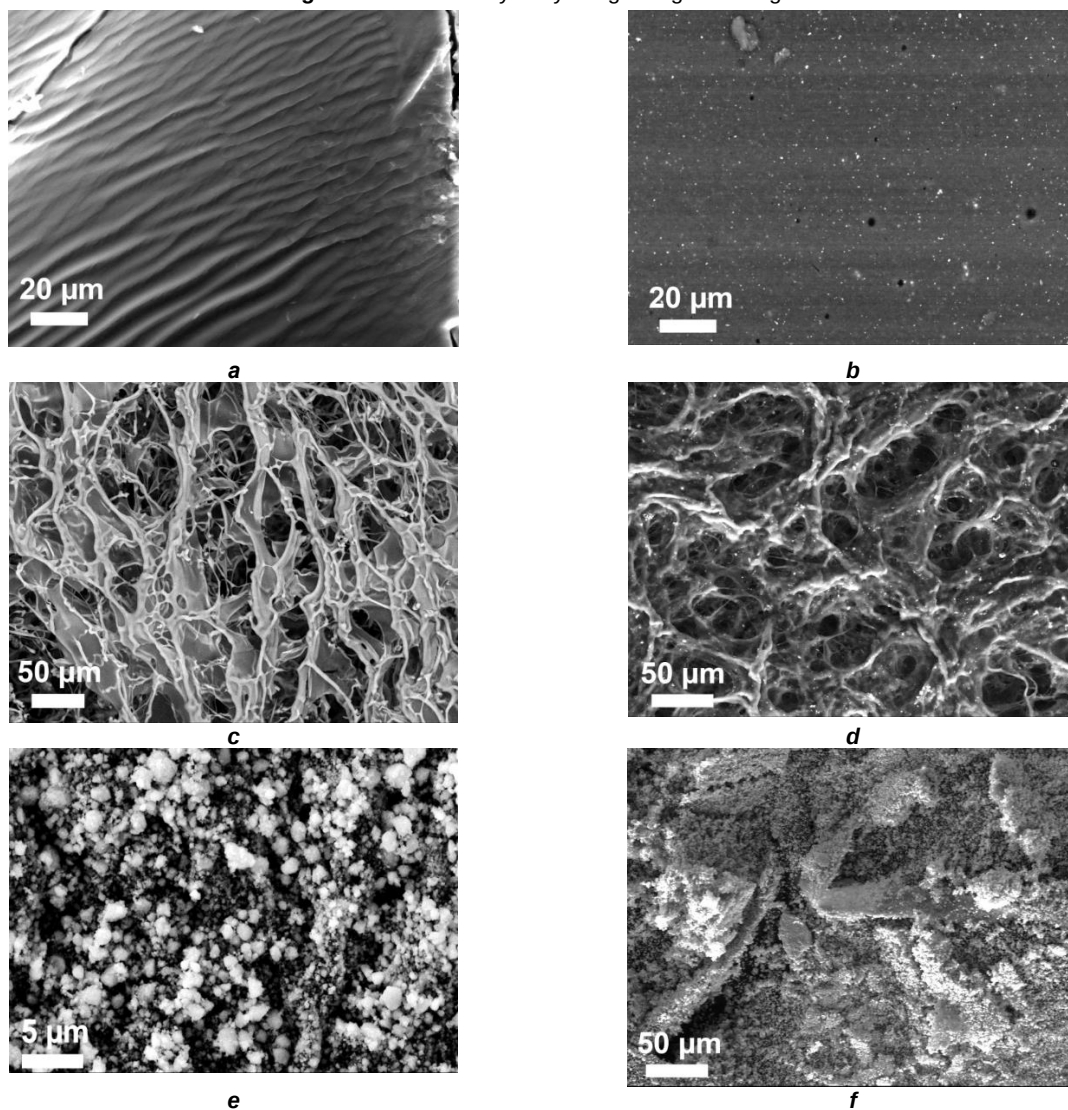


Рис. 4. Микроструктура (а) пленки исходного коллагена, (б) пленки графт-сополимера коллагена и бутилакрилата, (с) губки коллагена, (д) губки сополимера, (е) поверхности исходного катализатора, (ф) поверхности катализатора после синтеза графт-сополимера полибутилакрилат-коллаген

Fig. 4. Microstructure of (a) the original collagen film, (b) the film of the collagen and butyl acrylate graft-copolymer, (c) the collagen sponge, (d) the copolymer sponge, (e) the surface of the original catalyst, (f) catalyst surface after synthesis of polybutyl acrylate-collagen graft copolymer

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в данной работе осуществлена прививка на поверхность рыбного коллагена ПБА при облучении видимым светом ($\lambda = 400\text{--}700\text{ нм}$) сложного оксида $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и получены характеристики графт-сополимера ПБА-коллаген, убедительно подтверждающие этот факт. Так, показано, что кривые ММР графт-сополимера ПБА-коллаген смещены в область больших ММ, а значения ММ

увеличились в сравнении с коллагеном. В графт-сополимере ПБА-коллаген обнаружено значительно меньшее содержание азота аминокислотных остатков, чем в коллагене. Это, в свою очередь, подтверждает образование привитого сополимера. Методом СЭМ при сопоставлении пленок и губок образцов установлена новая структурно-рельефная организация графт-сополимера ПБА-коллаген в сравнении с исходным коллагеном.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Schweizer T. A., Shambat S. M., Haunreiter V. D., Mestres C. A., Weber A., Maisano F., et al. Polyester vascular graft material and risk for intracavitary thoracic vascular graft infection // *Emerging Infectious Diseases*. 2020. Vol. 26, no. 10. P. 2448–2452. <https://doi.org/10.3201/eid2610.191711>.
2. Иванов А. А., Попова О. П., Данилова Т. И., Кузнецова А. В. Стратегии выбора и использования скаффолдов в биоинженерии // *Успехи современной биологии*. 2019. Т. 139. N 2. С. 196–205. <https://doi.org/10.1134/S0042132419020042>.
3. Zhang D., Wu X., Chen J., Lin K. The development of collagen based composite scaffolds for bone regeneration // *Bioactive Materials*. 2018. Vol. 3, no. 1. P. 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.08.004>.
4. Al Kayal T., Losi P., Pierozzi S., Soldani G. A new method for fibrin-based electrospun/sprayed scaffold fabrication // *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, no. 1. P. 5111–5114. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61933-z>.
5. Sousa R. O., Martins E., Carvalho D. N., Alves A. L., Oliveira C., Duarte A. R. C., et al. Collagen from atlantic cod (*gadus morhua*) skins extracted using CO_2 acidified water with potential application in healthcare // *Journal of Polymer Research*. 2020. Vol. 27, no. 3. P. 73–81. <https://doi.org/10.1007/s10965-020-02048-x>.
6. Castilho M., Hochleitner G., Wilson W., Rietbergen B., Dalton P. D., Groll J., et al. Mechanical behavior of a soft hydrogel reinforced with three-dimensional printed microfibre scaffolds // *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8, no. 1. P. 1245–1255. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19502-y>.
7. Zhang Q., Wang Q., Lv Sh., Lu J. Comparison of collagen and gelatin extracted from the skins of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*) // *Food Bioscience*. 2016. Vol. 13. P. 41–48.
8. Miele D., Catenacci L., Rossi S., Sandri G., Sorrenti M., Terzi A., et al. Collagen/PCL nanofibers electrospun in green solvent by DOE assisted process. An insight into collagen contribution // *Materials (Basel)*. 2020. Vol. 13, no. 21. P. 4698–4721. <https://doi.org/10.3390/ma13214698>.
9. Cao J., Wang P., Liu Y., Zhu C., Fan D. Double crosslinked HLC-CCS hydrogel tissue engineering scaffold for skin wound healing // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020. Vol. 155. P. 625–635. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.236>.
10. Borrego-González S., Dalby M. J., Díaz-Cuenca A. Nanofibrous gelatin-based biomaterial with improved biomimicry using D-periodic self-assembled atelocollagen // *Biomimetics*. 2021. Vol. 6, no. 1. P. 20–38. <https://doi.org/10.3390/biomimetics6010020>.
11. Wei X., Zhao Y., Zheng J., Cao Q. Refolding behavior of urea-induced denaturation collagen // *Macromolecular Research*. 2021. Vol. 29, no. 6. P. 402–410. <https://doi.org/10.1007/s13233-021-9047-y>.
12. Perez-Puyana V., Jiménez-Rosado M., Rubio-Valle J., Guerrero A., Romero A. Gelatin vs collagen-based sponges: evaluation of concentration, additives and biocomposites // *Journal of Polymer Research*. 2019. Vol. 26, no. 8. P. 190–198. <https://doi.org/10.1007/s10965-019-1863-9>.
13. He L., Li S., Xu C., Wei B., Zhang J., Xu Yu., et al. A new method of gelatin modified collagen and viscoelastic study of gelatin-collagen composite hydrogel // *Macromolecular Research*. 2020. Vol. 28. P. 861–868. <https://doi.org/10.1007/s13233-020-8103-3>.
14. Carrion B., Souzanchi M. F., Wang V. T., Tiruchinapally G., Shikanov A., Putnam A. J., et al. The synergistic effects of matrix stiffness and composition on the response of chondroprogenitor cells in a 3D precondensation microenvironment // *Advanced Healthcare Materials*. 2016. Vol. 5, no. 10. P. 1192–1202. <https://doi.org/10.1002/adhm.201501017>.
15. Vedhanayagam M., Anandasadagopan S., Nair B. U., Sreeram K. J. Polymethyl methacrylate (PMMA) grafted collagen scaffold reinforced by PdO-TiO_2 nanocomposites // *Materials Science and Engineering: C*. 2020. Vol. 108. P. 110378–110422. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110378>.
16. Jiang H. J., Xu J., Qiu Z.-Y., Ma X.-L., Zhang Z.-Q., Tan X.-X., et al. Mechanical properties and cytocompatibility improvement of vertebroplasty PMMA bone cements by incorporating mineralized collagen // *Materials (Basel)*. 2015. Vol. 8, no. 5. P. 2616–2634.
17. Hou J., Ren X., Guan Sh., Duan L., Hui Gao G., Kuai Y., et al. Rapidly recoverable, anti-fatigue, super-tough double-network hydrogels reinforced by macromolecular microspheres // *Soft Matter*. 2017. Vol. 13, no. 7. P. 1357–1363. <https://doi.org/10.1039/C6SM02739C>.
18. Wang X., Chen K., Li W., Hao D., Guo P. A paper sizing agent based on leather collagen hydroly-

- sates modified by glycol diglycidyl ether and its compound performance // International Journal of Biological Macromolecules. 2019. Vol. 124. P. 1205–1212. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.047>.
19. Wang Q., Cheng X., Li J., Jin H. Hydrothermal synthesis and photocatalytic properties of pyrochlore $\text{Sm}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$ nanoparticles // Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. 2016. Vol. 321. P. 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2016.01.011>.
20. Hou J., Jiao Sh., Zhu H., Kumar R. V. Bis-muth titanate pyrochlore microspheres: Directed synthesis and their visible light photocatalytic activity // Journal of Solid State Chemistry. 2011. Vol. 184, no. 1. P. 154–158. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2010.11.017>.
21. Wang W., Liang Sh., Bi J., Yu J. C., Wong P. K., Wu L. Lanthanide stannate pyrochlores $\text{Ln}_2\text{Sn}_2\text{O}_7$ ($\text{Ln} = \text{Nd}, \text{Sm}, \text{Eu}, \text{Gd}, \text{Er}, \text{Yb}$) nanocrystals: synthesis, characterization, and photocatalytic properties // Materials Research Bulletin. 2014. Vol. 56. P. 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2014.01.048>.
22. Venkataswamy P., Sudhakar Reddy Ch., Gundeboina R., Sadanandam G., Veldurthi N. K., Vithal M. Nanostructured KTaTeO_6 and Ag-doped KTaTeO_6 defect pyrochlores: promising photocatalysts for dye degradation and water splitting // Electronic Materials Letters. 2018. Vol. 14. P. 446–460. <https://doi.org/10.1007/s13391-018-0055-9>.
23. Guje R., Ravi G., Palla S., Rao K. N., Vithal M. Synthesis, characterization, photocatalytic and conductivity studies of defect pyrochlore $\text{KM}_{0.33}\text{Te}_{1.67}\text{O}_6$ ($\text{M} = \text{Al}, \text{Cr}$ and Fe) // Materials Science and Engineering: B. 2015. Vol. 198. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2015.03.010>.
24. Fukina D. G., Suleimanov E. V., Boryakov A. V., Zubkov S. Yu., Koryagin A. V., Volkova N. S., et al. Structure analysis and electronic properties of $\text{ATe}^{4+}_{0.5}\text{Te}^{6+}_{1.5-x}\text{M}^{6+}_x\text{O}_6$ ($\text{A} = \text{Rb}, \text{Cs}$, $\text{M}^{6+} = \text{Mo}, \text{W}$) solid solutions with β -pyrochlore structure // Journal of Solid State Chemistry. 2021. Vol. 293. P. 121787. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2020.121787>.
25. Ali N., Ali F., Khurshid R., Ikramullah, Ali Z., Afzal A., et al. TiO_2 nanoparticles and epoxy- TiO_2 nanocomposites: a review of synthesis, modification strategies, and photocatalytic potentialities // Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials. 2020. Vol. 30. P. 4829–4846. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01668-6>.
26. Zhang D., Bi C., Zong Z., Fan Yu. Three different Co(II) metal-organic frameworks based on 4,4'-Bis(imidazolyl)diphenyl ether: syntheses, crystal structure and photocatalytic properties // Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials. 2020. Vol. 30. P. 5148–5156. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01657-9>.
27. Hussain M. Z., Yang Z., Linden B. V. D., Huang Z., Jia Q., Cerrato E., et al. Surface functionalized N-C- TiO_2/C nanocomposites derived from metal-organic framework in water vapour for enhanced photocatalytic H_2 generation // Journal of Energy Chemistry. 2021. Vol. 57. P. 485–495. <https://doi.org/10.1016/j.jechem.2020.08.048>.
28. Wang W., Wang X., Gan L., Ji X. All-solid-state Z-scheme $\text{BiVO}_4\text{--Bi}_6\text{O}_6(\text{OH})_3(\text{NO}_3)_3$ heterostructure with prolonging electron-hole lifetime for enhanced photocatalytic hydrogen and oxygen evolution // Journal of Materials Science & Technology. 2021. Vol. 77. P. 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2020.09.051>.
29. Wang J., Sun S., Zhou R., Li Y., He Z., Ding H., et al. A review: synthesis, modification and photocatalytic applications of ZnIn_2S_4 // Journal of Materials Science & Technology. 2021. Vol. 78. P. 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2020.09.045>.
30. Wang H., Zhang J.-R., Wu X.-F., Wang Ch., Li Ya., Ci L.-J., et al. Study on $\text{Ag}_2\text{WO}_4/\text{g-C}_3\text{N}_4$ nanotubes as an efficient photocatalyst for degradation of rhodamine B // Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials. 2020. Vol. 30. P. 4847–4857. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01756-7>.
31. Tavakoli-Azar T., Mahjoub A. R., Sadjadi M. S., Farhadyar N., Sadr M. H. Synthesis and characterization of a perovskite nanocomposite of $\text{CdTiO}_3@\text{S}$ with orthorhombic structure: investigation of photoluminescence properties and its photocatalytic performance for the degradation of congo red and crystal violet under sunlight // Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials. 2020. Vol. 30. P. 4858–4875. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01762-9>.
32. Mao W., Zhang L., Wang T., Bai Y., Guan Y. Fabrication of highly efficient $\text{Bi}_2\text{WO}_6/\text{CuS}$ composite for visible-light photocatalytic removal of organic pollutants and Cr(VI) from wastewater // Frontiers of Environmental Science & Engineering. 2021. Vol. 15. Article number 52. <https://doi.org/10.1007/s11783-020-1344-8>.
33. Chanu W. C., Gupta A., Singh M. K., Pandey O. P. Group V elements (V, Nb and Ta) doped CeO_2 particles for efficient photo-oxidation of methylene blue dye // Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials. 2021. Vol. 31. P. 636–647. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01822-0>.
34. Lobry E., Bah A. S., Vidal L., Oliveros E., Braun A. M., Criqui A., et al. Colloidal and supported TiO_2 : toward nonextractable and recyclable photocatalysts for radical polymerizations in aqueous dispersed media // Macromolecular Chemistry and Physics. 2016. Vol. 217, no. 20. P. 2321–2329. <https://doi.org/10.1002/macp.201600150>.
35. Семеничева Л. Л., Часова В. О., Фукина Д. Г., Корягин А. В., Валетова Н. Б., Сулейманов Е. В. Синтез графт-сополимера полиметилметакрилат–коллаген с использованием фотокатализатора – сложного оксида $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ // Все материалы. Энциклопедический справочник. 2021. N. 7. С. 15–23.
36. Semenycheva L., Chasova V., Matkivskaya J., Fukina D., Koryagin A., Belaya T., et al. Features of polymerization of methyl methacrylate using a pho-

tocatalyst – the complex oxide $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ // Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials. 2021. Vol. 31. P. 3572–3583. <https://doi.org/10.1007/s10904-021-02054-6>.

37. Moad D., Solomon D. The chemistry of radical polymerization. Elsevier, 2006. 639 p. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-044288-4.x5015-8>.

38. Пат. № 2567171, Российская Федерация. Способ получения уксусной дисперсии высокомолекулярного рыбного коллагена / Л. Л. Семеньева, М. В. Астанина, Ю. Л. Кузнецова, Н. Б. Валетова, Е. В. Гераськина, О. А. Таранкова; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «Системы качества жизни». Заявл. 06.10.2014; опубл. 10.11.2015. Бюл. № 31.

39. Uromicheva M. A., Kuznetsova Y. L., Vale-

tova N. B., Mitin A. V., Semenycheva L. L., Smirnova O. N. Synthesis of grafted polybutyl acrylate copolymer on fish collagen // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2021. Т. 11. N 1. P. 16–25. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-1-16-25>.

40. Oliveira V. M., Assis C. R. D., Costa B. A. M., Neri R. C. A., Monte F. T. D., Costa Vasconcelos Freitas H. M. S., et al. Physical, biochemical, densitometric and spectroscopic techniques for characterization collagen from alternative sources: A review based on the sustainable valorization of aquatic by-products // Journal of Molecular Structure. 2021. Vol. 1224. P. 129023. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129023>.

REFERENCES

1. Schweizer T. A., Shambat S. M., Haunreiter V. D., Mestres C. A., Weber A., Maisano F., et al. Polyester vascular graft material and risk for intracavitary thoracic vascular graft infection. *Emerging Infectious Diseases*. 2020;26(10):2448-2452. <https://doi.org/10.3201/eid2610.191711>.

2. Ivanov A. A., Popova O. P., Danilova T. I., Kuznetsova A. V. Strategy of the selection and use of scaffolds in bioengineering. *Uspekhi sovremennoi biologii = Biology Bulletin Reviews*. 2019;139(2): 196-205. (In Russian). <https://doi.org/10.1134/S0042132419020042>.

3. Zhang D., Wu X., Chen J., Lin K. The development of collagen based composite scaffolds for bone regeneration. *Bioactive Materials*. 2018;3(1):129-138. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.08.004>.

4. Al Kayal T., Losi P., Pierozzi S., Soldani G. A new method for fibrin-based electrospun/sprayed scaffold fabrication. *Scientific Reports*. 2020;10(1):5111-5114. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61933-z>.

5. Sousa R. O., Martins E., Carvalho D. N., Alves A. L., Oliveira C., Duarte A. R. C., et al. Collagen from atlantic cod (*gadus morhua*) skins extracted using CO_2 acidified water with potential application in healthcare. *Journal of Polymer Research*. 2020;27(3): 73-81. <https://doi.org/10.1007/s10965-020-02048-x>.

6. Castilho M., Hochleitner G., Wilson W., Rietbergen B., Dalton P. D., Groll J., et al. Mechanical behavior of a soft hydrogel reinforced with three-dimensional printed microfibre scaffolds. *Scientific Reports*. 2018;8(1):1245-1255. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19502-y>.

7. Zhang Q., Wang Q., Lv Sh., Lu J. Comparison of collagen and gelatin extracted from the skins of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Food Bioscience*. 2016;13:41-48.

8. Miele D., Catenacci L., Rossi S., Sandri G., Sorrenti M., Terzi A., et al. Collagen/PCL nanofibers electrospun in green solvent by DOE assisted process. An insight into collagen contribution. *Materials (Basel)*. 2020;13(21):4698-4721. <https://doi.org/10.3390/ma13214698>.

9. Cao J., Wang P., Liu Y., Zhu C., Fan D. Double crosslinked HLC-CCS hydrogel tissue engineering scaffold for skin wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;155:625-635. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.236>.

10. Borrego-González S., Dalby M. J., Díaz-Cuenca A. Nanofibrous gelatin-based biomaterial with improved biomimicry using D-periodic self-assembled atelocollagen. *Biomimetics*. 2021;6(1):20-38. <https://doi.org/10.3390/biomimetics6010020>.

11. Wei X., Zhao Y., Zheng J., Cao Q. Refolding behavior of urea-induced denaturation collagen. *Macromolecular Research*. 2021;29(6):402-410. <https://doi.org/10.1007/s13233-021-9047-y>.

12. Perez-Puyana V., Jiménez-Rosado M., Rubio-Valle J., Guerrero A., Romero A. Gelatin vs collagen-based sponges: evaluation of concentration, additives and biocomposites. *Journal of Polymer Research*. 2019;26(8):190-198. <https://doi.org/10.1007/s10965-019-1863-9>.

13. He L., Li S., Xu C., Wei B., Zhang J., Xu Yu., et al. A new method of gelatin modified collagen and viscoelastic study of gelatin-collagen composite hydrogel. *Macromolecular Research*. 2020;28:861-868. <https://doi.org/10.1007/s13233-020-8103-3>.

14. Carrion B., Souzanchi M. F., Wang V. T., Tiruchinapally G., Shikanov A., Putnam A. J., et al. The synergistic effects of matrix stiffness and composition on the response of chondroprogenitor cells in a 3D precondensation microenvironment. *Advanced Healthcare Materials*. 2016;5(10):1192-1202. <https://doi.org/10.1002/adhm.201501017>.

15. Vedhanayagam M., Anandasadagopan S., Nair B. U., Sreeram K. J. Polymethyl methacrylate (PMMA) grafted collagen scaffold reinforced by PdO-TiO_2 nanocomposites. *Materials Science and Engineering: C*. 2020;108:110378-110422. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110378>.

16. Jiang H. J., Xu J., Qiu Z.-Y., Ma X.-L., Zhang Z.-Q., Tan X.-X., et al. Mechanical properties and cytocompatibility improvement of vertebroplasty PMMA bone cements by incorporating mineralized colla-

- gen. *Materials (Basel)*. 2015;8(5):2616-2634.
17. Hou J., Ren X., Guan Sh., Duan L., Hui Gao G., Kuai Y., et al. Rapidly recoverable, anti-fatigue, super-tough double-network hydrogels reinforced by macro-molecular microspheres. *Soft Matter*. 2017;13(7):1357-1363. <https://doi.org/10.1039/C6SM02739C>.
18. Wang X., Chen K., Li W., Hao D., Guo P. A paper sizing agent based on leather collagen hydrolysates modified by glycol diglycidyl ether and its compound performance. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;124:1205-1212. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.047>.
19. Wang Q., Cheng X., Li J., Jin H. Hydrothermal synthesis and photocatalytic properties of pyrochlore $\text{Sm}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$ nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2016;321:48-54. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2016.01.011>.
20. Hou J., Jiao Sh., Zhu H., Kumar R. V. Bismuth titanate pyrochlore microspheres: Directed synthesis and their visible light photocatalytic activity. *Journal of Solid State Chemistry*. 2011;184(1):154-158. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2010.11.017>.
21. Wang W., Liang Sh., Bi J., Yu J. C., Wong P. K., Wu L. Lanthanide stannate pyrochlores $\text{Ln}_2\text{Sn}_2\text{O}_7$ (Ln = Nd, Sm, Eu, Gd, Er, Yb) nanocrystals: synthesis, characterization, and photocatalytic properties. *Materials Research Bulletin*. 2014;56:86-91. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2014.01.048>.
22. Venkataswamy P., Sudhakar Reddy Ch., Gundelboina R., Sadanandam G., Veldurthi N. K., Vithal M. Nanostructured KTaTeO_6 and Ag-doped KTaTeO_6 defect pyrochlores: promising photocatalysts for dye degradation and water splitting. *Electronic Materials Letters*. 2018;14:446-460. <https://doi.org/10.1007/s13391-018-0055-9>.
23. Guje R., Ravi G., Palla S., Rao K. N., Vithal M. Synthesis, characterization, photocatalytic and conductivity studies of defect pyrochlore $\text{KM}_{0.33}\text{Te}_{1.67}\text{O}_6$ (M=Al, Cr and Fe). *Materials Science and Engineering: B*. 2015;198:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2015.03.010>.
24. Fukina D. G., Suleimanov E. V., Boryakov A. V., Zubkov S. Yu., Koryagin A. V., Volkova N. S., et al. Structure analysis and electronic properties of $\text{ATe}_{4+0.5}\text{Te}_{6+1.5-x}\text{M}^{6+}_x\text{O}_6$ (A=Rb, Cs, M^{6+} =Mo, W) solid solutions with β -pyrochlore structure. *Journal of Solid State Chemistry*. 2021;293:121787. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2020.121787>.
25. Ali N., Ali F., Khurshid R., Ikramullah, Ali Z., Afzal A., et al. TiO_2 nanoparticles and epoxy- TiO_2 nanocomposites: a review of synthesis, modification strategies, and photocatalytic potentialities. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2020;30:4829-4846. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01668-6>.
26. Zhang D., Bi C., Zong Z., Fan Yu. Three different Co(II) metal-organic frameworks based on 4,4'-Bis(imidazolyl)diphenyl ether: syntheses, crystal structure and photocatalytic properties. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2020;30:5148-5156. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01657-9>.
27. Hussain M. Z., Yang Z., Linden B. V. D., Huang Z., Jia Q., Cerrato E., et al. Surface functionalized N-C- TiO_2/C nanocomposites derived from metal-organic framework in water vapour for enhanced photocatalytic H_2 generation. *Journal of Energy Chemistry*. 2021;57:485-495. <https://doi.org/10.1016/j.jechem.2020.08.048>.
28. Wang W., Wang X., Gan L., Ji X. All-solid-state Z-scheme $\text{BiVO}_4\text{-Bi}_6\text{O}_6(\text{OH})_3(\text{NO}_3)_3$ heterostructure with prolonging electron-hole lifetime for enhanced photocatalytic hydrogen and oxygen evolution. *Journal of Materials Science & Technology*. 2021;77:117-125. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2020.09.051>.
29. Wang J., Sun S., Zhou R., Li Y., He Z., Ding H., et al. A review: synthesis, modification and photocatalytic applications of ZnIn_2S_4 . *Journal of Materials Science & Technology*. 2021;78:1-19. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2020.09.045>.
30. Wang H., Zhang J.-R., Wu X.-F., Wang Ch., Li Ya., Ci L.-J., et al. Study on $\text{Ag}_2\text{WO}_4/\text{g-C}_3\text{N}_4$ nanotubes as an efficient photocatalyst for degradation of rhodamine B. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2020;30:4847-4857. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01756-7>.
31. Tavakoli-Azar T., Mahjoub A. R., Sadjadi M. S., Farhadyar N., Sadr M. H. Synthesis and characterization of a perovskite nanocomposite of CdTiO_3/S with orthorhombic structure: investigation of photoluminescence properties and its photocatalytic performance for the degradation of congo red and crystal violet under sunlight. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2020;30:4858-4875. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01762-9>.
32. Mao W., Zhang L., Wang T., Bai Y., Guan Y. Fabrication of highly efficient $\text{Bi}_2\text{WO}_6/\text{CuS}$ composite for visible-light photocatalytic removal of organic pollutants and Cr(VI) from wastewater. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*. 2021;15. Article number 52. <https://doi.org/10.1007/s11783-020-1344-8>.
33. Chanu W. C., Gupta A., Singh M. K., Pandey O. P. Group V elements (V, Nb and Ta) doped CeO_2 particles for efficient photo-oxidation of methylene blue dye. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2021;31:636-647. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01822-0>.
34. Lobry E., Bah A. S., Vidal L., Oliveros E., Braun A. M., Criqui A., et al. Colloidal and supported TiO_2 : toward nonextractable and recyclable photocatalysts for radical polymerizations in aqueous dispersed media. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 2016;217(20):2321-2329. <https://doi.org/10.1002/macp.201600150>.
35. Semenycheva L. L., Chasova V. O., Fukina D. G., Koryagin A. V., Valetova N. B., Suleymanov E. V. Synthesis of "polymethyl methacrylate-collagen" graft copolymer, using photocatalyst – complex oxide $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$. *Vse materialy. Entsiklopedicheskiy spravochnik = Polymer Science. Series D*. 2021;

(7):15-23. (In Russian).

36. Semenycheva L., Chasova V., Matkivskaya J., Fukina D., Koryagin A., Belaya T., et al. Features of polymerization of methyl methacrylate using a photocatalyst – the complex oxide $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2021;31:3572-3583. <https://doi.org/10.1007/s10904-021-02054-6>.

37. Moad D., Solomon D. *The chemistry of radical polymerization*. Elsevier; 2006. 639 p. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-044288-4.x5015-8>.

38. Semenycheva L. L., Astanina M. V., Kuznetsova Yu. L., Valetova N. B., Geras'kina E. V., Tarankova O. A. *Method for production of acetic dispersion of high molecular fish collagen*. Patent RF, no. 2567171; 2015. (In Russian).

39. Uromicheva M. A., Kuznetsova Y. L., Valetova N. B., Mitin A. V., Semenycheva L. L., Smirnova O. N. Synthesis of grafted polybutyl acrylate copolymer on fish collagen. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021;11(1):16-25. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-1-16-25>.

40. Oliveira V. M., Assis C. R. D., Costa B. A. M., Neri R. C. A., Monte F. T. D., Costa Vasconcelos Freitas H. M. S., et al. Physical, biochemical, densitometric and spectroscopic techniques for characterization collagen from alternative sources: A review based on the sustainable valorization of aquatic by-products. *Journal of Molecular Structure*. 2021;1224:129023. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129023>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Л. Л. Семеньева,

д.х.н., старший научный сотрудник,
заведующая лабораторией нефтехимии,
Научно-исследовательский институт химии,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет
им. Н. И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
llsem@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3413-2899>

М. А. Уромичева,

аспирант,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет
им. Н. И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
kozinamarina1@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5046-1230>

В. О. Часова,

младший научный сотрудник лаборатории
нефтехимии,
Научно-исследовательский институт химии,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет
им. Н. И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
chasova@ichem.unn.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8038-8441>

Д. Г. Фукина,

к.х.н., научный сотрудник лаборатории
технологии высокочистых материалов,
Научно-исследовательский институт химии,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Lyudmila L. Semenycheva,

Dr. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,
Head of the Laboratory of Petrochemistry,
Research Institute of Chemistry,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., 603022, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
llsem@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3413-2899>

Marina A. Uromicheva,

Postgraduate Student,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., 603022, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
kozinamarina1@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5046-1230>

Viktoriya O. Chasova,

Junior Researcher,
Laboratory of Petrochemistry,
Research Institute of Chemistry,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., 603022, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
chasova@ichem.unn.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8038-8441>

Diana G. Fukina,

Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
High-purity Materials Technology Laboratory,
Research Institute of Chemistry,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,

им. Н. И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
fukina@ichem.unn.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8375-6863>

А. В. Корягин,

младший научный сотрудник лаборатории
технологии высокочистых материалов,
Научно-исследовательский институт химии,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет
им. Н. И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
kor-andrey14@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4858-3351>

Н. Б. Валетова,

к.х.н., старший научный сотрудник
лаборатории нефтехимии,
Научно-исследовательский институт химии,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет
им. Н. И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
nata-bor-2005@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2074-6304>

Е. В. Сулейманов,

д.х.н., профессор,
директор Научно-исследовательского
института химии,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет
им. Н. И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
suev@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9292-4355>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта ин-
тересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-
тельный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 08.12.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.

23, Gagarin Ave., 603022, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
fukina@ichem.unn.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8375-6863>

Andrei V. Koryagin,

Junior Researcher,
High-purity Materials Technology Laboratory,
Research Institute of Chemistry,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., 603022, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
kor-andrey14@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4858-3351>

Natal'ya B. Valetova,

Cand. Sci. (Chemistry), Senior Scientist,
Laboratory of Petrochemistry,
Research Institute of Chemistry,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., 603022, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
nata-bor-2005@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2074-6304>

Evgenii V. Suleimanov,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Director of the Research
Institute of Chemistry,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., 603022, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
suev@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9292-4355>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests re-
garding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and ap-
proved by all the co-authors.*

Information about the article

The article was submitted 08.12.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.

Научная статья

УДК 574.583+606

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-109-120>



Исследование влияния экстрактов микроводорослей на гемопоэз и иммунитет

Александр Петрович Лыков^{*,****}, Иван Павлович Уваров^{**},
Руслан Георгиевич Геворгиз^{***}, Светлана Николаевна Железнова^{***},
Ольга Владимировна Повещенко^{*}

^{*}Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал
Института цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация

^{**}Управление ветеринарии города Новосибирска, г. Новосибирск, Российская Федерация

^{***}Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН,

г. Севастополь, Российская Федерация

^{****}Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза Минздрава РФ,

г. Новосибирск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Лыков Александр Петрович, aplykov2@mail.ru

Аннотация. Микроводоросли представляют интерес как источник широкого спектра биологически активных веществ для разработки на их основе биологически активных добавок. Важным аспектом, определяющим возможность использования микроводорослей, является отсутствие неблагоприятного воздействия на органы и системы организма человека и животных. Учитывая критически важное значение системы гемопоэза и иммунитета для жизнедеятельности человека и животных, особое внимание на этапе разработки для биомедицинского применения микроводорослей необходимо уделять их безопасности с позиции отсутствия значимых негативных эффектов в отношении кроветворения и функционального статуса клеток иммунной системы. В связи с этим в данной работе было изучено влияние масляных экстрактов пяти видов микроводорослей на показатели гемопоэза, количество и функциональную активность клеток селезенки и тимуса, а также на уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови лабораторных животных. Установлено, что экстракты *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*) и *Cylindrotheca closterium* (*C. closterium*) способствуют уменьшению количества лейкоцитов в периферической крови, *Coelastrella* sp., *C. closterium* и *Porphyridium purpureum* (*P. purpureum*) способствовали увеличению доли нейтрофилов, *P. purpureum* инициировал увеличение доли эозинофилов, *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* (*A. platensis*) и *C. closterium* способствовали уменьшению доли моноцитов, а *C. closterium* и *P. purpureum* уменьшали долю лимфоцитов в периферической крови мышей. Экстракты всех микроводорослей не влияли на эритропоэз и гемоглобин. Также установлено, что все экстракты микроводорослей снижали пролиферацию спленоцитов, а влияние на пролиферативный потенциал тимоцитов зависело от типа микроводорослей. Экстракт микроводоросли *Coelastrella* sp. повышал уровни IgG, *P. purpureum* снижал уровни IgM, *C. vulgaris* снижал уровни IgA в сыворотке крови мышей.

Ключевые слова: *Chlorella vulgaris*, *Coelastrella* sp., *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*, *Cylindrotheca closterium*, *Porphyridium purpureum*, гемопоэз, иммуноциты, пролиферация, иммуноглобулины

Финансирование. Исследование проведено в рамках государственного задания НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН «Разработка методов молекулярного профилирования и инновационных технологий прогнозирования, ранней диагностики, лекарственной и клеточной терапии социально-значимых заболеваний человека аутоиммунной, воспалительной и дисметаболической природы» (№ 0324-2019-0046) АААА-А19-119031590016-0 и государственного задания ФИЦ «ИнБЮМ» по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ 121030300149-0).

Для цитирования: Лыков А. П., Уваров И. П., Геворгиз Р. Г., Железнова С. Н., Повещенко О. В. Исследование влияния экстрактов микроводорослей на гемопоэз и иммунитет // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 109–120. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-109-120>.

Study of the haematopoietic and immune effect of microalgae extracts

Alexander P. Lykov^{*,****}, Ivan P. Uvarov^{**}, Ruslan G. Gevorgiz^{***},
Svetlana N. Zheleznova^{***}, Olga V. Poveshchenko^{*}

^{*}Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

^{**}Department of Veterinary Medicine of the city of Novosibirsk, Novosibirsk, Russian Federation

^{***}Institute of Biology of the Southern Seas named after A. O. Kovalevsky RAS, Sevastopol, Russian Federation

^{****}Novosibirsk Tuberculosis Research Institute, Novosibirsk, Russian Federation

Corresponding author: Alexander P. Lykov, aplykov2@mail.ru

Abstract. Microalgae, as a source of numerous biologically active substances, are promising candidates for the development of novel biologically active supplements. An important aspect determining the possibility of using microalgae involves the absence of adverse effects on the organs and systems of the human and animal body. At the development stage, special attention should be paid to the safety of microalgae for biomedical use in terms of the absence of significant negative effects on the haematopoiesis and the functional status of immune cells. In this regard, the present study investigates the effect of oil extracts obtained from five microalgae species on haematopoietic parameters, the number and functional activity of spleen and thymus cells, as well as on immunoglobulin levels in the blood serum of laboratory animals. According to the obtained results, *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*) and *Cylindrotheca closterium* (*C. closterium*) extracts decrease the number of leukocytes in the peripheral blood. *Coelastrella* sp., *C. closterium*, and *Porphyridium purpureum* (*P. purpureum*) increase the proportion of neutrophils. *P. purpureum* was found to initiate an increase in the proportion of eosinophils. *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* (*A. platensis*) and *C. closterium* produce a decrease in the proportion of monocytes. *C. closterium* and *P. purpureum* induce a reduction in the proportion of lymphocytes in the peripheral blood of laboratory mice. All microalgae extracts had no effect on erythropoiesis and haemoglobin. In addition, all microalgae extracts were found to reduce splenocyte proliferation, while their effect on thymocyte proliferation depended on the microalgae type. In the mice serum, *Coelastrella* sp. microalgae extract increases IgG levels, while *P. purpureum* and *C. vulgaris* decrease IgM and IgA levels, respectively.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, *Coelastrella* sp., *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*, *Cylindrotheca closterium*, *Porphyridium purpureum*, haematopoiesis, immunocytes, proliferation, immunoglobulins

Funding. The study was conducted within the framework of the state task of RICEL-filial of ICG RAS “Development of methods of molecular profiling and innovative technologies for forecasting, early diagnosis, drug and cell therapy of socially significant human diseases of autoimmune, inflammatory and dysmetabolic nature” (no. 0324-2019-0046) AAAA19-119031590016-0 and the state task of FRC “InBSS” on the topic “Research of mechanisms for controlling production processes in biotechnological complexes in order to develop scientific bases for obtaining biologically active substances and technical products of marine genesis” (no. 121030300149-0).

For citation: Lykov A. P., Uvarov I. P., Gevorgiz R. G., Zheleznova S. N., Poveshchenko O. V. Study of the haematopoietic and immune effect of microalgae extracts. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):109-120. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-109-120>.

ВВЕДЕНИЕ

Микроводоросли представляют собой ценный источник биологически активных соединений, которые нашли свое применение в фармацевтике и медицине [1]. Микроводоросли являются источником пептидов и белков, жирных кислот и их производных, различных полисахаридов, способных инициировать противовоспалительные реакции в организме человека и животных [2–4]. Так, включение диетической добав-

ки на основе *C. vulgaris* мышам с циклофосфан-индуцированной иммуносупрессией способствовало восстановлению иммунитета, а именно увеличению пролиферативного потенциала лимфоцитов, активизации фагоцитоз макрофагов, стимулированию цитотоксической активности естественных киллерных клеток и усилению продукции интерлейкина (ИЛ)-2, 12, фактора некроза опухоли альфа- и гамма-интерферона [5]. *A. platensis* используется как биологически ак-

тивная добавка для человека и животных, способная к стимуляции противовирусной активности иммунной системы и увеличению эффективности роста за счет влияния на морфологию кишечника [6]. Показано, что водный экстракт *C. vulgaris* и *A. platensis* у мышей с глутамат-индуцированной дисфункцией яичников способствовал улучшению качества и скорости созревания ооцитов [7]. Сравнительный анализ влияния приема с пищей микроводорослей *C. vulgaris*, *Nannochloropsis oceanic* и *Phaeodactylum tricornutum* мышами в течение 14 суток не выявил существенных различий в массе и длине кишечника, не выявлено токсического влияния микроводорослей [8]. Для формирования четкого представления о безопасности различных типов микроводорослей пресных водоемов и морей необходимо изучить их влияние при приеме их в пищу лабораторными животными и сопоставить с контролем. Целью данного исследования явилось сравнительное изучение приема стандартной пищи, пропитанной масляным экстрактом микроводорослей различных систематических групп, мышами-самками C57Bl6 и его влияние на показатели кроветворения и иммунитет. Выбор спектра микроводорослей обусловлен недостаточной изученностью токсичности данных микроорганизмов, позволяющих использовать их в качестве биологически активных добавок для человека и животных.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектами исследования стали микроводоросли различных систематических групп из коллекции культур Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН» (ФИЦ «ИнБЮМ», г. Севастополь), эритроциты и лейкоциты периферической крови, клетки селезенки (спленоциты) и тимуса (тимоциты) мышей-самок C57Bl6. В исследование включены зеленые микроводоросли ((Bory) Drewet Ross). Культуры микроводорослей адаптировали к условиям интенсивного культивирования. Для этого культуры выращивали в колбах на люминистате при 5 клк, используя накопительный метод культивирования. В работе использовали стандартные питательные среды, состав которых приведен ниже. По мере увеличения плотности культуры добавляли свежую питательную среду, таким образом поступали до тех пор, пока объем не достиг 1 л каждого вида микроводорослей. После адаптации весь объем каждой из культур использовали в качестве инокулята для выращивания в плоскопараллельном фотобиореакторе объемом 10 л. Для наращивания 10 л суспензии микроводорослей также использовали накопительный метод культивирования с активным перемешиванием посредством барботажа воздухом при искусственном освещении (15 клк) люминесцентными

лампами. По достижении стационарной фазы роста весь объем (10 л) использовали в качестве инокулята для культивирования в промышленных фотобиореакторах при естественном освещении. Интенсивное культивирование микроводорослей в масштабах промышленного производства проводили в фотобиореакторах открытого типа (бассейнах) из полипропилена, установленных в тепличном комплексе, который расположен на территории лабораторного корпуса ФИЦ «ИнБЮМ» (г. Севастополь). Рабочий объем суспензии в каждом фотобиореакторе составлял 254 л. Этот объем на протяжении всего эксперимента поддерживали, доливая водопроводную воду до отметки 254 л. Рабочий слой (глубина) суспензии составлял 10 см. Рабочая (освещаемая) поверхность – 2,54 м². Суспензия микроводорослей в фотобиореакторах перемешивалась посредством механической мешалки, скорость вращения которой была неизменной в течение всего времени суток и составляла 20 об/мин. Для поддержания оптимальной температуры суспензии использовали систему термостабилизации, при этом на протяжении всего времени культивирования отклонение от оптимальной температуры составляло не более 3 °С. Изменение плотности культуры в фотобиореакторе измеряли двумя методами: измерением оптической плотности суспензии в кювете 0,5 см на длине волны 750 нм и взвешиванием сырого остатка (биомассы водорослей) на аналитических весах после центрифугирования суспензии в полипропиленовых пробирках при 1600 g в течение 15 мин. Зеленые микроводоросли и цианобактерии выращивали в летний период. Красные и диатомовые водоросли – в осенне-зимний период. На первом этапе интенсивного культивирования микроводорослей в промышленных фотобиореакторах культуры в течение 2-х суток адаптировали к условиям естественного освещения. Для этой цели инокулят, полученный в лаборатории, разбавляли свежей питательной средой в соотношении 1:3 и помещали в промышленный культиватор. Чтобы увеличить рабочий слой суспензии (глубину) и уменьшить освещаемую поверхность на время адаптации, один край культиватора приподнимали на 5 см таким образом, чтобы вся суспензия стекала к противоположному краю культиватора. Для исключения гибели неадаптированной культуры от высокого освещения суспензию затенили тканью таким образом, чтобы освещенность рабочей поверхности составляла 10–15 клк. После адаптации культуры выращивали в интенсивном режиме без затенения рабочей поверхности фотобиореактора. По мере нарастания плотности культуры добавляли питательную среду. Полученную таким образом суспензию использовали в качестве инокулята для интенсивного культивирования в промышленном фотобиореакторе при естественном освещении.

Для культивирования пресноводных видов *C. vulgaris*, *Coelastrella* sp., *A. platensis* использовали стандартные питательные среды Тамия и Заррук, приготовленные на фильтрованной водопроводной воде. Среда Заррук состоит из 16,8 г/л NaHCO_3 , 0,5 г/л K_2HPO_4 , 2,5 г/л NaNO_3 , 1,0 г/л K_2SO_4 , 1,0 г/л NaCl , 0,08 г/л Na_2EDTA , 0,01 г/л $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 0,04 г/л $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 0,2 г/л $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$ и 1 мл/л смеси микроэлементов (2,86 г/л H_3BO_3 , 1,81 г/л $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$, 0,222 г/л $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 0,079 г/л $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{ H}_2\text{O}$, 0,015 г/л MoO_3 , 0,02296 г/л NH_4VO_3 , 0,04398 г/л $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$, 0,096 г/л $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_4 \times 24 \text{ H}_2\text{O}$, 0,04785 г/л $\text{NiSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 0,01794 г/л $\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 0,04 г/л $\text{Ti}_2(\text{SO}_4)_3$). В питательную среду Тамия входили 5,0 г/л KNO_3 , 2,25 г/л $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 1,25 г/л KH_2PO_4 , 0,003 г/л $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 0,0037 г/л Na_2EDTA и 1 мл/л смеси микроэлементов (2,86 г/л H_3BO_3 , 1,81 г/л $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$, 0,222 г/л $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 0,01764 г/л MoO_3 , 0,02296 г/л NH_4VO_3). Для культивирования морских видов микроводорослей *C. closterium* и *P. purpureum* использовали питательные среды RS и Тренкеншу, приготовленные на стерильной черноморской воде. В состав питательной среды RS входили 0,75 г/л NaNO_3 , 0,0641 г/л $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 0,386 г/л $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \times 9 \text{ H}_2\text{O}$, 0,0872 г/л Na_2EDTA , 0,05 г/л $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 0,0002 $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{ H}_2\text{O}$, 0,00044 г/л $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 0,0002 г/л $\text{CoCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$, 0,00036 г/л $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$, 0,00012 г/л $\text{NaMoO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$. В состав питательной среды Тренкеншу входили 1,8 г/л NaNO_3 , 0,3 г/л $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 0,37 г/л Na_2EDTA , 0,042 г/л $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3 \text{ H}_2\text{O}$, 0,008 г/л $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$, 0,00625 г/л $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$, 0,00183 г/л $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4 \text{ H}_2\text{O}$, 0,00238 г/л $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{SO}_4 \times 24 \text{ H}_2\text{O}$, 0,00058 г/л TiO_2 . После достижения стационарной фазы роста суспензию микроводорослей из промышленного фотобиореактора центрифугировали при 1600 g в течение 15 мин. Надосадочную жидкость удаляли, а сырую массу водорослей промывали пресной водой для удаления остатков солей и экзометаболитов. Суспензию спирулины фильтровали через газовую ткань с порами 45 мкм. Затем также промывали пресной водой. Для получения сухой массы водорослей сырую биомассу наносили тонким слоем (3–5 мм) на полиэтилен, уложенный на ровную поверхность, и высушивали в токе теплого воздуха (38 °C) до остаточной влажности 9–10%. Сухую массу водорослей хранили в плотно закупоренной емкости при температуре -18 °C. Масляный экстракт из микроводорослей (5 г на 100 мл подсолнечного масла) получали пассивной диффузией биологически активных веществ в термостате ТС-80 (ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Россия) в течение 72 ч при 37 °C, далее ими пропитывали стандартную гранулированную пищу для грызунов (300 г). Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами Российской Федерации, принци-

пам Базельской декларации и рекомендациям этического комитета Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала Института цитологии и генетики СО РАН. Опытные группы были сформированы в соответствии с исследуемыми экстрактами микроводорослей: *C. vulgaris*, *Coelastrella* sp., *A. platensis*, *C. closterium*, *P. purpureum* и контроль (пропитка пищи чистым подсолнечным маслом). Объем выборки в опытных группах составил 5 особей и 6 особей в контрольной группе. Животные получали пищу, обработанную масляными экстрактами микроводорослей или же только подсолнечным маслом, в течение 12 суток. Количество эритроцитов ($10^{12}/\text{л}$), лейкоцитов ($10^9/\text{л}$) в периферической крови, взятой после обрезания кончика хвоста, определяли стандартным подсчетом в камере Горяева. Уровни гемоглобина (г/л) определяли спектрофотометрически с использованием набора «Гемоглобин-Ново» («Вектор-БЕСТ», Россия). Лейкоцитарную формулу (%) подсчитывали на микроскопе по общепринятой методике после окрашивания мазка крови фиксатором Май-Грюнвальд («Абрис+», Россия) и последующим окрашиванием по Романовскому-Гимзе («Абрис+», Россия). Количество клеток в селезенке (спленоциты) и тимусе (timoциты) оценивали после измельчения тканей глазными ножницами и разбиванием мелких кусочков шприцом с использованием иглы от большого до малого диаметра, далее полученную суспензию клеток пропускали через ситечки с диаметром 80 мкм для удаления дебриса. Подсчет количества выделенных иммуноцитов ($10^6/\text{мл}$) осуществляли в камере Горяева. Пролиферативный потенциал спленоцитов и тимоцитов ($10^6/\text{мл}$) в питательной среде RPMI 1640 («Биолот», Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Nucloпе, США), 2 мМL-глутамина (Merck, США), 5 мМНерес-буфера (Sigma, США) и 80 мкг/мл гентамицина сульфата («Дальхимфарм», Россия) в 24-луночных плоскодонных культуральных планшетах (TPP, Швейцария) оценивали инкубацией при температуре 37 °C и атмосфере 5% $\text{CO}_2/95\%$ воздуха в присутствии 0 и 10 мкг/мл Конканавалина А (Кон А; Sigma, США) в течение 72 ч. За 4 ч до окончания эксперимента клетки осаждали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 5 мин, удаляли надосадочную жидкость, вносили по 100 мкл RPMI 1640 без остальных реагентов и по 10 мкл 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиум бромид (MTT, Merck, США) и инкубировали 4 ч при температуре 37 °C и атмосфере 5% $\text{CO}_2/95\%$ воздуха. Далее вносили по 100 мкл диметилсульфоксида (Merck, США) в лунки для разрушения клеточной мембраны, оптическую плотность продукта реакции в лунке оценивали спектрофотометрически при длине волны 492 нм (StatFax 2100, США). Уровни иммуноглобулинов (Ig) класса G, M, A исследовали в сыворотке крови спектро-

фотометрически с использованием набора «Иммуноскрин-Г,М,А-ИФА-БЕСТ» («Вектор-БЕСТ», Россия) согласно инструкции производителя. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 10.0 для Windows. Нормальность распределения полученных данных оценивали с применением w -критерия Шапиро–Уилкса, в таблицах данные представлены в виде среднего и стандартного отклонений ($M \pm SD$), статистическую значимость различий между образцами оценивали однофакторным дисперсионным анализом (ANOVA) с поправкой по Бонферрони (Bonferroni post hoc test) и принимали при $p < 0,05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Прием пищи, обогащенной масляным экс-

трактом микроводорослей, спустя 12 суток способствовал значимому снижению количества лейкоцитов в периферической крови у мышей в группе *C. vulgaris* и *C. closterium* по сравнению с остальными группами, за исключением группы *P. purpureum* (рис. 1, а, $p < 0,05$). Существенных различий по количеству эритроцитов в периферической крови у мышей, принимавших пищу, обогащенную экстрактом микроводорослей или только растительным маслом, не выявлено (рис. 1, б, $p > 0,05$). В то же время прием пищи, обогащенной экстрактом *P. purpureum*, значимо способствовал снижению уровня гемоглобина в эритроцитах по сравнению с другими группами животных (рис. 1, с, $p < 0,05$).

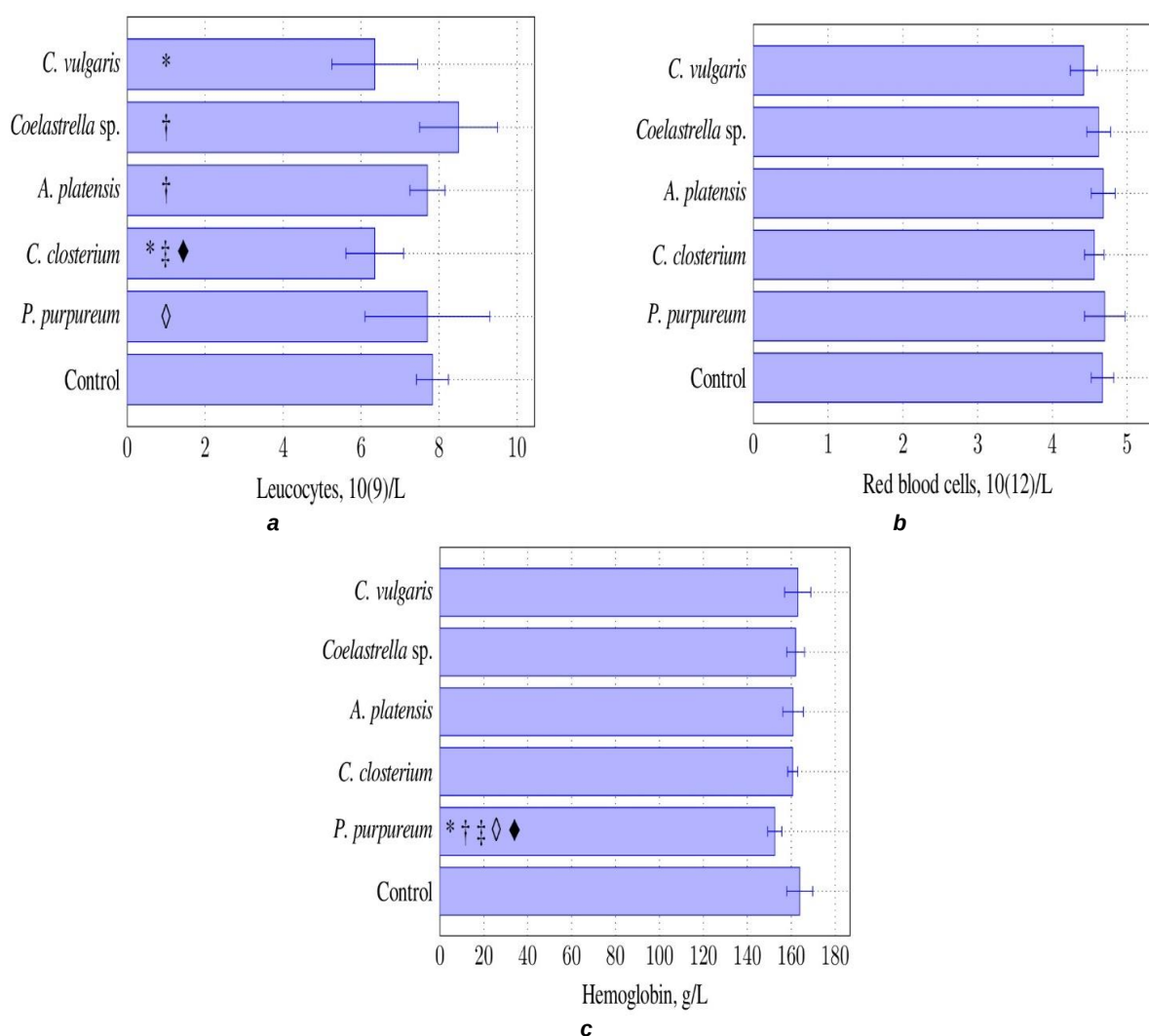


Рис. 1. Влияние масляных экстрактов микроводорослей на количество лейкоцитов (а), эритроцитов (б) и уровень гемоглобина (с) у мышей-самок C57Bl6.

Примечание: $p < 0,05$ * с контролем; † с *C. vulgaris*; ‡ с *Coelastrella* sp.; ♦ с *A. platensis*; ♦ с *C. closterium*

Fig. 1. Effect of oil extracts of microalgae on white blood cell count (a), red blood cell count (b), and hemoglobin level (c) in female C57Bl6 mice.

Note: $p < 0.05$ * with control; † with *C. vulgaris*; ‡ with *Coelastrella* sp.; ♦ with *A. platensis*; ♦ with *C. closterium*

Отмечено значимое увеличение относительного количества нейтрофилов в периферической крови в группах *Coelastrella* sp., *C. closterium* и *P. purpureum* по сравнению с другими группами животных (рис. 2, а, $p<0,05$). Прием в пищу экстракта *P. purpureum* значимо увеличивал относительное количество эозинофилов в периферической крови (рис. 2, б, $p<0,05$). Кроме этого, экстракты микроводорослей, за исключением *A. platensis*, значимо снижали относительное количество моноцитов в периферической крови животных по сравнению с контролем (рис. 2, с, $p<0,05$). Более того, в группе *C. closterium* отмечено наибольшее снижение относительного количества моноцитов по сравнению с остальными группами животных (см. рис. 2, с, $p<0,05$). Касательно относительного количества лимфоцитов

в периферической крови у животных показано, что экстракт *C. closterium* и *P. purpureum* значимо снижал их по сравнению с другими группами (рис. 2, д, $p<0,05$).

Во всех опытных группах животных экстракт микроводорослей значимо снижал абсолютное количество спленоцитов по сравнению с контролем (рис. 3, а, $p<0,05$). Необходимо отметить тот факт, что экстракт *C. vulgaris* и *Coelastrella* sp. в большей степени способствовал снижению абсолютного количества спленоцитов по сравнению с другими экстрактами микроводорослей (см. рис. 3, а, $p<0,05$). В то же время экстракты микроводорослей, за исключением *C. closterium*, существенно увеличивали абсолютное количество тимоцитов по сравнению с контролем (рис. 3, б, $p<0,05$).

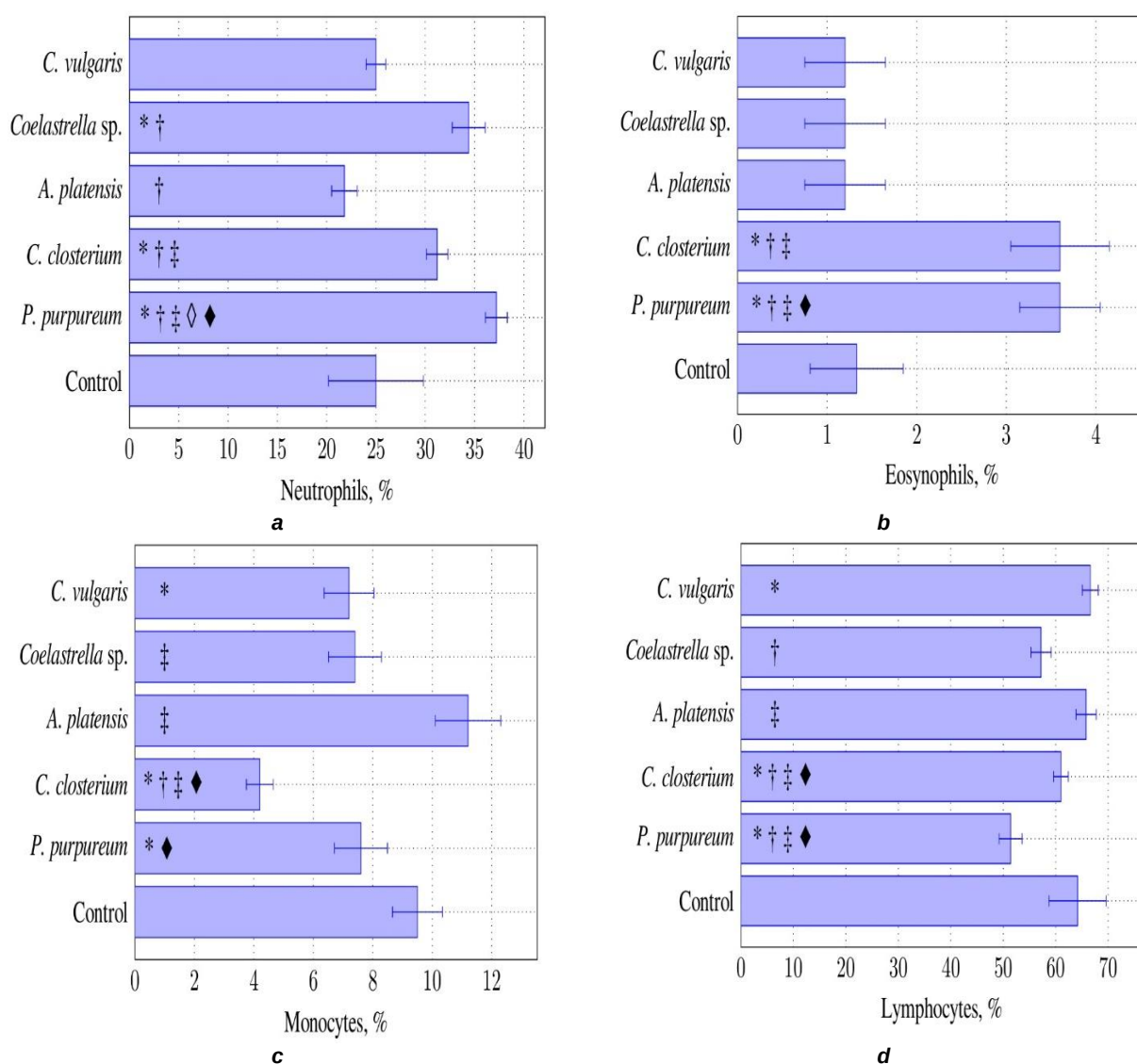


Рис. 2. Влияние масляных экстрактов микроводорослей на субпопуляционный состав лейкоцитов мышей-самок C57Bl6.
Примечание: $p<0,05$ * с контролем; † с *C. vulgaris*; ‡ с *Coelastrella* sp.; ◇ с *A. platensis*; ◆ с *C. closterium*

Fig. 2. Effect of oil extracts of microalgae on the subpopulation composition of white blood cells in C57Bl6 female mice.
Note: $p<0.05$ * with control; † with *C. vulgaris*; ‡ with *Coelastrella* sp.; ◇ with *A. platensis*; ◆ with *C. closterium*

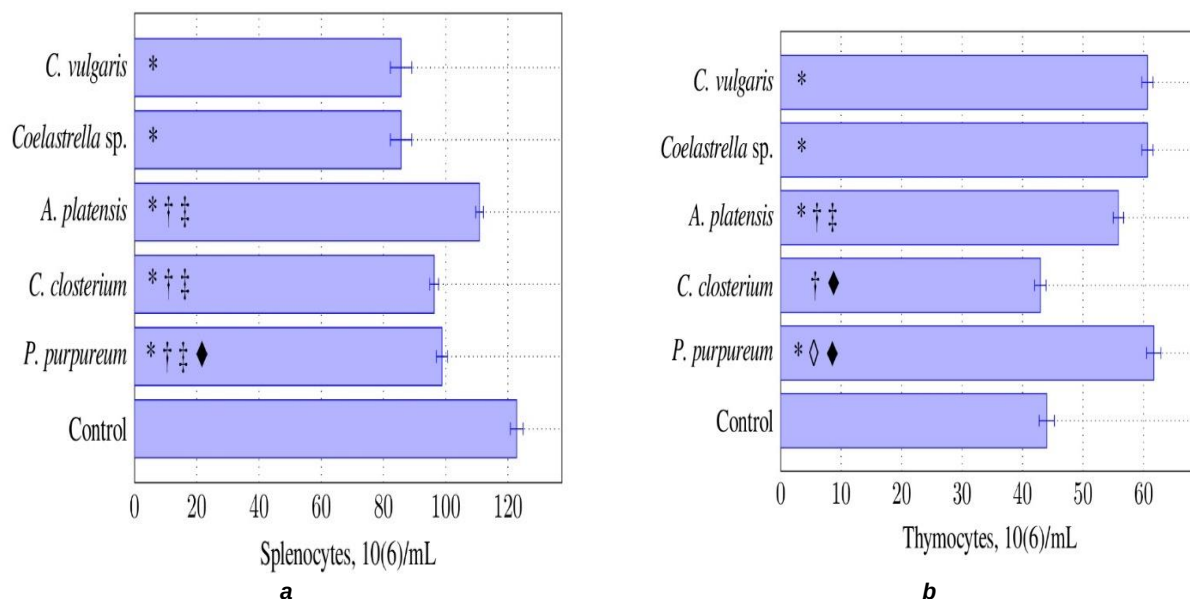


Рис. 3. Влияние масляных экстрактов микроводорослей на количество иммуноцитов селезенки и тимуса у мышей-самок C57Bl6.

Примечание: $p < 0,05$ * с контролем; † с *C. vulgaris*; ‡ с *Coelastrella* sp.; ♦ с *A. platensis*; ♦ с *C. closterium*

Fig. 3. Effect of oil extracts of microalgae on the number of spleen and thymus immunocytes in female C57Bl6 mice.

Note: $p < 0,05$ * with control; † with *C. vulgaris*; ‡ with *Coelastrella* sp.; ♦ with *A. platensis*; ♦ with *C. closterium*

Следующим этапом сравнительного анализа действия экстрактов микроводорослей стал анализ функционального потенциала спленоцитов (зрелые иммуноциты) и тимоцитов (незрелые иммуноциты).

Как видно из табл. 1, экстракт микроводорослей способствовал подавлению спонтанного пролиферативного потенциала по сравнению с контролем ($p < 0,05$). В отношении влияния экстрактов микроводорослей на митоген-стимулированную пролиферативную активность необходимо отметить, что экстракт *C. vulgaris*, *Coelastrella* sp., *A. platensis* значительно снижал от-

вет спленоцитов на митогенный стимул, а экстракт *C. closterium* и *P. purpureum* увеличивал митоген-стимулированную пролиферацию по сравнению с контролем.

Экстракт *C. vulgaris*, *Coelastrella* sp., *A. platensis* значительно снижал спонтанную пролиферацию тимоцитов, а экстракт *C. closterium* и *P. purpureum* увеличивал спонтанный пролиферативный потенциал тимоцитов по сравнению с контролем (см. табл. 1, $p < 0,05$). Необходимо отметить, что большинство экстрактов микроводорослей стимулировали ответ тимоцитов на митоген по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Таблица 1. Влияние масляных экстрактов микроводорослей на пролиферативный потенциал спленоцитов и тимоцитов у мышей-самок C57Bl6

Table 1. Effect of oil extracts of microalgae on the proliferative potential of splenocytes and thymocytes in female C57Bl6 mice

Параметры	Пролиферативный потенциал, единицы оптической плотности	
	Базальный	Кон А-стимулированный
Спленоциты		
<i>C. vulgaris</i>	0,49±0,001*	0,51±0,01*
<i>Coelastrella</i> sp.	0,56±0,001*†	0,59±0,001*†
<i>A. platensis</i>	0,57±0,001*†‡	0,6±0,01*†
<i>C. closterium</i>	0,74±0,01*†‡♦	0,82±0,01*†‡♦
<i>P. purpureum</i>	0,74±0,001*†‡♦	0,85±0,01*†‡♦
Control	0,77±0,01	0,76±0,01
Тимоциты		
<i>C. vulgaris</i>	0,48±0,001*	0,46±0,001*
<i>Coelastrella</i> sp.	0,48±0,01*	0,47±0,01†
<i>A. platensis</i>	0,5±0,01†‡	0,54±0,001*†‡
<i>C. closterium</i>	0,55±0,01*†‡♦	0,52±0,01*†‡♦
<i>P. purpureum</i>	0,56±0,01*†‡♦	0,56±0,01*†‡♦
Control	0,51±0,001	0,47±0,001

Примечание. $p < 0,05$ * с контролем, † с *C. vulgaris*, ‡ с *Coelastrella* sp., ♦ с *A. platensis*, ♦ с *C. closterium*.

Таблица 2. Влияние масляных экстрактов микроводорослей на уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови мышей-самок C57Bl6

Table 2. Effect of microalgae oil extracts on serum immunoglobulin levels in female C57Bl6 mice

Параметры	Иммуноглобулины, г/л		
	IgG	IgM	IgA
<i>C. vulgaris</i>	6,04±0,32	0,86±0,02	1,21±0,02*
<i>Coelastrella</i> sp.	10,36±0,28*†	0,98±0,16†	1,22±0,02
<i>A. platensis</i>	5,49±0,08‡	0,92±0,05†	1,24±0,02†
<i>C. closterium</i>	5,54±0,02‡	0,95±0,06†	1,25±0,03
<i>P. purpureum</i>	5,54±0,09‡	0,81±0,02*†‡♦	1,26±0,01†‡
Control	5,68±0,17	0,87±0,01	1,24±0,02

Примечание. $p < 0,05$ * с контролем, † с *C. vulgaris*, ‡ с *Coelastrella* sp., ♦ с *A. platensis*, ♦ с *C. closterium*.

В заключение мы исследовали влияние экстрактов микроводорослей на уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови животных (см. табл. 2). Употребление в пищу экстракта *Coelastrella* sp. способствовало увеличению уровня IgG, экстракт *P. purpureum* значимо снижал уровни IgM, экстракт *C. vulgaris* существенно снижал уровни IgA в сыворотке крови по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Наличие в составе микроводорослей белков, аминокислот, витаминов, каротиноидов, минералов, незаменимых жирных кислот и полисахаридов может быть использовано в качестве биологически активных добавок [3, 9]. Показано, что *A. platensis* проявляет иммуностимулирующее действие, влияет на кроветворение, активирует синтез иммуноглобулинов и цитокинов, способствует активации макрофагов, Т- и В-лимфоцитов [9].

С учетом наличия в составе микроводорослей широкого спектра биологически активных веществ, способных воздействовать на метаболизм в организме человека и животных, в данной работе исследовано влияние приема пищи, обогащенной масляным экстрактом микроводорослей, на показатели гемопоэза и иммунной системы у лабораторных животных. Показано, что экстракт *C. vulgaris* и *C. closterium* проявляет ингибирующее влияние на процесс миелопоэза, в частности снижает уровни лейкоцитов в периферической крови и не воздействует на эритропоэз и накопление железа в эритроцитах. По литературным данным, прием в пищу *C. vulgaris* кроликами в дозировке от 0,5 г/кг увеличивал накопление железа в эритроцитах [10]. Показано, что *C. vulgaris* у мышей со свинцовым отравлением (50 мг/кг) способствует миелопоэзу [11]. На мышах, пролеченных *C. vulgaris*, исследовали влияние стресса (однократного и многократного) на гемопоэз [12]. Отмечено уменьшение количества гемопоэтических стволовых клеток при обоих типах стресса, но при однократном стрессе выявлено более выраженное угнетение гемопоэза, однако прием *C. vulgaris* отменял ингибирующее влияние стресса на гемопоэз. У животных (мыши, собаки) с индуцированным циклофосфаном или же гамма-облучением, нарушением кроветворения оценивали влияние *per os* введения

A. platensis [13]. Так, *A. platensis* в дозировке 30 и 60 мг/кг увеличивало количество лейкоцитов в периферической крови, но не влияло на количество эритроцитов и уровень гемоглобина. Кормление коралловой форели *Plectropomus leopardus* микроводорослью *A. platensis* значимо увеличивает прирост массы, количество эритроцитов, лейкоцитов и уровень гемоглобина [14]. Показан цитотоксический эффект спиртового экстракта *A. platensis* на опухолевые клетки человека [15]. Полисахарид из *A. platensis* увеличивал селезеночный и тимоцитарный индексы, количество лейкоцитов и лимфоцитов, а также снижал уровни в сыворотке крови TNF- α , IL-10, IFN- γ *in vivo*, а *in vitro* стимулировал пролиферацию и продукцию NO, TNF- α , IL-6 макрофагальной линией RAW 264.7 [16].

По нашим данным, экстракты микроводорослей влияли на популяционный состав лейкоцитов, в частности *Coelastrella* sp., *C. closterium* и *P. purpureum* способствовали увеличению доли нейтрофилов, *P. purpureum* инициировал увеличение доли эозинофилов, *A. platensis* и *C. closterium* способствовали уменьшению доли моноцитов, а *C. closterium* и *P. purpureum* уменьшали долю лимфоцитов в периферической крови мышей. У больных с ВИЧ-инфекцией в результате приема *A. platensis* отмечен прирост количества CD4+ лимфоцитов в периферической крови [17]. Водный экстракт *C. vulgaris* 1000 мг/кг внутривенно вводили крысам F344/DuCrj в течение 14 суток до и после индукции иммуносупрессии циклофосфаном 50 мг/кг и оценивали количество ядросодержащих клеток костного мозга, спленоцитов и лейкоцитов в периферической крови [18]. Отмечено увеличение количества клеток в костном мозге на 7-е сутки после иммуносупрессии, спленоцитов – на 11-е сутки и лейкоцитов – на 7-е сутки в группе, получавшей лечение микроводорослью. *P. purpureum* снижают формирование пенных клеток и секрецию TNF- α , IL-6 макрофагальной линией RAW 264.7 [19]. *C. closterium* снижает продукцию TNF- α моноцитарной линией THP-1 [19].

В большинстве случаев нами отмечено негативное воздействие экстрактов микроводорослей на пролиферативный потенциал спленоцитов, а

в отношении тимоцитов выявлено разнонаправленное влияние экстрактов микроводорослей на функциональную активность. По большей части экстракты микроводорослей существенно не влияли на уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови животных. В доступной литературе нами не найдено исследований по влиянию микроводорослей на пролиферативный потенциал спленоцитов и тимоцитов. В работе [10] показано, что *C. vulgaris* увеличивал уровни IgG и IgM у кроликов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, экстракты микроводорослей способны вызывать развитие лейкопении с одновременным увеличением доли гранулоцитов и снижением доли моноцитов и лимфоцитов, снижение уровня гемоглобина, а также подавление клеточного иммунитета, что следует учитывать при выборе микроводорослей в качестве компонентов при производстве кормов для животных.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Tabar zad M., Atabaki V., Hosseinabadi T. Anti-inflammatory activity of bioactive compounds from microalgae and cyanobacteria by focusing on the mechanisms of action // *Molecular Biology Reports*. 2020. Vol. 47, no. 8. P. 6193–6205. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05562-9>.
2. Lauritano C., Helland K., Riccio G., Andersen J. H., Ianora A., Hansen E. H. Lysophosphatidylcholines and chlorophyll-derived molecules from the diatom *Cylindrotheca closterium* with anti-inflammatory activity // *Marine Drugs*. 2020. Vol. 18, no. 3. P. 166. <https://doi.org/10.3390/md18030166>.
3. Frumento D., Aliakbarian B., Casazza A. A., Converti A., Al Arni S., da Silva M. F. *Chlorella vulgaris* as a lipid source: cultivation on air and seawater-simulating medium in a helicoidal photobioreactor // *Biotechnology Progress*. 2016. Vol. 32, no. 2. P. 279–284. <https://doi.org/10.1002/btpr.2218>.
4. Lupatini A. L., Colla L. M., Canan C., Colla E. Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2017. Vol. 97, no. 3. P. 724–732. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7987>.
5. Cheng D., Wan Z., Zhang X., Li J., Li H., Wang C. Dietary *Chlorella vulgaris* ameliorates altered immunomodulatory functions in cyclophosphamide-induced immunosuppressive mice // *Nutrients*. 2017. Vol. 9, no. 7. P. 708. <https://doi.org/10.3390/nu9070708>.
6. Khan S., Mobashar M., Mahsood F. K., Javaid S., Abdel-Wareth A. A., Ammanullah H., et al. Spirulina inclusion levels in a broiler ration: evaluation of growth performance, gut integrity, and immunity // *Tropical Animal Health and Production*. 2020. Vol. 52, no. 6. P. 3233–3240. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02349-9>.
7. Abdel-Aziem S. H., Abd El-Kader H. A. M., Ibrahim F. M., Sharaf H. A., El Makawy A. I. Evaluation of the alleviative role of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* extract against ovarian dysfunctions induced by monosodium glutamate in mice // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2018. Vol. 16, no. 2. P. 653–660. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.05.001>.
8. Neumann U., Derwenskus F., Gille A., Louis S., Schmid-Staiger U., Briviba K., et al. Bioavailability and safety of nutrients from the microalgae *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oceanica* and *Phaeodactylum tricornutum* in C57BL/6 mice // *Nutrients*. 2018. Vol. 10, no. 8. P. 965. <https://doi.org/10.3390/nu10080965>.
9. Blinkova L. P., Gorobets O. B., Baturo A. P. Biological activity of spirulina // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2001. Vol. 2. P. 114–118.
10. Abdelnour S. A., Sheiha A. M., Taha A. E., Swelum A. A., Alarifi S., Alkahtani S., et al. Impacts of enriching growing rabbit diets with *Chlorella vulgaris* microalgae on growth, blood variables, carcass traits, immunological and antioxidant indices // *Animals (Basel)*. 2019. Vol. 9, no. 10. P. 788. <https://doi.org/10.3390/ani9100788>.
11. Queiroz M. L. S., da Rocha M. C., Torello C. O., de Souza Queiroz J., Bincoletto C., Morgano M. A., et al. *Chlorella vulgaris* restores bone marrow cellularity and cytokine production in lead-exposed mice // *Food and Chemical Toxicology*. 2011. Vol. 49, no. 11. P. 2934–2941. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.06.056>.
12. Souza Queiroz J., Barbosa C. M. V., da Rocha M. C., Bincoletto C., Paredes-Gamero E. J., de Souza Queiroz M. L., et al. *Chlorella vulgaris* treatment ameliorates the suppressive effects of single and repeated stressors on hematopoiesis // *Brain, Behavior, and Immunity*. 2013. Vol. 29. P. 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.12.001>.
13. Zhang H. Q., Lin A. P., Sun Y., Deng Y. M. Chemo- and radio-protective effects of polysaccharide of *Spirulina platensis* on hemopoietic system of mice and dogs // *Acta Pharmacologica Sinica*. 2001. Vol. 22, no. 12. P. 1121–1124.
14. Yu W., Wen G., Lin H., Yang Y., Huang X., Zhou C., et al. Effects of dietary *Spirulina platensis* on growth performance, hematological and serum biochemical parameters, hepatic antioxidant status, immune responses and disease resistance of Coral trout *Plectropomus leopardus* (Lacepede, 1802) // *Fish & Shellfish Immunology*. 2018. Vol. 74. P. 649–655. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.01.024>.
15. Bechelli J., Coppage M., Rosell K., Liesveld J. Cytotoxicity of algae extracts on normal and malignant cells // *Leukemia Research and Treatment*. 2011. <https://doi.org/10.4061/2011/373519>.
16. Wu X., Liu Z., Liu Y., Yang Y., Shi F., Cheong K. L., et al. Immunostimulatory effects of polysaccharides from *Spirulina platensis* in vivo and vitro and their activation mechanism on RAW246.7 macrophages // *Marine Drugs*. 2020. Vol. 18, no. 11.

P. 538. <https://doi.org/10.3390/md18110538>.

17. Ngo-Matip M.-E., Pieme C. A., Azabji-Kenfack M., Moukette B. M., Korosky E., Stefani P., et al. Impact of daily supplementation of *Spirulina platensis* on the immune system of naïve HIV-1 patients in Cameroon: a 12-months single blind, randomized, multicenter trial // *Nutrition Journal*. 2015. Vol. 14. Article number 70. <https://doi.org/10.1186/s12937-015-0058-4>.

18. Hasegawa T., Yoshikai Y., Okuda M., Nomoto K. Accelerated restoration of the leukocyte number and augmented resistance against *Escherichia coli* in cyclophosphamide-treated rats orally administered with a hot water extract of *Chlorella vulgaris* // *International Journal of Immunopharma-*

cology. 1990. Vol. 12, no. 8. P. 883–891. [https://doi.org/10.1016/0192-0561\(90\)90007-a](https://doi.org/10.1016/0192-0561(90)90007-a).

19. Kavitha M. D., Gouda K. G. M., Aditya Rao S. J., Shilpa T. S., Shetty N. P., Sarada R. Atheroprotective effect of novel peptides from *Porphyridium purpureum* in RAW 264.7 macrophage cell line and its molecular docking study // *Biotechnology Letters*. 2019. Vol. 41, no. 1. P. 91–106. <https://doi.org/10.1007/s10529-018-2621-5>.

20. Lauritano C., Helland K., Riccio G., Andersen J. H., Ianora A., Hansen E. H. Lysophosphatidylcholines and chlorophyll-derived molecules from the Diatom *Cylindrotheca closterium* with anti-inflammatory activity // *Marine Drugs*. 2020. Vol. 18, no. 3. P. 166. <https://doi.org/10.3390/md18030166>.

REFERENCES

1. Tabarzad M., Atabaki V., Hosseinabadi T. Anti-inflammatory activity of bioactive compounds from microalgae and cyanobacteria by focusing on the mechanisms of action. *Molecular Biology Reports*. 2020;47(8):6193–6205. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05562-9>.

2. Lauritano C., Helland K., Riccio G., Andersen J. H., Ianora A., Hansen E. H. Lysophosphatidylcholines and chlorophyll-derived molecules from the diatom *Cylindrotheca closterium* with anti-inflammatory activity. *Marine Drugs*. 2020;18(3):166. <https://doi.org/10.3390/md18030166>.

3. Frumento D., Aliakbarian B., Casazza A. A., Converti A., Al Arni S., da Silva M. F. *Chlorella vulgaris* as a lipid source: cultivation on air and seawater-simulating medium in a helicoidal photobioreactor. *Biotechnology Progress*. 2016;32(2):279–284. <https://doi.org/10.1002/btpr.2218>.

4. Lupatini A. L., Colla L. M., Canan C., Colla E. Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2017;97(3):724–732. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7987>.

5. Cheng D., Wan Z., Zhang X., Li J., Li H., Wang C. Dietary *Chlorella vulgaris* ameliorates altered immunomodulatory functions in cyclophosphamide-induced immunosuppressive mice. *Nutrients*. 2017;9(7):708. <https://doi.org/10.3390/nu9070708>.

6. Khan S., Mobashar M., Mahsood F. K., Javaid S., Abdel-Wareth A. A., Ammanullah H., et al. Spirulina inclusion levels in a broiler ration: evaluation of growth performance, gut integrity, and immunity. *Tropical Animal Health and Production*. 2020;52(6):3233–3240. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02349-9>.

7. Abdel-Aziem S. H., Abd El-Kader H. A. M., Ibrahim F. M., Sharaf H. A., El Makawy A. I. Evaluation of the alleviative role of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* extract against ovarian dysfunctions induced by monosodium glutamate in mice. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2018;16(2):653–660. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.05.001>.

8. Neumann U., Derwenskus F., Gille A., Louis S., Schmid-Staiger U., Briviba K., et al. Bioavailability

and safety of nutrients from the microalgae *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oceanica* and *Phaeodactylum tricornutum* in C57BL/6 mice. *Nutrients*. 2018;10(8):965. <https://doi.org/10.3390/nu10080965>.

9. Blinkova L. P., Gorobets O. B., Baturo A. P. Biological activity of spirulina. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2001;2:114–118.

10. Abdelnour S. A., Sheiha A. M., Taha A. E., Swelum A. A., Alarifi S., Alkahtani S., et al. Impacts of enriching growing rabbit diets with *Chlorella vulgaris* microalgae on growth, blood variables, carcass traits, immunological and antioxidant indices. *Animals (Basel)*. 2019;9(10):788. <https://doi.org/10.3390/ani9100788>.

11. Queiroz M. L. S., da Rocha M. C., Torello C. O., de Souza Queiroz J., Bincoletto C., Morgano M. A., et al. *Chlorella vulgaris* restores bone marrow cellularity and cytokine production in lead-exposed mice. *Food and Chemical Toxicology*. 2011;49(11):2934–2941. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.06.056>.

12. Souza Queiroz J., Barbosa C. M. V., da Rocha M. C., Bincoletto C., Paredes-Gamero E. J., de Souza Queiroz M. L., et al. *Chlorella vulgaris* treatment ameliorates the suppressive effects of single and repeated stressors on hematopoiesis. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2013;29:39–50. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.12.001>.

13. Zhang H. Q., Lin A. P., Sun Y., Deng Y. M. Chemo- and radio-protective effects of polysaccharide of *Spirulina platensis* on hemopoietic system of mice and dogs. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2001;22(12):1121–1124.

14. Yu W., Wen G., Lin H., Yang Y., Huang X., Zhou C., et al. Effects of dietary *Spirulina platensis* on growth performance, hematological and serum biochemical parameters, hepatic antioxidant status, immune responses and disease resistance of Coral trout *Plectropomus leopardus* (Lacepede, 1802). *Fish & Shellfish Immunology*. 2018;74:649–655. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.01.024>.

15. Bechelli J., Coppage M., Rosell K., Liesveld J. Cytotoxicity of algae extracts on normal and malignant cells. *Leukemia Research and Treatment*.

2011. <https://doi.org/10.4061/2011/373519>.

16. Wu X., Liu Z., Liu Y., Yang Y., Shi F., Cheong K. L., et al. Immunostimulatory effects of polysaccharides from *Spirulina platensis* in vivo and vitro and their activation mechanism on RAW246.7 macrophages. *Marine Drugs*. 2020;18(11):538. <https://doi.org/10.3390/md18110538>.

17. Ngo-Matip M.-E., Pieme C. A., Azabji-Kenfack M., Moukette B. M., Korosky E., Stefani P., et al. Impact of daily supplementation of *Spirulina platensis* on the immune system of naïve HIV-1 patients in Cameroon: a 12-months single blind, randomized, multicenter trial. *Nutrition Journal*. 2015;14. Article number 70. <https://doi.org/10.1186/s12937-015-0058-4>.

18. Hasegawa T., Yoshikai Y., Okuda M., Nomoto K. Accelerated restoration of the leukocyte number and augmented resistance against *Esche-*

richia coli in cyclophosphamide-treated rats orally administered with a hot water extract of *Chlorella vulgaris*. *International Journal of Immunopharmacology*. 1990;12(8):883-891. [https://doi.org/10.1016/0192-0561\(90\)90007-a](https://doi.org/10.1016/0192-0561(90)90007-a).

19. Kavitha M. D., Gouda K. G. M., Aditya Rao S. J., Shilpa T. S., Shetty N. P., Sarada R. Atheroprotective effect of novel peptides from *Porphyridium purpureum* in RAW 264.7 macrophage cell line and its molecular docking study. *Biotechnology Letters*. 2019;41(1):91-106. <https://doi.org/10.1007/s10529-018-2621-5>.

20. Lauritano C., Helland K., Riccio G., Andersen J. H., Ianora A., Hansen E. H. Lysophosphatidylcholines and chlorophyll-derived molecules from the Diatom *Cylindrotheca closterium* with anti-inflammatory activity. *Marine Drugs*. 2020;18(3):166. <https://doi.org/10.3390/md18030166>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

А. П. Лыков,

к.м.н., ведущий научный сотрудник,
Научно-исследовательский институт клинической
и экспериментальной лимфологии –
филиал Института цитологии и генетики СО РАН,
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2,
Российская Федерация;
старший научный сотрудник,
Новосибирский научно-исследовательский
институт туберкулеза Минздрава РФ,
630040, г. Новосибирск, ул. Охотская, 81А,
Российская Федерация,
aplykov2@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4897-8676>

И. П. Уваров,

руководитель,
Управление ветеринарии города Новосибирска,
630091, г. Новосибирск, ул. Достоевского, 9,
Российская Федерация,
79139206791@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1378-5671>

Р. Г. Геворгиз,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского РАН,
299011, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2,
Российская Федерация,
r.gevorgiz@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8017-5593>

С. Н. Железнова,

младший научный сотрудник,
Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского РАН,
299011, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2,
Российская Федерация,
zheleznovasveta@yandex.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Alexander P. Lykov,

Cand. Sci. (Medicine), Leading Researcher,
Research Institute of Clinical
and Experimental Lymphology – Branch
of Institute of Cytology and Genetics,
2, Timakov St., Novosibirsk, 630060,
Russian Federation;
Senior Researcher,
Novosibirsk Tuberculosis Research Institute,
81 A, Okhotskaya St., Novosibirsk, 630040,
Russian Federation,
aplykov2@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4897-8676>

Ivan P. Uvarov,

Head of the Department of Veterinary
Medicine of the city of Novosibirsk,
9, Dostoevsky St., Novosibirsk, 630091,
Russian Federation,
79139206791@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1378-5671>

Ruslan G. Gevorgiz,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Institute of Biology of the Southern Seas
named after A. O. Kovalevsky RAS,
2, Nakhimov Ave., Sevastopol, 299011,
Russian Federation,
r.gevorgiz@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8017-5593>

Svetlana N. Zhelezнова,

Junior Researcher,
Institute of Biology of the Southern Seas
named after A. O. Kovalevsky RAS,
2, Nakhimov Ave., Sevastopol, 299011,
Russian Federation,
zheleznovasveta@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0003-1800-5902>

О. В. Повещенко,

д.м.н., заведующая лабораторией,
Научно-исследовательский институт клинической
и экспериментальной лимфологии –
филиал Института цитологии и генетики СО РАН,
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2,
Российская Федерация,
poveschenkoov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1378-5671>

Вклад авторов

А. П. Лыков – дизайн исследования; выполнение
экспериментальных исследований
с лабораторными животными; обработка данных
и построение графиков.
И. П. Уваров – дизайн исследования.
Р. Г. Геворгиз – дизайн исследования; выполнение
работы по наращиванию, лиофилизации
микроорганизмов; обработка данных и построение
графиков.
С. Н. Железнова – выполнение работы
по наращиванию, лиофилизации микроорганизмов.
О. В. Повещенко – дизайн исследования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 02.07.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.*

<https://orcid.org/0000-0003-1800-5902>

Olga V. Poveschenko,

Dr. Sci. (Medicine), Head of Laboratory,
Research Institute of Clinical
and Experimental Lymphology – Branch
of Institute of Cytology and Genetics,
2, Timakov St., Novosibirsk, 630060,
Russian Federation,
poveschenkoov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1378-5671>

Contribution of the authors

Alexander P. Lykov – research design;
performing experimental studies with
laboratory animals; data processing
and graphing.
Ivan P. Uvarov – research design.
Ruslan G. Gevorgiz – research design;
performance of work on building up,
lyophilization of microorganisms;
data processing and graphing.
Svetlana N. Zheleznova – performance
of work on building up, lyophilization
of microorganisms.
Olga V. Poveschenko – research design.

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 article

*The article was submitted 02.07.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.*

Научная статья

УДК 635.074:543.63

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-121-129>



Накопление антоцианов и фенольных кислот и антиоксидантная активность некоторых сортов салата, выращенных в открытом грунте и методом гидропоники

Елена Юрьевна Олейниц*, Илья Андреевич Суходолов**,
Анастасия Владимировна Константинович**, Виктор Иванович Дейнека*,
Ирина Петровна Блинова*, Людмила Александровна Дейнека*

*Белгородский государственный национальный исследовательский университет,

г. Белгород, Российская Федерация

**Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К. А. Тимирязева,

г. Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Олейниц Елена Юрьевна, oleinits_e@bsu.edu.ru

Аннотация. Целью исследования является определение уровня накопления антоцианов и фенольных кислот в листьях некоторых сортов салата, выращенных в условиях открытого грунта и гидропоники, определение антиоксидантной активности. Растительный материал экстрагировали настаиванием в избранном экстрагенте (оставляли на ночь). Концентрацию антоцианов определяли спектрофотометрическим методом, а видовой состав антоцианов и фенольных соединений – методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Показано, что антоцианы экстрактов всех красностебельных сортов салата представлены в основном цианидин-3-(6"-малонилглюкозидом) с небольшими добавками его изомера – цианидин-3-(3"-малонилглюкозида). Наивысший уровень накопления антоцианов обнаружен в листьях салата сорта Туринус – до 0,200 г на 100 г свежего продукта для интенсивно окрашенных частей листьев. При этом выращивание салатов в условиях теплицы (на гидропонике) приводит к значительному снижению концентрации антоцианов в листьях. Установлено, что при сушке листьев потери антоцианов могут превышать 50%. Кроме антоцианов, важными водорастворимыми соединениями и антиоксидантами являются производные кофейной кислоты – хлорогеновая (5-кофеоилхинная) кислота, 5CQA, цикориевая (3,4-дикофеоилвинная) кислота и 3,5-дикофеоилхинная кислота. Уровень накопления 5CQA оказался наивысшим – 140 мг на 100 г свежей массы (сорт Туринус красный). Антиоксидантные свойства, коррелирующие с уровнем накопления антоцианов, определяли по методу Фолина–Чокальтеу. Выявлено, что салаты красностебельных сортов обладают большей антиоксидантной активностью по сравнению с зеленолиственными сортами, поэтому представляют собой более ценные и функциональные продукты питания. Показано, что для получения высококачественной продукции при выращивании методом гидропоники в тепличных хозяйствах следует разработать систему дополнительной подсветки для усиления биосинтеза антоцианов.

Ключевые слова: *Lactuca sativa* L., открытый грунт, гидропоника, антоцианы, фенольные кислоты, антиоксидантные свойства

Для цитирования: Олейниц Е. Ю., Суходолов И. А., Константинович А. В., Дейнека В. И., Блинова И. П., Дейнека Л. А. Накопление антоцианов и фенольных кислот и антиоксидантная активность некоторых сортов салата, выращенных в открытом грунте и методом гидропоники // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 121–129. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-121-129>.

Accumulation of anthocyanins and phenolic acids and antioxidant activity of lettuce cultivars grown hydroponically and in the open ground

Elena Yu. Oleinits*, Ilia A. Sukhodolov**,
Anastasiya V. Konstantinovich**, Viktor I. Deineka*,
Irina P. Blinova*, Lyudmila A. Deineka*

*Belgorod National Research University,
Belgorod, Russian Federation

**Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
Moscow, Russian Federation

Corresponding author: Elena Yu. Oleinits, oleinits_e@bsu.edu.ru

Abstract. We assess the level of anthocyanins and phenolic acids accumulated in the leaves of lettuce cultivars grown hydroponically and in the open ground. In addition, the antioxidant activity of the cultivars under study was determined. The plant material was macerated overnight using a selected extractant. The anthocyanin concentration was determined by spectrophotometry, while the composition of anthocyanins and phenolic compounds was determined by reverse-phase high performance liquid chromatography. In general, anthocyanins in the extracts of all red-leaved lettuce cultivars were represented by cyanidin-3-(6"-malonylglucoside) with a small amount of its isomer – cyanidin-3-(3"-malonylglucoside). The highest level of anthocyanins was detected in the leaves of c.v. Thurinus, amounting up to 0.200 g per 100 g of fresh product for the intensively painted leaf areas. The cultivation of lettuce under the green-house conditions (hydroponically) leads to a significant reduction in the anthocyanin concentration in its leaves. The loss of anthocyanins during leaf drying was established to exceed 50%. Along with anthocyanins, the derivatives of caffeic acid, including chlorogenic (5-caffeoylquinic) acid, 5CQA, chicoric (3,4-caffeoyltartaric) acid, and 3,5-dicaffeoylquinic acid are important water-soluble compounds with antioxidant effects. The 5CQA accumulation was the highest, comprising 140 mg per 100 g of fresh weight (Red Thurinus). Antioxidant properties correlating with the level of anthocyanin accumulation were determined using the Folin-Ciocalteu method. In comparison with green-leaved cultivars, red-leaved lettuce was found to exhibit a greater antioxidant activity, thus representing a more valuable and functional food product. According to the obtained results, a system of additional illumination is required for intensification of the anthocyan biosynthesis aimed at obtaining high-quality products cultivated hydroponically in green-house facilities.

Keywords: *Lactuca sativa* L., open ground, hydroponics, anthocyanins, phenolic acids, antioxidant properties

For citation: Oleinits E. Yu., Sukhodolov I. A., Konstantinovich A. V., Deineka V. I., Blinova I. P., Deineka L. A. Accumulation of anthocyanins and phenolic acids and antioxidant activity of lettuce cultivars grown hydroponically and in the open ground. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):121-129. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-121-129>.

ВВЕДЕНИЕ

Салат (*Lactuca sativa* L.) относится к наиболее востребованному культивируемому зеленому листовым овощам во всем мире, объем продукции которого ежегодно возрастает. По оценкам [1], площадь посевов этой культуры превышала 1,27 млн га в 2018 году с суммарной товарной продукцией около 27,3 млн т. *L. sativa* L. принадлежит к семейству Астровые (Asteraceae), а вид салатов разделен по морфологическим признакам на разнообразные (для различных авторов [1, 2]) группы, включающие листовые, кочанные, спаржевые и т.д. салаты. При этом с культивируемыми салатами таксономически тесно связаны семь диких видов [3].

Популярность салатов обусловлена его положительным влиянием на здоровье человека: при низкой калорийности салаты являются относительно хорошими источниками клетчатки, фолатов, витамина К [1]. Большое значение имеют водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, антоцианы (для красных сортов) и фенольные соединения, а также жирорастворимые антиоксиданты – каротиноиды фотосинтетического комплекса. В целом уровень накопления указанных веществ зависит от сорта и условий выращивания [4–10]. Антоцианы красного сорта салата (Var. Cherokee, Holland) представлены единственным цианидин-3-(6"-малонил-β-глюкопиранозидом), который немедленно

превращался в метиловый эфир этого соединения и в цианидин-3-β-глюкопиранозид в лабораторных условиях [11]. В работе [1] исследовали накопление аскорбиновой кислоты и антоцианов в широком наборе салатов, разделенных на коммерческие и традиционные сорта *L. sativa* L. и семь видов дикорастущих салатов из различных регионов мира. При этом был установлен высокий уровень накопления аскорбиновой кислоты – от 150 и почти до 300 мг на 100 г сухой массы (за исключением нескольких видов дикоросов). Наивысший уровень накопления антоцианов найден для сорта Likarix – почти 125 мг на 100 г сухой массы. При этом в красных сортах салата был обнаружен не только цианидин-3-(6"-малонил-β-глюкопиранозид) как основной компонент, на который приходилось порядка 97% от суммы антоцианов, но и небольшое количество пеонидин-3-β-глюкопиранозид и цианидин-3-(6"-ацетил-β-глюкопиранозид) [1]. Среди прочих фенольных соединений в исследованных красном и зеленом (Var. Noth Star, Holland) сортах салатов в работе [11] обнаружены цикориевая кислота, кверцетин-3-глюкозид, феруловая и кофейная кислоты. В работе [12] сопоставляли накопление фенольных соединений в салатах, выращенных в теплице и на открытом воздухе. При этом было установлено, что в теплицах накопление флавоноидов (кверцетин-3-глюкозида, кверцетин-3-глюкуронида и кверцетин-3-(6"-малонилглюкозида)) чуть ли не на порядок уступало показателям салатов, выращенных на открытом воздухе. Содержание производных кофейной кислоты (главным образом цикориевой и хлорогеновой кислот) было более выровненным, хотя условия открытого грунта остаются несколько более благоприятными и в этом случае.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образцы салатов были выращены в открытом грунте в УНПЦ «Овощная опытная станция имени В. И. Эдельштейна» Российского государственного аграрного университета – МСХА им. К. А. Тимирязева (г. Москва) и методом гидропоники в ООО «Вертикальные фермы» (г. Москва) в закрытом помещении без доступа солнечного света в 2021 году.

Изучаемые гибриды отличались друг от друга размером, формой листовой розетки и окраской листьев. Контролем служил гибрид Лимейра. В испытаниях участвовало 2 образца листового салата – Лимейра и Сенситель, 1 образец салата типа Lollo rossa (triple red) – Кармези и по одному образцу салата ромэн – Туринус и дуболистного салата – Сатудай. Салат выращивали в мае-июне (посев 01.05.2021). После посева растения помещали в камеру проращивания на 3 дня. Температуру воздуха в камере поддерживали на уровне 23 °С, относительную влажность воздуха – 90%. Далее салат был перенесен в рассадное

отделение на 13 дней. После этого растения были помещены в открытый грунт и вертикальную ферму. Освещенность в вертикальной ферме составляла 12 тыс. лк 16 ч в сутки. Параметры источника освещения – 5000 К+600 нм при соотношении белый к красному 6:1; температура воздуха – 22 °С; относительная влажность воздуха – 70–80%. Урожай всех изучаемых образцов салата убрали 05.06.2021.

Для экстракции антоцианов навеску листьев (один лист) заливали 0,1 М водным раствором HCl и настаивали в течение суток. Полученный экстракт отделяли фильтрованием от остатка и остаток вновь заливали экстрагентом, повторяя настаивание. Экстракты объединяли и концентрацию антоцианов в пересчете на исходный материал рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{A \cdot V \cdot 484,8 \cdot 100 \cdot d}{26900 \cdot m},$$

где A – оптическая плотность разбавленного экстракта, измеренная в кювете с длиной оптического пути 1 см; V – объем экстракта в л; 484,8 – молярная масса цианидин-3-глюкозида хлорида; d – кратность разбавления экстракта перед спектрофотометрированием; 26900 – коэффициент молярного поглощения в пересчете на цианидин-3-глюкозид [13]; m – масса навески листа, г; 100 – коэффициент пересчета на 100 г.

Хроматографирование осуществляли на хроматографе Agilent 1200 Infinity с диодно-матричным детектором (Agilent Technologies, США).

Для разделения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) экстракты очищали на концентрирующих патронах ДИАПАК C18 (ЗАО «БиоХимМак СТ», Россия) [14].

Видовой состав антоцианов определяли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в подвижной фазе 10 об.% муравьиной кислоты и 8 об.% ацетонитрила в воде, скорость подачи подвижной фазы – 1 мл/мин; колонка 150×4,6 мм, Symmetry C18, 3,5 мкм (Waters, США), температура термостата колонки – 40 °С. Детектирование осуществляли с использованием диодно-матричного детектора с записью электронных спектров поглощения, представляя хроматограммы, записанные при λ=515 нм.

Антоцианы идентифицировали по совпадению времен удерживания (в двух составах подвижных фаз) с образцами из коллекции лаборатории и по совпадению электронных спектров поглощения антоцианов и экстрактов со спектром цианидин-3-глюкозида, поскольку ацилирование малоновой кислотой практически не сказывается на электронных спектрах поглощения.

Видовой состав фенольных кислот определяли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в подвижной фазе 0,3 об.% ортофосфорной кислоты и 20 об.% ацетонитрила в воде, скорость по-

дачи подвижной фазы – 1 мл/мин; колонка 250×4,6 мм, Kromasil 110-5-C18 (Nouryon, Швеция), температура термостата колонки – 30 °С. Детектирование осуществляли с использованием диодно-матричного детектора с записью электронных спектров поглощения, представляя хроматограммы, записанные при $\lambda=326$ нм.

Определение антиоксидантных свойств проводили методом Фолина–Чокальтеу [15]. В колбу на 5 мл вносили 1 мл 20%-го раствора соды, затем заданный объем экстракта, 200 мкл реактива Фолина–Чокальтеу, доводили водой до метки, выдерживали 40 мин перед спектрофотометрированием при 760 нм на спектрофотометре Shimadzu UV-2550 (Shimadzu Corporation, Япония).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определение антоцианов. Как следует из представленных в табл. 1 результатов, при выбранных соотношениях масса салата: объем экстрагента (0,1 М водный раствор соляной кислоты) за первую экстракцию извлекается не менее 95% антоцианов. А после второй экстракции остается практически бесцветный остаток, что указывает на исчерпывающую экстракцию. При соотношении материал: экстрагент 1:50 (г/мл) достаточно одной экстракции.

Таким образом, антоцианы легко переходят просто в подкисленную воду без добавок органических модификаторов. Концентрация антоцианов в листьях неодинакова по площади листа, но в среднем наивысшее содержание этих соединений найдено для салата сорта Туринус, выращенного в открытом грунте. Во всех случаях при выращивании в открытом грунте накопление антоцианов существенно выше, чем в условиях теплицы. Следовательно, для получения более высококачественного продукта следует разработать варианты дополнительной подсветки при выращивании салатов методом гидропоники.

Учитывая, что в мировой литературе часто приводят уровень накопления в пересчете не на свежий вес (FW), а на сухую массу (DW), мы

проверили сохранность антоцианов при высушивании листьев салата. При этом оказалось, что потери антоцианов очень велики (60–80%). Следовательно, определение следует проводить экстракцией из свежих листьев, а параллельно ставить аналогичные образцы на сушку.

Электронные спектры поглощения и самих экстрактов, и индивидуальных антоцианов оказались одинаковыми для всех исследованных образцов, причем положение максимума абсорбции (около 515 нм) указывает на то, что основа антоцианов – производные цианидина без ацилирования замещенными коричневыми кислотами.

Действительно, видовой состав антоцианов, определенный методом ВЭЖХ, оказался практически одинаковым для всех краснolistных сортов салата (табл. 2).

На хроматограмме на рис. 1 в экстракте листьев салата обнаруживается один основной антоциан, который был идентифицирован сопоставлением времен удерживания (в двух различных составах подвижной фазы) этого пика и компонентов экстракта оберток пурпурной кукурузы [14] как цианидин-3-(6"-малонил- β -глюкопиранозид), что соответствует литературным данным. Однако второй минорный пик по удерживанию не совпадает с пеонидин-3- β -глюкопиранозидом, но совпадает с цианидин-3-(2"-малонил- β -глюкопиранозидом) [14], что неудивительно, поскольку малонирование антоцианов часто сопровождается образованием не только одного изомера по положению ацилирования углевода. Причем получить подтверждение правильности выполненного отнесения очень легко: необходимо оставить экстракт на 2–3 недели и повторно записать хроматограмму. При этом основной пик постепенно исчезает, поскольку малоновая кислота легко удаляется при хранении кислых экстрактов. В результате гидролиза основным пиком окажется цианидин-3- β -глюкопиранозид, следы которого видны только (пик 1) на начальной хроматограмме экстракта. Кстати, последний факт указывает на корректность использованной в работе пробоподготовки.

Таблица 1. Определение антоцианов в листьях салатов при экстракции

Table 1. Determination of anthocyanins in lettuce leaves by extraction

№	Сорт	Навеска, г	Объем, л	Извлечено из материала, г*** / 100 г FW	
				После 1-й экстракции	После 2-х экстракций
1	Туринус	3,095	0,095	0,137	0,143
	Туринус**	0,470	0,050	0,185	0,195
2	Туринус*	1,000	0,050	0,013	–
3	Сатудай	5,416	0,098	0,111	0,117
4	Сатудай*	1,037	0,050	0,019	–
5	Кармези	9,552	0,102	0,089	0,093
6	Кармези*	1,029	0,050	0,017	–
7	Сенситель	8,923	0,095	0,120	0,126
8	Сенситель*	1,023	0,050	0,010	–

*– выращен в теплице; **– выбран только интенсивно окрашенный участок листа;

***– в пересчете на цианидин-3-глюкозид хлорид по формуле в г на 100 г свежего салата (FW).

Таблица 2. Антоциановый состав листьев салата

Table 2. Anthocyanin types composition of lettuce leaves

№	Сорт	Суммарный уровень накопления, г**/100 г FW	Доля по площадям пиков, %	
			№ 1	№ 2
1	Лимейра	0	—	—
2	Лимейра*	0	—	—
3	Сенситель красный	0,159	2,7	91,6
4	Сенситель*	0,010	н/о	н/о
5	Кармези красный	0,154	2,7	91,6
6	Кармази*	0,017	н/о	н/о
7	Туринус красный	0,160	3,9	89,8
8	Туринус*	0,013	н/о	н/о
9	Сатудай красный	0,117	2,7	91,3
10	Сатудай*	0,019	3,3	91,0

Примечание. № 1 – цианидин-3-(3"-малонилглюкозид); № 2 – цианидин-3-(6"-малонилглюкозид).

* – выращен в теплице; ** – в пересчете на цианидин-3-глюкозид хлорид; н/о – не определяли.

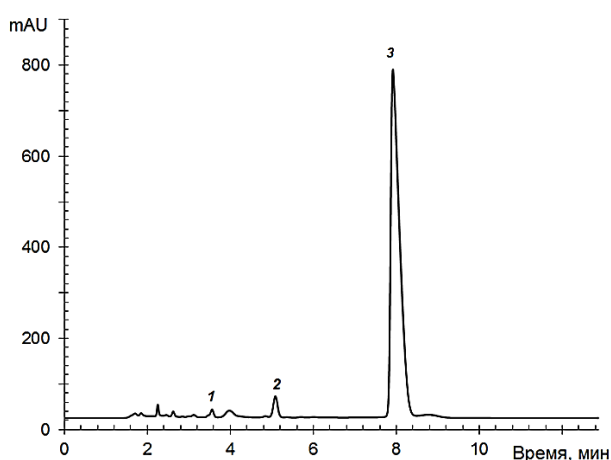


Рис. 1. Разделение антоцианов листьев салата.

Вещества: 1 – цианидин-3-глюкозид;
2 – цианидин-3-(3"-малонилглюкозид);
3 – цианидин-3-(6"-малонилглюкозид)

Fig. 1. Separation of lettuce leaves anthocyanins.

Compounds: 1 – cyanidin-3-(3"-malonylglucoside);
2 – cyanidin-3-(6"-malonylglucoside);
3 – cyanidin-3-(6"-malonylglucoside)

Определение фенольных кислот. Вклад в антиоксидантную активность фенольных кислот может быть значительным, особенно если эти кислоты содержат *орто*-гидроксильные группы в ароматическом кольце [16]. Так, основные антиоксиданты широко популярного напитка кофе – хлорогеновые кислоты – эфиры хинной кислоты и фенольных кислот, главной из которых является кофейная кислота. По этой причине для контроля мы выбрали эфиры кофейной кислоты, образующиеся при этерификации этой кислотой хинной и винной кислот. Из таких производных в экстрактах салатов были обнаружены 5-кофеилхинная (хлорогеновая) кислота, 2,3-дикофеилвинная (цикориевая) кислота и 3,5-дикофеилхинная кислота.

На рис. 2 представлены хроматограммы экстрактов некоторых сортов салата. Основным компонентом (табл. 3) оказалась хлорогеновая

кислота (пик 1 на хроматограммах). Ее (как и другие производные коричной кислоты) идентифицировали по совпадению времен удерживания со стандартным образцом в двух различных составах подвижных фаз и по электронным спектрам поглощения.

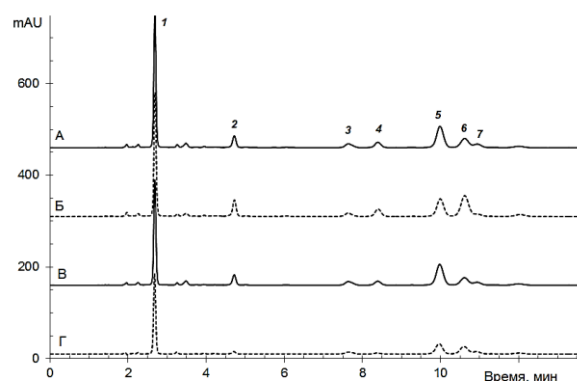


Рис. 2. Хроматограмма экстракта листьев салата при λ=326 нм. Сорта салатов: А – Туринус; Б – Сатудай; В – Кармези; Г – Лимейра. Вещества: 1 – хлорогеновая кислота; 6 – цикориевая кислота; 7 – 3,5diCQA

Fig. 2. Chromatograms of lettuce leaves extract at λ=326 nm. Lettuce cultivars: А – Turinus; Б – Saturday; В – Karmezy; Г – Limaira. Compounds: 1 – chlorogenic acid; 6 – chicoric acid; 7 – 3,5diCQA

Второй по площади пика оказалась цикориевая кислота и, наконец, 3,5diCQA. Образец цикориевой кислоты для сопоставления был выделен из экстракта надземной части *Echinacea purpurea* L. [17], а 3,5diCQA – из экстракта листьев *Ilex paraguariensis* L. [18]. Все эти вещества имеют близкие электронные спектры поглощения с максимумом 326 нм для эфиров хинной кислоты и при 328 нм для эфиров винной кислоты (см. рис. 2). Удивительно, но при биосинтезе цикориевой кислоты каftarовая кислота (монокофеилвинная кислота) во всех исследованных экстрактах салатов отсутствовала. Вещества 3, 4 и 5 по электронным спектрам поглощения были отнесены к

флавоноидам, тогда как вещество 2 может быть предположительно отнесено (на основании литературных данных [18–20]) к монокофеоилгалактонной кислоте.

Поскольку антоцианы и фенольные кислоты являются важнейшими природными водорастворимыми антиоксидантами, были сопоставлены антиоксидантные свойства экстрактов по методу Фолина–Чокальтеу [15]. Этот метод в научной литературе используется для определения суммы фенольных соединений, хотя это не совсем корректно, поскольку восстановление фосфомолиб-

дата легко осуществляется по нашим данным и аскорбиновой кислотой, поэтому результаты определения фенольных соединений в природных растительных источниках могут быть сильно завышенными. В действительности метод Фолина–Чокальтеу позволяет определить наиболее активную составляющую антиоксидантов – восстановительную. Полученные результаты представлены в табл. 3, из которой следует, что антиоксидантная активность экстрактов тем выше, чем выше концентрация фенольных кислот в экстракте и, следовательно, в листьях салата.

Таблица 3. Содержание основных фенольных кислот и антиоксидантные свойства экстракта листьев салатов

Table 3. Content of the main phenolic acids and antioxidant properties of lettuce leaves

№	Сорт салата и способ выращивания	Содержание производных коричной кислоты, мг/100 г FW			Антиоксидантные свойства, мкмоль*/100 г
		5CQA	цикориевая	3,5diCQA	
1	Лимейра	70,8	16,72	5,17	1,97
2	Лимейра*	65,9	19,85	2,46	1,52
3	Сенситель красный	90,9	19,57	5,32	4,23
4	Сенситель*	34,1	16,66	3,06	1,00
5	Кармези красный	113	19,14	7,77	4,35
6	Кармази*	72,9	38,02	12,9	1,79
7	Туринус красный	146	25,59	9,47	5,19
8	Туринус*	59,6	10,69	9,78	1,26
9	Сатудай красный	134	52,36	4,26	5,59
10	Сатудай*	52	24,66	4,26	1,36

*– выращен в теплице.

ВЫВОДЫ

В работе показано, что салаты с красной окраской, обусловленной биосинтезом антоцианов, обладают более высокой антиоксидантной активностью по сравнению со слабоокрашенными или не окрашенными в красный цвет сортами и поэтому представляют собой более ценные продукты питания.

Установлено, что биосинтез антоцианов происходит существенно более эффективно при выращивании в открытом грунте по сравнению с продукцией, выращенной в теплицах. Важными для здоровья и жизнедеятельности человека водорастворимыми веществами салатов являются водорастворимые производные кофейной кислоты – хлорогеновая, цикориевая и 3,5-дикофеоилхинная кислоты.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Medina-Lozano I., Bertolín J. R., Díaz A. Nutritional value of commercial and traditional lettuce (*Lactuca sativa* L.) and wild relatives: Vitamin C and anthocyanin content // Food Chemistry. 2021. Vol. 359. P. 129864. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129864>.
2. Křístková E., Doležalová I., Lebeda A., Vinter V., Novotná A. Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources // Horticultural Science (Prague). 2008. Vol. 35. P. 113–129. <https://doi.org/10.17221/4/2008-HORTSCI>.
3. Zohary D. The wild genetic resources of cultivated lettuce (*Lactuca sativa* L.) // Euphytica. 1991. Vol. 53. P. 31–35. <https://doi.org/10.1007/BF00032029>.
4. Gazula A., Kleinbenz M. D., Scheerence J. C., Ling P. P. Anthocyanin levels in nine lettuce (*Lactuca sativa*) cultivars: influence of planting date and relations among analytic, instrumented, and visual assessments of color // HortScience. 2007. Vol. 42, no. 2. P. 232–238. <https://doi.org/10.21273/HORT>

SCI.42.2.232.

5. Lee M.-J., Son J. E., Oh M.-M. Growth and phenolic compounds of *Lactuca sativa* L. grown in a closed-type plant production system with UV-A, -B, or -C lamp // Journal of the Science of Food and Agriculture. 2014. Vol. 94, no. 2. P. 197–204. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6227>.
6. Tsormpatsidis E., Henbest R. G. C., Battey N. H., Hadley P. The influence of ultraviolet radiation on growth, photosynthesis and phenolic levels of green and red lettuce: potential for exploiting effects of ultraviolet radiation in a production system // Annals of Applied Biology. 2010. Vol. 156, no. 3. P. 357–366. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00393.x>.
7. Eichholz I., Förster N., Ulrichs C., Schreiner M., Huyskens-Keil S. Survey of bioactive metabolites in selected cultivars and varieties of *Lactuca sativa* L. under water stress // Journal of Applied Botany and Food Quality. 2014. Vol. 87. P. 265–273. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6227>.

doi.org/10.5073/JABFQ.2014.087.037.

8. Mampholo B. M., Maboko M. M., Soundy P., Sivakumar D. Phytochemicals and overall quality of leafy lettuce (*Lactuca sativa* L.) varieties grown in closed hydroponic system // Journal of Food Quality. 2016. Vol. 39. P. 805–815. <https://doi.org/10.1111/jfq.12234>.

9. Zhou W., Chen Y., Xu H., Liang X., Hu Y., Jin C., et al. Short-term nitrate limitation prior to harvest improves phenolic compound accumulation in hydroponic-cultivated lettuce (*Lactuca sativa* L.) without reducing shoot fresh weight // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2018. Vol. 66. P. 10353–10361. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02157>.

10. Sularz O., Smoleń S., Koronowicz A., Kowalska I., Leszczyńska N. Chemical composition of lettuce (*Lactuca sativa* L.) biofortified with iodine by KIO₃, 5-Iodo-, and 3,5-diiodosalicylic acid in a hydroponic cultivation // Agronomy. 2020. Vol. 10, no. 7. P. 1022. <https://doi.org/10.3390/agronomy10071022>.

11. Mulabagal V., Ngouajio M., Nair A., Zhang Y., Gottumukkala A. L., Nair M. G. *In vitro* evaluation of red and green lettuce (*Lactuca sativa*) for functional food properties // Food Chemistry. 2010. Vol. 118, no. 2. P. 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.119>.

12. Romani A., Pinelli P., Galardi C., Sani G., Cimato A., Heimler D. Polyphenols in greenhouse and open-air-grown lettuce // Food Chemistry. 2002. Vol. 79, no. 3. P. 337–342. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00170-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00170-X).

13. Giusti M. M., Wrolstad R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy // Current Protocols in Food Analytical Chemistry. 2001. F1.2.1–F1.2.13. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>.

14. Дейнека В. И., Сидоров А. Н., Дейнека Л. А. Определение антоцианов оберток пурпурной кукурузы // Журнал аналитической химии. 2016. Т. 71. N 11. С. 1203–1208. <https://doi.org/10.7868/S0044450216110049>.

15. Kupina S., Fields C., Roman M. C., Bru-

nelle S. L. Determination of total phenolic content using the Folin-C assay: single-laboratory validation, first action 2017.13 // Journal of AOAC International. 2018. Vol. 101, no. 5. P. 1466–1472. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0031>.

16. Chen J., Yang J., Ma L., Li J., Shahzad N., Kim C. K. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids // Scientific Reports. 2020. Vol. 10. Article number 2611. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59451-z>.

17. Brown P. N., Chan M., Paley L., Betz J. M. Determination of major phenolic compounds in *Echinacea* spp. raw materials and finished products by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection: single-laboratory validation matrix extension // Journal of AOAC International. 2011. Vol. 94, no. 5. P. 1400–1410. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.11-142>.

18. Lima J. P., Farah A., King B., de Paulis T., Martin P. R. Distribution of major chlorogenic acids and related compounds in brazilian green and toasted *Ilex paraguariensis* (Maté) leaves // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2016. Vol. 64. P. 2361–2370. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00276>.

19. Materska M., Olszowska K., Chilczuk B., Stochmal A., Pecio Ł., Pacholczyk-Sienicka B., et al. Polyphenolic profiles in lettuce (*Lactuca sativa* L.) after CaCl₂ treatment and cold storage // European Food Research and Technology. 2019. Vol. 245. P. 733–744. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3195-0>.

20. Ribas-Agustí A., Gratacós-Cubarsí M., Sàrraga C., García-Regueiro J.-A., Castellari M. Analysis of eleven phenolic compounds including novel p-coumaroyl derivatives in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by ultra-high-performance liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometry detection // Phytochemical Analysis. 2011. Vol. 22, no. 6. P. 555–563. <https://doi.org/10.1002/pca.1318>.

REFERENCES

1. Medina-Lozano I., Bertolín J. R., Díaz A. Nutritional value of commercial and traditional lettuce (*Lactuca sativa* L.) and wild relatives: Vitamin C and anthocyanin content. *Food Chemistry*. 2021;359:129864. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129864>.

2. Křístková E., Doležalová I., Lebeda A., Vinter V., Novotná A. Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. *Horticultural Science (Prague)*. 2008;35:113-129. <https://doi.org/10.17221/4/2008-HORTSCI>.

3. Zohary D. The wild genetic resources of cultivated lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Euphytica*. 1991; 53:31-35. <https://doi.org/10.1007/BF00032029>.

4. Gazula A., Kleinbenz M. D., Scheerence J. C., Ling P. P. Anthocyanin levels in nine lettuce (*Lactuca sativa*) cultivars: influence of planting date and relations among analytic, instrumented, and visual

assessments of color. *HortScience*. 2007;42(2):232-238. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.2.232>.

5. Lee M.-J., Son J. E., Oh M.-M. Growth and phenolic compounds of *Lactuca sativa* L. grown in a closed-type plant production system with UV-A, -B, or -C lamp. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2014;94(2):197-204. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6227>.

6. Tsormpatsidis E., Henbest R. G. C., Batten N. H., Hadley P. The influence of ultraviolet radiation on growth, photosynthesis and phenolic levels of green and red lettuce: potential for exploiting effects of ultraviolet radiation in a production system. *Annals of Applied Biology*. 2010;156(3):357-366. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00393.x>.

7. Eichholz I., Förster N., Ulrichs C., Schreiner M., Huyskens-Keil S. Survey of bioactive metabolites in selected cultivars and varieties of *Lactuca sativa* L.

under water stress. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 2014;87:265-273. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2014.087.037>.

8. Mampholo B. M., Maboko M. M., Soundy P., Sivakumar D. Phytochemicals and overall quality of leafy lettuce (*Lactuca sativa* L.) varieties grown in closed hydroponic system. *Journal of Food Quality*. 2016;39:805-815. <https://doi.org/10.1111/jfq.12234>.

9. Zhou W., Chen Y., Xu H., Liang X., Hu Y., Jin C., et al. Short-term nitrate limitation prior to harvest improves phenolic compound accumulation in hydroponic-cultivated lettuce (*Lactuca sativa* L.) without reducing shoot fresh weight. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018;66:10353-10361. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02157>.

10. Sularz O., Smoleń S., Koronowicz A., Kowalska I., Leszczyńska N. Chemical composition of lettuce (*Lactuca sativa* L.) biofortified with iodine by KIO₃, 5-Iodo-, and 3,5-diiodosalicylic acid in a hydroponic cultivation. *Agronomy*. 2020;10(7):1022. <https://doi.org/10.3390/agronomy10071022>.

11. Mulabagal V., Ngouajio M., Nair A., Zhang Y., Gottumukkala A. L., Nair M. G. *In vitro* evaluation of red and green lettuce (*Lactuca sativa*) for functional food properties. *Food Chemistry*. 2010;118(2):300-306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.119>.

12. Romani A., Pinelli P., Galardi C., Sani G., Cimato A., Heimler D. Polyphenols in greenhouse and open-air-grown lettuce. *Food Chemistry*. 2002;79(3):337-342. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00170-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00170-X).

13. Giusti M. M., Wrolstad R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 2001:F1.2.1-F1.2.13. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>.

14. Deineka V. I., Sidorov A. N., Deineka L. A. Determination of purple corn husk anthocyanins. *Zhurnal analiticheskoi khimii = Journal of Analytical Chemistry*. 2016;71(11):1203-1208. (In Russian).

<https://doi.org/10.7868/S0044450216110049>.

15. Kupina S., Fields C., Roman M. C., Brunelle S. L. Determination of total phenolic content using the Folin-C assay: single-laboratory validation, first action 2017.13. *Journal of AOAC International*. 2018;101(5):1466-1472. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0031>.

16. Chen J., Yang J., Ma L., Li J., Shahzad N., Kim C. K. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Scientific Reports*. 2020;10. Article number 2611. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59451-z>.

17. Brown P. N., Chan M., Paley L., Betz J. M. Determination of major phenolic compounds in *Echinacea* spp. raw materials and finished products by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection: single-laboratory validation matrix extension. *Journal of AOAC International*. 2011;94(5):1400-1410. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.11-142>.

18. Lima J. P., Farah A., King B., de Paulis T., Martin P. R. Distribution of major chlorogenic acids and related compounds in brazilian green and toasted *Ilex paraguariensis* (Maté) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2016;64:2361-2370. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00276>.

19. Materska M., Olszowska K., Chilczuk B., Stochmal A., Pecio Ł., Pacholczyk-Sienicka B., et al. Polyphenolic profiles in lettuce (*Lactuca sativa* L.) after CaCl₂ treatment and cold storage. *European Food Research and Technology*. 2019;245:733-744. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3195-0>.

20. Ribas-Agustí A., Gratacós-Cubarsí M., Sàrraga C., García-Regueiro J.-A., Castellari M. Analysis of eleven phenolic compounds including novel p-coumaroyl derivatives in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by ultra-high-performance liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometry detection. *Phytochemical Analysis*. 2011;22(6):555-563. <https://doi.org/10.1002/pca.1318>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Е. Ю. Олейниц,
аспирант,
Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Российская Федерация,
oleinits_e@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2065-6296>

И. А. Суходолов,
аспирант,
Российский государственный аграрный
университет – МСХА им. К. А. Тимирязева,
127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49,
Российская Федерация,
gotem1996@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1513-0142>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Elena Yu. Oleinits,
Postgraduate Student,
Belgorod National Research University,
85, Pobedy Ave., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
oleinits_e@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2065-6296>

Ilia A. Sukhodolov,
Postgraduate Student,
Russian State Agrarian University –
Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
49, Timiryazevskaya St., Moscow, 127550,
Russian Federation,
gotem1996@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1513-0142>

А. В. Константинович,

к.с.-х.н., доцент,
доцент кафедры овощеводства,
Российский государственный аграрный
университет – МСХА им. К. А. Тимирязева,
127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49,
Российская Федерация,
konstantinovich@rgau-msha.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6198-3379>

В. И. Дейнека,

д.х.н., профессор,
профессор кафедры общей химии,
Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Российская Федерация,
deineka@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3971-2246>

И. П. Блинова,

к.х.н., доцент,
доцент кафедры общей химии,
Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Российская Федерация,
blinova@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-00002-4525-4536>

Л. А. Дейнека,

к.х.н., доцент,
доцент кафедры общей химии,
Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Российская Федерация,
deyneka@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4101-2468>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-
тельный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 17.11.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.

Anastasiya V. Konstantinovich,

Cand. Sci. (Agriculture), Associate Professor,
Department of Vegetable Growing,
Russian State Agrarian University –
Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
49, Timiryazevskaya St., Moscow, 127550,
Russian Federation,
konstantinovich@rgau-msha.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6198-3379>

Viktor I. Deineka,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Department of General Chemistry,
Belgorod National Research University,
85, Pobedy Ave., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
deineka@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3971-2246>

Irina P. Blinova,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Department of General Chemistry,
Belgorod National Research University,
85, Pobedy Ave., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
blinova@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-00002-4525-4536>

Lyudmila A. Deineka,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Department of General Chemistry,
Belgorod National Research University,
85, Pobedy Ave., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
deyneka@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4101-2468>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.*

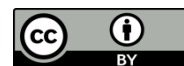
Information about the article

The article was submitted 17.11.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.

Научная статья

УДК 665.753.5

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-130-140>



Исследование целесообразности использования биодизельных топлив в качестве смесового компонента товарных дизельных топлив

Наталья Евгеньевна Белозерцева, Ольга Михайловна Торчакова,
Илья Александрович Богданов, Мария Владимировна Киргина

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,
г. Томск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Киргина Мария Владимировна, mkirgina@tpu.ru

Аннотация. Сокращение выбросов от сжигания углеводородного топлива и увеличение объемов потребления биотоплив – актуальная экономическая и экологическая задача. Биодизель является альтернативой нефтяному дизельному топливу и широко используется во всем мире в качестве смесового компонента товарного топлива. Важной задачей становится оценка целесообразности применения биодизеля, полученного из различного сырья, в качестве смесового компонента товарных дизельных топлив, а также выбор оптимальных соотношений биодизельное/нефтяное дизельное топливо, так как даже добавление небольшого количества биодизеля положительно сказывается на экологических свойствах топлива. В работе реакцией переэтерификации с использованием этилового спирта в качестве переэтерифицирующего агента и гидроксида натрия в качестве катализатора синтезировано биодизельное топливо из подсолнечного, кукурузного и рапсового масел; определены состав и свойства синтезированных биодизельных топлив. Приготовлены смеси биодизельное/нефтяное дизельное топливо с содержанием биодизеля в смеси 5, 10, 15, 20% об.; определены состав и свойства полученных смесей. Установлено, что добавление биодизельного топлива приводит к увеличению плотности, вязкости и самовоспламеняемости, снижению содержания серы и утяжелению фракционного состава топлива. С увеличением концентрации биодизеля в смеси эффект усиливается. Выявлен эффект снижения предельной температуры фильтруемости смесового топлива при добавлении биодизеля, максимальный эффект достигается при различных концентрациях в смеси биодизеля, синтезированного из подсолнечного, кукурузного и рапсового масел. Показано, что для производства летнего товарного дизельного топлива рекомендуется использовать смеси 10% об. биодизельного топлива, полученного из любого из растительных масел, и 90% об. нефтяного дизельного топлива.

Ключевые слова: биодизельное топливо, смесовое топливо, низкотемпературные свойства, переэтерификация, рапсовое масло, марки топлива

Для цитирования: Белозерцева Н. Е., Торчакова О. М., Богданов И. А., Киргина М. В. Исследование целесообразности использования биодизельных топлив в качестве смесового компонента товарных дизельных топлив // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 130–140. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-130-140>.

CHEMICAL TECHNOLOGY

Original article

Feasibility study of using biodiesel fuels as a blendstock of commercial diesel fuels

Natalia E. Belozertseva, Olga M. Torchakova,
Ilya A. Bogdanov, Maria V. Kirgina

National Research Tomsk Polytechnic University,
Tomsk, Russian Federation

Corresponding author: Mariya V. Kirgina, mkirgina@tpu.ru

© Белозерцева Н. Е., Торчакова О. М., Богданов И. А., Киргина М. В., 2022

Abstract. Reducing emissions associated with the combustion of hydrocarbon fuels and increasing the consumption of biofuels represents an urgent economic and environmental task. Biodiesel is an alternative to petroleum diesel fuel and is widely used as a commercial fuel blendstock. In this regard, it is important to study the feasibility of using biodiesel obtained from various raw materials as a blendstock of commercial diesel fuels, as well as to identify optimal ratios of biodiesel fuel/petroleum diesel fuel. The addition of even small amounts of biodiesel has a positive effect on the environmental properties of the fuel. In the present study, we synthesize biodiesel fuel from sunflower, corn, and rapeseed oils by the reaction of interesterification using ethyl alcohol as an interesterifying agent and sodium hydroxide as a catalyst. The composition and properties of the synthesized biodiesel fuels were determined. Blends of biodiesel/petroleum diesel fuel with 5, 10, 15, 20 vol.% biodiesel blend content were prepared followed by determination of their composition and properties. It was found that the addition of biodiesel fuel increases the density, viscosity, and self-ignition of the resulting fuel, at the same time as decreasing the sulfur content and making the fractional composition heavier. This effect is directly proportional to the concentration of biodiesel in the blend. The effect of reducing the limiting filterability temperature of the blend fuel by the addition of biodiesel was revealed, with its maximum achieved at different concentrations of biodiesel synthesized from sunflower, corn, and rapeseed oils. For the production of a summer commercial diesel fuel, we recommend blends of 10vol.% biodiesel fuel, derived from any of the vegetable oils under study, and 90vol.% petroleum diesel fuel.

Keywords: biodiesel fuel, blend fuel, low temperature properties, interesterification, rapeseed oil, fuel grades

For citation: Belozertseva N. E., Torchakova O. M., Bogdanov I. A., Kirgina M. V. Feasibility study of using biodiesel fuels as a blendstock of commercial diesel fuels. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):130-140. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-130-140>.

ВВЕДЕНИЕ

Сжигание ископаемого топлива вносит существенный вклад в выбросы парниковых газов, которые негативно влияют на атмосферу. Изменение климата является важной проблемой современного мира, так как влечет за собой частичную или полную потерю экосистем и видов. Курс многих стран направлен на снижение выбросов парниковых газов¹ и вредных веществ [1–4]. Одним из инструментов для достижения данной цели является использование альтернативных источников энергии, к которым относятся жидкие биотоплива для моторных двигателей.

Производство жидкого биотоплива за последние десятилетия резко возросло (в 2020 году мировые объемы производства биоэтанола составили порядка 1700 тыс. баррелей в день, биодизеля – порядка 2700 тыс. баррелей в день) и, согласно прогнозам экспертов, будет только расти^{2,3} [5–7]. Биодизель (БиодТ) является альтернативой нефтяному дизельному топливу (ДТ) и может использоваться в дизельных двигателях внутреннего сгорания как в чистом виде, так и в качестве смесового компонента.

БиодТ представляет собой жидкое топливо, состоящее из метиловых или этиловых эфиров

жирных кислот, полученных в результате переэтерификации растительных масел, животных жиров, а также липидов микроводорослей^{4,5} [8–13].

Свойства БиодТ во многом схожи со свойствами нефтяного ДТ, но БиодТ обладает рядом преимуществ. Прежде всего БиодТ является возобновляемым топливом, что особенно актуально при современном уровне потребления ископаемого сырья. Экологическая обстановка в мире требует снижения выбросов парниковых газов в атмосферу, а применение БиодТ в качестве топлива позволяет значительно сократить данные выбросы. Так, исследования показывают, что выбросы парниковых газов при использовании чистого БиодТ в качестве топлива на 74% ниже, чем для нефтяного ДТ. Это связано с тем, что в качестве сырья для синтеза БиодТ выступают растения или животные жиры, которые в течение своего жизненного цикла поглощали CO₂ из воздуха. При сжигании БиодТ CO₂ возвращается в атмосферу, и для выращивания последующего сырья будет использоваться этот же газ.

БиодТ можно отнести к экологически чистому источнику энергии, так как БиодТ не содержит в своем составе ароматических соединений, которые негативно влияют на живые организмы. При

¹NDC Synthesis Report. Available from: <https://unfccc.int/process-and-meetings/the-paris-agreement/nationally-determined-contributions-ndcs/nationally-determined-contributions-ndcs/ndc-synthesis-report#eq-7> [Accessed 20th August 2021].

²Major biodiesel producing countries 2019. Available from: <https://www.statista.com/statistics/271472/biodiesel-production-in-selected-countries/> [Accessed 20th August 2021].

³Алексеев А. Перспективы биотоплива: «за» и «против» // Сибирская нефть [Электронный ресурс]. URL: <https://www.gazprom-neft.ru/press-center/sibneft-online/archive/2021-april/5380269/> (20.08.2021).

⁴Бурункова Ю. Э., Успенская М. В., Самуйлова Е. О. Растительные масла: свойства, технологии получения и хранения, окислительная стабильность: учебно-методическое пособие. СПб.: ИТМО, 2020. 82 с.

⁵Формула жира // SolverBook [Электронный ресурс]. URL: <http://ru.solverbook.com/spravochnik/formuly-poximii/formula-zhira/> (20.08.2021).

попадании в почву или сточные воды БиодТ полностью разлагается микроорганизмами. В почве или в воде БиодТ перерабатывается на 99% приблизительно за 20 дней [14, 15].

Кроме того, БиодТ характеризуется хорошей смазывающей способностью, но при этом практически не содержит серы и сернистых соединений. БиодТ имеет высокую температуру воспламенения (не менее 120 °С), это делает его безопасным для использования и хранения. Цетановое число БиодТ превышает 51 пункт, т.е. топливо может применяться без введения дополнительных иницирующих добавок.

Но также БиодТ имеет и ряд недостатков, к которым можно отнести невысокую химическую стабильность, в связи с чем срок хранения данного топлива не превышает 3–4-х месяцев. Кроме того, БиодТ характеризуется неудовлетворительными низкотемпературными свойствами.

Таким образом, БиодТ во многом схоже с нефтяным ДТ и может использоваться в качестве моторного топлива для дизельных двигателей. Однако молекулы, входящие в состав БиодТ, имеют совершенно иную структуру, нежели молекулы нефтяного ДТ, и свойства БиодТ будут в значительной степени зависеть от исходного сырья. Для разных регионов характерно распространение различных посевных культур, которые могут выступить сырьем для производства БиодТ, в связи с чем необходимо проводить анализ свойств БиодТ, синтезированных из различного сырья, для оценки возможности использования биотоплива в том или ином климатическом поясе.

Большая часть территории Российской Федерации располагается в холодных климатических поясах, поэтому обеспечение автопарка низкозастывающими моторными топливами является актуальной задачей. Использование БиодТ в чистом виде требует внесения изменений в конструкцию дизельного двигателя, и, как правило, данное топливо характеризуется низкотемпературными свойствами, не соответствующими требованиям современных стандартов^{6,7}. Наиболее перспективным является использование БиодТ в качестве смесового компонента.

Существует зарубежный стандарт ASTM D7467-20a «Standard Specification for Diesel Fuel Oil, Biodiesel Blend (B6 to B20)»⁸, который распространяется на топливные смеси с содержанием БиодТ от 6 до 20% об. Исследования многих ученых направлены на поиск оптимального

соотношения БиодТ/ДТ, которое позволит получать топливо, соответствующее всем требованиям стандартов.

Одной из стран, где большой популярностью пользуется биотопливо, является Малайзия. Производство БиодТ в Малайзии растет с каждым годом⁹. Так, авторы работы [16] охарактеризовали физико-химические и низкотемпературные свойства смесей товарного ДТ с 10, 20, 30, 40 и 50% об. БиодТ, синтезированного из пальмового масла. Согласно исследованию, плотность смесового топлива растет с увеличением содержания БиодТ в смеси. Авторы отмечают, что смесовое топливо с содержанием до 30% об. БиодТ соответствует требованиям стандарта⁸. По кинематической вязкости возможным является вовлечение в смешение до 50% об. БиодТ. Таким образом, авторы работы пришли к выводу, что оптимальной концентрацией БиодТ из пальмового масла в смеси с ДТ является 30% об., при данной концентрации значения плотности и вязкости топлива находятся в допустимых пределах. Кроме того, в работе показано, что температура помутнения и застывания смесей повышается с увеличением содержания БиодТ в смеси. Вовлечение 30% об. БиодТ повышает температуру застывания смеси до 0 °С, что является оптимальным для стран с более мягким климатом. Авторы допускают вовлечение в смешение до 30% об. БиодТ, данная концентрация обеспечивает удовлетворительные низкотемпературные характеристики топлива.

Авторами работы [17] проведено исследование влияния добавления БиодТ, синтезированного из сафлорового масла, на физико-химические свойства смесового топлива. Для исследования были приготовлены смеси с содержанием БиодТ от 10 до 90% об. с шагом 10% об. Авторы отмечают, что увеличение доли БиодТ в смеси приводит к увеличению плотности и вязкости. Оптимальное вовлечение БиодТ составляет 20% об., при данной концентрации значения кинематической вязкости лежат в допустимых пределах, смесовое топливо соответствует требованиям стандарта⁸.

Как уже было отмечено ранее, для производства БиодТ могут использоваться различные виды сырья. В работе [18] были исследованы физико-химические и низкотемпературные свойства смесей БиодТ/ДТ, где БиодТ было синтезировано реакцией переэтерификации из отработанного пищевого масла, куриного и козьего жира, а также пальмоядрового масла. Авторы от-

⁶ГОСТ 305-2013. Топливо дизельное. Технические условия [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200107826> (20.08.2021).

⁷ТР ТС 013 2011. Технический регламент таможенного союза «О требованиях к автомобильному и авиационному бензину, дизельному и судовому топливу, топливу для реактивных двигателей и мазуту» [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/902307833> (20.08.2021).

⁸ASTM D7467-20a Standard Specification for Diesel Fuel Oil, Biodiesel Blend (B6 to B20). Available from: <https://www.astm.org/Standards/D7467.htm> [Accessed 20th August 2021].

⁹Малайзия – Производство биотоплива // Мировой атлас данных [Электронный ресурс]. URL: <https://knoema.ru/atlas/> (20.08.2021).

мечают, что рассмотренное в работе нефтяное ДТ характеризуется сравнительно низкой кинематической вязкостью, целью исследования являлось получение смесового топлива с более высокой вязкостью путем вовлечения БиоДТ. Для исследования образцы БиоДТ, полученные из различного сырья, смешивались в соотношении 10, 20, 50, 60, 80% об. с нефтяным ДТ. Результаты исследования показывают общую тенденцию, сводящуюся к увеличению кинематической вязкости с увеличением содержания БиоДТ в смеси. Авторы отмечают, что БиоДТ из пальмоядрового масла является наиболее предпочтительным смесевым компонентом, так как характеризуется наибольшей вязкостью. Наименьшей вязкостью характеризуются смеси с добавлением отработанного растительного масла, данное БиоДТ предпочтительно для смешения с более высоковязким нефтяным ДТ. Исследование влияния добавления БиоДТ на плотность показало, что с увеличением концентрации БиоДТ в смеси плотность увеличивается. Смеси с добавлением БиоДТ из отработанного растительного масла характеризуются наименьшей плотностью, в то время как смеси с добавлением козьего жира – наибольшей. Авторами было установлено, что все смеси по значениям плотности и кинематической вязкости соответствуют требованиям стандарта⁸. Кроме того, в работе было установлено, что все синтезированные БиоДТ характеризуются неудовлетворительными низкотемпературными свойствами. Применение их в чистом виде в холодном климате не представляется возможным, смешение с нефтяным ДТ позволит улучшить низкотемпературные свойства топлива. По результатам, полученным авторами, можно сделать вывод, что для Российской Федерации, как страны с более жесткими климатическими условиями, наилучшим смесевым компонентом является БиоДТ, синтезированное из козьего жира, а наихудшим – БиоДТ из пальмоядрового масла.

Анализ литературных источников показывает, что влияние добавления БиоДТ к нефтяному ДТ на большинство регламентируемых показателей товарного топлива является не столь положительным. Таким образом, цель работы заключается в оценке целесообразности использования БиоДТ, полученного из различного сырья, в качестве смесового компонента товарных ДТ, в выборе оптимальных соотношений БиоДТ/нефтяное ДТ, так как даже добавление небольшого количества БиоДТ положительно сказывается на экологических свойствах топлива.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объект исследования. Объектами исследования в работе выступили образец прямогонного нефтяного ДТ; образцы БиоДТ, синтезированные из различных растительных масел (подсолнеч-

ного (ПБиоДТ), кукурузного (КБиоДТ) и рапсового (РБиоДТ)), а также смеси БиоДТ/ДТ.

С использованием нефтяного ДТ и синтезированных из различных растительных масел БиоДТ были приготовлены смеси с соотношением смешиваемых компонентов, представленные в табл. 1.

Таблица 1. Маркировки смесей биодизеля / нефтяного дизельного топлива

Table 1. Marking of biodiesel / petroleum diesel

Обозначение смеси	Расшифровка
B5	5% об. биодизеля и 95% об. нефтяного дизельного топлива
B10	10% об. биодизеля и 90% об. нефтяного дизельного топлива
B15	15% об. биодизеля и 85% об. нефтяного дизельного топлива
B20	20% об. биодизеля и 80% об. нефтяного дизельного топлива

Синтез БиоДТ. Синтез БиоДТ проводился согласно методике, представленной в [19, 20]. В качестве переэтерифицирующего агента выступил этиловый спирт, в качестве катализатора – гидроксид натрия. Этиловый спирт использован как альтернатива токсичному метиловому спирту.

Реакция переэтерификации растительных масел осуществлялась при температуре 45 °С, времени синтеза – 1 ч, при молярном соотношении масло: спирт – 1:6 и концентрации катализатора 1,75% масс. от массы растительного масла.

Методы определения состава и свойств. Для определения состава и свойств исследуемых чистых и смесевых топлив были использованы следующие оборудование и методики: кинематическая и динамическая вязкости определялись с применением вискозиметра Штанбингера SVM 3000 (Anton Paar, Австрия) в соответствии с методикой, представленной в ГОСТ 33-2016 «Нефть и нефтепродукты. Прозрачные и непрозрачные жидкости. Определение кинематической и динамической вязкости»; плотность определялась также с использованием вискозиметра Штанбингера SVM 3000 (Anton Paar, Австрия) по методике, представленной в ISO 12185:1996 «Нефть сырая и нефтепродукты. Определение плотности. Метод с применением осциллирующей U-образной трубки»; содержание серы устанавливалось с использованием анализатора «СПЕКТРОСКАН S» (НПО «СПЕКТРОН», Россия) в соответствии с методикой, представленной в ГОСТ 32139-2013 «Нефть и нефтепродукты. Определение содержания серы методом энергодисперсионной рентгенофлуоресцентной спектроскопии»; фракционный со-

став определялся согласно методике, представленной в ГОСТ 2177-99 «Нефтепродукты. Методы определения фракционного состава»; расчет цетанового индекса (ЦИ) производился согласно зарубежному стандарту ISO 4264 «Petroleum products – Calculation of cetane index of middle distillate fuels by the four variable equation»; предельная температура фильтруемости (ПТФ) была определена согласно методике, представленной в ГОСТ 22254-92 «Топливо дизельное. Метод определения предельной температуры фильтруемости на холодном фильтре».

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты определения состава и свойств дизельного топлива. Результаты определения состава и основных свойства образца нефтяного ДТ представлены в табл. 2.

Таблица 2. Состав и свойства образца нефтяного дизельного топлива

Table 2. Composition and properties of petroleum diesel sample

Параметр	Значение
Плотность при 15 °С, кг/м ³	837,3
Вязкость кинематическая при 20 °С, мм ² /с	3,963
Содержание серы, мг/кг	5781
Цетановый индекс, пункты	44,53
Предельная температура фильтруемости, °С	-5
Фракционный состав, °С	
начало кипения	145
10	190
50	261
90	329

Из результатов, представленных в табл. 2, можно видеть, что образец нефтяного ДТ соответствует требованиям стандартов^{6,7} для марок Л (летнее), Е (межсезонное) и З (зимнее) по плотности (не более 843,4 кг/м³); по вязкости образец ДТ соответствует всем маркам (1,5–6,0 мм²/с). При этом по показателям воспламеняемости (не менее 45 пунктов) и содержанию серы (не более 2000 мг/кг) образец ДТ не соответствует ни одной из марок, согласно требованиям стандартов^{6,7}. По низкотемпературным свойствам образец ДТ соответствует марке Л (ПТФ не выше -5 °С). По фракционному составу исследуемый образец ДТ соответствует маркам Л, Е и З (температура отгона 50% об. не превышает 280 °С, 95% об.

не превышает 360 °С).

Таким образом, исходя из несоответствия ДТ требованиям стандартов^{6,7} по ЦИ и содержанию серы, смешение данного образца ДТ с БиоДТ представляется перспективным, так как, согласно литературным данным, ЦИ БиоДТ выше, чем нефтяного ДТ, кроме того, БиоДТ характеризуется отсутствием серы в своем составе.

Результаты определения свойств биодизельного топлива. Результаты определения физико-химических и низкотемпературных свойств БиоДТ, синтезированных из различных растительных масел (подсолнечного, кукурузного, рапсового), представлены в табл. 3.

БиоДТ не содержит в своем составе серу, поэтому ее определение не производилось, также не производился расчет ЦИ по причине отсутствия данных по фракционному составу.

В соответствии с данными табл. 3, все БиоДТ, синтезированные из различных растительных масел, по плотности и вязкости не соответствуют ни одной из марок ДТ, согласно требованиям стандартов^{6,7}. Можно заметить, что БиоДТ из подсолнечного и кукурузного масел имеют практически одинаковое значение плотности, которое меньше, чем у БиоДТ из рапсового масла. БиоДТ из подсолнечного масла характеризуется наименьшей вязкостью, а БиоДТ из рапсового масла – наибольшей.

По низкотемпературным свойствам БиоДТ из подсолнечного и кукурузного масел соответствуют требованиям стандартов^{6,7} для марки Л, а БиоДТ из рапсового масла – для марок Л и Е (ПТФ не выше 15 °С).

Результаты определения состава и свойств смесей биодизельного и дизельного топлива. Результаты определения основных регламентируемых характеристик для смесей нефтяного ДТ и БиоДТ, синтезированного из различных растительных масел, представлены в табл. 4 и на рис. 1–3.

Как можно видеть из результатов, представленных в табл. 4, все смеси соответствуют требованиям стандартов^{6,7} для марок Л, Е и З по температуре отгона 95% об. Однако только смеси В5 и В10 для БиоДТ, синтезированных из всех растительных масел, соответствуют требованиям для марок Л, Е и З по температуре отгона 50% об., смеси В15 и В20 требованиям стандартов^{6,7} не соответствуют.

Таблица 3. Свойства синтезированного биодизеля

Table 3. Properties of synthesized biodiesel

	Биодизель из подсолнечного масла	Биодизель из кукурузного масла	Биодизель из рапсового масла
Плотность при 15 °С, кг/м ³	885,5	885,7	889,6
Вязкость кинематическая при 20 °С, мм ² /с	9,842	11,370	16,013
Предельная температура фильтруемости, °С	-8	-5	-18

Таблица 4. Фракционный состав смесей биодизеля / дизельного топлива

Table 4. Fractional composition of biodiesel / diesel fuel

Доля отгона, % об.	Температура, °C											
	Смесь биодизеля из подсолнечного масла / дизельного топлива				Смесь биодизеля из кукурузного масла / дизельного топлива				Смесь биодизеля из рапсового масла / дизельного топлива			
	B5	B10	B15	B20	B5	B10	B15	B20	B5	B10	B15	B20
начало кипения	122	117	126	140	114	97	132	122	133	134	134	137
10	189	189	189	189	189	195	195	195	193	189	189	191
50	271	273	285	290	270	276	282	282	273	273	283	288
90	333	335	342	352	330	332	334	342	340	341	353	345

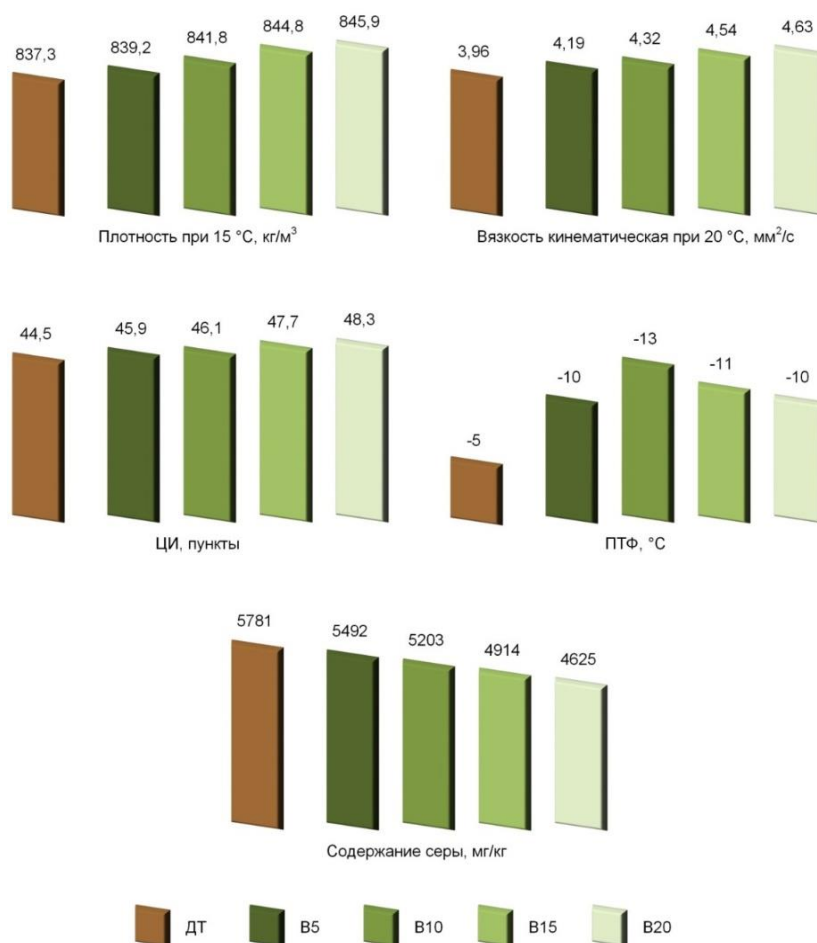


Рис. 1. Основные регламентируемые свойства смесей биодизеля из подсолнечного масла / дизельного топлива в сравнении с образцом чистого нефтяного дизельного топлива

Fig. 1. Main regulated properties of biodiesel from sunflower oil / diesel fuel blends compared to pure petroleum diesel sample

Из полученных результатов можно сделать вывод, что добавление БиодТ к ДТ приводит к утяжелению фракционного состава (с увеличением концентрации БиодТ эффект усиливается), что связано с тем, что БиодТ является более высококипящим компонентом по сравнению с ДТ.

Как можно видеть из результатов, представленных на рис. 1–3:

– по плотности при 15 °C: для БиодТ, синтезированных из всех масел, смеси B5 и B10 соот-

ветствуют требованиям для марки 3 (не более 843,4 кг/м³), смеси B15 и B20 – маркам Л и Е (не более 863,4 кг/м³);

– по кинематической вязкости при 20 °C: для ПБиодТ и КБиодТ все смеси соответствуют требованиям для марок Л, Е и 3 (1,8–5,0 мм²/с); для РБиодТ смеси B5, B10 и B15 соответствуют требованиям для марок Л, Е и 3, смесь B20 – для марок Л и Е (3,0–6,0 мм²/с);

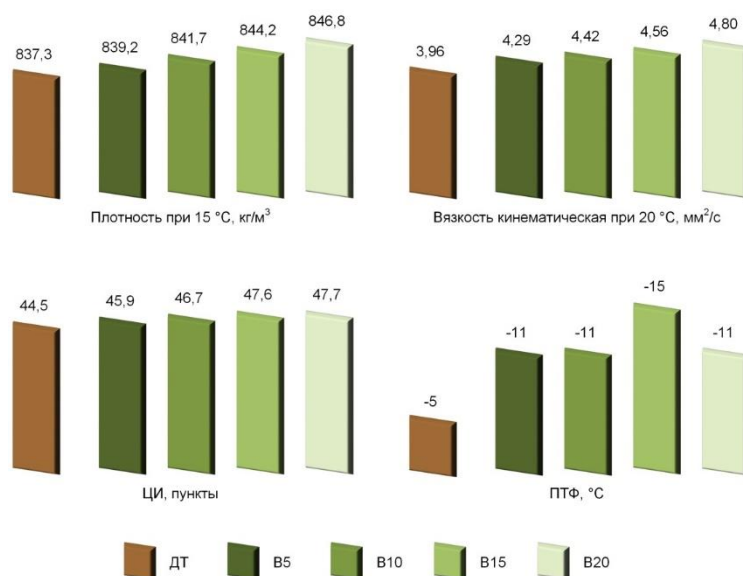


Рис. 2. Основные регламентируемые свойства смесей биодизеля из кукурузного масла / дизельного топлива в сравнении с образцом чистого нефтяного дизельного топлива

Fig. 2. Main regulated properties of biodiesel from corn oil / diesel fuelblends compared to pure petroleum diesel sample

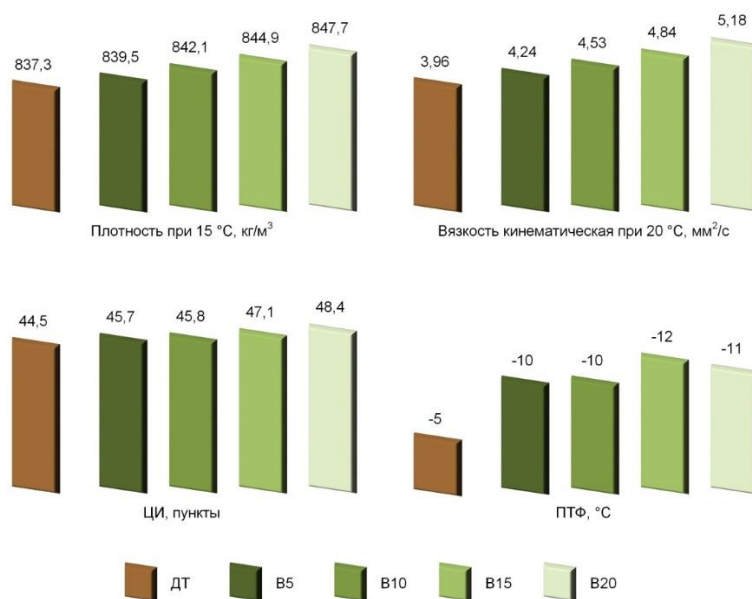


Рис. 3. Основные регламентируемые свойства смесей биодизеля из рапсового масла / дизельного топлива в сравнении с образцом чистого нефтяного дизельного топлива

Fig. 3. Main regulated properties of biodiesel from rapeseed oil / diesel fuel blends compared to pure petroleum diesel sample

– по ПТФ: для ПБиодТ и РБиодТ все смеси соответствуют требованиям для марки Л; для КБиодТ смеси В5, В10 и В20 соответствуют требованиям для марки Л, смесь В15 – для марки Е;
 – по содержанию серы: для БиодТ, синтезированных из всех масел, все смеси не соответствуют требованиям ни для одной марки ДТ;
 – по ЦИ: для БиодТ, синтезированных из всех масел, все смеси соответствуют требованиям для всех марок ДТ.

Кроме того, при анализе полученных данных можно отметить, что:

– смеси ПБиодТ/ДТ характеризуются лучшими (наименьшими) значениями плотности и вязкости, худшими (наибольшими) – смеси РБиодТ/ДТ;
 – смеси ПБиодТ/ДТ характеризуются лучшими значениями воспламеняемости, худшими – смеси РБиодТ/ДТ;
 – смеси КБиодТ/ДТ характеризуются лучшими низкотемпературными свойствами, низкотемпературные свойства смесей ПБиодТ/ДТ и РБиодТ/ДТ сравнимы;
 – наиболее низкими температурами начала

кипения (н.к.) и отгона 90% об. характеризуются смеси КБиодТ/ДТ, наиболее высокими – смеси РБиодТ/ДТ.

Как можно видеть из результатов, представленных на рис. 1–3, добавление БиодТ к ДТ приводит к увеличению плотности и вязкости (с увеличением концентрации БиодТ эффект усиливается), что связано с более высокими значениями плотности и вязкости для БиодТ по сравнению с ДТ. Также можно видеть, что для всех смесей с увеличением доли БиодТ снижается содержание серы, вследствие отсутствия таковой в чистом БиодТ, и увеличивается ЦИ, что объясняется хорошей самовоспламеняемостью БиодТ, а также увеличением плотности и утяжелением фракционного состава при добавлении БиодТ к ДТ.

Наиболее интересен эффект улучшения ПТФ при добавлении БиодТ к чистому ДТ. Для БиодТ, полученного из различных масел, максимальный эффект достигается при различных концентрациях БиодТ в смеси, так, для ПБиодТ максимальный эффект наблюдается для смеси В10, для КБиодТ и РБиодТ – для смеси В15.

Данные эффекты можно объяснить различиями в составе нефтяного ДТ и БиодТ. Если ДТ в своем составе содержит большое количество парафинов, которые при снижении температуры начинают кристаллизоваться и образовывать прочные кристаллические каркасы, то БиодТ состоит из кислородсодержащих молекул (сложных эфиров). БиодТ при снижении температуры приобретают желеобразную структуру, что в смеси с нефтяным ДТ позволяет оставаться топливу при низких температурах более подвижным и при этом при его разбавлении не забивать стандартный фильтрующий элемент.

Таким образом, использование БиодТ в качестве смесового компонента товарного ДТ является целесообразным, но допустимое количество определяется требуемой маркой товарного топлива. Кроме того, несомненным преимуществом такого биокomпонента является улучшение ПТФ, что особенно важно при работе двигателей в холодном климате.

ВЫВОДЫ

1. Реакцией переэтерификации с использованием этилового спирта в качестве переэтерифицирующего агента и гидроксида натрия в качестве катализатора синтезировано БиодТ из трех различных растительных масел – подсолнечного, кукурузного и рапсового.

2. Определены физико-химические и низкотемпературные свойства образца чистого ДТ и синтезированных БиодТ. Показано, что по физико-химическим свойствам ни один синтезированный образец БиодТ не соответствует требованиям стандартов^{6,7}, по низкотемпературным характеристикам ПБиодТ и КБиодТ соответствуют требованиям для летней марки, а РБиодТ – для

летней и межсезонной марок.

3. Приготовлены смеси БиодТ/ДТ с содержанием БиодТ в смеси 5, 10, 15, 20% об. Определены состав и свойства приготовленных смесей. Показано, что смеси ПБиодТ/ДТ характеризуются лучшими (наименьшими) значениями плотности и вязкости, худшими (наибольшими) – смеси РБиодТ/ДТ; смеси ПБиодТ/ДТ характеризуются лучшими значениями воспламеняемости, худшими – смеси РБиодТ/ДТ; смеси КБиодТ/ДТ характеризуются лучшими низкотемпературными свойствами, низкотемпературные свойства смесей ПБиодТ/ДТ и РБиодТ/ДТ сравнимы.

4. Выявлены закономерности влияния содержания БиодТ в смеси на состав и свойства топлива. Показано, что добавление БиодТ приводит к увеличению плотности, вязкости и ЦИ, снижению содержания серы и утяжелению фракционного состава топлива. С увеличением концентрации БиодТ в смеси эффект усиливается. Вместе с тем добавление БиодТ приводит к улучшению (снижению) ПТФ топлива. Для БиодТ, полученного из различных масел, максимальный эффект достигается при различных концентрациях БиодТ в смеси: для ПБиодТ максимальный эффект наблюдается при добавлении 10% об. (снижение на 8 °С), для КБиодТ и РБиодТ – при добавлении 15% об. (снижение на 10 и 7 °С соответственно).

5. Выработаны рекомендации по использованию БиодТ в качестве смесового компонента товарных ДТ. Показано, что с точки зрения физико-химических свойств наилучшей добавкой будет ПБиодТ, добавление которого в количестве 10% об. увеличивает плотность (на 4,5 кг/м³) и вязкость (на 0,352 мм²/с) в наименьшей степени. С точки зрения низкотемпературных свойств наилучшей добавкой будет КБиодТ, добавление которого позволяет снизить ПТФ до -15 °С (на 10 °С при добавлении 15% об. КБиодТ) и получить межсезонное топливо. Однако вовлечение более 10% об. БиодТ невозможно в связи с превышением требований по температуре отгона 50%-й фракции. Показано, что для производства летнего товарного ДТ рекомендуется использовать смеси 10% об. БиодТ, полученного из любого из растительных масел, и 90% об. ДТ. Для полученных смесей все показатели соответствуют требованиям стандартов^{6,7}, кроме содержания серы.

Таким образом, установлено, что использование БиодТ в качестве смесового компонента товарных ДТ является целесообразным. Выявленные закономерности и выработанные рекомендации позволяют производить смесовые топлива, соответствующие требованиям стандартов, с вовлечением в переработку различного растительного сырья. Использование БиодТ в качестве смесового компонента позволит расширить сырьевой пул для производства товарных ДТ с улучшенными экологическими характеристиками.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Захарова Е. А., Лихачева Н. А. Оценка экологической эффективности нефтеперерабатывающих производств // *Химия и технология топлив и масел*. 2021. Т. 57. N 3. С. 49–52. <https://doi.org/10.32935/0023-1169-2021-625-3-49-52>.
2. Головин М. С., Кудрявцева О. В. Государственная политика по развитию отрасли транспортного биотоплива в Европейском Союзе // *Государственное управление. Электронный вестник*. 2020. N 78. С. 72–90. <https://doi.org/10.24411/2070-1381-2020-10034>.
3. Рагимов Э. А. Влияние альтернативных топлив на окружающую среду // *Транспорт на альтернативном топливе*. 2020. N 2. С. 64–70.
4. Медведева Н. Д. Перспективы развития производства биотоплива: мировой опыт // *Экономика, труд, управление в сельском хозяйстве*. 2019. N 3. С. 45–53.
5. Рюль К. ВР: Прогноз развития мировой энергетики до 2030 года // *Вопросы экономики*. 2013. N 5. С. 109–128.
6. Гончаров С. В., Карпачев В. В. Перспективы развития биодизеля в России // *Масличные культуры*. 2021. N 3. С. 71–77. <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2021-3-187-71-77>.
7. Боровицкая П. С., Варламова Е. С. Проблемы и перспективы развития российского рынка биотоплива // *Экономические исследования и разработки. Научно-исследовательский журнал*. 2021. N 2. С. 63–76.
8. 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.: Инженер, 2011. 536 с.
9. Кучкина А. Ю., Сущик Н. Н. Источники сырья, методы и перспективы получения биодизельного топлива // *Журнал Сибирского федерального университета. Биология*. 2014. N 1. С. 14–42.
10. Власкин М. С., Чернова Н. И., Киселева С. В., Попель О. С., Жук А. З. Гидротермальное сжижение микроводорослей для получения биотоплив: современное состояние и перспективы развития // *Теплоэнергетика*. 2017. N 9. С. 5–16. <https://doi.org/10.1134/S0040363617090107>.
11. Бусин И. В., Ликсутин А. П., Корнев А. Ю. Биотопливо из отходов животноводства // *Сельский механизатор*. 2021. N 7. С. 29–31. <https://doi.org/10.47336/0131-7393-2021-7-29-30-31>.
12. Викаш Бабу П. Д., Ашиш Таплиал П. Д., Гириеш Кумар Пател П. Д. Возобновляемая энергия: Производство биотоплива / пер. с англ. Беверли, МА: Scrivener Publishing LLC, 2014. 250 с.
13. Белозерцева Н. Е., Богданов И. А., Бальжанова А. Т., Торчакова О. М., Соснина Д. В., Белинская Н. С. [и др.]. Использование биодизеля в качестве смесового компонента товарных дизельных топлив // *Химия в интересах устойчивого развития*. 2020. Т. 28. N 2. С. 131–140. <https://doi.org/10.15372/KhUR2020211>.
14. Чернова Н. И., Киселева С. В., Попель О. С. Эффективность производства биодизеля из микроводорослей // *Теплоэнергетика*. 2014. N 6. С. 14–21. <https://doi.org/10.1134/S0040363614060010>.
15. Снопе М., Маки-Арвела П., Симакова И. Л., Миллюйа Ю., Мурзин Д. Ю. Обзор каталитических методов производства биодизельного топлива из натуральных масел и жиров // *Сверхкритические флюиды: теория и практика*. 2009. Т. 4. N 1. С. 3–17.
16. Obed M. A., Mamat R., Abdullah N. R., Abdullah A. A. Analysis of blended fuel properties and engine performance with palm biodiesel–diesel blended fuel // *Renewable Energy*. 2016. Vol. 86. P. 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.07.103>.
17. Tanzer E., Yesilyurt M. K. Influence of blending ratio on the physicochemical properties of safflower oil methyl ester–safflower oil, safflower oil methyl ester–diesel and safflower oil–diesel // *Renewable Energy*. 2016. Vol. 95. P. 233–247. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.04.009>.
18. Foroutan R., Esmaeili H., Mousavi S. M., Hashemic S. A., Yeganeha G. The physical properties of biodiesel–diesel fuel produced via transesterification process from different oil sources // *Physical Chemistry Research*. 2019. Vol. 7, no. 2. P. 415–424. <https://doi.org/10.22036/pcr.2019.173224.1600>.
19. Белозерцева Н. Е., Богданов И. А., Алтынов А. А., Бальжанова А. Т., Белинская Н. С., Киргина М. В. Выбор наиболее предпочтительного сырья для синтеза биодизельного топлива с позиции его выхода и физико-химических свойств // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 1. С. 114–123. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-1-114-123>.
20. Белозерцева Н. Е., Соснина Д. В., Бальжанова А. Т., Богданов И. А., Киргина М. В. Исследование влияния параметров синтеза биодизельного топлива реакцией переэтерификации на выход и ключевые характеристики продукта // *Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета)*. 2021. N 56. С. 23–29.

REFERENCES

1. Zaharova E. A., Lihacheva N. A. Environmental performance evaluation of oil refineries. *Khimiya i tekhnologiya topliv i masel = Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 2021;57(3):482-486. (In Russian). <https://doi.org/10.32935/0023-1169-2021-625-3-49-52>.
2. Golovin M. S., Kydryavtseva O. V. State policy for transport biofuel industry development in the European Union. *Gosudarstvennoe upravlenie. Elektronnyi vestnik = Public Administration. E-journal*. 2020;(78):72-90. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/2070-1381-2020-10034>.

3. Rahimov E. A. Effect of alternative fuels on the environment. *Transport na alternativnom toplive = Alternative Fuel Transport*. 2020;(2):64-70. (In Russian).
4. Medvedeva N. D. Prospects for the development of biofuel production: world experience. *Ekonomika, trud, upravlenie v sel'skom khozyaistve = Economy, Labor, Management in Agriculture*. 2019;(3):45-53. (In Russian).
5. Rühl Ch. BP global energy outlook 2030. *Vo-prosy Ekonomiki*. 2013;(5):109-128. (In Russian).
6. Goncharov S. V., Karpachev V. V. Perspectives of development of biodiesel in Russia. *Maslichnye kul'tury*. 2021;(3):71-77. (In Russian). <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2021-3-187-71-77>.
7. Borovitskaya P. S., Varlamova E. S. Problems and prospects for the development of the Russian biofuel market. *Ekonomicheskie issledovaniya i razrabotki. Nauchno-issledovatel'skii zhurnal = Economic Development. Research Journal*. 2021;(2):63-76. (In Russian).
8. Markov V. A., Devyanin S. N., Semenov V. G., Shakhov A. V., Bagrov V. V. *The use of vegetable oils and fuels based on them in diesel engines*. Moscow: Inzhener; 2011. 536 p. (In Russian).
9. Kuchkina A. Yu., Sushchika N. N. Feedstocks, methods and perspectives of biodiesel production. *Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Biologiya = Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2014;(1):14-42. (In Russian).
10. Vlaskin M. S., Popel' O. S., Zhuk A. Z., Chernova N. I., Kiseleva S. V. Hydrothermal liquefaction of microalgae to produce biofuels: state of the art and future prospects. *Teploenergetika = Thermal Engineering*. 2017;(9):5-16. (In Russian). <https://doi.org/10.1134/S0040363617090107>.
11. Busin I. V., Liksutina A. P., Kornev A. Yu. Biofuels from animal waste. *Sel'skii mekhanizator*. 2021;(7):29-31. (In Russian). <https://doi.org/10.47336/0131-7393-2021-7-29-30-31>.
12. Vikash B., Ashish T., Girijesh Kumar Patel P. D. Biofuels production; 2013. 392 p. (Russ. ed.: Vikash Babu P. D., Ashish Tapliyal P. D., Girish Kumar Patel' P. D. *Vozobnovlyaemaya energiya: Proizvodstvo biotopliva*. Beverli, MA: Scrivener Publishing LLC; 2014. 250 p.).
13. Belozertseva N. E., Bogdanov I. A., Balzhanova A. T., Torchakova O. M., Sosnina D. V., Belinskaya N. S., et al. The use of biodiesel as a blend component of commercial diesel fuels. *Khimiya v interesakh ustoichivogo razvitiya = Chemistry for Sustainable Development*. 2020;28(2):131-140. (In Russian). <https://doi.org/10.15372/KhUR2020211>.
14. Chernova N. I., Kiseleva S. V., Popel' O. S. Efficiency of the biodiesel production from microalgae. *Teploenergetika = Thermal Engineering*. 2014;(6):14-21. (In Russian). <https://doi.org/10.1134/S0040363614060010>.
15. Snore M., Maki-Arvela P., Simakova I. L., Millyuoia Yu., Murzin D. Yu. Overview of catalytic methods for the production of biodiesel from natural oils and fats. *Sverkhkriticheskie flyuidy: teoriya i praktika = Supercritical Fluids: Theory and Practice*. 2009;4(1):3-17. (In Russian).
16. Obed M. A., Mamat R., Abdullah N. R., Abdullah A. A. Analysis of blended fuel properties and engine performance with palm biodiesel–diesel blended fuel. *Renewable Energy*. 2016;86:59-67. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.07.103>.
17. Tanzer E., Yesilyurt M. K. Influence of blending ratio on the physicochemical properties of safflower oil methyl ester-safflower oil, safflower oil methyl ester-diesel and safflower oil-diesel. *Renewable Energy*. 2016;95:233-247. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.04.009>.
18. Foroutan R., Esmaeili H., Mousavi S. M., Hashemic S. A., Yeganeha G. The physical properties of biodiesel-diesel fuel produced via transesterification process from different oil sources. *Physical Chemistry Research*. 2019;7(2):415-424. <https://doi.org/10.22036/pcr.2019.173224.1600>.
19. Belozertseva N. E., Bogdanov I. A., Altynov A. A., Balzhanova A. T., Belinskaya N. S., Kirgina M. V. Selection of the most beneficial raw materials for the synthesis of biodiesel from a standpoint of its yield and physicochemical properties. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020;10(1):114-123. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-1-114-123>.
20. Belozertseva N. E., Sosnina D. V., Balzhanova A. T., Bogdanov I. A., Kirgina M. V. Parameters influence investigation of the biodiesel fuel synthesis by the transesterification reaction on the product yield and key characteristics. *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo instituta (tekhnicheskogo universiteta) = Bulletin of the Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University)*. 2021;56:23-29. (In Russian).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Н. Е. Белозерцева,
аспирант,
Национальный исследовательский
Томский политехнический университет,
634050, г. Томск, пр. Ленина, 30,
Российская Федерация,
belozertsevanatasha@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8589-4565>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Natalia E. Belozertseva,
Postgraduate Student,
National Research Tomsk Polytechnic
University,
634050, Tomsk, Lenin Ave., 30,
Russian Federation,
belozertsevanatasha@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8589-4565>

О. М. Торчакова,

Национальный исследовательский
Томский политехнический университет,
634050, г. Томск, пр. Ленина, 30,
Российская Федерация,
omt2@tpu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4384-5092>

Olga M. Torchakova,

National Research Tomsk Polytechnic
University,
634050, Tomsk, Lenin Ave., 30,
Russian Federation,
omt2@tpu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4384-5092>

И. А. Богданов,

аспирант, инженер-исследователь,
Национальный исследовательский
Томский политехнический университет,
634050, г. Томск, пр. Ленина, 30,
Российская Федерация,
bogdanov_ilya@tpu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2327-5395>

Ilya A. Bogdanov,

Postgraduate Student, Researcher,
National Research Tomsk Polytechnic
University,
634050, Tomsk, Lenin Ave., 30,
Russian Federation,
bogdanov_ilya@tpu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2327-5395>

М. В. Киргина,

к.т.н., доцент,
Национальный исследовательский
Томский политехнический университет,
634050, г. Томск, пр. Ленина, 30,
Российская Федерация,
mkirgina@tpu.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7407-8845>

Maria V. Kirgina,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
National Research Tomsk Polytechnic
University,
634050, Tomsk, Lenin Ave., 30,
Russian Federation,
mkirgina@tpu.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7407-8845>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

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.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 02.10.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.*

Information about the article

*The article was submitted 02.10.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.*

Научная статья

УДК 66.669.2

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-141-152>



Разработка технологии получения электродных материалов для литий-ионных батарей из сподуменовой руды казахстанского месторождения

Асем Калдыбеккызы Жанабаева^{*,**}, Гаухар Козыкеевна Бишимбаева^{*},
Динара Сарсеновна Жумабаева^{*}, Арайлым Муратовна Налибаева^{*},
Ерлан Нуржанулы Абдикалыков^{*}

^{*}Институт топлива, катализа и электрохимии им. Д. В. Сокольского,
г. Алматы, Республика Казахстан

^{**}Научно-образовательный центр «Химическая инженерия»,
Казахстанско-Британский технический университет, г. Алматы, Республика Казахстан
Автор, ответственный за переписку: Налибаева Арайлым Муратовна, a.nalibayeva@ifce.kz

Аннотация. Цель исследования – разработка технологии получения инновационных электродных материалов для современных литиевых батарей. Отработана эффективная технология доочистки технического карбоната лития до уровня аккумуляторного качества (99,95%), включающая процессы каустификации технического карбоната лития, ультрафильтрации и ионообменной сорбции раствора гидроксида лития с последующим осаждением карбоната лития карбонатом аммония. Подобраны и исследованы катионообменные смолы марок Purolite S930Plus, Purolite S940, Purolite S950 для сорбционной очистки литийсодержащих растворов от примесей кальция и магния. В качестве наиболее эффективных катионитов рекомендованы Purolite S940 и Purolite S950. Определены и исследованы кинетические параметры сорбции кальция и магния на катионите Purolite S940. Установлен режим проведения бикарбонизации при комнатной температуре и давлении 0,3 атм. Синтезированы и исследованы золь-гель методом образцы литий-железо-фосфата. Методом рентгеновской дифракции исследованы структуры полученных электродных материалов, соответствующих стандартному профилю литий-железо-фосфата. Тестирование синтезированных электродных материалов в структуре литиевых полужеек и в пуговичных ячейках показало хорошие электрохимические свойства, стабильную работу аккумуляторов, высокую интеркаляционную обратимость ионов лития в образцах в пределах потенциалов 2,5–4,3 В. Конечным результатом данной работы являются инновационные катодные и анодные материалы нового поколения для современных литий-ионных аккумуляторов со значительно увеличенной емкостью и стабильностью работы, полученные из литиевых прекурсоров – карбоната лития аккумуляторного сорта на основе отечественного минерального и техногенного сырья.

Ключевые слова: литий-ионный аккумулятор, электрохимия, очистка карбоната лития, ионообменный процесс, золь-гель метод

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, проект № AP05135814.

Для цитирования: Жанабаева А. К., Бишимбаева Г. К., Жумабаева Д. С., Налибаева А. М., Абдикалыков Е. Н. Разработка технологии получения электродных материалов для литий-ионных батарей из сподуменовой руды казахстанского месторождения // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 141–152. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-141-152>.

A technology for producing electrode materials for lithium-ion batteries from Kazakhstan spodumene raw materials

Assem K. Zhanabayeva^{*,**}, Gaukhar K. Bishimbayeva^{*},
Dinara S. Zhumabayeva^{*}, Arailym M. Nalibayeva^{*}, Yerlan N. Abdikalykov^{*}

^{*}D. V. Sokolskiy Institute of Fuel, Catalysis and Electrochemistry, Almaty, Kazakhstan

^{**}Department of Chemical Engineering, Kazakh-British Technical University, Almaty, Kazakhstan

Corresponding author: Arailym M. Nalibayeva, a.nalibayeva@ifce.kz

Abstract. This study aims to develop a technology for producing innovative electrode materials for modern lithium batteries. An efficient technology for post-purifying of technical lithium carbonate to reach the level of battery quality (99.95%) was developed. This technology involves causticization of technical lithium carbonate, ultrafiltration and ion-exchange sorption of a lithium hydroxide solution, followed by precipitation of lithium carbonate with ammonium carbonate. Cation-exchange resins of the brands Purolite S930Plus, Purolite S940 and Purolite S950 were studied for sorption purification of lithium-containing solutions from calcium and magnesium impurities. Purolite S940 and Purolite S950 can be recommended as the most effective cation exchangers. The kinetic parameters of calcium and magnesium sorption were determined using a Purolite S940 cation exchanger. The bicarbonation mode was set at room temperature and a pressure of 0.3 atm. The synthesized samples of lithium-iron-phosphate studied by the sol-gel method. The structures of the obtained electrode materials corresponding to the standard profile of lithium-iron-phosphate were investigated by X-ray diffraction. The synthesized electrode materials in the structure of lithium half- and button cells confirmed their good electrochemical properties, stable operation of batteries and a high intercalation reversibility of lithium ions in the samples within the potential range of 2.5–4.3 V. The main research results are innovative cathode and anode materials of a new generation for modern lithium-ion batteries with significantly increased capacity and stability of operation, obtained from lithium precursors – battery grade lithium carbonate based on domestic mineral and technogenic raw materials.

Keywords: lithium-ion battery, electrochemistry, lithium carbonate purification, ion exchange process, sol-gel method

Funding. This research has been funded by the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, project no. AR05135814.

For citation: Zhanabayeva A. K., Bishimbayeva G. K., Zhumabayeva D. S., Nalibayeva A. M., Abdikalykov Ye. N. A technology for producing electrode materials for lithium-ion batteries from Kazakhstan spodumene raw materials. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):141-152. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-141-152>.

ВВЕДЕНИЕ

Еще в прошлом десятилетии литий-ионные аккумуляторы (ЛИА) использовались при производстве небольшого перечня товаров. Но сегодня при увеличении объема выпуска портативных устройств (видеокамеры, портативные компьютеры, ноутбуки, мобильные телефоны и другая бытовая электронная техника), использовании в качестве источника энергии в электромобилях и накопителях энергии в энергетических системах востребованность ЛИА возрастает с каждым годом. На производство ЛИА уходит большая часть добываемого в мире лития, и потребности в этом

химически активном металле будут расти по мере развития электрического транспорта, чем и обусловлена его высокая цена. Все это ведет к тому, что литий становится новым стратегическим материалом, способным влиять на устойчивое развитие мировой экономики [1–7].

Технические и эксплуатационные характеристики литий-ионных аккумуляторов определяют входящие в их состав материалы. Повышение спроса на мировом рынке на экологические и экономически выгодные ЛИА стимулирует создание новых литиевых концентратов. Для их получения используются, как правило, основные

минералы (кварц, берил, мусковит и др.), входящие в состав редкометалльных гранитовых пегматитов. Однако известные в настоящее время способы получения материалов для ЛИА из пегматитовых руд не отвечают требованиям, предъявляемым к современным ресурсосберегающим технологиям. В этой связи возникает необходимость в разработке новых, более совершенных методов получения электродных материалов из минерального сырья и в создании на их основе линии производства современных литиевых батарей полного технологического цикла – от извлечения до готового коммерческого продукта [8–11].

Выделение лития, например, из сподумена представляется довольно перспективным способом, но необходимо существенно увеличить результативность научных исследований в данной области. На территории Казахстана находится несколько разведанных месторождений гранитовых пегматитов, из которых наиболее доступным с точки зрения развитой инфраструктуры является месторождение Бакенное, находящееся в Восточно-Казахстанской области. Руды месторождения Бакенное характеризуются очень сложным и изменчивым минеральным составом [12].

Цель настоящей работы – разработать технологию получения литиевых электродных материалов на основе карбоната лития из казахстанского сподуменового сырья.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Отработка технологии очистки технического карбоната лития до уровня аккумуляторного качества.

Объект исследования – карбонат лития, полученный из сподуменового концентрата в условиях заводской лаборатории Научного центра АО «Ульбинский металлургический завод» по сернокислотной технологии из руды месторождения Ахметкино (Восточный Казахстан) [13].

Методы. Содержание примесных ионов (кроме ионов натрия) определяли согласно ГОСТ 31870-2012 на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Optima 8300 DV (PerkinElmer, США). Содержание натрия определяли согласно ГОСТ 26723-85 на пламенном фотометре модели PFP7 (Jenway Limited, Великобритания).

Карбонат лития (с содержанием основного вещества 92,1%), полученный из сподуменового концентрата, по своему химическому составу не соответствует качеству аккумуляторного сорта (табл. 1). Содержание примесей в виде натрия, магния, кальция и железа превышает значения, соответствующие чистому карбонату

лития аккумуляторного сорта.

Таблица 1. Химический состав карбоната лития

Table 1. Chemical composition of lithium carbonate

Состав	Опытная партия карбоната лития	Карбонат лития аккумуляторного сорта (США)
Li ₂ CO ₃ , %	92,1	99,95
Na, ppm	1000	250
Mg, ppm	610	100
Al, ppm	10	50
K, ppm	<10	10
Ca, ppm	1500	50
Fe, ppm	40	20

Очевидно, что для получения карбоната лития аккумуляторного сорта необходима тонкая доочистка технического продукта от примесей щелочных и щелочноземельных металлов, железа и алюминия. Для этого технический карбонат лития перевели в раствор гидроксида лития методом каустификации [14]. Химический состав образовавшегося при этом осадка, декантированного от раствора, приведен в табл. 2.

Таблица 2. Химический состав раствора не растворенного в воде остатка, %

Table 2. Chemical composition of water undissolved residue, %

Li	Na	K	Mg	Ca	Fe	Al
H.o.	0,25	0,12	1,81	1,94	0,93	0,02

Из данных, представленных в табл. 2, видно, что в процессе получения раствора гидроксида лития имеет место частичная очистка от большинства примесей, обусловленная образованием малорастворимых гидроксидов или карбонатов этих элементов.

Исследование сорбционных свойств ионитов Purolite S930Plus, Purolite S940, Purolite S950 в товарной Na⁺-форме. Для подбора наиболее эффективных ионообменных смол для очистки литийсодержащих растворов от кальция и магния исследована сорбционная способность ионитов Purolite S930Plus, S940, S950 в товарной Na⁺-форме. Иониты каждой марки заливали литийсодержащим раствором в соотношении 1 к 10 удельных объемов и перемешивали в течение 8 ч при комнатной температуре. Исходный раствор гидроксида лития делили на 4 равные части. Три порции раствора подкисляли серной кислотой до достижения значений pH = 7, 8 и 9, а четвертую порцию раствора закислили соляной кислотой до значения pH = 8. Содержание примесей в исходных и маточных растворах приведено в табл. 3.

Таблица 3. Состав исходных и маточных растворов гидроксида лития, мг/л

Table 3. Composition of initial and mother solutions of lithium hydroxide, mg/l

Марка ионита	pH исходных растворов	Li, мг/л	Ca, мг/л	Mg, мг/л	Na, мг/л	Fe, мкг/л	Al, мкг/л	K, мг/л
	Раствор гидроксида лития							
	Незаисленный исходный раствор, pH > 4	10740	46,90	15,30	6,90	0,27	0,24	2,19
	Заисленный раствор, pH = 7	9910	40,30	13,30	6,70	0,11	0,08	3,65
S930Plus		9480	37,90	13,20	4100	0,06	0,08	6,85
S940		9250	24,70	12,20	2360	0,06	0,07	4,12
S950		8160	28,20	11,00	2380	0,03	0,05	4,41
	Заисленный раствор, pH = 8	10070	39,70	14,40	7,80	0,16	0,10	4,91
S930Plus		9280	36,20	13,80	4300	0,06	0,06	5,31
S940		8380	22,10	13,40	3660	0,08	0,08	4,77
S950		8060	21,00	11,20	2060	0,04	0,08	5,35
	Заисленный раствор, pH = 8*	10070	47,10	14,40	6,30	0,12	0,07	4,10
S930Plus		8470	35,50	13,00	3770	0,09	0,06	5,77
S940		7750	22,60	12,70	3290	0,07	0,06	4,30
S950		7730	22,60	11,80	2500	0,03	0,06	4,93
	Заисленный раствор, pH = 9	10140	41,40	13,80	6,10	0,12	0,09	4,28
S930Plus		9860	40,30	13,40	4820	0,09	0,07	5,14
S940		8410	21,80	13,00	3460	0,07	0,05	7,01
S950		7990	21,40	11,10	2500	0,04	0,06	5,78

*Раствор заислен соляной кислотой.

В результате проведенных исследований выявлено, что при значении pH = 8–9 литийсодержащего раствора сорбция ионов магния и кальция протекает лучше, а наиболее эффективными в процессе очистки являются иониты Purolite S940 и Purolite S950 (рис. 1, см. табл. 3).

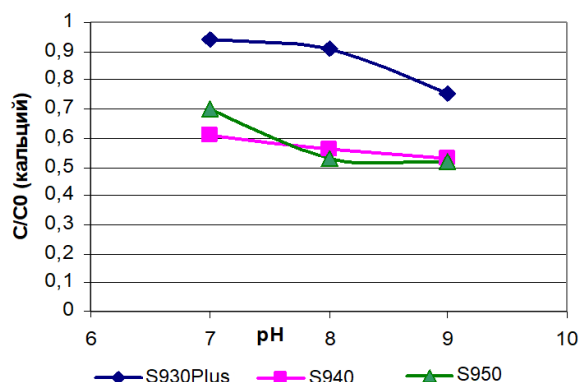


Рис. 1. Влияние pH на сорбируемость кальция

Fig. 1. Influence of pH on calcium sorption

В связи с тем, что литий в значительных количествах переходит в ионообменные смолы, вытесняя ионы натрия в раствор и тем самым загрязняя его (см. табл. 3), целесообразно перевести ионообменные смолы в литиевую форму. Для этого

необходимо предварительно отмыть ионообменные смолы от примесей. С этой целью по 50 г ионита марок Purolite S940 и Purolite S950 замачивали в воде в течение 1 ч, затем отделяли водную фазу от ионита вакуумным фильтрованием. Определение содержания примесей водных вытяжек каждого ионита показало, что из смол в раствор вымываются в значительных количествах примеси натрия, кальция, магния, алюминия и фосфора (табл. 4), что подтверждает необходимость тщательной отмытки новых ионитов во избежание загрязнения примесями растворов, поступающих на сорбционную очистку.

После отмытки иониты Purolite S940 и Purolite S950 перевели в литиевую форму в периодическом (статическом) режиме. К взвешенной порции влажного ионита приливали равный объем 2н раствора хлорида лития (соотношение 1:1), перемешивали на магнитной мешалке в течение 1 ч при температуре 20 °С, далее маточный раствор сорбции отделяли от ионита фильтрованием. Затем к влажному иониту добавляли следующую порцию 2н раствора хлорида лития, перемешивали 1 ч и фильтровали. Процедуру замачивания и фильтрования ионита проводили 5 раз. Фильтраты после каждой обработки ионита анализировали на содержание натрия, лития и ряда примесей, рассчитывали емкость ионита по литию (табл. 5). Для определения влияния

Таблица 4. Состав водной вытяжки ионитов Purolite S940 и Purolite S950

Table 4. Composition of water extracts of ion exchangers Purolite S940 and Purolite S950

Марка ионита	Содержание, мг/л							
	Li	Mg	K	Al	Na	P	Ca	Fe
Purolite S940	0,17	29,10	0,29	0,05	394,50	1,34	64,90	0,32
Purolite S950	0,59	16,40	0,23	16,70	400	1,56	55,50	0,20

температуры на емкость ионитов Purolite S940 и Purolite S950 все операции по переводу ионитов в литиевую форму повторили при температуре 40 °С.

Сорбционная очистка литийсодержащих растворов ионитами Purolite S940 и Purolite S950 в литиевой форме. Сорбцию гидроксида лития проводили в статическом режиме: воздушно-сухой ионит в литиевой форме (3 г) заливали раствором гидроксида лития, подкисленно-серной кислотой до pH = 8,5, перемешивали на магнитной мешалке в течение 6 ч. Затем водные фазы сливали с ионитов и анализировали на содержание лития и примесей (табл. 6).

Таблица 5. Статическая обменная емкость ионитов марки Purolite по литию

Table 5. Static exchange capacity of Purolite ion exchangers for lithium

Марка ионита	Емкость по литию, мг/г, при температуре, °С	
	20	40
Purolite S940	17,20	10,95
Purolite S950	19,00	12,00

По полученным данным анализа маточных растворов сорбции рассчитали статическую обменную емкость и величину объемного коэффициента распределения (табл. 7).

Так как сорбционная способность ионитов Purolite S940 и Purolite S950 по кальцию и магнию примерно одинаковая (см. табл. 7), в дальнейших исследованиях использован только ионит Purolite S940.

Исследование кинетики процесса сорбции проводили в статическом режиме. Для этого 3 г ионита Purolite S940 в литиевой форме помещали в 5 сосудов и заливали в каждый 3 дм³ (л) раствора гидроксида лития, перемешивали на магнитной мешалке при комнатной температуре в течение: 1-й сосуд – 0,5 ч; 2-й сосуд – 1 ч; 3-й – 2 ч; 4-й – 3 ч; 5-й – 4 ч. По окончании перемешивания сорбент отделяли от раствора. В растворе определяли содержание кальция и магния. В связи с отсутствием методики измерения содержания элементов в ионитах содержание кальция и магния в смоле определили расчетным путем – по разнице содержания ионов в исходном и маточном растворах. Полученные результаты приведены в табл. 8.

Таблица 6. Состав раствора Li₂SO₄ (pH = 8,5) и маточных растворов сорбции

Table 6. Composition of Li₂SO₄ solution (pH = 8.5) and sorption mother liquors

Марка ионита	Li, г/л	Na, мг/л	Ca, мг/л	Mg, мг/л	Fe, мкг/л	Al, мкг/л
Исходный р-р	9,06	39,72	83,90	18,30	180,90	142,20
Purolite S 940	10,91	70,00	48,90	6,13	52,00	71,30
Purolite S 950	11,93	78,00	47,90	7,72	24,20	37,80

Таблица 7. Статическая обменная емкость сорбентов

Table 7. Static exchange capacity of sorbents

Марка ионита	Ca, мг/г	Mg, мг/г	K _d Ca, см ³ /г	K _d Mg, см ³ /г
Purolite S 940	11,60	4,10	237,80	662,00
Purolite S 950	12,00	3,50	250,50	456,80

Таблица 8. Результаты исследования кинетики сорбции на ионите Purolite S940 в статическом режиме

Table 8. Results of studying the kinetics of sorption on the ion exchanger Purolite S940 in static mode

Время, ч	С Mg в растворе, мг/л	С Mg в ионите, мг/см ³	С Ca в растворе, мг/л	С Ca в ионите, мг/см ³
0,5	16,2	1,0	78,3	3,6
1	12,8	2,1	72,0	8,2
2	12,4	4,2	68,5	11,0
3	12,0	4,5	67,6	11,6
4	12,0	4,5	67,0	12,0

По кинетическим кривым (рис. 2, 3), построенным по результатам исследований, рассчитаны основные кинетические характеристики процесса сорбции:

– равновесная емкость:

$$A_{равн} = A_{max} \cdot 0,95, \quad (1)$$

где A_{max} – максимальная емкость сорбируемого элемента в смоле. Время наступления условного равновесия соответствует значению времени при $A_{равн}$ и определяется по графику (см. рис. 2, 3). Время наступления условного равновесия соответствует времени формирования фронта равных концентраций (t_0);

– кинетический коэффициент внешней диффузии:

$$k_{сор} = A_{равн} / t_0 C_{исх}, \quad (2)$$

где $A_{равн}$ – равновесная концентрация элемента в насыщенной смоле; $C_{исх}$ – концентрация элемента в исходном растворе.

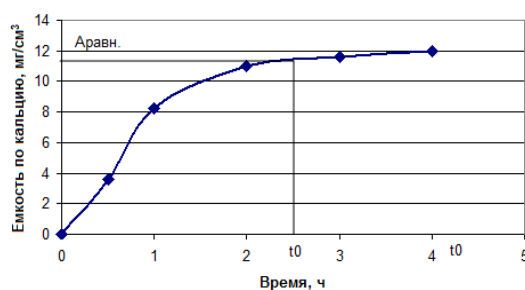


Рис. 2. Кинетическая кривая сорбции кальция

Fig. 2. Kinetic curve of calcium sorption

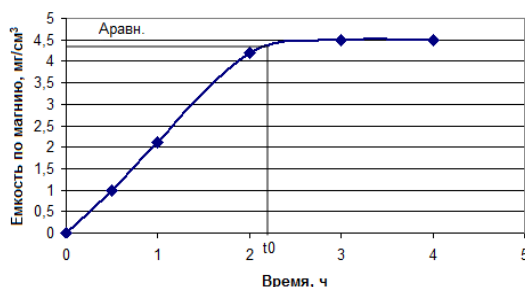


Рис. 3. Кинетическая кривая сорбции магния

Fig. 3. Kinetic curve of magnesium sorption

Для удобства расчетов использовали в дальнейшем величину β – кинетический коэффициент сорбции, который равен обратной величине коэффициента внешней диффузии $k_{сор}$. Физиче-

ский смысл β – это время, в течение которого концентрация элемента в растворе, проходящем через слой сорбента, сокращается в 2,71 раз. Данную величину вычисляем из уравнения:

$$\beta = t_0 \cdot C_{исх} / A_{равн}. \quad (3)$$

Коэффициент концентрирования определили по формуле:

$$K = A_{равн} / C_{исх}. \quad (4)$$

С учетом коэффициента концентрирования кинетический коэффициент можно записать следующим образом:

$$\beta = t_0 / K. \quad (5)$$

Время сорбции складывается из времени достижения условного равновесия (время формирования фронта равных концентраций, t_0) и времени параллельного переноса фронта равных концентраций, Δt :

$$t_{сор} = t_0 + \Delta t; \quad (6)$$

$$\Delta t = t_0 \cdot \ln C_{исх} / C_{сбр}. \quad (7)$$

Результаты исследования кинетики сорбции кальция и магния в статическом режиме приведены в табл. 9.

По окончании процесса сорбционной очистки гидроксида лития от примесей необходимо осадить из него карбонат лития. Для этого колонку промыли дистиллированной водой с расходом 85 мл/мин, всего пропустили 10 уд. объемов воды. К полученному маточному раствору сорбции, нагретому до 40 °С, при небольшом перемешивании добавили сухую углеаммонийную соль (УАС). Полученную суспензию перемешивали в течение 30 мин, затем нагрели до температуры 90 °С и перемешивали еще 30 мин. Далее остывшую до комнатной температуры суспензию карбоната лития бикарбонизировали барботированием углекислым газом. Полученный осадок карбоната лития отфильтровали и просушили. Химический состав полученного карбоната лития приведен в табл. 10, по всем нормируемым примесям карбонат лития соответствует требованиям, предъявляемым к карбонату лития аккумуляторного сорта.

Таким образом, разработан эффективный, не требующий дорогостоящего оборудования метод очистки карбоната лития, полученного из отечественного spodumene сырья, до уровня высокой чистоты, отвечающий качеству аккумуляторного сорта (99,95%).

Таблица 9. Кинетические параметры сорбции кальция и магния на ионите Purolite S940

Table 9. Kinetic parameters of calcium and magnesium sorption on the Purolite S940 cation exchanger

Кинетическая характеристика смолы	Сорбция	
	Ca	Mg
Время достижения условного равновесия, t_0 , ч	2,5	2,2
Емкость ионита при условном равновесии, $A_{равн}$, кг/м ³	11,4	4,3
Коэффициент концентрирования ионита при $A_{равн}$	136	234
Кинетический коэффициент сорбции, β , ч	0,018	0,009
Время параллельного переноса фронта, Δt , ч	9,35	2,75

Таблица 10. Химический состав полученного образца карбоната лития

Table 10. Chemical composition of the obtained lithium carbonate sample

Карбонат лития	Примеси, ppm											
	Na	K	Fe	Ca	Cu	Pb	Ni	Mn	Zn	Al	Mg	Si
Карбонат лития, аккумуляторный сорт (содержание Li_2CO_3 не менее 99,5%)	250	10	20	50	10	10	30	10	10	20	100	50
Карбонат лития, полученный образец (содержание Li_2CO_3 не менее 99,95%)	100	<10	20	45	<10	<10	<10	<10	<10	10	14	26

Исследование электрохимических свойств полученного карбоната лития аккумуляторного качества. Объект исследования – карбонат лития, очищенный до аккумуляторного качества (99,95%).

Методы. Очищенный до аккумуляторного качества карбонат лития использован в синтезе катодного материала – литий-железо-фосфата (LFP). Образец LFP получен по разработанной нами ранее золь-гель методике [15]. Катодная паста для электрода приготовлена по методике, представленной в работах [16, 17]. В качестве анода электрохимической ячейки использован металлический литий, а в качестве катода – синтезированный образец литий-железо-фосфата. Приготовленную пасту наносили тонким равномерным слоем на алюминиевую фольгу (токовод). 1 М раствор $LiPF_6$ в смеси этиленкарбонат–диэтилкарбонат–метилэтилкарбонат (1:1:1) использован как электролит. Все операции по сборке пуговичных батареек проводили в перчаточном боксе (MBraun) в инертной среде. Содержание паров воды и кислорода в атмосфере бокса не превышало 5 миллионных долей. Катодная и анодная части разделялись сепараторами Celgard (Tmax Battery Equipments Limited, Китай).

Рентгенодифракционный анализ синтезиро-

ванных образцов литий-железо-фосфата выполнен на дифрактометре Smart Lab (Rigaku, Япония).

Электрохимические свойства синтезированных материалов изучены методами циклической вольтамперометрии (обратимость реакции) и гальваностатических заряд-разрядных кривых (определение емкости и циклируемости ячейки) на многоканальном потенциостат-гальваностате VMP3 (Bio-Logic SAS, Франция).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам первого этапа настоящей исследовательской работы (получение карбоната лития аккумуляторного качества) можно сделать ряд заключений. Так, например, в связи с низкой селективностью органических катионитов к литию сорбцию примесей целесообразно проводить на ионитах в литиевой форме, оставляя литий в растворе. Из трех коммерческих ионитов марки Purolite (Purolite S930Plus, S940, S950) наиболее эффективным в процессе сорбционной очистки от ионов кальция и магния оказался Purolite S940. Сорбенты Purolite S940 и S950 имеют примерно одинаковое сродство к кальцию, Purolite S930Plus несколько уступает им. Магний более глубоко сорбируется катионитом Purolite S950. Железо и алюминий также сорбируются на испытываемых сорбентах. Влияние

природы аниона (Cl^- , SO_4^{2-}) на сорбируемость примесей не выявлено, в то время как литий в хлоридной форме сорбируется несколько лучше. В изученном диапазоне значений – $\text{pH} = 7, 8$ и 9 – величина pH не сильно влияет на сорбируемость кальция и магния (оптимальное значение $\text{pH} = 8-9$), тогда как увеличение температуры интенсифицирует процесс. Емкость смол по литию напрямую зависит от температуры: емкость по литию ионита Purolite S940 при температуре 40°C примерно в 1,5 раза превышает емкость Purolite S950.

Согласно предложенной в настоящей работе схеме: 1) перевод технического карбоната лития в гидроксид методом каустификации; 2) сорбционная очистка гидроксида лития от примесей (натрия, кальция, магния, алюминия и железа) коммерческим ионитом марки Purolite S940 (или Purolite S950); 3) получение карбоната лития из очищенного гидроксида (осаждение углеаммонийной солью и бикарбонизация углекислым газом), можно получить карбонат лития аккумуляторного сорта – 95,95%.

На втором этапе работ из очищенного карбоната лития золь-гель методом синтезирован, изучен и успешно протестирован на электрохимические свойства электродный материал.

Существуют разные способы получения катодного материала – литий-железо-фосфата (LFP): твердофазный и гидротермальный синтезы, механическая активация, золь-гель метод, микроволновый метод синтеза, спрей-пиролиз, осаждение из газовой фазы, микроэмульсионные технологии и др. [18–20]. Сложность при синтезе LFP возникает из-за окисления Fe^{2+} кислородом воздуха, поэтому предпочтение отдается одноэтапным методам. Среди перечисленных методов золь-гель метод представляет собой эффективный метод, позволяющий контролировать структуру электродных материалов и обеспечивающий наноструктурный однородный состав частиц продукта.

Рентгенограммы синтезированного LFP и LiFePO_4 (эталон для сравнения) представлены на рис. 4. В спектре синтезированного из очищенного нами карбоната лития образце LFP имеются пики, соответствующие стандартному профилю литий-железо-фосфата. Присутствие шумового фона от дифрактограммы затрудняет определение чистоты продукта. Тем не менее в спектре образца LFP наблюдаются пики в области 30° , связанные с наличием примесей: характерный пик примеси помечен «▼» и может соответствовать оксиду железа. Также по спектру на рентгенограмме можно заключить, что в

образце LFP имеются аморфные включения.

На рис. 5, а показаны кривые циклической вольтамперометрии (ЦВА) ЛИА с катодным материалом (LFP), синтезированным на основе очищенного карбоната лития. Циклическая вольтамперометрия данного ЛИА подтверждает высокую интеркаляционную обратимость ионов лития в образцах при указанных пределах потенциалов.

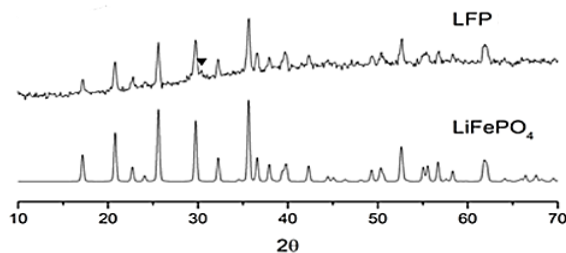


Рис. 4. Рентгенограмма синтезированного литий-железо-фосфата LFP

Fig. 4. X-ray diffraction pattern of synthesized lithium iron phosphate LFP

Для сравнения были взяты 1-й и 6-й циклы зарядки/разрядки аккумуляторов. Как и ожидалось, ионы лития обратимо интеркалируют/деинтеркалируют из кристаллической решетки, что подтверждается присутствием характерных симметричных пиков при значениях напряжения 3,6 и 3,3 В.

Исходя из полученных данных исследованного ЦВА образца, дальнейшее гальваностатическое тестирование проводили в пределах напряжения 2,5–4,2 В при плотности тока 0,2 С (1 С = 170 мА/г) относительно Li^+/Li (рис. 5, б).

Кривые заряда/разряда ЛИА с катодами из LFP при 1-м и 50-м циклах показывают, что потенциальные плато сохраняются без отличительных отклонений значений потенциалов при циклировании. Это указывает на стабильную работу аккумуляторов. В исследуемом ЛИА первоначальная разрядная емкость равна 100 мАч/г, что составляет 68% от теоретической емкости (1 С = 160 мАч/г). После 50 циклов разрядная емкость увеличилась до 105 мАч/г.

Тестирование синтезированных электродных материалов в структуре литиевых полужеек и пуговичных ячеек показало хорошие электрохимические свойства, стабильную работу аккумуляторов, высокую интеркаляционную обратимость ионов лития в образцах в пределах потенциалов 2,5–4,3 В.

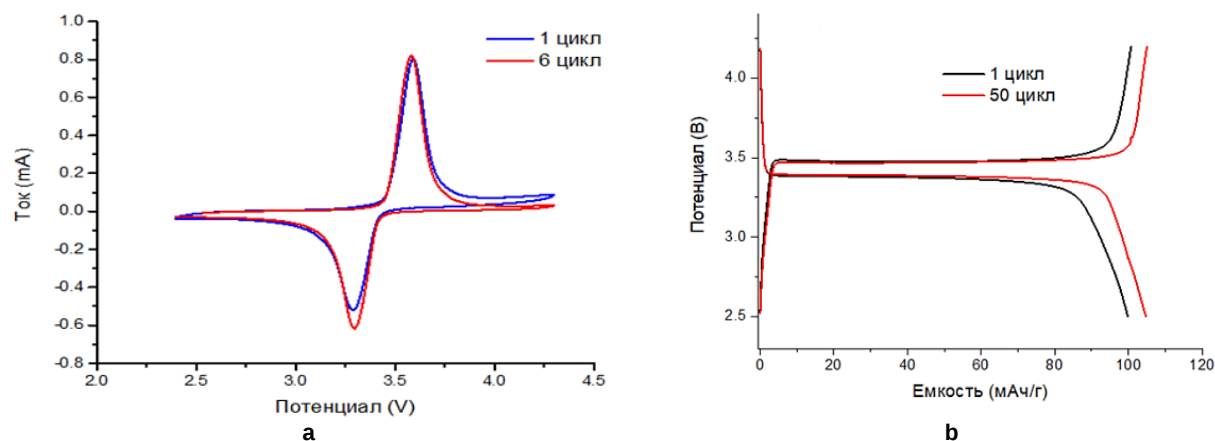


Рис. 5. Электрохимические исследования: а – циклическая вольтамперометрия литий-ионных аккумуляторов с катодом, синтезированным из LFP; б – кривые заряда/разряда литий-ионных аккумуляторов с катодом из LFP

Fig. 5. Electrochemical studies: а – cyclic voltammetry of lithium-ion batteries with a cathode synthesized from LFP; б – charge/discharge curves of lithium-ion batteries with a cathode made of LFP

ВЫВОДЫ

Таким образом, разработана технология получения литиевых электродных материалов на основе карбоната лития из казахстанского сподуменового сырья.

По результатам исследования можно сделать следующие выводы:

- наиболее эффективными для сорбционной очистки литийсодержащих растворов от примесей кальция и магния являются катионообменные смолы марок Purolite S940 и Purolite S950;
- исследование характеристик синтезированного из очищенного до аккумуляторного сорта карбоната лития методом рентгеновской дифракции показало полное соответствие стан-

дартным требованиям, предъявляемым к структуре литий-железо-фосфата, используемого в производстве литий-ионных аккумуляторов;

– при изучении электрохимических свойств синтезированного литий-железо-фосфата методом циклической вольтамперометрии обнаружено, что ионы лития обратимо интеркалируют/деинтеркалируют из кристаллической решетки при значениях напряжения 3,6 и 3,3 В. Кривые заряда/разряда ЛИА с катодом из синтезированного LFP при 1-м и 50-м циклах показывают, что значения потенциального плато сохраняются без существенных отклонений потенциалов при циклировании.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Cho G.-B., Noh J.-P., Sung H.-J., Choi S.-Y., Lee S.-H., Ahn H.-J., et al. Improved electrochemical properties of patterned Si film electrodes // Microelectronic Engineering. 2012. Vol. 89. P. 104–108. <https://doi.org/10.1016/j.mee.2011.03.141>.
2. Dudney N. J. Thin film micro-batteries // The Electrochemical Society Interface. 2008. Vol. 17, no. 3. P. 44–48. <https://doi.org/10.1149/2.F04083IF>.
3. Bakenov Z., Nakayama M., Wakihara M. A nonflammable lithium polymer battery with high performance for elevated temperature applications // Electrochemical and Solid-State Letters. 2007. Vol. 10, no. 9. P. A208–A211. <https://doi.org/10.1149/1.2750229>.
4. Bakenov Z., Taniguchi I. Electrochemical performance of nanocomposite LiMnPO_4/C cathode materials for lithium batteries // Electrochemistry Communications. 2010. Vol. 12, no. 1. P. 75–78. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2009.10.039>.
5. Nitta N., Wu F., Lee J. T., Yushin G. Li-ion battery materials: present and future // Materials Today. 2015. Vol. 18, no. 5. P. 252–264. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2014.10.040>.
6. Schmidt O., Hawkes A., Gambhir A., Staffell I. The future cost of electrical energy storage based on experience rates // Nature Energy. 2017. Vol. 6, no. 8. Article number 17110. 8 p. <https://doi.org/10.1038/nenergy.2017.110>.
7. Chen J. Recent progress in advanced materials for lithium ion batteries // Materials. 2013. Vol. 6, no. 1. P. 156–183. <https://doi.org/10.3390/ma6010156>.
8. Tarascon J. M., Armand M. Issues and challenges facing rechargeable lithium batteries // Nature. 2001. Vol. 414. P. 359–367. <https://doi.org/10.1038/35104644>.
9. Yoshino A. The birth of the lithium-ion battery // Angewandte Chemie International Edition. 2012. Vol. 51, no. 24. P. 5798–5800. <https://doi.org/10.1002/anie.201105006>.

10. Armand M., Tarascon J. M. Building better batteries // *Nature*. 2008. Vol. 451. P. 652–657. <https://doi.org/10.1038/451652a>.
11. Zaghib K., Dontigny M., Guerfi A., Charest P., Rodrigues I. R., Mauger A., et al. Safe and fast charging Li-ion battery with long shelf life for power applications // *Journal of Power Sources*. 2011. Vol. 196, no. 8. P. 3949–3954. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2010.11.093>.
12. Bishimbayeva G., Zhumabayeva D., Zhan-dayev N., Nalibayeva A., Shestakov K., Levanevsky I., et al. Technological improvement lithium recovery methods from primary resources // *Oriental Journal of Chemistry*. 2018. Vol. 34, no. 6. P. 2762–2769. <https://doi.org/10.13005/ojc/340611>.
13. Жанабаева А. К., Налибаева А. М., Би-шимбаева Г. К., Жумабаева Д. С., Абдикалыков Е. Н. Оптимизация сернокислотного метода переработки сподуменового сырья для получения карбоната лития аккумуляторного сорта // *Инновации в области естественных наук как основа экспортоориентированной индустриализации Казахстана: материалы Международной науч.-практ. конф. (г. Алматы, 04–05 апреля 2019 г.)*. Алматы: Изд-во РГП «НЦ КПМС РК», 2019. С. 354–357.
14. Жумабаева Д. С., Жанабаева А. К., Налибаева А. М., Бишимбаева Г. К. Доочистка технического карбоната лития до аккумуляторного качества // *Фундаментальные и прикладные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации: сб. ст. XXVII Междунар. науч.-практ. конф. (г. Пенза, 15 октября 2019 г.)*. Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение», 2019. С. 25–28.
15. Bishimbayeva G. K., Zhumabayeva D. S., Zhanabayeva A. K., Nalibayeva A. M., Abdikalykov E. N., Bakenov Zh. B. Prospects for creating a full cycle of lithium production in Kazakhstan – from ore processing to lithium batteries // *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Chemistry and Technology*. 2020. Vol. 5, no. 443. P. 38–45. <https://doi.org/10.32014/2020.2518-1491.78>.
16. Bishimbayeva G. K., Zhanabayeva A. K., Kurmanbayeva I., Nalibayeva A. M., Zhumabayeva D. S., Bakenov Zh. B. Synthesis and modification of LiFePO₄ cathode materials for lithium-ion batteries by aerosol pyrolysis method // *Functional Materials*. 2020. Vol. 27, no. 3. P. 581–586. <https://doi.org/10.15407/fm27.03.581>.
17. Zhumabayeva D. S., Bishimbayeva G. K., Zhanabayeva A. K., Nalibayeva A. M., Abdikalykov Y. N. Full cycle technology of lithium electrode materials for lib from domestic raw materials // *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Geology and Technical Sciences*. 2020. Vol. 3, no. 441. P. 211–214. <https://doi.org/10.32014/2020.2518-170x.77>.
18. Takahashi M., Tobishima Sh., Takei K., Sakurai Y. Characterization of LiFePO₄ as the cathode material for rechargeable lithium batteries // *Journal of Power Sources*. 2001. Vol. 97-98. P. 508–511. [https://doi.org/10.1016/S0378-7753\(01\)00728-5](https://doi.org/10.1016/S0378-7753(01)00728-5).
19. Fey G. T.-K., Lu T.-L. Morphological characterization of LiFePO₄/C composite cathode materials synthesized via a carboxylic acid route // *Journal of Power Sources*. 2008. Vol. 178, no. 2. P. 807–814. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2007.09.039>.
20. Satyavani T. V. S. L., Srinivas Kumar A., Subba Rao P. S. V. Methods of synthesis and performance improvement of lithium iron phosphate for high-rate Li-ion batteries: A review // *Engineering Science and Technology, an International Journal*. 2016. Vol. 9, no. 1. P. 178–188. <https://doi.org/10.1016/j.jestch.2015.06.002>.
1. Cho G.-B., Noh J.-P., Sung H.-J., Choi S.-Y., Lee S.-H., Ahn H.-J., et al. Improved electro-chemical properties of patterned Si film electrodes. *Microelectronic Engineering*. 2012;89:104-108. <https://doi.org/10.1016/j.mee.2011.03.141>.
2. Dudney N. J. Thin film micro-batteries. *The Electrochemical Society Interface*. 2008;17(3):44-48. <https://doi.org/10.1149/2.F04083IF>.
3. Bakenov Z., Nakayama M., Wakihara M. A nonflammable lithium polymer battery with high performance for elevated temperature applications. *Electrochemical and Solid-State Letters*. 2007;10(9):A208-A211. <https://doi.org/10.1149/1.2750229>.
4. Bakenov Z., Taniguchi I. Electrochemical performance of nanocomposite LiMnPO₄/C cathode materials for lithium batteries. *Electrochemistry Communications*. 2010;12(1):75-78. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2009.10.039>.
5. Nitta N., Wu F., Lee J. T., Yushin G. Li-ion battery materials: present and future. *Materials Today*. 2015;18(5):252-264. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2014.10.040>.
6. Schmidt O., Hawkes A., Gambhir A., Staffell I. The future cost of electrical energy storage based on experience rates. *Nature Energy*. 2017;6(8). Article number 17110. 8 p. <https://doi.org/10.1038/nenergy.2017.110>.
7. Chen J. Recent progress in advanced materials for lithium ion batteries. *Materials*. 2013;6(1):156-183. <https://doi.org/10.3390/ma6010156>.
8. Tarascon J. M., Armand M. Issues and challenges facing rechargeable lithium batteries. *Nature*.

2001;414:359-367. <https://doi.org/10.1038/35104644>.

9. Yoshino A. The birth of the lithium-ion battery. *Angewandte Chemie International Edition*. 2012;51(24):5798-5800. <https://doi.org/10.1002/anie.201105006>.

10. Armand M., Tarascon J. M. Building better batteries. *Nature*. 2008;451:652-657. <https://doi.org/10.1038/451652a>.

11. Zaghib K., Dontigny M., Guerfi A., Charest P., Rodrigues I. R., Mauger A., et al. Safe and fast charging Li-ion battery with long shelf life for power applications. *Journal of Power Sources*. 2011;196(8):3949-3954. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2010.11.093>.

12. Bishimbayeva G., Zhumabayeva D., Zhandayev N., Nalibayeva A., Shestakov K., Levanevsky I., et al. Technological improvement lithium recovery methods from primary resources. *Oriental Journal of Chemistry*. 2018;34(6):2762-2769. <https://doi.org/10.13005/ojc/340611>.

13. Zhanabaeva A. K., Nalibaeva A. M., Bishimbayev G. K., Zhumabaeva D. S., Abdikalykov Y. N. Optimization of the sulfuric acid method for processing spodumene raw materials to obtain battery-grade lithium carbonate. In: *Innovatsii v oblasti estestvennykh nauk kak osnova eksportoorientirovannoi industrializatsii Kazakhstana: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Innovations in the field of natural sciences as the basis of export-oriented industrialization of Kazakhstan: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, 04–05 April 2019, Almaty. Almaty; 2019, p. 354-357. (In Russian).*

14. Zhumabaeva D. S., Zhanabaeva A. K., Nalibaeva A. M., Bishimbayev G. K. Final purification of industrial lithium carbonate to battery quality. In: *Fundamental'nye i prikladnye nauchnye issledovaniya: aktual'nye voprosy, dostizheniya i innovatsii: sbornik statei XXVII Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Basic and applied scientific research: current issues, achievements and innovations: Proceedings of XXVII International*

Scientific and Practical Conference, 15 October 2019, Penza. Penza; MTsNS "Nauka i Prosveshchenie", 2019, p. 25-28. (In Russian).

15. Bishimbayeva G. K., Zhumabayeva D. S., Zhanabayeva A. K., Nalibayeva A. M., Abdikalykov E. N., Bakenov Zh. B. Prospects for creating a full cycle of lithium production in Kazakhstan – from ore processing to lithium batteries. *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Chemistry and Technology*. 2020;5(443):38-45. <https://doi.org/10.32014/2020.2518-1491.78>.

16. Bishimbayeva G. K., Zhanabayeva A. K., Kurmanbayeva I., Nalibayeva A. M., Zhumabayeva D. S., Bakenov Zh. B. Synthesis and modification of LiFePO₄ cathode materials for lithium-ion batteries by aerosol pyrolysis method. *Functional Materials*. 2020;27(3):581-586. <https://doi.org/10.15407/fm27.03.581>.

17. Zhumabayeva D. S., Bishimbayeva G. K., Zhanabaeva A. K., Nalibayeva A. M., Abdikalykov Y. N. Full cycle technology of lithium electrode materials for lib from domestic raw materials. *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Geology and Technical Sciences*. 2020;3(441):211-214. <https://doi.org/10.32014/2020.2518-170x.77>.

18. Takahashi M., Tobishima Sh., Takei K., Sakurai Y. Characterization of LiFePO₄ as the cathode material for rechargeable lithium batteries. *Journal of Power Sources*. 2001;97-98:508-511. [https://doi.org/10.1016/S0378-7753\(01\)00728-5](https://doi.org/10.1016/S0378-7753(01)00728-5).

19. Fey G. T.-K., Lu T.-L. Morphological characterization of LiFePO₄/C composite cathode materials synthesized via a carboxylic acid route. *Journal of Power Sources*. 2008;178(2):807-814. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2007.09.039>.

20. Satyavani T. V. S. L., Srinivas Kumar A., Subba Rao P. S. V. Methods of synthesis and performance improvement of lithium iron phosphate for high-rate Li-ion batteries: A review. *Engineering Science and Technology, an International Journal*. 2016;9(1):178-188. <https://doi.org/10.1016/j.jestch.2015.06.002>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

А. К. Жанабаева,
докторант PhD,
Казахстанско-Британский технический
университет,
050000, г. Алматы, ул. Валиханова, 106,
Казахстан;
ведущий инженер,
Институт топлива, катализа и электрохимии
им. Д. В. Сокольского,
050010, г. Алматы, ул. Д. Кунаева, 142,
Республика Казахстан,
a.zhanabayeva@ifce.kz

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Assem K. Zhanabayeva,
PhD Student,
Kazakh-British Technical University,
106, Valikhanov St., Almaty, 050000,
Kazakhstan;
Leading Engineer,
D. V. Sokolskiy Institute of Fuel, Catalysis
and Electrochemistry,
142, Kunaev St., Almaty, 050010,
Kazakhstan,
a.zhanabayeva@ifce.kz
<https://orcid.org/0000-0002-4738-9012>

<https://orcid.org/0000-0002-4738-9012>

Г. К. Бишимбаева,

д.т.н., профессор, главный научный сотрудник,
Институт топлива, катализа
и электрохимии им. Д. В. Сокольского,
050010, г. Алматы, ул. Д. Кунаева, 142,
Республика Казахстан,
g.bishimbayeva@ifce.kz
<https://orcid.org/0000-0002-8243-1124>

Д. С. Жумабаева,

доктор философии по химической инженерии,
старший научный сотрудник,
Институт топлива, катализа
и электрохимии им. Д. В. Сокольского,
050010, г. Алматы, ул. Д. Кунаева, 142,
Республика Казахстан,
d.zhumabayeva@ifce.kz
<https://orcid.org/0000-0002-6843-1056>

А. М. Налибаева,

к.х.н., научный сотрудник,
Институт топлива, катализа и электрохимии
им. Д. В. Сокольского,
050010, г. Алматы, ул. Д. Кунаева, 142,
Республика Казахстан,
a.nalibayeva@ifce.kz
<https://orcid.org/0000-0003-3976-5134>

Е. Н. Абдикалыков,

ведущий инженер,
Институт топлива, катализа
и электрохимии им. Д. В. Сокольского,
050010, г. Алматы, ул. Д. Кунаева, 142,
Республика Казахстан,
y.abdikalykov@ifce.kz
<https://orcid.org/0000-0003-0502-942X>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-
тельный вариант рукописи.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 14.11.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.*

Gaukhar K. Bishimbayeva,

Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Chief Researcher,
D. V. Sokolskiy Institute of Fuel, Catalysis
and Electrochemistry,
142, Kunaev St., Almaty, 050010,
Kazakhstan,
g.bishimbayeva@ifce.kz
<https://orcid.org/0000-0002-8243-1124>

Dinara S. Zhumabayeva,

Doctor of Philosophy
on speciality Chemical Engineering,
Senior Researcher,
D. V. Sokolskiy Institute of Fuel, Catalysis
and Electrochemistry,
142, Kunaev St., Almaty, 050010,
Kazakhstan,
d.zhumabayeva@ifce.kz
<https://orcid.org/0000-0002-6843-1056>

Arailym M. Nalibayeva,

Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
D. V. Sokolskiy Institute of Fuel, Catalysis
and Electrochemistry,
142, Kunaev St., Almaty, 050010,
Kazakhstan,
a.nalibayeva@ifce.kz
<https://orcid.org/0000-0003-3976-5134>

Yerlan N. Abdikalykov,

Leading Engineer,
D. V. Sokolskiy Institute of Fuel, Catalysis
and Electrochemistry,
142, Kunaev St., Almaty, 050010,
Kazakhstan,
y.abdikalykov@ifce.kz
<https://orcid.org/0000-0003-0502-942X>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests re-
garding the publication of this article.

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

Information about the article

*The article was submitted 14.11.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.*



Energy profile of formal 1,2-dyotropic rearrangement of diarylethenes

Eric Koffi Kouame^{*,**}, Andrey G. Lvov^{*,**}

^{*}Irkutsk National Research Technical University,
Irkutsk, Russian Federation

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

Corresponding author: Eric Koffi Kouame, erickofikouame@gmail.com

Abstract. Diarylethenes with thiophene substituents belong to photoswitchable compounds (photoswitches or photochromes). Upon UV irradiation, their colorless open-ring isomers (**DAE-o**) convert to the colored closed-ring isomers (**DAE-c**), while the back reaction is induced only by visible light irradiation. A multiple photoswitching of diarylethenes usually results in irreversible photorearrangement of **DAE-c** to the so-called annulated isomers **DAE-a**, that are stable thermally and photochemically. In the present communication, structures of a series of diarylethenes as well as their isomers were optimized on the B3LYP/6-31G(d) level of theory. It was disclosed for the first time, that **DAE-a** destabilized relatively **DAE-c** by 1.71–14.00 kcal/mol. These results are important for design of photocontrollable molecules and materials, operated in the one-way (permanent manner).

Keywords: Photochromism, diarylethene, dyotropic rearrangement, annulated isomer, DFT calculations

Funding. The study was supported by Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the framework of Scientific and educational center “Baikal” (FZZS-2021-0006).

For citation: Kouame E. K., Lvov A. G. Energy profile of formal 1,2-dyotropic rearrangement of diarylethenes. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):153-159. (In English). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-153-159>.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 544.52

Энергетический профиль формальной 1,2-диотропной перегруппировки диарилэтенов

Кофи Эрик Куаме^{*,**}, Андрей Геннадьевич Львов^{*,**}

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

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

Автор, ответственный за переписку: Кофи Эрик Куаме, erickofikouame@gmail.com

Аннотация. Диарилэтены с тиофеновыми заместителями относятся к фотопереключаемым соединениям (фотопереключателям или фотохромам). При облучении УФ-светом их исходная форма (**ДАЭ-о**) превращается в фотоиндуцированный изомер (**ДАЭ-с**), при этом обратная реакция индуцируется облучением видимым светом. Множественное фотопереключение обычно приводит к необратимой фотоперегруппировке **ДАЭ-с** в аннелированные изомеры **ДАЭ-а**, которые устойчивы фотохимически и термически. В данной работе нами были оптимизированы структуры ряда диарилэтенов, а также их изомеров на уровне теории B3LYP/6-31G(d). Впервые обнаружено, что **ДАЭ-а** дестабилизированы относительно **ДАЭ-с** на 1,71–14,00 ккал/моль. Эти результаты важны для разработки молекул и материалов, которые способны необратимо менять свои свойства под действием света.

Ключевые слова: фотохромизм, диарилэтен, диотропная перегруппировка, аннелированный изомер, DFT-расчеты

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Научно-образовательного центра «Байкал» (FZZS-2021-0006).

Для цитирования: Куаме К. Э., Львов А. Г. Энергетический профиль формальной 1,2-диотропной перегруппировки диарилэтенов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 153–159. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-153-159>.

INTRODUCTION

Photochromism is a phenomenon of a reversible change of the structure of a compound under the action of light [1]. In organic chemistry, a vast number of various classes of photochromic compounds was developed during last decades. Photochromic diarylethenes, comprising two (hetero)aromatic moieties attached to the central double bond, were introduced by M. Irie in 1988 [2]. When irradiated with ultraviolet light (UV), the open form of diarylethenes **DAE-o** isomerizes into the colored closed-ring isomer **DAE-c** (Fig. 1); the reverse reaction proceeds under the action of visible light (VIS). Several thousand coloring / bleaching cycles could be carried out for the certain diarylethenes [3]. The closed-ring isomer **DAE-c** is thermally stable and usually converts to **DAE-o** photochemically. These features make diarylethenes promising components of new generation of advanced materials and technologies, including molecular electronics, stimuli-responsive catalytic systems, and probes for bioconjugation and fluorescence microscopy [4].

The main side reaction of the photochromic process is a formal 1,2-dyotropic rearrangement of **DAE-c** into the “annulated” isomer **DAE-a** [5]. The latter is formed during prolonged UV irradiation, while the quantum yield of the process strongly depends on the DAE structure [6, 7]. A possible mechanism of the rearrangement consists in the initial elongation of one C-S bond leading via a biradical intermediate to a bicyclohexene (BCH) structure, which undergoes a thermal isomerization to the an-

nulated isomer (Fig. 2) [8]. The conversion of the central cyclohexadiene core to a methylcyclopentene diradical (MCPD) structure and its isomerization to the BCH intermediate also has been considered. Alternatively, a concerted reaction pathway via the exchange of the positions of a carbon and sulfur atom along the central C-C bond would directly lead to the annulated isomer.

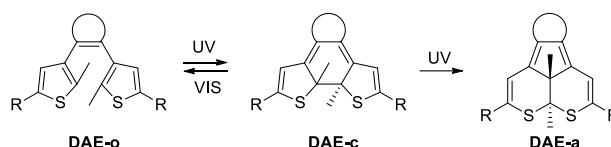


Fig. 1. Photoswitching of diarylethenes

Рис. 1. Фотопереключение диарилэтенов

Dyotropic rearrangement of phenanthroline-based diarylethene ligand was proposed for irreversible change of transition metal properties within complex, in particular, in the case of paramagnetic iron (II) complex [9]. Dynamic three-component system, based on the interconversion between **DAE-o**, **DAE-c** and **DAE-a** was proposed to control of 2D multicomponent molecular ordering on surfaces [10, 11]. The irreversible photorearrangement can be using for development of read-only-memory devices [12]. The asymmetric annulated isomer was presented as an efficient probe for disclosing structures effects on CD (circular dichroism) spectra [13].

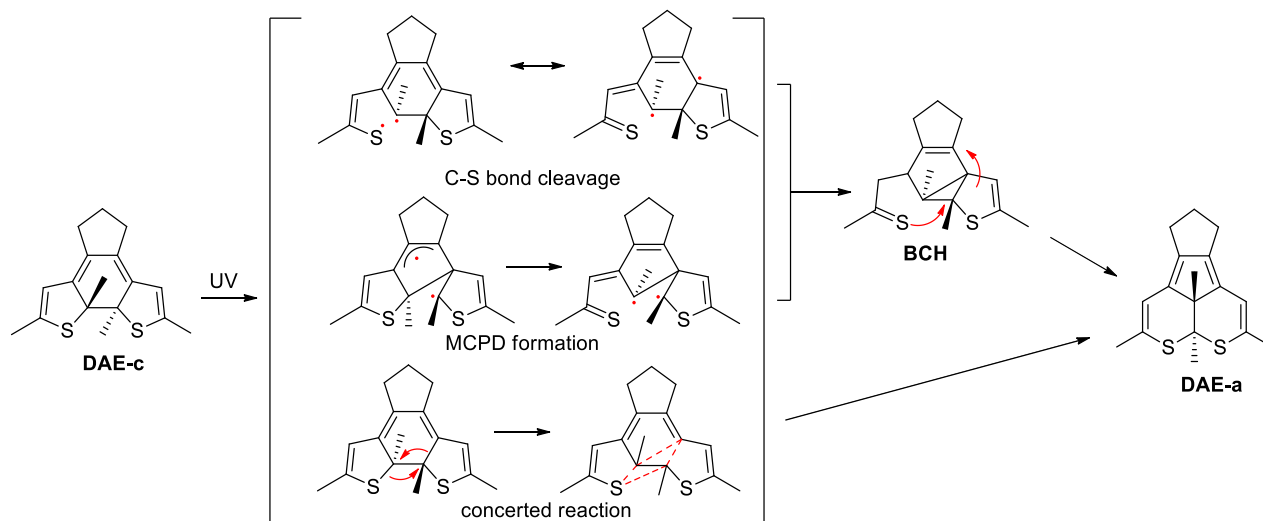


Fig. 2. Proposed mechanism of **DAE-a** formation

Рис. 2. Предложенный механизм образования **DAE-a**

For practical applications, it is important to know the relative stability of open-ring, closed-ring and annulated isomers of diarylethenes. The photogenerated isomers **DAE-c** usually are slightly destabilized regarding the open-ring isomer **DAE-o** [14], but the high thermal barrier of the thermal cycloreversion prevents the dark back reaction. At the same time, little is known on the relative stability of the

annulated isomer regarding the closed-ring isomer. In this work, we have calculated a relative stability of isomers for **1o** as well as previously reported diarylethenes, **2o** [2], **3o** [15], **4o** [16], **5o** [17], **6o** [18], **7o** [19], **8o** [5], **9o** [5] by using the B3LYP/6-31G(d) method (Fig. 3). This approach provides quick access to optimized structures of photochromic diarylethenes [20, 21].

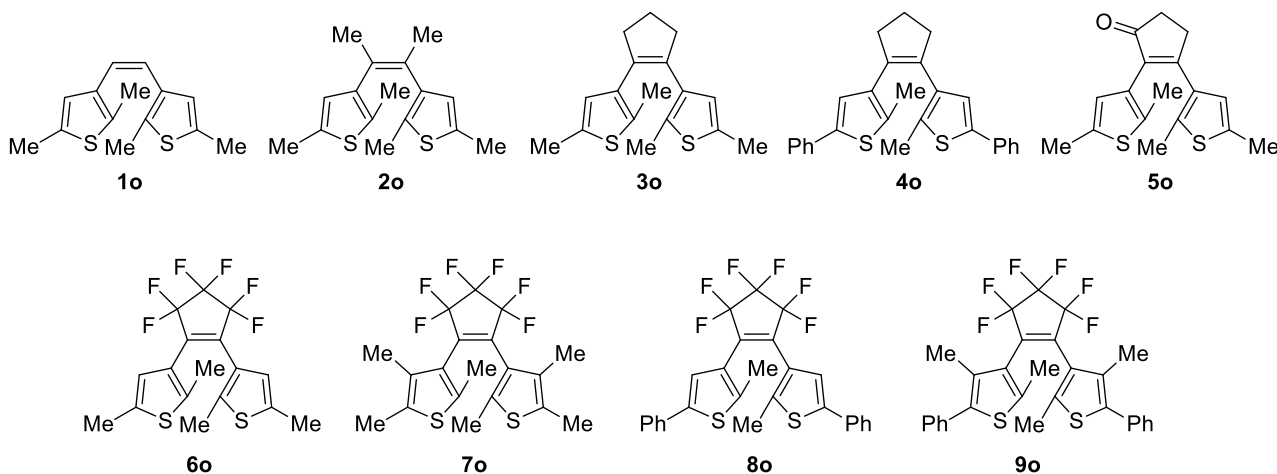


Fig. 3. Relative isomer stability for **1o**, as well as diarylethenes, **2o**, **3o**, **4o**, **5o**, **6o**, **7o**, **8o**, **9o** by the B3LYP/6 method -31G(d)

Рис. 3. Относительная стабильность изомеров **1o**, а также диарилэтеннов **2o**, **3o**, **4o**, **5o**, **6o**, **7o**, **8o**, **9o** по методу B3LYP/6 -31G(d)

RESULTS AND DISCUSSION

Density functional theory (DFT) calculations were performed at the B3LYP/6-31G(d) level of theory [22, 23] using the Gaussian 09 program package¹. Minimum structures were obtained from ground state optimizations. Calculations of vibrational frequencies were performed to prove that each optimized structure corresponds to a true minimum on the potential energy surface. All energies were calculated without zero-point correction.

Fig. 4 presents optimized geometries of diarylethene **1o** and its isomers. The open-ring isomer comprises a flexible structure featured by free rotation of thiophene rings around C-C bond [24]. It leads to the existence of parallel and antiparallel conformers [25], which usually are in the equilibrium. Only antiparallel conformers are photoactive according to Woodward–Hoffmann rule [26]. According to performed calculations, antiparallel conformers are more stable for diarylethenes **1o-9o**.

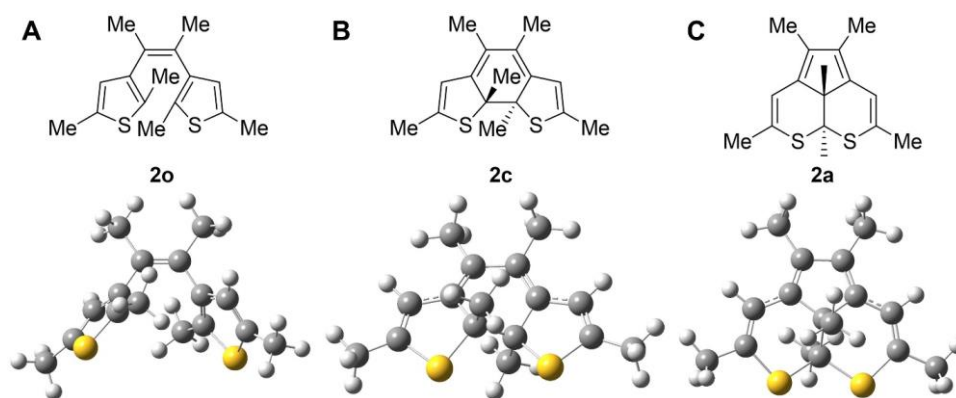


Fig. 4. Optimized structures for DAE **2o** and its photoisomers

Рис. 4. Оптимизированные структуры диарилэтена **2o** и его фотоизомеров

¹Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., et al. Gaussian 09W, Revision 7.0. Wallingford CT: Gaussian Inc., 2009.

The relative energies for diarylethenes **1–9** are presented at the Table. According to this data, closed-ring isomers are destabilized in comparison with open-ring isomers by 6.28–12.46 kcal/mol. The energy of the annulated isomers is higher than that of E(DAE-c)

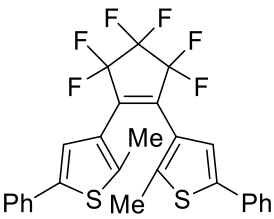
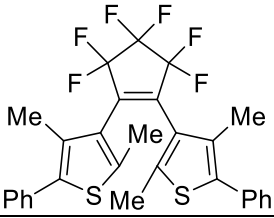
by 1.71–14.00 kcal/mol. The lowest (in absolute values) differences were found for diarylethene **2o**. Thus, the relative stability can be ranged as follows: E(DAE-a) > > E(DAE-c) > E(DAE-o).

Calculated energy differences between diarylethene isomers

Расчетная разница энергий между изомерами диарилэтена

№	Structure	ΔE_{oc} , kcal/mol	ΔE_{ao} , kcal/mol	ΔE_{ca} , kcal/mol
		E(DAE-c)-E(DAE-o)	E(DAE-a)-E(DAE-o)	E(DAE-a)-E(DAE-c)
1o		8.46	14.86	6.40
2o		6.28	7.99	1.71
3o		9.92	18.51	8.59
4o		10.81	20.15	9.34
5o		10.95	22.53	11.58
6o		11.80	23.57	11.77
7o		11.20	23.72	12.52

End of table

8o		12.46	25.55	13.09
9o		12.04	26.04	14.00

CONCLUSIONS

In conclusion, the performed calculations disclosed the relative destabilization of annulated isomers in comparison with closed-ring isomers.

These results should be taken into account during future applications of **DAE-a** as a new class of photostable dyes.

REFERENCES

1. Bouas-Laurent H., Durr H. Organic photochromism. *Pure and Applied Chemistry*. 2001;73(4): 639-665. <http://dx.doi.org/10.1351/pac200173040639>.
2. Irie M., Mohri M. Thermally irreversible photochromic systems. Reversible photocyclization of diarylethene derivatives. *The Journal of Organic Chemistry*. 1988;53(4):803-808. <https://doi.org/10.1021/jo00239a022>.
3. Hanazawa M., Sumiya R., Horikawa Y., Irie M. Thermally irreversible photochromic systems. Reversible photocyclization of 1,2-bis (2-methylbenzo[b]thiophen-3-yl)perfluorocycloalkene derivatives. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. 1992;(3):206-207. <https://doi.org/10.1039/C39920000206>.
4. Irie M., Fukaminato T., Matsuda K., Kobatake S. Photochromism of diarylethene molecules and crystals: memories, switches, and actuators. *Chemical Reviews*. 2014;114(24):12174-12277. <https://doi.org/10.1021/cr500249p>.
5. Irie M., Lifka T., Uchida K., Kobatake S., Shindo Y. Fatigue resistant properties of photochromic dithienylethenes: by-product formation. *Chemical Communications*. 1999;8:747-750. <https://doi.org/10.1039/A809410A>.
6. Herder M., Schmidt B. M., Grubert L., Pätzel M., Schwarz J., Hecht S. Improving the fatigue resistance of diarylethene switches. *Journal of the American Chemical Society*. 2015;137(7):2738-2747. <https://doi.org/10.1021/ja513027s>.
7. Herder M., Eisenreich F., Bonasera A., Grafl A., Grubert L., Patzel M., et al. Light-controlled reversible modulation of frontier molecular orbital energy levels in trifluoromethylated diarylethenes. *Chemistry – A European Journal*. 2017;23(15):3743-3754. <https://doi.org/10.1002/chem.201605511>.
8. Higashiguchi K., Matsuda K., Kobatake S., Yamada T., Kawai T., Irie M. Fatigue mechanism of photochromic 1,2-bis(2,5-dimethyl-3-thienyl)perfluorocyclopentene. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 2000;73(10):2389-2394. <https://doi.org/10.1246/bcsj.73.2389>.
9. Lvov A. G., Mörtel M., Heinemann F. W., Khusniyarov M. M. One-way photoisomerization of ligands for permanent switching of metal complexes. *Journal of Materials Chemistry C*. 2021;9(14):4757-4763. <https://doi.org/10.1039/D1TC00761K>.
10. Sakano T., Imaizumi Y., Hirose T., Matsuda K. Formation of two-dimensionally ordered diarylethene annulated isomer at the Liquid/HOPG interface upon in situ UV Irradiation. *Chemistry Letters*. 2013; 42(12):1537-1539. <https://doi.org/10.1246/cl.130705>.
11. Frath D., Sakano T., Imaizumi Y., Yokoyama S., Hirose T., Matsuda K. Diarylethene self-assembled monolayers: cocrystallization and mixing-induced cooperativity highlighted by scanning tunneling microscopy at the liquid/solid interface. *Chemistry – A European Journal*. 2015;21(32):11350-11358. <https://doi.org/10.1002/chem.201500804>.
12. Jeong Y.-C., Kim E.-K., Ahn K.-H., Yang S.-I. Fatigue property of oxidized photochromic dithienylethene derivative for permanent optical recording. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2005; 26(11):1675-1676. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2005.26.11.1675>.
13. Hirose T., Inoue Y., Hasegawa J., Higashiguchi K., Matsuda K. Investigation on CD inversion at visible region caused by a tilt of the π -conjugated substituent: theoretical and experimental approaches by using an asymmetric framework of diarylethene annulated isomer. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2014;118(6):1084-1093. <https://doi.org/10.1021/jp131234g>.

doi.org/10.1021/jp4122694.

14. Nakamura S., Irie M. Thermally irreversible photochromic systems. A theoretical study. *The Journal of Organic Chemistry*. 1988;53(26):6136-6138. <https://doi.org/10.1021/jo00261a035>.

15. Lucas L. N., van Esch J., Kellogg R. M., Feringa B. L. A new class of photochromic 1,2-diarylethenes; synthesis and switching properties of bis(3-thienyl)cyclopentenes. *Chemical Communications*. 1998;21:2313-2314. <https://doi.org/10.1039/A806998K>.

16. Lucas L. N., de Jong J. J. D., van Esch J. H., Kellogg R. M., Feringa B. L. Syntheses of dithienylcyclopentene optical molecular switches. *European Journal of Organic Chemistry*. 2002;2003(1):155-166. [https://doi.org/10.1002/1099-0690\(200301\)2003:1<155::AID-EJOC155>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/1099-0690(200301)2003:1<155::AID-EJOC155>3.0.CO;2-S).

17. Shirinian V. Z., Shimkin A. A., Lonshakov D. V., Lvov A. G., Krayushkin M. M. Synthesis and spectral properties of a novel family of photochromic diarylethenes-2,3-diarylcyclopent-2-en-1-ones. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2012;233:1-14. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2012.02.011>.

18. Miyasaka H., Nobuto T., Itaya A., Tamai N., Irie M. Picosecond laser photolysis studies on a photochromic dithienylethene in solution and in crystalline phases. *Chemical Physics Letters*. 1997;269(3-4):281-285. [https://doi.org/10.1016/S0009-2614\(97\)00282-0](https://doi.org/10.1016/S0009-2614(97)00282-0).

19. Yamada T., Kobatake S., Irie M. Single-crystalline photochromism of diarylethene mixtures. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 2002;75(1):

167-173. <https://doi.org/10.1246/bcsj.75.167>.

20. Fukumoto S., Nakashima T., Kawai T. Synthesis and photochromic properties of a dithiazolylindole. *Dyes and Pigments*. 2012;92(2):868-871. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2011.05.027>.

21. Fukumoto S., Nakashima T., Kawai T. Photon-quantitative reaction of a dithiazolylarylene in solution. *Angewandte Chemie*. 2011;50(7):1565-1568.

22. Becke A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*. 1993;98:5648-5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>.

23. Ditchfield R., Hehre W. J., Pople J. A. Self-consistent molecular-orbital methods. IX. An extended gaussian-type basis for molecular-orbital studies of organic molecules. *The Journal of Chemical Physics*. 1971;54(2):724-728. <https://doi.org/10.1063/1.1674902>.

24. Irie M., Miyatake O., Uchida K., Eriguchi T. Photochromic diarylethenes with intralocking arms. *Journal of the American Chemical Society*. 1994;116(22):9894-9900. <https://doi.org/10.1021/ja00101a010>.

25. Li W., Li X., Xie Y., Wu Y., Li M., Wu X.-Y., et al. Enantiospecific photoresponse of sterically hindered diarylethenes for chiroptical switches and photomemories. *Scientific Reports*. 2015;5. Article number 9186. <https://doi.org/10.1038/srep09186>.

26. Hoffmann R., Woodward R. B. Conservation of orbital symmetry. *Accounts of Chemical Research*. 1968;1:17-22. <https://doi.org/10.1021/ar50001a003>.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Eric Koffi Kouame,
Postgraduate Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation;
A. E. Favorsky Irkutsk Institute
of Chemistry SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
erickofikouame@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6351-3335>

Andrey G. Lvov,
Cand. Sci. (Chemistry), Leading Researcher,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation;
Head of Laboratory,
A. E. Favorsky Irkutsk Institute
of Chemistry SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

К. Э. Куаме,
аспирант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация;
Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского
СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
erickofikouame@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6351-3335>

А. Г. Львов,
к.х.н., ведущий научный сотрудник,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация;
заведующий лабораторией,
Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского
СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,

lvov-andre@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2951-2651>

Российская Федерация,
lvov-andre@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2951-2651>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Conflict interests

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

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Information about the article

*The article was submitted 02.06.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 02.06.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.*

УДК 662.71:543.544.3

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-160-166>



Термохимическое ожигение соломы пшеницы в среде суб- и сверхкритического тетралина

Сергей Николаевич Евстафьев, Елена Сергеевна Фомина,
Надежда Павловна Тигунцева

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

Автор, ответственный за переписку: Евстафьев Сергей Николаевич, esn@istu.edu

Аннотация. Целью работы являлось изучение термохимических превращений биомассы соломы пшеницы в среде суб- и сверхкритического тетралина. Эксперимент выполнен в реакторе периодического действия при температурах 285, 330, 380, 420 и 460 °С, продолжительность обработки – 10 мин. Установлено, что процесс ожигения соломы в субкритическом тетралине характеризуется сравнительно высокой эффективностью. При 420 °С степень конверсии биомассы составила 98,2% а.с.м. Максимальный выход жидких продуктов ожигения (81,6% а.с.м.) получен при 380 °С. Жидкие продукты фракционировали последовательной экстракцией гексаном, водой и этанолом. По данным ГХ-МС гексанрастворимые продукты ожигения представлены смесью низкомолекулярных продуктов деструкции компонентов соломы и продуктов превращения тетралина. В составе продуктов деструкции компонентов соломы идентифицированы метиловые эфиры жирных кислот, ароматические соединения, алканы и в минорных количествах спирты и кетоны. С повышением температуры обработки содержание сложных эфиров снижается с увеличением доли ароматических соединений до 50% отн. В составе гексанрастворимых продуктов ожигения, полученных при 460 °С, сложные эфиры и фенольные соединения отсутствуют. В условиях процесса происходит дегидрирование, алкилирование и изомеризация тетралина с образованием нафталина, 1,4-дигидронафталина и алкилпроизводных тетралина, нафталина и индана. На основании результатов сравнительного анализа ИК-спектров соломы и твердых продуктов ожигения сделано предположение о том, что при температурах процесса до 330 °С в биомассе соломы интенсивно протекают процессы фрагментации полисахаридов, а при более высоких температурах – лигнина. В результате в ИК-спектре твердого продукта, полученного при 380 °С, присутствуют слабо выраженные полосы поглощения алкилароматических структурных фрагментов, а на ИК-спектрах твердого продукта, полученного при 420 °С, – только полосы поглощения минеральных компонентов золы соломы и адсорбированной воды.

Ключевые слова: солома пшеницы, ожигение, тетралин, суб- и сверхкритические условия, ИК-спектроскопия

Для цитирования: Евстафьев С. Н., Фомина Е. С., Тигунцева Н. П. Термохимическое ожигение соломы пшеницы в среде суб- и сверхкритического тетралина // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 160–166. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-160-166>.

BRIEF COMMUNICATION

Thermochemical liquefaction of wheat straw in sub- and supercritical tetralin

Sergei N. Evstaf'ev, Elena S. Fomina,
Nadezhda P. Tiguntceva

Irkutsk National Research Technical University,
Irkutsk, Russian Federation

Corresponding author: Sergei N. Evstaf'ev, esn@istu.edu

Abstract. The present work investigates the thermochemical conversion of wheat straw biomass in a sub- and supercritical tetralin medium. The experiment was carried out in a batch reactor at 285, 330, 380, 420

and 460 °C for 10 minutes. The process of straw liquefaction in subcritical tetralin was characterised by relatively high efficiency. At 420 °C, the biomass conversion rate amounted to 98.2% a.d.m. The maximum yield of liquid products during liquefaction (81.6% a.d.m.) was obtained at 380 °C. The liquid products were fractionated by successive extraction with hexane, water and ethanol. According to GC-MS data, the liquefaction products soluble in hexane comprised a mixture of low-molecular weight degradation products of straw components and tetralin derivatives, including methyl esters of fatty acids, aromatic compounds, alkanes and minor alcohols and ketones. When the process temperature increased, the content of esters diminished, followed by an increment in the proportion of aromatic compounds up to 50% rel. No esters and phenolic compounds were present in the liquefaction products soluble in hexane obtained at 460 °C. Dehydrogenation, alkylation and isomerisation of tetralin with the formation of naphthalene, 1,4-dihydronaphthalene and alkyl derivatives of tetralin, naphthalene and indane occurred under the given conditions. The conducted comparative analysis of infrared spectra for straw and solid products of liquefaction suggested that, at temperatures of up to 330 °C, the process of polysaccharide fragmentation is more pronounced in the straw biomass, while, at higher temperatures, the process of lignin fragmentation prevails. As a result, the IR-spectrum of the solid product obtained at 380 °C revealed weakly pronounced absorption bands of alkylaromatic structural fragments. At the same time, only the absorption bands of mineral components in straw ash and adsorbed water were observed in the IR-spectrum of the solid product obtained at 420 °C.

Keywords: wheat straw, liquefaction, tetralin, sub- and supercritical conditions, IR spectroscopy

For citation: Evstaf'ev S. N., Fomina E. S., Tiguntceva N. P. Thermochemical liquefaction of wheat straw in sub- and supercritical tetralin. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):160-166. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-160-166>.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее перспективных способов химической переработки отходов лигноцеллюлозного сырья с целью получения биотоплив и сырья для химической промышленности является термохимическая конверсия в суб- и сверхкритических условиях [1, 2]. Значительная часть выполненных в этой области работ была направлена на отработку условий предподготовки целлюлозы для последующего ферментализа и ферментации выделенных сахаров с получением биотоплив. В соответствии с этим подбирали условия процесса и растворители, которые позволяли либо переводить целлюлозу в низкомолекулярные сахара [3–5], либо селективно извлекать из лигноцеллюлозы лигнин [6–11]. При этом лигнин считался отходом производства биотоплив и если использовался, то только в качестве энергетического топлива [12]. Значительная часть его складировалась в отстойниках, что представляет на сегодняшний день серьезную экологическую проблему.

В то же время лигнин как природный полимер занимает второе место после целлюлозы и представляет собой источник различных низкомолекулярных органических веществ. Тем не менее в настоящее время не существует промышленных технологий переработки лигнина с получением ценных продуктов с высокой добавленной стоимостью, в том числе высокоценных ароматических углеводородов, в связи с чем валоризация лигнина является актуальной задачей для химии и технологии [13].

Известно, что на выход и состав продуктов ожижения наряду с условиями процесса (температура, давление, катализатор) существенное

влияние оказывает природа используемого растворителя [14]. Ряд растворителей способствует превращению биомассы лигноцеллюлозного сырья в бионефть с высоким содержанием ароматических соединений. Одним из таких растворителей является тетралин, представляющий собой неполярный растворитель, не способный образовывать водородные связи, но эффективный в качестве донора водорода. Его эффективность подтверждена при ожижении углей и растительной биомассы [15–18]. Тем не менее тетралин остается относительно мало изученным растворителем для ожижения лигноцеллюлозного сырья. Требуется дополнительные исследования для того, чтобы понять его влияние на глубину и скорость преобразования биомассы лигноцеллюлозного сырья, выход и состав продуктов ожижения.

Целью работы являлось изучение термохимических превращений биомассы соломы пшеницы в среде суб- и сверхкритического тетралина.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Работа выполнена с образцами соломы пшеницы крупностью 1–5 мм. Компонентный состав соломы, в % на абсолютно сухую массу соломы (% а.с.м.): целлюлоза – 41,9; лигнин – 23,5; пентозаны – 18,9. В качестве растворителя использован тетралин ($T_{кр} = 447\text{ °C}$, $P_{кр} = 3,69\text{ МПа}$ [19]).

Эксперимент выполнен в реакторе периодического действия при температурах 285, 330, 380, 420 и 460 °C, продолжительность обработки – 10 мин. Реактор объемом 8 см³ изготовлен из нержавеющей стали. Навеску соломы массой 0,25–0,30 г загружали в металлический сетчатый контейнер, который помещали в реактор и при-

ливали 7 см³ тетралина. Скорость нагрева реактора до заданной температуры – 12–15 °С/мин, скорость охлаждения – 50 °С/мин.

После охлаждения вынимали контейнер, не растворившуюся часть соломы (твердый продукт) промывали этанолом и сушили при 105 °С. Этанольный раствор смешивали с жидкими продуктами ожижения. После удаления растворителей на ротаторном испарителе получали жидкий продукт, который сушили на лиофильной сушилке VaCo 2 (Zirbus Technology GmbH, Германия) при температуре -40 °С в течение 12 ч.

Выход газа определяли как разность между потерей массы соломы при ожижении и выходом жидкого продукта.

Жидкие продукты фракционировали последовательной исчерпывающей экстракцией гексаном, водой и этанолом при температуре кипения растворителей.

Состав гексановых экстрактов анализировали на хроматографе 7820 А с селективным масс-спектрометрическим детектором HP 5975 (Agilent Technologies, США). Кварцевая колонка 30000×0,25 мм со стационарной фазой (95% диметил – 5% дифенилполисилоксан). Условия анализа: 3 мин выдержка при 50 °С с последующим подъемом температуры до 250 °С со скоростью 6 град/мин и выдержкой в течение 40 мин при температуре 250 °С. Идентификацию соединений осуществляли с использованием библиотеки масс-спектров NIST 11.

ИК-спектры твердых продуктов регистрировали на инфракрасном спектрофотометре IRAffinity-1 с преобразованием Фурье (SHIMADZU, Япония) в таблетке KBr.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Согласно полученным данным, термохимическое ожижение биомассы соломы пшеницы в среде субкритического тетралина характеризуется относительно высокой эффективностью. При повышении температуры процесса в интервале 285–420 °С степень конверсии биомассы соломы увеличилась с 63,5 до 98,2% а.с.м. (рис. 1). При переходе в сверхкритическую для тетралина область (460 °С) она практически не изменилась, но наблюдалось увеличение выхода газообразных продуктов до 22,1% а.с.м. Максимальный выход жидких продуктов (81,6% а.с.м.) в исследуемых условиях процесса получен при 380 °С. При повышении температуры до 460 °С он снижается до 76,1% а.с.м.

В результате фракционирования жидких продуктов были выделены четыре фракции: гексановый и этанольный экстракты, водорастворимые соединения и фракция не растворимых в этаноле соединений. Ранее было установлено [3, 20], что при ожижении соломы в гексановый экстракт переходят относительно низкомолекулярные продукты деструкции компонентов био-

массы, во фракцию водорастворимых соединений – продукты деструкции полисахаридов, а во фракциях этанольного экстракта и этанолнерастворимых соединений сконцентрированы преимущественно полярные и высокомолекулярные соединения.

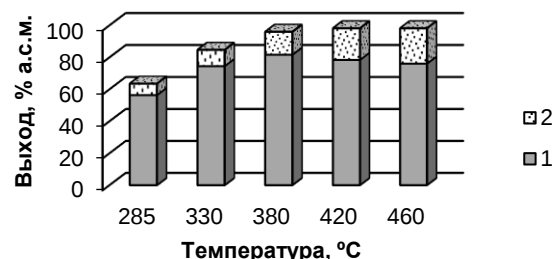


Рис. 1. Зависимость выхода жидких (1) и газообразных (2) продуктов от температуры процесса ожижения соломы в тетралине

Fig. 1. Yield of liquid (1) and gaseous (2) products versus the temperature of the straw liquefaction process in tetralin

Согласно полученным данным (рис. 2), в интервале температур 285–380 °С из биомассы соломы извлекаются преимущественно полярные и высокомолекулярные соединения. На их долю приходится более 50% отн. выделенных жидких продуктов. Суммарный выход этанольного экстракта и фракции не растворимых в этаноле соединений проходит через максимум при 330 °С и составляет 44,1% а.с.м. При повышении температуры до 460 °С он снижается до 29,8% а.с.м. при увеличении выхода гексанового экстракта до 22,1% а.с.м. Как следствие, доля гексанорастворимых соединений в жидких продуктах, полученных при 420 и 460 °С, составляет около 50% отн.

По данным ГХ-МС гексановые экстракты представлены смесью низкомолекулярных продуктов деструкции компонентов соломы и продуктов дегидрирования, алкилирования и изомеризации тетралина. Низкомолекулярные продукты деструкции компонентов соломы представлены метиловыми эфирами карбоновых кислот, алканами, ароматическими соединениями и с незначительным содержанием спиртами и кетонами. Свободные карбоновые кислоты не обнаружены. Выход и компонентный состав продуктов зависит от температуры процесса. С ее повышением происходит снижение содержания сложных эфиров и увеличение доли ароматических соединений, в составе которых снижается содержание фенолов. В гексановом экстракте, полученном при 460 °С, сложные эфиры и фенолы не обнаружены. В условиях процесса превращения тетралина сопровождаются образованием нафталина, 1,4-дигидронафталина, индана и алкилпроизводных тетралина. Наряду с этим, идентифицированы алкилнафталины и алки-

линданы. С повышением температуры доля этих продуктов в гексановых экстрактах повышается.

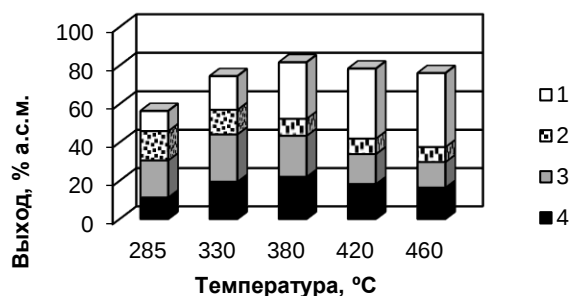


Рис. 2. Зависимость фракционного состава жидких продуктов ожижения соломы в тетралине от температуры: 1 – гексановый экстракт; 2 – фракция водорастворимых соединений; 3 – этанольный экстракт; 4 – фракция не растворимых в этаноле соединений

Fig. 2. Fractional composition of liquid products of straw liquefaction in tetralin versus temperature:

1 – hexane extract; 2 – water soluble compounds; 3 – ethanol extract; 4 – ethanol insoluble compounds

Относительно высокий выход водорастворимых соединений наблюдается при температурах процесса ожижения до 330 °С. С повышением температуры выход фракции снижается в результате вторичных термических превращений ее компонентов. Следует отметить, что полученная динамика выхода фракции водорастворимых соединений хорошо коррелирует с результатами сравнительного анализа ИК-спектров исходной соломы и твердых продуктов ожижения (рис. 3).

Согласно результатам анализа, после ожижения соломы в исследуемом интервале температур в ИК-спектрах полученных твердых продуктов наблюдаются значительные изменения во всем интервале частот. Для твердых продуктов, полученных до 330 °С, наиболее выражены изменения для полос поглощения полисахаридов. Происходит уменьшение интенсивности полос поглощения валентных (3400 см⁻¹) и деформационных (1422, 1375, 1246 см⁻¹) колебаний ОН-групп, валентных колебаний карбонильной группы сложных эфиров гемицеллюлоз при 1730 см⁻¹, а также валентных колебаний связей С-О-С, С-С и С-ОН в области 1200–900 см⁻¹.

При этом полосы поглощения структурных фрагментов лигнина 1595, 1513 и 1450 см⁻¹ сохраняют свою интенсивность. Интенсивная деструкция лигнина происходит при температурах выше 330 °С, что находит отражение в снижении интенсивности соответствующих полос поглощения. Так, в ИК-спектре твердого продукта, полученного при 380 °С, полосы поглощения алкилароматических структурных фрагментов при 2926,

2820, 1595 и 1450 см⁻¹ характеризуются средней интенсивностью, а в ИК-спектре твердого продукта, полученного при 420 °С, эти полосы слабо выражены. Присутствуют полосы поглощения адсорбированной воды при 3430 см⁻¹ и минеральных компонентов золы соломы с максимумом при 1090 см⁻¹.

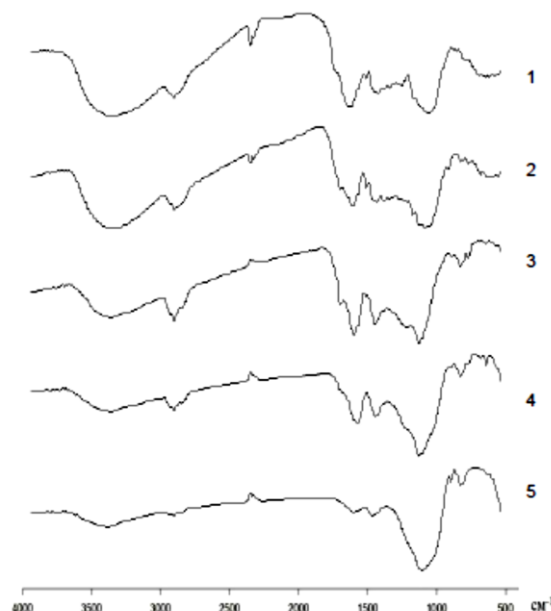


Рис. 3. ИК-спектры соломы пшеницы (1) и твердых продуктов, полученных при температурах: 2 – 285 °С; 3 – 330 °С; 4 – 380 °С; 5 – 420 °С

Fig. 3. IR spectra of wheat straw (1) and solid products obtained at temperatures: 2 – 285 °C; 3 – 330 °C; 4 – 380 °C; 5 – 420 °C

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненного исследования установлено:

- процесс термохимического ожижения соломы в субкритическом тетралине характеризуется высокой эффективностью;

- в условиях процесса интенсивная фрагментация полисахаридов соломы протекает при температурах до 330 °С, а при более высоких температурах наиболее выражена деструкция лигнина;

- гексанрастворимые продукты ожижения соломы пшеницы представлены сложной смесью низкомолекулярных продуктов ожижения биомассы и продуктов дегидрирования, алкилирования и изомеризации тетралина;

- жидкие продукты, полученные при ожижении соломы пшеницы при температуре выше 420 °С, характеризуются высоким содержанием низкомолекулярных ароматических соединений.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kajimoto O. Solvation in supercritical fluids: its effects on energy transfer and chemical reactions // *Chemical Reviews*. 1999. Vol. 99, no. 2. P. 355–390. <https://doi.org/10.1021/cr970031l>.
2. Sun Y., Cheng J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review // *Biore-source Technology*. 2002. Vol. 83, no. 1. P. 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7).
3. Евстафьев С. Н., Чечикова Е. В. Превращения полисахаридов соломы пшеницы в динамических условиях процесса субкритического автогидролиза // *Химия растительного сырья*. 2015. N. 1. С. 41–49. <https://doi.org/10.14258/jcp.rm.201501426>.
4. Perkins G., Batalha N., Kumar A., Bhaskar T., Konarova M. Recent advances in liquefaction technologies for production of liquid hydrocarbon fuels from biomass and carbonaceous wastes // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2019. Vol. 115. P. 109400. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109400>.
5. de Caprariis B., De Filippis P., Petruccio A., Scarsella M. Hydrothermal liquefaction of biomass: influence of temperature and biomass composition on the bio-oil production // *Fuel*. 2017. Vol. 208. P. 618–625. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.07.054>.
6. Hewetson B. B., Zhang X., Mosier N. S. Enhanced acid-catalyzed biomass conversion to hydroxymethylfurfural following cellulose solvent-and organic solvent-based lignocellulosic fractionation pretreatment // *Energy & Fuels*. 2016. Vol. 30. P. 9975–9977. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b01910>.
7. Ma P., Gao Y., Zhai H. Fractionated wheat straw lignin and its application as antioxidant // *Bio-Resources*. 2013. Vol. 8, no. 4. P. 5581–5595. <https://doi.org/10.15376/biores.8.4.5581-5595>.
8. Chesi C., de Castro I. B. D., Clough M. T., Ferrini P., Rinaldi R. The influence of hemicellulose sugars on product distribution of early-stage conversion of lignin oligomers catalysed by Raney nickel // *ChemCatChem*. 2016. Vol. 8, no. 12. P. 2079–2088. <https://doi.org/10.1002/cctc.201600235>.
9. Schutyser W., Van den Bosch S., Renders T., De Boe T., Koelewijn S.-F., Dewaele A., et al. Influence of bio-based solvents on the catalytic reductive fractionation of birch wood // *Green Chemistry*. 2015. Vol. 17, no. 11. P. 5035–5045. <https://doi.org/10.1039/c5gc01442e>.
10. Galkin M. V., Smit A. T., Subbotina E., Artemenkov K. A., Bergquist J., Huijgen W. J. J., et al. Hydrogen-free catalytic fractionation of woody biomass // *ChemSusChem*. 2016. Vol. 9, no. 23. P. 3280–3287. <https://doi.org/10.1002/cssc.201600648>.
11. Parsell T., Yohe S., Degenstein J., Jarrell T., Klein I., Gencer E., et al. A synergistic biorefinery based on catalytic conversion of lignin prior to cellulose starting from lignocellulosic biomass // *Green Chemistry*. 2015. Vol. 17, no. 3. P. 1492–1499. <https://doi.org/10.1039/C4GC01911C>.
12. Sannigrahi P., Ragauskas A. J. Characterization of fermentation residues from the production of bio-ethanol from lignocellulosic feedstocks // *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*. 2011. Vol. 5, no. 4. P. 514–519. <https://doi.org/10.1166/jbmb.2011.1170>.
13. Kleinert M., Barth T. Towards a lignocellulosic biorefinery: direct one-step conversion of lignin to hydrogen-enriched bio-fuel // *Energy & Fuels*. 2008. Vol. 22, no. 2. P. 1371–1379. <https://doi.org/10.1021/ef700631w>.
14. Wang Y., Wang H., Lin H., Zheng Y., Zhao J., Pelletier A., et al. Effects of solvents and catalysts in liquefaction of pinewood sawdust for the production of bio-oils // *Biomass and Bioenergy*. 2013. Vol. 59. P. 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.10.022>.
15. Sangon S., Ratanavaraha S., Ngamprasert-sith S., Prasassarakich P. Coal liquefaction using supercritical toluene–tetralin mixture in a semi-continuous reactor // *Fuel Processing Technology*. 2006. Vol. 87, no. 3. P. 201–207. <https://doi.org/10.1016/J.FUPROC.2005.07.007>.
16. Koriakin A., Nguyen H. V., Kim D.-W., Lee C.-H. Thermochemical decomposition of microcrystalline cellulose using sub- and supercritical tetralin and decalin with Fe₃O₄ // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2015. Vol. 54, no. 18. P. 5184–5194. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b00763>.
17. Kundu R., Ramsurn H. Kinetic study of non-catalytic dissolution of cellulose biochar in hydrogen donor solvent // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2020. Vol. 8, no. 31. P. 11606–11617. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c02907>.
18. Koriakin A., Moon S., Kim D.-W., Lee C.-H. Liquefaction of oil palm empty fruit bunch using sub- and supercritical tetralin, *n*-dodecane, and their mixture // *Fuel*. 2017. Vol. 208. P. 184–192. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.07.010>.
19. Kim D.-W., Lee C.-H. Efficient conversion of extra-heavy oil into distillates using tetralin/activated carbon in a continuous reactor at elevated temperatures // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2019. Vol. 140. P. 245–254. <https://doi.org/10.1016/J.JAAP.2019.04.001>.
20. Фомина Е. С., Евстафьев С. Н. Сравнительный анализ состава низкомолекулярных продуктов сверхкритической экстракции соломы пшеницы этанолом и диметилкарбонатом // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2018. Т. 8. N 2. С. 9–18. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-2-9-18>.

REFERENCES

1. Kajimoto O. Solvation in supercritical fluids: its effects on energy transfer and chemical reactions. *Chemical Reviews*. 1999;99(2):355-390. <https://doi.org/10.1021/cr970031l>.

2. Sun Y., Cheng J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Biore-source Technology*. 2002;83(1):1-11. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7).
3. Evstaf'ev S. N., Chechikova E. V. Transformations of wheat straw polysaccharides in dynamic conditions of subcritical autohydrolysis. *Khimija rastitel'nogo syr'ja = Chemistry of plant raw material*. 2015;1:41-49. (In Russian). <https://doi.org/10.14258/jcprm.201501426>.
4. Perkins G., Batalha N., Kumar A., Bhaskar T., Konarova M. Recent advances in liquefaction technologies for production of liquid hydrocarbon fuels from biomass and carbonaceous wastes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2019;115:109400. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109400>.
5. de Caprariis B., De Filippis P., Petruccio A., Scarsella M. Hydrothermal liquefaction of biomass: influence of temperature and biomass composition on the bio-oil production. *Fuel*. 2017;208:618-625. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.07.054>.
6. Hewetson B. B., Zhang X., Mosier N. S. Enhanced acid-catalyzed biomass conversion to hydroxymethylfurfural following cellulose solvent-and organic solvent-based lignocellulosic fractionation pretreatment. *Energy & Fuels*. 2016;30:9975-9977. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b01910>.
7. Ma P., Gao Y., Zhai H. Fractionated wheat straw lignin and its application as antioxidant. *Bio-Resources*. 2013;8(4):5581-5595. <https://doi.org/10.15376/biores.8.4.5581-5595>.
8. Chesi C., de Castro I. B. D., Clough M. T., Ferrini P., Rinaldi R. The influence of hemicellulose sugars on product distribution of early-stage conversion of lignin oligomers catalysed by Raney nickel. *ChemCatChem*. 2016;8(12):2079-2088. <https://doi.org/10.1002/cctc.201600235>.
9. Schutyser W., Van den Bosch S., Renders T., De Boe T., Koelewijn S.-F., Dewaele A., et al. Influence of bio-based solvents on the catalytic reductive fractionation of birch wood. *Green Chemistry*. 2015;17(11):5035-5045. <https://doi.org/10.1039/c5gc01442e>.
10. Galkin M. V., Smit A. T., Subbotina E., Artemenkov K. A., Bergquist J., Huijgen W. J. J., et al. Hydrogen-free catalytic fractionation of woody biomass. *ChemSusChem*. 2016;9(23):3280-3287. <https://doi.org/10.1002/cssc.201600648>.
11. Parsell T., Yohe S., Degenstein J., Jarrell T., Klein I., Gencer E., et al. A synergistic biorefinery based on catalytic conversion of lignin prior to cellulose starting from lignocellulosic biomass. *Green Chemistry*. 2015;17(3):1492-1499. <https://doi.org/10.1039/C4GC01911C>.
12. Sannigrahi P., Ragauskas A. J. Characterization of fermentation residues from the production of bio-ethanol from lignocellulosic feedstocks. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*. 2011;5(4):514-519. <https://doi.org/10.1166/jbmb.2011.1170>.
13. Kleinert M., Barth T. Towards a lignocellulosic biorefinery: direct one-step conversion of lignin to hydrogen-enriched bio-fuel. *Energy & Fuels*. 2008;22(2):1371-1379. <https://doi.org/10.1021/ef700631w>.
14. Wang Y., Wang H., Lin H., Zheng Y., Zhao J., Pelletier A., et al. Effects of solvents and catalysts in liquefaction of pinewood sawdust for the production of bio-oils. *Biomass and Bioenergy*. 2013;59:158-167. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.10.022>.
15. Sangon S., Ratanavaraha S., Ngamprasertsith S., Prasassarakich P. Coal liquefaction using supercritical toluene-tetralin mixture in a semi-continuous reactor. *Fuel Processing Technology*. 2006;87(3):201-207. <https://doi.org/10.1016/J.FUPROC.2005.07.007>.
16. Koriakin A., Nguyen H. V., Kim D.-W., Lee C.-H. Thermochemical decomposition of microcrystalline cellulose using sub- and supercritical tetralin and decalin with Fe₃O₄. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2015;54(18):5184-5194. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b00763>.
17. Kundu R., Ramsurn H. Kinetic study of non-catalytic dissolution of cellulose biochar in hydrogen donor solvent. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2020;8(31):11606-11617. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c02907>.
18. Koriakin A., Moon S., Kim D.-W., Lee C.-H. Liquefaction of oil palm empty fruit bunch using sub- and supercritical tetralin, *n*-dodecane, and their mixture. *Fuel*. 2017;208:184-192. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.07.010>.
19. Kim D.-W., Lee C.-H. Efficient conversion of extra-heavy oil into distillates using tetralin/activated carbon in a continuous reactor at elevated temperatures. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2019;140:245-254. <https://doi.org/10.1016/J.JAAP.2019.04.001>.
20. Fomina E. S., Evstaf'ev S. N. A comparative study of low-molecular-weight products extracted from wheat straw using ethanol and dimethyl carbonate. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2018;8(2):9-18. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-2-9-18>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

С. Н. Евстафьев,
д.х.н., профессор, заведующий кафедрой
химии и пищевой технологии,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Sergei N. Evstaf'ev,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Head of the Laboratory of Food Technology,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
esn@istu.edu

esn@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-3681-9478>

<https://orcid.org/0000-0002-3681-9478>

Е. С. Фомина,
к.х.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
lenafomina1982@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0307-3382>

Elena S. Fomina,
Cand. Sci. (Chemistry),
Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
lenafomina1982@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0307-3382>

Н. П. Тигунцева,
к.х.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
tignadezhda@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5348-5345>

Nadezhda P. Tiguntceva,
Cand. Sci. (Chemistry),
Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
tignadezhda@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5348-5345>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

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.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 10.06.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.*

Information about the article

*The article was submitted 10.06.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.*

УДК 547.812

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-167-172>



Синтез и характеристика тиосемикарбазонов 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пирана и их медных комплексов

Екатерина Александровна Верочкина*, Надежда Викторовна Вчисло*,
Людмила Ивановна Ларина*, Евгений Алексеевич Титов**

*Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН,

г. Иркутск, Российская Федерация

**Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований,

г. Ангарск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Верочкина Екатерина Александровна, kleptsova84@mail.ru

Аннотация. Неизвестные ранее производные тиосемикарбазида получены путем реакции конденсации 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пирана с 4-фенилтиосемикарбазидом или тиосемикарбазидом при кипячении в EtOH с высокими выходами. Продукты представляют собой окрашенные масла. Комплексы Cu(II) на основе карбазонов 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пирана были синтезированы путем взаимодействия с хлоридом меди (II). Все эти комплексы растворимы в диметилформамиде (ДМФА) и диметилсульфоксиде (ДМСО), элементный анализ показывает, что они имеют стехиометрию 1:1 металл-лиганд. Структуры полученных соединений охарактеризованы методами ИК и ^1H , ^{13}C , ^{15}N ЯМР-спектроскопии и элементного анализа. Полученные медьсодержащие комплексы с тиосемикарбазами представляют интерес в связи с их повышенной биологической активностью. Сделан первичный скрининг острой токсичности соединения тиосемикарбазон 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пирана. Анализ полученных результатов показал, что по параметру DL50 исследуемый препарат при остром внутрижелудочном пути поступления характеризуется как вещество, имеющее низкую опасность острой токсичности, и относится к V классу опасности (DL50 > 2000 мг/кг).

Ключевые слова: 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пиран, 4-фенилтиосемикарбазид, тиосемикарбазид, металлокомплексы, биологическая активность

Благодарности. Спектральные и аналитические данные были получены с использованием оборудования Байкальского аналитического центра коллективного пользования СО РАН.

Финансирование. Исследования проведены при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Иркутской области в рамках научного проекта № 20-43-380002.

Для цитирования: Верочкина Е. А., Вчисло Н. В., Ларина Л. И., Титов Е. А. Синтез и характеристика тиосемикарбазонов 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пирана и их медных комплексов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 167–172. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-167-172>.

BRIEF COMMUNICATION

Synthesis and characterization of 2,5-dibutylthio-2,3-dihydro-2-formyl-4H-pyran thiosemicarbazones and their copper complexes

Ekaterina A. Verochkina*, Nadezhda V. Vchislo*,
Lyudmila I. Larina*, Evgenii A. Titov**

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

**East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, Russian Federation

Corresponding author: Ekaterina A. Verochkina, kleptsova84@mail.ru

Abstract. Previously unknown derivatives of thiosemicarbazide were obtained in high yields by the condensation reaction of 2,5-dibutylthio-2,3-dihydro-2-formyl-4H-pyran with 4-phenylthiosemicarbazide or thiosemicarbazide when boiling in EtOH. The reaction products are represented by colored oils. Cu(II) complexes based on 2,5-dibutylthio-2,3-dihydro-2-formyl-4H-pyran carbazones were synthesized by their interaction with copper (II) chloride. All these complexes are soluble in dimethylformamide (DMF) and dimethyl sulfoxide (DMSO) and, according to elemental analysis, have a 1:1 metal-ligand stoichiometry. The obtained compounds were studied using IR and ^1H , ^{13}C , ^{15}N NMR spectroscopy, as well as elemental analysis. The obtained copper-containing complexes with thiosemicarbazones are of particular interest due to their pronounced biological activity. The thiosemicarbazone 2,5-dibutylthio-2,3-dihydro-2-formyl-4H-pyran compound was subjected to primary screening for acute toxicity. The obtained results showed that, when taken intragastrically, the studied compound can be characterized as a substance with a low risk of acute toxicity. According to the DL50 parameter, the compound belongs to the V hazard class (DL50>2000 mg/kg).

Keywords: 2,5-dibutylthio-2,3-dihydro-2-formyl-4H-pyran, 4-phenylthiosemicarbazide, thiosemicarbazide, metal complexes, biological activity

Acknowledgements. Spectral and analytical data were obtained using the equipment of the Baikal Analytical Center for Collective Use of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Funding. The research was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research and the Government of the Irkutsk Region within the framework of the scientific project no. 20-43-380002.

For citation: Verochkina E. A., Vchislo N. V., Larina L. I., Titov E. A. Synthesis and characterization of 2,5-dibutylthio-2,3-dihydro-2-formyl-4H-pyran thiosemicarbazones and their copper complexes. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):167-172. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-167-172>.

ВВЕДЕНИЕ

Производные тиосемикарбазида представляют собой важный класс органических соединений. Они легкодоступны и благодаря наличию нескольких реакционных центров широко применяются в качестве многоцелевых реагентов в органическом синтезе. С точки зрения биологической активности производные тиосемикарбазида являются полезными промежуточными соединениями и субъединицами для разработки молекул, представляющих фармацевтический или биологический интерес [1]. На основе тиосемикарбазида получены вещества против целого ряда заболеваний с широким спектром действия – противоопухолевое [2], антибактериальное и противогрибковое [3], гербицидное [4], противодиабетическое, противовоспалительное [5] и многие др.

Известно, что металлокомплексы тиосемикарбазонов гораздо более биологически активны, чем некоординированные тиосемикарбазоны, что вызывает повышенный интерес исследователей-биологов [6–8]. Поэтому синтез новых представителей этого ряда является актуальным направлением исследования. В дальнейшем эти комплексы могут найти свое применение при лечении некоторых заболеваний.

Цель настоящей работы заключалась в получении тиосемикарбазонов гетероциклического альдегида (2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пиран), который является сильным и безопасным антисептиком [9], а также в получении медных комплексов (Cu(II)) тиосемикарбазонов 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пирана.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C и ^{15}N изученных соединений зарегистрированы в ДМСО- d_6 при комнатной температуре на спектрометрах Bruker DPX-400 и AV-400 (Bruker Corporation, Германия) (400,13; 100,61 и 40,56 МГц соответственно). Химические сдвиги сигналов ^1H , ^{13}C измерены относительно ТМС и нитрометана (^{15}N). ИК-спектры соединений записаны на спектрометре Varian 3100 FT-IR (Varian Medical Systems, США) с образцом в тонкой пленке. Элементный анализ выполнен на приборе Thermo Finnigan Flash Series 1112 Elemental (Thermo Fisher Scientific, США).

В качестве исходных соединений использовали 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пиран, полученный по методике, представленной в работах [10, 11]. $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, США), этиловый спирт очищали в соответствии с общепринятыми методиками.

Синтез тиосемикарбазонов 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пирана (3a, 3b). К раствору альдегида **1** (1,0 ммоль) в EtOH (3 мл) добавляли тиосемикарбазид **2a** или **2b** (1,0 ммоль). Реакционную смесь интенсивно перемешивали при температуре 60–70 °С в течение 2 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и сушили MgSO_4 , после чего сульфат магния отфильтровывали, а растворитель удаляли в вакууме. Продукты **3a** и **3b** получали в виде желтого масла с выходами 87 и 97% соответственно.

Тиосемикарбазон 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пирана (3a). Масло желтого цвета, выход – 87%. ИК, ν , (см $^{-1}$): 1623, 1599, 1527,

1048, 880. ^1H ЯМР (DMCO-d_6), δ , м.д.: 0,83–0,86 (м, 6H, 2CH_3 в SBU), 1,31–1,37 (м, 4H, CH_2CH_3 в SBU), 1,43–1,49 (м, 4H, CH_2CH_3 в SBU), 2,11–2,17 (м, 2H, CH_2 в цикле), 2,24–2,32 (м, 2H, CH_2 в цикле), 2,52–2,58 (м, 4H, $2\text{SCH}_2\text{CH}_2$ в SBU), 6,62 (с, 1H, $=\text{CH}$), 7,52 (с, 1H, $\text{CH}=\text{N}$), 7,59 (с, 1H, NH), 8,22 (с, 1H, NH), 11,28 (с, 1H, NH); ^{13}C ЯМР (DMCO-d_6), δ , м.д.: 13,50 (CH_3 в SBU при C^*), 13,60 (CH_3 в SBU при C^*), 21,02 (CH_2CH_3 в SBU при C^*), 21,49 (CH_2CH_3 в SBU при C^*), 23,36 (CH_2 в цикле при C^*), 27,14 (SCH_2 при C^*), 28,73 (C-4), 30,99 (SCH_2CH_2 при C^*), 31,09 (SCH_2CH_2 при C^*), 31,68 (SCH_2 при C^*), 84,25 (C-2), 107,32 (C-5), 143,01 ($=\text{CH}-\text{O}$), 143,51 ($\text{CH}=\text{N}$), 178,02 (C=S). ^{15}N ЯМР (DMCO-d_6), δ , м.д.: -64,9 (при $\text{CH}=\text{N}$), -212,7 (N-C=S), -272,1 (NH_2). Вычислено, $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{S}_3\text{N}_3\text{O}$: C, 49,86; H, 7,48; N, 11,63; S, 26,60; найдено: C, 49,93; H, 7,55; N, 11,67; S, 26,66.

Тиосемикарбазон 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4Н-пирана (**3б**). Масло желтого цвета, выход – 97%. ИК, ν , (cm^{-1}): 1628, 1596, 1539, 1069, 886. ^1H ЯМР (DMCO-d_6), δ , м.д.: 0,83–0,89 (м, 6H, 2CH_3 в SBU), 1,33–1,40 (м, 4H, CH_2CH_3 в SBU), 1,46–1,52 (м, 4H, CH_2CH_3 в SBU), 2,16–2,22 (м, 4H, CH_2 в цикле), 2,52–2,58 (м, 4H, $2\text{SCH}_2\text{CH}_2$ в SBU), 6,65 (с, 1H, $=\text{CH}(\text{O})$), 7,21 (т, 1H, $J = 7,7$ Гц, p -H в Ph), 7,35 (дд, 2H, $J = 7,7$ Гц, m -H в Ph), 7,50 (д, 2H, $J = 8$ Гц, o -H в Ph), 7,65 (с, 1H, NH), 9,76 (с, 1H, NH), 11,69 (с, 1H, NH); ^{13}C ЯМР (DMCO-d_6), δ , м.д.: 13,56 (CH_3 в SBU при C^*), 13,70 (CH_3 в SBU при C^*), 21,07 (CH_2CH_3 в SBU при C^*), 21,59 (CH_2CH_3 в SBU при C^*), 23,56 (CH_2 в цикле при C^*), 27,19 (SCH_2 при C^*), 28,77 (C-4), 30,79 (SCH_2CH_2 при C^*), 31,10 (SCH_2CH_2 при C^*), 31,84 (SCH_2 при C^*), 84,35 (C-2), 107,45 (C-5), 125,58 (p -C), 125,89 (o -C), 128,23 (m -C), 143,00 ($=\text{CH}-\text{O}$), 143,27 (i -C), 144,13 ($\text{CH}=\text{N}$), 176,55 (C=S). ^{15}N ЯМР (DMCO-d_6), δ , м.д.: -66,9 (при $\text{CH}=\text{N}$), -210,1 (N-C=S), -252,3 (N-Ph).

Вычислено, $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{S}_3\text{N}_3\text{O}$: C, 57,66; H, 7,09; N, 9,61; S, 21,97; найдено: C, 58,00; H, 7,21; N, 9,65; S, 21,87.

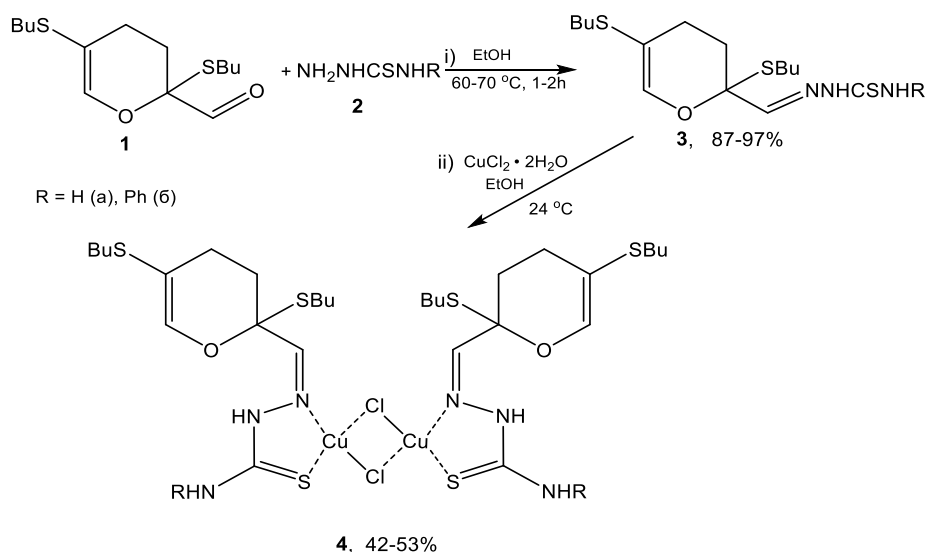
Синтез медных комплексов тиосемикарбазонов 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4Н-пирана (**4а**, **4б**). К раствору **3а** (1,0 ммоль) в EtOH (3 мл) добавляли раствор $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1,0 ммоль) в EtOH (2 мл) при перемешивании. Сразу выпадал осадок темно-зеленого цвета. Осадок отфильтровывали и сушили в вакууме. Выход комплексов **4а** и **4б** составил 42 и 53% соответственно.

Медный комплекс тиосемикарбазона 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4Н-пирана (**4а**). Порошок темно-зеленого цвета, выход – 42%. ИК, ν , (cm^{-1}): 3417, 3145, 3256, 1604, 1277, 1055, 831, 556, 452. Вычислено, $\text{C}_{30}\text{H}_{54}\text{S}_6\text{N}_6\text{O}_2\text{Cu}_2\text{Cl}_2$: C, 39,12; H, 5,91; N, 9,12; S, 20,88; Cl, 7,69; Cu, 13,79; найдено: C, 39,22; H, 5,95; N, 9,00; S, 21,00; Cl, 7,81; Cu, 13,71.

Медный комплекс тиосемикарбазона 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4Н-пирана (**4б**). Порошок темно-зеленого цвета, выход – 53%. ИК, ν , (cm^{-1}): 3435, 3127, 3256, 1628, 1550, 1499, 1437, 1271, 1043, 829, 557, 453. Вычислено, $\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{S}_6\text{N}_6\text{O}_2\text{Cu}_2\text{Cl}_2$: C, 46,97; H, 5,78; N, 7,83; S, 17,89; Cl, 6,62; Cu, 11,93; найдено: C, 47,00; H, 5,83; N, 7,80; S, 17,96; Cl, 6,63; Cu, 11,97.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Поскольку производные тиосемикарбазонов проявляют биологическую и фармакологическую активность, они нашли широкое применение в области медицинской химии. С целью получения новых биологически активных соединений нами исследовано взаимодействие гетероциклического альдегида **1** с тиосемикарбазидами **2а,б** и влияние заместителя в положении 4 тиосемикарбазидов **2** на направление и выходы продуктов реакции (рисунок, стадия i).



Взаимодействие пирана **1** с тиосемикарбазидами **2а,б** (i) и образование металлокомплексов **4** (ii)

Interaction of pyran **1** with thiosemicarbazides **2а,б** (i) and formation of metal complexes **4** (ii)

Реакцию проводили в этаноле, наилучшие выходы тиосемикарбазонов **3a,б** (87–97%) получаются при проведении реакции при температуре 60–70 °C в течение 2 ч, продукты представляют собой окрашенные масла. При более низкой температуре через 24 ч в реакционной смеси остается около 50% непрореагировавших исходных соединений, а при комнатной температуре реакция не идет вовсе из-за плохой растворимости исходных тиосемикарбазидов **2a,б**. Таким образом, характер заместителя в положении 4 тиосемикарбазида не оказывает большого влияния на выходы продуктов реакции **3a,б**.

Значительные успехи достигнуты в построении комплексов с металлами [12, 13]. Координация тиосемикарбазонов с ионами металлов полезна для усиления их активности или значительного уменьшения побочных эффектов лигандов [14, 15], кроме того, комплексные соединения тиосемикарбазонов с солями металлов обладают более выраженными противоопухолевыми свойствами [16–18], мы также синтезировали медные комплексы (Cu(II)) тиосемикарбазонов 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-

пирана (рисунок, стадия ii). Взаимодействие **3a,б** с CuCl₂·2H₂O в среде кипящего этанола приводит к мгновенному образованию комплексов **4a,б** с умеренными выходами.

Для соединения **3a** было проведено исследование острой токсичности согласно ГОСТ 32644-2014. Первичный скрининг острой токсичности показал, что при внутрибрюшинном тестировании тиосемикарбазона **3a** принадлежит к малоопасным и нетоксичным соединениям, а именно к V классу токсичности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, синтезированы неизвестные ранее тиосемикарбазоны 2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-2-формил-4H-пирана с тиосемикарбазидом **2a** и 4-фенилтиосемикарбазидом **2б**, кроме того, получены перспективные биологически активные металлокомплексы с медью. Структуры полученных соединений охарактеризованы методами ИК и ¹H, ¹³C, ¹⁵N ЯМР-спектроскопии. Неизвестное ранее соединение **3a** относится к V классу токсичности.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Metwally M. A., Bondock S., Hossam E.-A., Kandeel E.-E. M. Thiosemicarbazides: synthesis and reactions // Journal of Sulfur Chemistry. 2011. Vol. 32, no. 5. P. 489–519. <https://doi.org/10.1080/17415993.2011.601869>.
2. Desai S. B., Desai P. B., Desai K. R. Synthesis of some Schiff bases, thiazolidinones and azetidinones derived from 2,6-diaminobenzo[1,2-d:4,5-d'] bisthiazole and their anticancer activities // Heterocyclic Communications. 2001. Vol. 7, no. 1. P. 83–90. <https://doi.org/10.1515/HC.2001.7.1.83>.
3. Kumar R. S., Arunachalam S. DNA binding and antimicrobial studies of polymer–copper(II) complexes containing 1,10-phenanthroline and L-phenylalanine ligands // European Journal of Medicinal Chemistry. 2009. Vol. 44, no. 5. P. 1878–1883. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.11.001>.
4. Samadhiya S., Halve A. Synthetic utility of Schiff bases as potential herbicidal agents // Oriental Journal of Chemistry. 2001. Vol. 17, no. 1. P. 119–122.
5. Vanko J., Marek J., Travnicek Z., Racanska E., Muselik J., Svajlenova O. Synthesis, structural characterization, antiradical and antidiabetic activities of copper(II) and zinc(II) Schiff base complexes derived from salicylaldehyde and β-alanine // Journal of Inorganic Biochemistry. 2008. Vol. 102, no. 4. P. 595–605. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2007.10.003>.
6. Tarushi A., Polatoglou E., Kljun J., Turel I., Psomas G., Kessissoglou D. P. Interaction of Zn(II) with quinolone drugs: structure and biological evaluation // Dalton Transactions. 2011. Vol. 40. P. 9461–9473. <https://doi.org/10.1039/c1dt10870k>.
7. Andres S. A., Bajaj K., Vishnosky N. S., Peterson M. A., Mashuta M. S., Buchanan R. M., et al. Synthesis, characterization, and biological activity of hybrid thiosemicarbazone–alkylthiocarbamate metal complexes // Inorganic Chemistry. 2020. Vol. 59, no. 7. P. 4924–4935. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c00182>.
8. Laverick R. J., Zhang N., Reid E., Kim J., Kilpin K. J., Kitchen J. A. Solution processible Co(III) quinoline-thiosemicarbazone complexes: synthesis, structure extension, and Langmuir-Blodgett deposition studies // Journal of Coordination Chemistry. 2021. Vol. 74, no. 1-3. P. 321–340. <https://doi.org/10.1080/00958972.2021.1879384>.
9. Пат. № 1727243, СССР. Применение 2-формил-2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-4H-пирана в качестве дезинфицирующего средства / Н. П. Баркова, Н. А. Кейко, Л. Г. Степанова, М. Г. Воронков, А. А. Портяной, Т. И. Никифорова; патентообладатель Иркутский институт органической химии СО РАН. Заявл. 16.02.1990; опубл. 20.10.1999. Бюл. № 33.
10. А.С. № 297635, СССР. Способ получения 2-формил-2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-γ-пиранов / М. Ф. Шостаковский, Н. А. Кейко, Л. Г. Степанова, Е. Б. Пышная. Заявл. 16.10.1969; опубл. 11.03.1971. Бюл. № 10.
11. Кейко Н. А., Степанова Л. Г., Калихман И. Д., Воронков М. Г. Новые 2-формил-2,5-дибутилтио-2,3-дигидро-γ-пираны // Известия Академии наук СССР. Серия химическая. 1977. Т. 7. С. 1652–1655.
12. Prajapati N. P., Patel H. D. Novel thiosemicarbazone derivatives and their metal complexes: recent development // Synthetic Communications. 2019. Vol. 49, no. 21. P. 2767–2804. <https://doi.org/10.1080/00397911.2019.1649432>.

13. Kostas I. D., Steele B. R. Thiosemicarbazone complexes of transition metals as catalysts for cross-coupling reactions // *Catalysts*. 2020. Vol. 10. P. 1107–1147. <https://doi.org/10.3390/catal10101107>.

14. Lin L. F., Lee S. J., Chen C.-T. Studies on potential antitumor agents (II). Thiosemicarbazones of *p*-bromophenyl- and *o*-chlorophenylpyridine-2-carboxaldehydes // *Heterocycles*. 1977. Vol. 7, no. 1. P. 347–352. <https://doi.org/10.3987/S-1977-01-0347>.

15. Gatto C. C., Lima F. C., Miguel P. M. Copper(II) complexes with semicarbazones: synthesis, characterization and noncovalent interactions in their crystal structures // *Journal of Chemical Sciences*. 2020. P. 132–146. Article number 146. <https://doi.org/10.1007/s12039-020-01847-5>.

16. Todorović T. R., Vukašinović J., Portalone G., Suleiman S., Gligorijević N., Bjelogrić S., et al.

(Chalcogen)semicarbazones and their cobalt complexes differentiate HL-60 myeloid leukaemia cells and are cytotoxic towards tumor cell lines // *Medicinal Chemistry Communications*. 2017. Vol. 8, no. 1. P. 103–111. <https://doi.org/10.1039/c6md00501b>.

17. Khan T., Ahmad R., Joshi S., Khan A. R. Anticancer potential of metal thiosemicarbazone complexes: a review // *Der Chemica Sinica*. 2015. Vol. 6, no. 12. P. 1–11.

18. Palamarcu O., Milunović M. N. M., Sîrbu A., Stratulat E., Pui A., Gligorijević N., et al. Investigation of the cytotoxic potential of methyl imidazole-derived thiosemicarbazones and their copper(II) complexes with dichloroacetate as a co-ligand // *New Journal of Chemistry*. 2019. Vol. 43, no. 3. P. 1340–1357. <https://doi.org/10.1039/C8NJ04041A>.

REFERENCES

1. Metwally M. A., Bondock S., Hossam E.-A., Kandee E.-E. M. Thiosemicarbazides: synthesis and reactions. *Journal of Sulfur Chemistry*. 2011;32(5):489-519. <https://doi.org/10.1080/17415993.2011.601869>.

2. Desai S. B., Desai P. B., Desai K. R. Synthesis of some Schiff bases, thiazolidinones and azetidinones derived from 2,6-diaminobenzo[1,2-d:4,5-d'] bisthiazole and their anticancer activities. *Heterocyclic Communications*. 2001;7(1):83-90. <https://doi.org/10.1515/HC.2001.7.1.83>.

3. Kumar R. S., Arunachalam S. DNA binding and antimicrobial studies of polymer-copper(II) complexes containing 1,10-phenanthroline and L-phenylalanine ligands. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2009;44(5):1878-1883. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.11.001>.

4. Samadhiya S., Halve A. Synthetic utility of Schiff bases as potential herbicidal agents. *Oriental Journal of Chemistry*. 2001;17(1):119-122.

5. Vanco J., Marek J., Travnicek Z., Racanska E., Muselik J., Svajlenova O. Synthesis, structural characterization, antiradical and antidiabetic activities of copper(II) and zinc(II) Schiff base complexes derived from salicylaldehyde and β -alanine. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2008;102(4):595-605. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2007.10.003>.

6. Tarushi A., Polatoglou E., Kljun J., Turel I., Psomas G., Kessissoglou D. P. Interaction of Zn(II) with quinolone drugs: structure and biological evaluation. *Dalton Transactions*. 2011;40:9461-9473. <https://doi.org/10.1039/c1dt10870k>.

7. Andres S. A., Bajaj K., Vishnosky N. S., Peterson M. A., Mashuta M. S., Buchanan R. M., et al. Synthesis, characterization, and biological activity of hybrid thiosemicarbazone-alkylthiocarbamate metal complexes. *Inorganic Chemistry*. 2020;59(7):4924-4935. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c00182>.

8. Laverick R. J., Zhang N., Reid E., Kim J., Kilpin K. J., Kitchen J. A. Solution processible Co(III) quinoline-thiosemicarbazone complexes: synthesis, structure extension, and Langmuir-Blodgett deposition studies.

Journal of Coordination Chemistry. 2021;74(1-3):321-340. <https://doi.org/10.1080/00958972.2021.1879384>.

9. Barkova N. P., Keiko N. A., Stepanova L. G., Voronkov M. G., Portyanoi A. A., Nikiforova T. I. Application of 2-formyl-2,5-dibutylthio-2,3-dihydro-4H-pyran as a disinfectant. Patent USSR, no. 1727243; 1999. (In Russian).

10. Shostakovskii M. F., Keiko N. A., Stepanova L. G., Pyshnaya E. B. Method for the preparation of 2-formyl-2,5-dibutylthio-2,3-dihydro- γ -pyrans. Certificate of authorship USSR, no. 297635; 1971. (In Russian).

11. Keiko N. A., Stepanova L. G., Kalikhman I. D., Voronkov M. G. New 2-formyl-2,5-dibutylthio-2,3-dihydro- γ -pyrans. *Izvestiya Akademii nauk SSSR. Seriya khimicheskaya*. 1977;7:1652-1655. (In Russian).

12. Prajapati N. P., Patel H. D. Novel thiosemicarbazone derivatives and their metal complexes: recent development. *Synthetic Communications*. 2019;49(21):2767-2804. <https://doi.org/10.1080/00397911.2019.1649432>.

13. Kostas I. D., Steele B. R. Thiosemicarbazone complexes of transition metals as catalysts for cross-coupling reactions. *Catalysts*. 2020;10:1107-1147. <https://doi.org/10.3390/catal10101107>.

14. Lin L. F., Lee S. J., Chen C.-T. Studies on potential antitumor agents (II). Thiosemicarbazones of *p*-bromophenyl- and *o*-chlorophenylpyridine-2-carboxaldehydes. *Heterocycles*. 1977;7(1):347-352. <https://doi.org/10.3987/S-1977-01-0347>.

15. Gatto C. C., Lima F. C., Miguel P. M. Copper(II) complexes with semicarbazones: synthesis, characterization and noncovalent interactions in their crystal structures. *Journal of Chemical Sciences*. 2020;132-146. Article number 146. <https://doi.org/10.1007/s12039-020-01847-5>.

16. Todorović T. R., Vukašinović J., Portalone G., Suleiman S., Gligorijević N., Bjelogrić S., et al. (Chalcogen)semicarbazones and their cobalt complexes differentiate HL-60 myeloid leukaemia cells and are cytotoxic towards tumor cell lines. *Medicinal Chemistry Communications*. 2017;8(1):103-111. <https://doi.org/10.1039/c6md00501b>.

0.1039/c6md00501b.

17. Khan T., Ahmad R., Joshi S., Khan A. R. Anti-cancer potential of metal thiosemicarbazone complexes: a review. *Der Chemica Sinica*. 2015;6(12):1-11.

18. Palamarcu O., Milunović M. N. M., Sîrbu A., Stratulat E., Pui A., Gligorijevic N., et al. Investiga-

tion of the cytotoxic potential of methyl imidazole-derived thiosemicarbazones and their copper(II) complexes with dichloroacetate as a co-ligand. *New Journal of Chemistry*. 2019;43(3):1340-1357. <https://doi.org/10.1039/C8NJ04041A>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Е. А. Верочкина,

к.х.н., научный сотрудник,
Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского
СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
kleptsova84@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4907-5612>

Н. В. Вчисло,

к.х.н., научный сотрудник,
Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского
СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
vchislo@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1921-0257>

Л. И. Ларина,

д.х.н., ведущий научный сотрудник,
Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского
СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
larina@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7388-712x>

Е. А. Титов,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Восточно-Сибирский институт
медико-экологических исследований,
665827, г. Ангарск, 12-А микрорайон, 3,
Российская Федерация,
g57097@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0665-8060>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-
тельный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 07.06.2021.
Одобрена после рецензирования 15.02.2022.
Принята к публикации 28.02.2022.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina A. Verochkina,

Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
kleptsova84@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4907-5612>

Nadezhda V. Vchislo,

Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
vchislo@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1921-0257>

Lyudmila I. Larina,

Dr. Sci. (Chemistry), Leading Researcher,
A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
larina@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7388-712x>

Evgenii A. Titov,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
East-Siberian Institute of Medical and Ecological
Research,
12a microdistrict, 3, Angarsk, 665827,
Russian Federation,
g57097@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0665-8060>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests re-
garding the publication of this article.

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

Information about the article

The article was submitted 07.06.2021.
Approved after reviewing 15.02.2022.
Accepted for publication 28.02.2022.

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 12 N 1 (40) 2022

12+

PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
Applied chemistry and biotechnology
Volume 12 No. 1 2022

Редактор Л.М. Щепина
Перевод на английский язык: Thomas A. Beavitt, Anastasia Stošić,
Н.Г. Попова, Е.А. Привалова
Компьютерный набор и верстка А.В. Куртовой
Ответственный за выпуск Ю.Н. Пожидаев

Дата выхода в свет 31.03.2022. Формат 60 x 90 / 8.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. л. 22,5.
Тираж 500 экз. Зак. 23. Поз. плана 5н.

Отпечатано в типографии издательства
ФГБОУ ВО «Иркутский национальный
исследовательский технический университет»
Адрес типографии:
664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 81/12А

Издание распространяется бесплатно
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83