

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

12+

Том 12 N 2

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 2 2022



ИЗДАТЕЛЬСТВО
Иркутского национального исследовательского
технического университета



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия и биотехнология
Том 12 N 2 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 ООО «Урал-Пресс» – 41903

Адрес ООО «Урал-Пресс»: 620026, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Мамина-Сибиряка, д.130

Адрес учредителя и издателя:

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

Адрес редакции:

664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83, ауд. Е-211

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 2 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 code in Ural-Press LLC: 41903

The postal address of Ural-Press LLC: 130 Mamin-Sibiryak st.,
Yekaterinburg 620026, Russia

Address of the founder and publisher:

83 Lermontov St., Irkutsk 664074, Russian Federation

Editorial address:

E-211, 83 Lermontov St., Irkutsk 664074, Russian Federation,
E-mail: biochem@istu.edu

СОДЕРЖАНИЕ

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Юй Б., Хамад Ф. Б., Ван Хекке К., Верпоорт Ф. Инденилиденовые комплексы рутения, содержащие бис(<i>N</i> -алкил/ <i>N'</i> -мезитил)гетероциклические карбеновые лиганды.....	180
Лебедева О. В., Сипкина Е. И. Полимерные композиты и их свойства.....	192
Часова В. О., Фукина Д. Г., Боряков А. В., Жижин Е. В., Королева А. В., Семенычева Л. Л., Сулейманов Е. В. Влияние превращений метилметакрилата при фотокатализе в присутствии $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ на изменение поверхности сложного оксида.....	208
Пономарева П. А., Каныгина О. Н., Сальникова Е. В. Термодинамические и кинетические параметры экстракции йода из хлоридных водных растворов.....	222

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Солонго А., Дончева Ц., Дэлгэрбат Б., Сэлэнгэ Д. Обзор фитохимических и некоторых исследований биологической активности <i>Leptopyrum fumarioides</i> (L.) Reichenb.	231
Белов Д. В., Беляев С. Н. Перспективы переработки пластиковых отходов на основе полиэтиленгликольтерефталата с применением живых систем (обзор).....	238
Червоткина Д. Р., Борисова А. В. Антимикробные препараты природного происхождения: обзор свойств и перспективы применения.....	254
Ломоватская Л. А., Филинова Н. В., Романенко А. С. Влияние высокой инфекционной нагрузки бактериального возбудителя кольцевой гнили картофеля на изменение уровней пероксида водорода и цАМФ в трансгенных растениях картофеля <i>in vitro</i> с повышенным содержанием эндогенного пероксида водорода.....	268
Ашуров А. И., Шерова З. У., Насриддинов А. С., Усманова С. Р., Икроми Х. И., Мухидинов З. К. Макромолекулярный состав инулина различного происхождения в концентрированном растворе.....	279
Черепанов И. С., Белков А. А. Синтез и изучение гидролитической и термоокислительной стабильности <i>п</i> -(<i>N</i> -β- <i>D</i> -маннопиранозил)аминобензойной кислоты...	291
Максимова Л. А., Маркова Ю. А., Турская А. Л., Быбин В. А. Влияние низких концентраций кофеина и колхицина на рост и биопленкообразование микроорганизмов.....	299
Фомичева Н. В., Смирнова Ю. Д., Рабинович Г. Ю. Влияние нового гуминового препарата на ремедиацию нефтезагрязненной почвы.....	310
Чугунова О. В., Вяткин А. В., Тиунов В. М., Чеботок Е. М. Исследование антиоксидантных показателей ягод красной смородины сортов, районированных в Свердловской области.....	321

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Говорин А. С., Коновалов Н. П., Губанов Н. Д., Рыбарчук О. В., Ищук Н. А. Оценка влияния продукта этерификации жирных кислот талловых масел на свойства дизельного топлива.....	330
Самохвалов Н. М., Виноградов В. В. Эффективность очистки газа от пыли в щелевом фильтре.....	339

CONTENTS

CHEMICAL SCIENCES

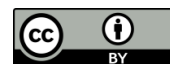
Yu B., Hamad F. B., Van Hecke K., Verpoort F. Ruthenium indenylidene complexes bearing <i>bis</i> (<i>N</i> -Alkyl/ <i>N'</i> -Mesityl)-sided heterocyclic carbene ligands.....	180
Lebedeva O. V., Sipkina E. I. Polymer composites and their properties.....	192
Chasova V. O., Fukina D. G., Boryakov A. V., Zhizhin E. V., Koroleva A. V., Semenycheva L. L., Suleimanov E. V. The effect of methyl methacrylate transformations during photocatalysis in the presence of $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ on the change of the complex oxide surface.....	208
Ponomareva P. A., Kanygina O. N., Salnikova E. V. Thermodynamic and kinetic parameters of iodine extraction from chloride aqueous solutions.....	222

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Solongo A., Doncheva Ts., Delgerbat B., Selenge D. Review of phytochemical and some biological activity of <i>Leptopyrum fumarioides</i> (L.) Reichenb.....	231
Belov D. V., Belyaev S. N. Prospects for recycling plastic waste based on polyethylene glycol terephthalate using living systems (a review).....	238
Chervotkina D. R., Borisova A. V. Antimicrobial substances of natural origin: a review of properties and prospects.....	254
Lomovatskaya L. A., Filinova N. V., Romanenko A. S. Influence of the high infectious load of the causal agent of bacterial ring rot of potatoes on variations in hydrogen peroxide and cAMP levels in transgenic potato plants <i>in vitro</i> with increased contents of endogenous hydrogen peroxide.....	268
Ashurov A. I., Sherova Z. U., Nasriddinov A. S., Usmanova S. R., Ikromi Kh. I., Muhidinov Z. K. Macromolecular composition of inulins of various origin in concentrated solution.....	279
Cherepanov I. S., Belkov A. A. Synthesis and study of the hydrolytic and thermo-oxidative stability of <i>p</i> -(<i>N</i> - β - <i>D</i> -mannopyranosyl)aminobenzoic acid.....	291
Maksimova L. A., Markova J. A., Turskaya A. L., Bybin V. A. Effect of low concentrations of caffeine and colchicine on microbial growth and biofilm formation.....	299
Fomicheva N. V., Smirnova Yu. D., Rabinovich G. Yu. Influence of new humic preparation on remediation of oil-contaminated soil.....	310
Chugunova O. V., Vyatkin A. V., Tiunov V. M., Chebotok E. M. Antioxidant indices of red currant cultivars grown in the Sverdlovsk Oblast.....	321

CHEMICAL TECHNOLOGY

Govorin A. S., Konovalov N. P., Gubanov N. D., Rybarchuk O. V., Ishchuk N. A. Evaluation of the effect of the fatty acid esterification product of tall oils on the properties of diesel fuel.....	330
Samokhvalov N. M., Vinogradov V. V. Efficiency of dusted gas cleaning using a slotted filter.....	339



Ruthenium indenylidene complexes bearing *bis*(*N*-Alkyl/*N'*-Mesityl)-sided heterocyclic carbene ligands¹

Baoyi Yu*, Fatma B. Hamad**, Kristof Van Hecke***, Francis Verpoort****

*Key Laboratory of Urban Agriculture (North China), Ministry of Agriculture, College of Biosciences and Resources Environment, Beijing University of Agriculture, Beijing, China

**College of Education, Dar es Salaam University, Dar es Salaam, Tanzania

***Department of Chemistry, Ghent University, Ghent, Belgium

****State Key Laboratory of Advanced Technology for Material Synthesis and Processing, Wuhan University of Technology

Corresponding author: Francis Verpoort, Francis@whut.edu.cn

Abstract. We report on the synthesis and characterization of new ruthenium indenylidene complexes bearing two unsymmetrical *N*-heterocyclic carbene (NHC) ligands denoted as RuCl₂(3-phenyl-1-indenylidene)*bis*(1-mesityl-3-*R*-4,5-dihydroimidazole-2-ylidene) in which *R* is methyl **7a** and cyclohexyl **7b**. Complexes **7a** and **7b** were analyzed using single-crystal X-ray diffraction analysis, elemental analysis, IR, NMR spectroscopy, and HRMS. The catalytic activities of complexes **7a** and **7b** were evaluated in olefin metathesis reactions: ring-opening metathesis polymerization (ROMP) of *cis,cis*-1,5-cyclooctadiene (COD) and ring-closing metathesis (RCM) of diethyl diallyl malonate (DEDM) as well as in the isomerization of allylic alcohols. Complexes **7a** and **7b** failed to initiate the reactions at room temperature in all tested reactions, which might be due to the high thermal stability and low degree of lability of the Ru-CNHC bonds. At 80 °C, the complex **7a** showed the best performance due to an increased initiation and a decreased steric obstruction towards the incoming substrates.

Keywords: homogeneous catalysis, indenylidene, olefin metathesis, ruthenium catalysts

Acknowledgements. Baoyi Yu thanks Research Foundation for Young Researcher (Grant/Award Number: SXQN201701; 5056016013/001) and 2018 Scientific and Technological Innovation Service Foundation – Basic Scientific Research Business Fee (5075227115/020). Fatma B. Hamad would like to acknowledge the State Key Lab of Advanced Technology for Materials Synthesis and Processing for financial support (Wuhan University of Technology). Kristof Van Hecke thanks the Hercules Foundation (project AUG/11/029 “3D-SPACE: 3D Structural Platform Aiming for Chemical Excellence”) and the Special Research Fund (BOF) – UGent (project no. 01N03217) for funding. Fatma B. Hamad would like to acknowledge the Dar es Salaam University College of Education and Schlumberger Foundation for funding.

For citation: Yu B., Hamad F. B., Van Hecke K., Verpoort F. Ruthenium indenylidene complexes bearing *bis*(*N*-Alkyl/*N'*-Mesityl)-sided heterocyclic carbene ligands. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):180-191. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-180-191>.

¹Supplementary material (Appendix A) related to this article can be found, in the online version at doi: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-180-191>

Дополнительный материал (Приложение А), относящийся к этой статье, можно найти в онлайн-версии по адресу <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-180-191>

Инденилиденовые комплексы рутения, содержащие бис(*N*-алкил/*N'*-мезитил) гетероциклические карбеновые лиганды¹

Баойи Юй*, Фатъма Б. Хамад**, Кристоф Ван Хекке***, Фрэнсис Верпоорт****

*Ключевая лаборатория городского сельского хозяйства (Северный Китай), Министерство сельского хозяйства, Колледж биологических наук и природных ресурсов Пекинского сельскохозяйственного университета, г. Пекин, Китай

**Педагогический колледж Дар-эс-Саламского университета, г. Дар-эс-Салам, Танзания

***Гентский университет, г. Гент, Бельгия

****Государственная ключевая лаборатория передовых технологий синтеза и обработки материалов, Уханьский технологический университет, г. Ухань, Китай

Автор, ответственный за переписку: Фрэнсис Верпоорт, Francis@whut.edu.cn

Аннотация. В работе сообщается о синтезе и исследовании характеристик новых инденилиденовых комплексов рутения с двумя несимметричными *N*-гетероциклическими карбеновыми лигандами (NHC), обозначаемыми как RuCl₂(3-фенил-1-инденилиден)бис(1-мезитил-3-*R*-4,5-дигидроимидазол-2-илиден), в котором *R* представляет собой метил **7a** и циклогексил **7b**. Комплексы **7a** и **7b** анализировали методами рентгеноструктурного анализа монокристаллов, элементного анализа, ИК-, ЯМР-спектроскопии и HRMS. Каталитическую активность комплексов **7a** и **7b** оценивали в реакциях метатезиса олефинов: метатезисной полимеризации с раскрытием цикла (ROMP) цис,цис-1,5-циклооктадиена (COD) и метатезиса с замыканием цикла (RCM) диэтилдиаллилмалоната (DEDAM), а также при изомеризации аллиловых спиртов. Комплексы **7a** и **7b** не инициировали реакции при комнатной температуре во всех исследованных реакциях, что может быть связано с высокой термической стабильностью и низкой степенью лабильности связей Ru–C_{NHC}. При 80 °C комплекс **7a** показал наилучшие характеристики благодаря усилению инициирования и уменьшению стерической непроницаемости по отношению к поступающим субстратам.

Ключевые слова: гомогенный катализ, инденилиден, метатезис олефинов, рутениевые катализаторы

Благодарности. Баойи Юй благодарит Исследовательский фонд для молодых исследователей (номер гранта/награды: SXQN201701; 5056016013/001) и Фонд научно-технических инноваций 2018 г. – Комиссионный сбор за фундаментальные научные исследования (5075227115/020). Фатъма Б. Хамад выражает признательность Государственной ключевой лаборатории передовых технологий синтеза и обработки материалов за финансовую поддержку (Уханьский технологический университет). Кристоф Ван Хекке благодарит Фонд Hercules (проект AUGЕ/11/029 «3D-SPACE: 3D Structural Platform, нацеленный на химическое совершенство») и Фонд специальных исследований (BOF) – UGent (проект № 01N03217) за финансирование. Фатъма Б. Хамад выражает признательность Педагогическому колледжу Дар-эс-Саламского университета и Фонду Шлюмберге за финансирование.

Для цитирования: Инденилиденовые комплексы рутения, содержащие бис(*N*-алкил/*N'*-мезитил) гетероциклические карбеновые лиганды // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. № 2. С. 180–191. (In English). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-180-191>.

INTRODUCTION

Ruthenium-catalyzed olefin metathesis is among the essential methods for carbon-carbon double bond formation/redistribution, utilized widely in both organic and polymer synthesis [1–10]. Contributions made by R. H. Grubbs in olefin metathesis are highly acknowledged due to the invention of a 16-electrons ruthenium benzylidene complex (e.g., **1a**, Fig. 1) [11, 12]. Complex **1a** bearing a mono-*N*-heterocyclic

carbene (NHC) ligand named “Grubbs’ second-generation catalyst” shows better catalytic performance in terms of both efficiency and stability relative to its *bis*-PCy₃ analogs [1–10]. The strong δ -donating and π -back donating properties enabled NHC ligands to be firmly bonded to the metal center and stabilizing the formed complexes, leading to wide utilization of NHC ligands in organometallic complexes [13–16].

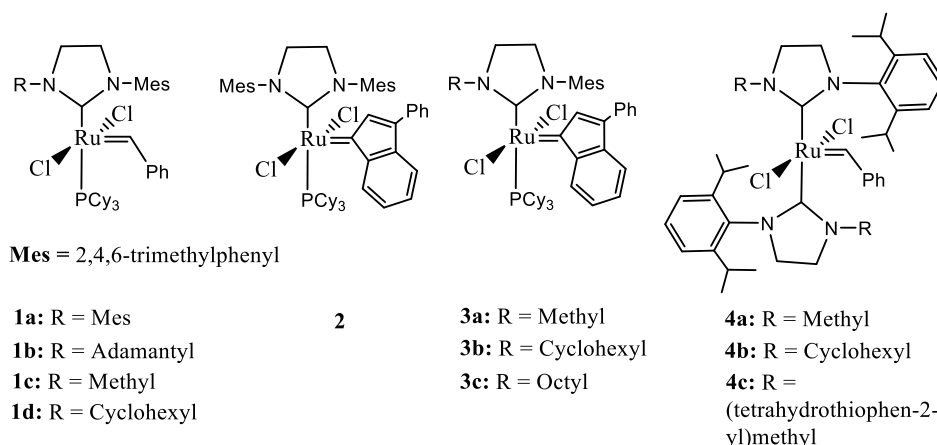


Fig. 1. Selected ruthenium metathesis catalysts

Рис. 1. Выбранные рутениевые катализаторы метатезисной полимеризации

The catalysts' reactivity performance can be significantly affected by electronic and steric modification of the NHC ligands [13–16]. The unsymmetrical transformation is worth noticing since it provides a dual-site configuration in the vicinity of the ruthenium core due to the two different steric environments [17–19]. The dual-site configuration can lead to catalysts with improved selectivity in various metathesis reactions such as *E:Z* selectivity in cross-metathesis (CM), selectivity in diastereo ring-closing metathesis (RCM), and *cis*-selectivity in ring-opening metathesis (ROMP).

The better-donating properties of aliphatic groups have attracted much attention. Mol's group [20] reported an *N*-adamantyl/*N'*-mesityl sided NHC containing ruthenium complex **1b** (Fig. 1). However, the anticipated increase in catalytic efficiency and stability due to the increased donation was not found as complex **1b** showed poor catalytic activity in olefin metathesis reactions. The low catalytic ability of complex **1b** was due to the greater-sized adamantyl group caused a steric repulsion towards the incoming substrate during metatheses progress. To gain more insight into the structure-activity relationship, catalysts **1c-d** bearing *N*-alkyl/*N'*-mesityl heterocyclic carbenes with decreased steric bulkiness (Fig. 1) were synthesized and evaluated in metathesis reactions [21, 22]. Complex **1c**, coordinated with the smallest alkyl (methyl) group, exhibited activity comparable to the parent catalyst **1a**.

In some cases, the isomerization reaction is favored over CM or RCM, applying Grubbs' type complexes. For example, complex **1a** efficiently mediated isomerization of a range of allyl and homoallyl ethers to the corresponding enol ethers and subsequent to alcohols upon acid treatment [23]. The isomerization of allylamine and *N*-allyllactam [24] was instead afforded than CM and RCM reactions, respectively, using complex **1a**. Rutjes et al. [25] encountered remarkable isomerization of allenamides to dienamides catalyzed by complex **1a** in the RCM of enamides.

Ruthenium indenylidene complexes are considered another unique class of olefin metathesis catalysts, which combine an easy way of preparation, comparative catalytic activities in the metathesis reactions, and relatively greater stability [1–10]. The reports on the strength of *N*-alkyl/*N'*-aryl heterocyclic carbenes in influencing the catalytic efficiency of ruthenium indenylidene pre-catalysts are also available [26–30]. The ruthenium indenylidene complexes (**3a-c**) reported [29], showed faster catalytic initiation than the reference complex **2**. The less sterically hindered complex **3a** performed better than others in terms of both catalytic initiation and efficiency. While the improved initiation was attributed to stronger donating properties, the better catalytic efficiency was associated with steric properties. In other strategy [31], the mixed ligands coordinated complexes bearing NHC and NHC_{ewg} were developed, and the precatalysts usually needed higher temperature to initiate the activity. During the catalytic process, the electron deficient NHC functioned as the leaving group to generate the active species.

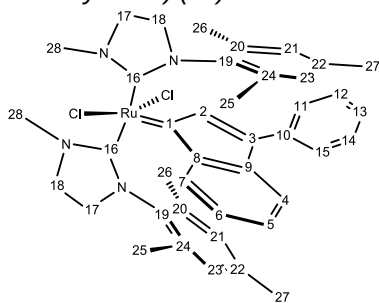
Some of the alkyl-based unsymmetrical heterocyclic carbene ligands have shown an exceptional tendency to form *bis*-NHCs coordinated complexes. Complexes (**4a-c**), for example, were obtained preferentially and exhibited substantial olefin metathesis activity at higher temperatures [22, 32]. Ruthenium indenylidene complexes coordinated with *bis*-(*N*-cycloalkyl/*N'*-mesityl) heterocyclic carbenes where cycloalkyl is cyclopentyl or cyclododecyl were also noted to be formed competitively [26]. Based on the previous report, we explored the utility of ruthenium indenylidene catalysts bearing *bis*-(*N*-alkyl/*N'*-mesityl)-heterocyclic carbene ligands.

EXPERIMENTAL SECTION

General procedure for the preparation of complexes 7a-b. In an oven-dried Schlenk vessel, KHMDS (4 eq., 6.4 mL, 3.2 mmol) (0.5 M toluene solution) was added to a suspension of imidazolium salt (3 eq., 2.4 mmol) in dry toluene (24 mL) at r.t.

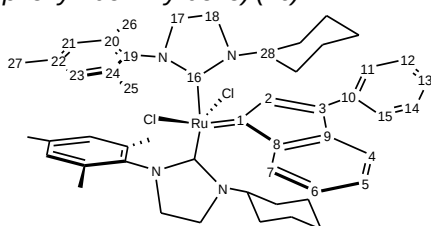
and the resulting solution was vigorously stirred for 30 minutes. The solution was then added to the reactor containing a solution of $\text{RuCl}_2(3\text{-phenyl-1-indenylidene})(\text{PCy}_3)_2$ (**6**) (1eq., 0.74 g, 0.8 mmol) in toluene (16 mL) and further stirred overnight. Purification using silica gel chromatography (EtOAc for **7a** and hexane:EtOAc = 60:1 for **7b**) afforded a brown solid. After that, the solid was rinsed three times with pentane and three times with methanol.

$\text{RuCl}_2\text{bis}(1\text{-mesityl-3-methylimidazolidin-2-ylidene})(3\text{-phenyl-1-indenylidene})$ (**7a**):



Brown powder (0.45 g, Yield: 74%). The X-ray structure of complex **7a** was measured using the crystals, which were grown up by evaporation of a complex solution in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{hexane}$. Anal. Calcd. (%) for $\text{C}_{41}\text{H}_{46}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{Ru}$: C, 64.22; H, 6.05; N, 7.31. found (%): C, 64.53; H, 6.00; N, 7.15; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , TMS, 20 °C): δ 7.98 (d, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, H-7), 7.67 (d, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-11, H-15), 7.50 (t, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-13), 7.40 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6$ Hz, H-12, H-14), 7.08 (t, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, H-5), 7.03 (t, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, H-6), 6.79 (d, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-4), 6.77 (s, 1 H, H-2), 6.21 (s, 1 H, H-21), 5.78 (s, 1 H, H-23), 4.16 (s, 6 H, H-28), 3.87–3.91 (m, 2 H, H-17), 3.51–3.67 (m, 2 H, H-18), 1.98 (s, 6 H, H-26), 1.77 (s, 6 H, H-25), 1.73 (s, 6 H, H-27); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{NMR}$ (126 MHz, CDCl_3 , 20 °C): δ 299.2 (C-1), 219.6 (C-16), 142.7 (C-8), 139.6 (C-9), 136.9 (C-10), 136.7 (C-22), 136.6 (C-20), 136.43 (C-24), 136.38 (C-3), 136.3 (C-19), 135.4 (C-2), 128.64 (C-12, C-14), 128.61 (C-21), 128.2 (C-23), 127.3 (C-7), 127.2 (C-13), 127.7 (C-6), 126.6 (C-11, C-15), 126.2 (C-5), 115.0 (C-4), 52.5 (C-17), 52.0 (C-18), 38.2 (C-28), 20.8 (C-27), 18.4 (C-25), 18.2 (C-26); IR (Neat): $\nu = 2946, 2915, 2880, 1503, 1490, 1451, 1376, 1357, 1334, 1292, 1259, 1236, 1175, 1161, 1073, 1037, 1029, 1010, 991, 888, 850, 837, 778, 700, 756, 701, 654$; ESI-MS: $[\text{M}]^+$ calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{46}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{Ru}$, 766.2143; found: 766.2122; $[\text{M-Cl}]^+$ calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{46}\text{ClN}_4\text{Ru}$, 731.2454; found: 731.2458.

$\text{RuCl}_2\text{bis}(1\text{-cyclohexyl-3-mesitylimidazolidin-2-ylidene})(3\text{-phenylinden-1-ylidene})$ (**7b**):



Brown powder (0.59 g, Yield: 82%). The X-ray structure of complex **7b** was measured using the crystals, which were grown up by evaporation of a complex solution in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{hexane}$. The assignments and identification of resonances for C19, C20, C22, C24 could not be achieved because of the low intensity of the carbons signals in the NHC group on the $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{NMR}$ spectrum. Anal. Calcd. (%) for $\text{C}_{51}\text{H}_{62}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{Ru}$: C, 67.83; H, 6.92; N, 6.20. found (%): C, 67.66; H, 6.85; N, 6.13; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , TMS, 20 °C): δ 8.47 (d, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, H-7), 7.87 (d, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6$ Hz, H-11, H-15), 7.54 (d, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, H-13), 7.47 (t, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-5), 7.42 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-12, H-14), 7.36 (t, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-6), 7.20 (d, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-4), 7.05 (s, 1 H, H-2), 7.01 (s, 2 H, H-21/H-23), 6.97 (s, 2 H, H-21/H-23), 3.31–3.83 (m, 8 H, H-17/H-18), 2.43 (s, 6 H, H-27), 2.83 (s, 3 H, H-25/H-26), 2.74 (s, 3 H, H-25/H-26), 2.68 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 11.0$ Hz, H-28), 1.67 (s, 2 H, H-Cy), 1.52 (s, 6 H, H-25/26), 1.13–1.38 (m, 8 H, H-Cy), 1.00–1.11 (m, 2 H, H-Cy), 0.88 (s, 2 H, H-Cy), 0.55–0.77 (m, 6 H, H-Cy); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{NMR}$ (126 MHz, CDCl_3 , 20 °C): δ 300.4 (C-1), 206.6 (C-16), 204.3 (C-16), 144.2 (C-3), 141.2 (C-9), 140.7 (C-8), 137.7 (C-2), 137.0 (C-10), 129.9 (C-21/C23), 129.7 (C-21/C23), 129.3 (C-5), 129.2 (C-6), 129.1 (C-12/C-14), 129.0 (C-21/C23), 128.9 (C-21/C-23), 128.3 (C-7), 128.1 (C-13), 126.2 (C-11, C-15), 117.4 (C-4), 56.1 (C-28), 55.8 (C-21), 51.8, 51.4, 44.1, 43.6 (C-17/C18), 34.1, 33.7, 32.0, 31.7, 30.0, 29.7, 25.6, 25.2 (C-Cy), 21.3 (C-27), 20.3, 20.2, 19.1, 19.0 (C-25/C-26); IR (Neat): $\nu = 3052, 3002, 2976, 2922, 2853, 1485, 1470, 1446, 1433, 1402, 1385, 1366, 1352, 1329, 1298, 1282, 1250, 1235, 1177, 1030, 994, 896, 852, 846, 775, 750, 697, 651$; ESI-MS: $[\text{M-Cl}]^+$ calcd for $\text{C}_{51}\text{H}_{62}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{Ru}$, 867.3706; found: 867.3704.

Single-crystal X-ray diffraction analysis. Crystal data for compound **7a**. CCDC 1830901, $\text{C}_{41}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{Cl}_2\text{Ru}$, $M = 766.79$, triclinic, space group $P-1$ (No. 2), $a = 9.8123(6)$ Å, $b = 11.1346(8)$ Å, $c = 18.2094(9)$ Å, $\alpha = 88.320(5)^\circ$, $\beta = 85.219(5)^\circ$, $\gamma = 65.454(7)^\circ$, $V = 1803.4(2)$ Å³, $Z = 2$, $T = 100$ K, $\rho_{\text{calc}} = 1.412$ g cm⁻³, $\mu(\text{Cu-K}\alpha) = 5.149$ mm⁻¹, $F(000) = 796$, 20129 reflections measured, 6339 unique ($R_{\text{int}} = 0.1159$) which were used in all calculations. The final $R1$ was 0.0587 ($I > 2\sigma(I)$) and $wR2$ was 0.1433 (all data).

Crystal data for compound **7b**. CCDC 1049432, $\text{C}_{51}\text{H}_{62}\text{N}_4\text{Cl}_2\text{Ru}$, $M = 903.02$, monoclinic, space group $P2_1/c$ (No. 14), $a = 22.6954(6)$ Å, $b = 15.7051(5)$ Å, $c = 12.8872(3)$ Å, $\beta = 92.902(2)^\circ$, $V = 4587.5(2)$ Å³, $Z = 4$, $T = 100$ K, $\rho_{\text{calc}} = 1.307$ g cm⁻³, $\mu(\text{Cu-K}\alpha) = 4.124$ mm⁻¹, $F(000) = 1896$, 37921 reflections measured, 9508 unique ($R_{\text{int}} = 0.0876$) which were used in all calculations. The final $R1$ was 0.0472 ($I > 2\sigma(I)$) and $wR2$ was 0.1241 (all data).

Catalysts screening. Applied procedure for the ROMP of *cis,cis*-cycloocta-1,5-diene. For example, 0.05 mol% catalyst loading: 4.07 μmol of the complex was dissolved in 1 mL toluene-*d*₈. An NMR-

tube was charged with *cis,cis*-cycloocta-1,5-diene (0.1 mL, 0.81 mmol), toluene-*d*₈ (0.5 mL) and complex solution (0.1 mL). The NMR tube was then closed and the temperature was then raised to 80 °C. By evaluation of integration of the olefinic ¹H-NMR signals of the formed polymer and the consumed monomer, the substrate conversion was plotted.

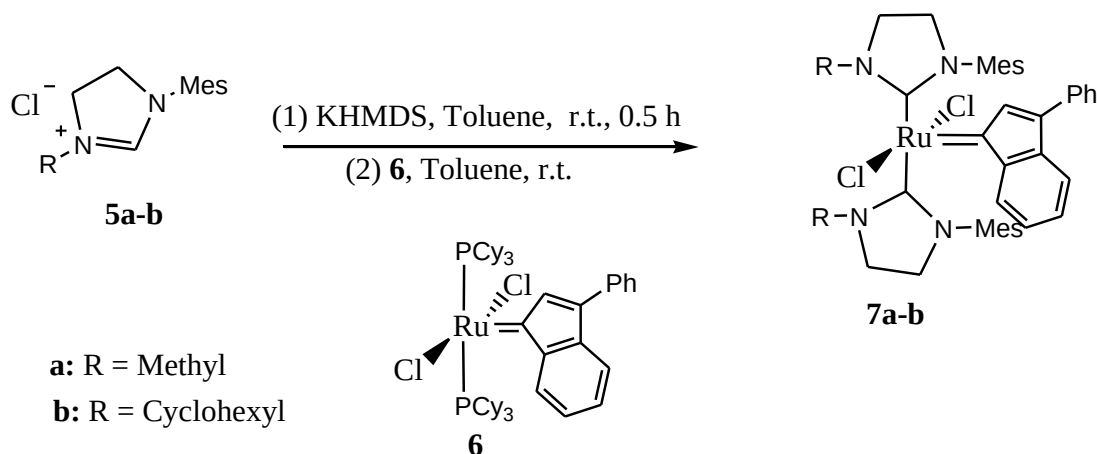
Applied procedure for the RCM of diethyl diallyl malonate. For example, 0.5 mol% catalyst loading: 2.7 μmol of the complex in NMR tube was dissolved in 0.3 ml of toluene-*d*₈ and left for 2 minutes before addition of 0.13 mL (0.54 mmol) of diethyl diallyl malonate. The NMR tube was then closed and the temperature was raised to 80 °C. Finally, Integration of the allylic methylene peaks in the ¹H-NMR spectrum of the diethyl diallyl malonate and the product was used to count the substrate conversion.

Applied procedure for isomerization of allylic alcohols. An NMR-tube was charged with 2.5 μmol (5 mol%) of catalyst and dissolved in 0.5 mL CDCl₃. After that, to the tube, 0.05 mmol of the substrate and 2.5 μmol (5 mol%) of KOtBu were added. Afterward, the NMR-tube was sealed and kept at r.t. or

at a temperature of 80 °C. The conversion of the substrate was evaluated by integration of the ¹H-NMR signals of the starting alcohol (5.68 ppm) and the formed carbonyl compound (1.86 ppm).

RESULTS AND DISCUSSION

Synthesis of the catalysts. Unsymmetrical NHC ligands: 1-mesityl-3-methyl-4,5-dihydroimidazolium chloride (**5a**) and 1-mesityl-3-cyclohexyl-4,5-dihydroimidazolium chloride (**5b**) (**1**) were prepared according to previously reported procedures [21, 22]. The free / *N*-heterocyclic carbenes were generated by the deprotonation of NHC precursors using potassium hexamethyldisilazide (KHMDs) in toluene at r.t. A replacement of one of the PCy₃ ligands from the first-generation ruthenium indenylidene complex (**6**) using the generated free carbenes [33–36], complexes **7a-b** were obtained. The reaction processes were monitored by TLC. The products were purified by silica gel chromatography and subsequently washed with methanol and pentane to afford air-stable reddish-brown solids (**7a** and **7b**) in moderate yields 74 and 82%, respectively.



General applied strategy for the synthesis of catalysts **7a-b**

(1)

The complexes (**7a-b**) were analyzed by ¹H and ¹³C{¹H}NMR spectroscopy after isolation. The obtained signals were further assigned using of hetero-nuclear ¹H{¹³C}HSQC, HMBC, and homo-nuclear ¹H{¹H}COSY, TOCSY, NOESY NMR spectroscopy [37].

The ¹H-NMR spectrum of each complex (Fig. S1, S2) shows peaks characteristic of the indenylidene unit: **7a**, doublet (δ = 7.98 ppm) and singlet (δ = 6.77 ppm); **7b**, doublet (δ = 8.47 ppm) and singlet (δ = 7.05 ppm) [38]. Besides, the imidazolium ligand peaks are also observed as a multiplet at 3.51–3.91 ppm and 3.31–3.83 ppm for complexes **7a** and **7b**, respectively. The ¹H-NMR spectrum of each complex strongly suggests the isolation of only one conformer. A single conformer was also detected for ruthenium benzylidene complexes coordinated with *N*-alkyl/*N*-mesityl heterocyclic carbenes [20, 21, 39]; however, for ruthenium indenylidene complexes **3a-c**, two rotamers were observed [29]. The car-

bene-C (Ru=C) as the new complexes' characteristic exhibits doublet peaks at about 300 ppm in the ¹³C-NMR spectra.

The NOESY spectrum of complex **7a** (Fig. 2, a) shows several correlations between the indenylidene moiety and the mesityl's methyl groups from both NHCs. The spectrum reveals no Noe correlation between the *N*-methyl group and indenylidene moiety, suggesting that both NHC ligands have the mesityl groups oriented toward the indenylidene side of the ruthenium center. This observation is in agreement with the single-crystal X-ray diffraction analysis (see next section). The indenylidene ligands in the complexes **3a-c** were also found to be closer to the mesityl group than to the *N*-alkyl group [29]. In contrast, the NOESY spectrum of complex **7b** (Fig. 2, b) shows several correlations between the indenylidene moiety and the *N*-cyclohexyl groups from both NHCs, indicating their relative position.

For the new complexes (**7a-b**), the orientations of the NHC ligands are different from those of the previously reported ruthenium metathesis catalysts featuring two *N*-alkyl/*N*-aryl-heterocyclic carbenes. For example, the aromatic groups of the NHCs in complexes **4a-b** have been reported as oriented in different directions relative to the indenylidene fragments [22]. In addition, elemental analysis, mass spectra, and single-crystal X-ray analysis were evaluated to confirm the complexes' purities and configurations.

Single-Crystal X-ray Diffraction Analysis. The crystals of complexes **7a-b** are obtained from slow evaporation of their solution ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{hexane}$ solution). Thereafter, the crystals were used in X-ray diffraction analysis. The solid-state structures of complexes **7a-b** are depicted in Fig. 3, and some

selected bond lengths and angles are listed in Tab. 1. Complex **7a-b** crystallized in the triclinic centrosymmetric space group *P*-1 and *P*₂₁/*c*, respectively. The asymmetric units of **7a-b** accommodate only one ruthenium complex.

In general, complexes **7a** and **7b** exhibit a similar arrangement of the surrounding ligands around the ruthenium core, while an opposite orientation of the *N*-mesityl side of the NHC ligand is observed for **7b**. In complex **7a**, the two mesityl groups lay in a parallel fashion on the five-membered ring of the indenylidene moiety, and π - π interactions were found (3.408(4) and 3.467(4) Å between the respective ring centroids). In general, the ligands around the ruthenium core in complex **7a** exhibit a similar arrangement to complex **3a** [27].

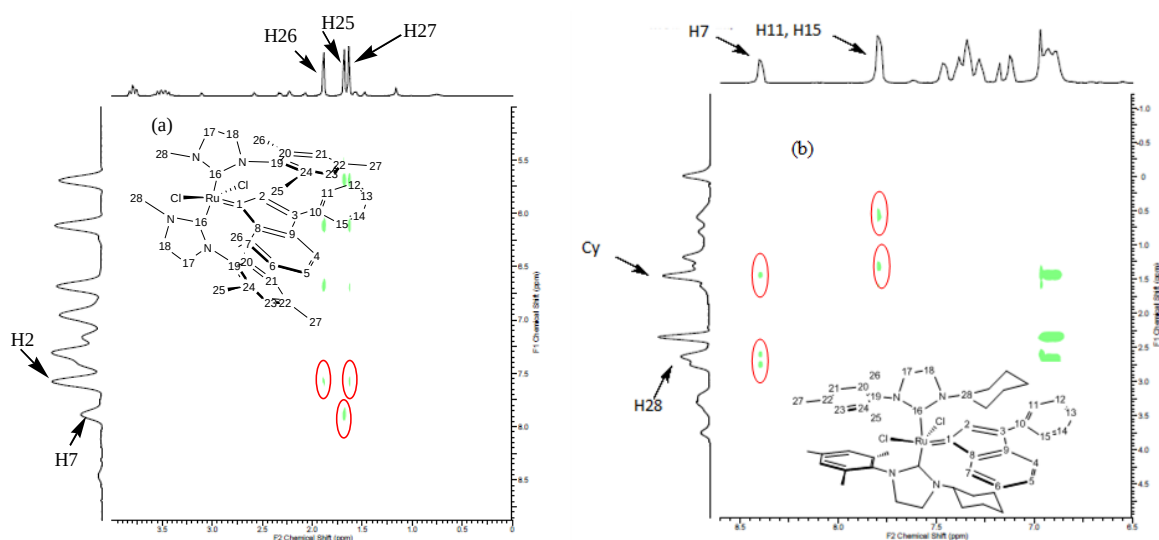


Fig. 2. NOESY spectra (a) complex **7a**, chemical shift of ^1H -NMR range from 0.0 to 4.0 ppm (horizontal) and ^1H -NMR range from 5.0 to 9.0 ppm (vertical); (b) complex **7b**, chemical shift of ^1H -NMR range from 6.5 to 8.6 ppm (horizontal) and ^1H -NMR range from -1.5 to 5.0 ppm (vertical)

Рис. 2. Спектры NOESY (а) комплекса **7a**, химический сдвиг ^1H -ЯМР в диапазоне от 0,0 до 4,0 м.д. (по горизонтали) и ^1H -ЯМР в диапазоне от 5,0 до 9,0 м.д. (по вертикали); (б) комплекс **7b**, химический сдвиг в диапазоне ^1H -ЯМР от 6,5 до 8,6 м.д. (по горизонтали) и в диапазоне ^1H -ЯМР от -1,5 до 5,0 м.д. (по вертикали)

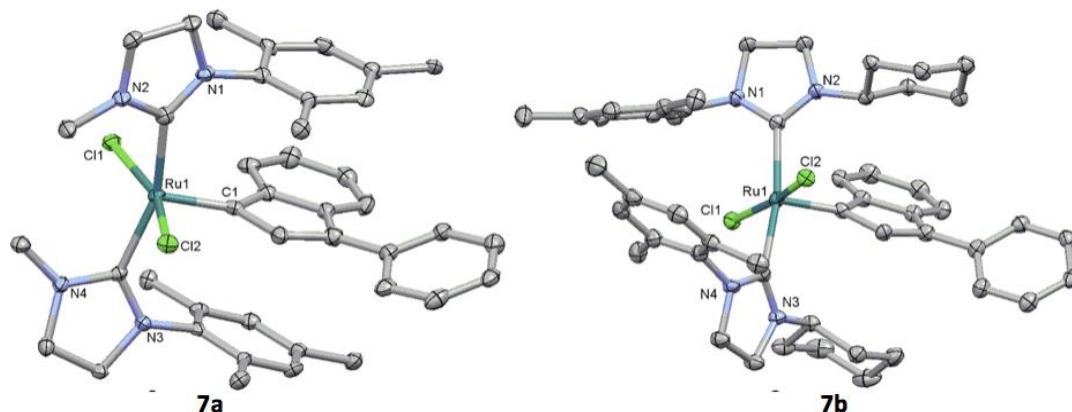


Fig. 3. Solid-state structures of complexes **7a** and **7b** (thermal displacement ellipsoids are shown at the level of 30% probability). The atom-labeling scheme of the heteroatoms is displayed, and Hydrogen atoms are omitted for clarity

Рис. 3. Твёрдотельные структуры комплексов **7a** и **7b** (показаны эллипсоиды тепловых смещений на уровне 30% вероятности). Отображается схема маркировки гетероатомов, атомы водорода опущены для ясности

Table 1. Selected bond lengths (Å) and bond angles (°) for complexes **7a** and **7b**

Таблица 1. Выбранные длины связей (Å) и валентные углы (°) для комплексов **7a** и **7b**

	7a	7b
C _{NHC} -Ru-C _{NHC}	158.4(2)	170.2(2)
C _{NHC} -Ru=C _{Ind}	101.2(3)/99.9(3)	93.4(2)/96.0 (2)
Cl-Ru-Cl	159.84(6)	168.67(4)
Ru=C _{Ind}	1.862(7)	1.864(4)
Ru-C _{NHC}	2.101(8)/2.086(7)	2.131(4)/2.134(4)
Ru-Cl	2.414(1)/2.403(1)	2.368(1)/2.380(1)

For **7a**, the dihedral angles between the least-squares plane of the mesityl groups and the five-membered ring are 5.2(4)° and 11.0(4)°, respectively. In complex **7b**, the two cyclohexyl groups in the NHC ligands orient to the indenylidene moiety, leaving the two mesityl groups at the opposite side of the indenylidene ligand. The dihedral angle between the two least-squares planes of the mesityl groups is 34.8 (2)°.

The least-squares plane angles between the respective two imidazole rings of **7a** and **7b** differ significantly from each other. The imidazole rings in **7b** show a larger dihedral angle (63.6(2)°), which is incomparable with that of imidazole rings in **7a** (18.3(4)°).

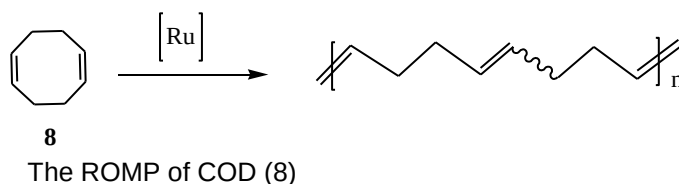
The Ru-Cl bond lengths for **7a** and **7b** are in values between 2.368(1) Å and 2.414(1) Å, and the Ru-C_{NHC} bond lengths are within the range of 2.086(7) Å to 2.134(4) Å. The Ru=C_{Ind} bond length is 1.862(7) Å for **7a**, and 1.864(4) Å for **7b**. The C_{NHC}-Ru-C_{NHC}, Cl-Ru-Cl and C_{NHC}-Ru=C_{Ind} angles for **7a** are 158.4(2)°, 159.84(6)° and 101.2(3)°/99.9(3)°,

respectively, while for **7b** these are 170.2(2)°, 168.67(4)° and 93.4(2)°/96.0(2)°, respectively.

Catalytic activity of complexes 7a-b in olefin metathesis reactions. Firstly, the catalytic abilities of complexes **7a** and **7b** on olefin metathesis reactions were evaluated in ring-closing metathesis polymerization (ROMP) of *cis,cis*-1,5-cyclooctadiene (COD) and ring-closing metathesis (RCM) of diethyl diallyl malonate (DEDAM).

ROMP of COD. The complexes **7a-b** were involved in the ROMP of COD (**8**) (2) under varying reaction conditions. At room temperature with a catalyst loading of 1 mol% in CDCl₃, initiators **7a-b** showed negligible conversion after 24 hours. Similar results were found by using complex **4a-b** [22] in which no detectable conversion of COD was found after 24 hours. The poor performance of *bis*-NHC ruthenium complexes at room temperature might be due to the stronger Ru-C_{NHC} bond relative to Ru-P bond, and thus high thermal stability and low degree of lability [22].

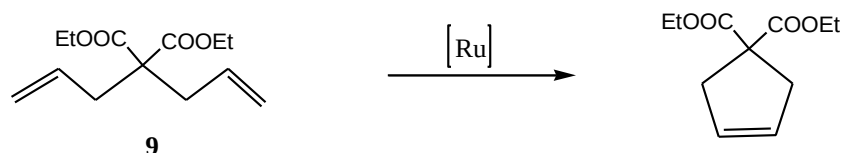
A significant improvement of the catalytic activity was observed when the reaction temperature was controlled at 80 °C. Generally, all catalysts exhibit almost similar kinetic profiles at an elevated temperature. Under a condition of a catalyst loading of 0.33 mol% in toluene at 80 °C, complex **7a** reached full conversion after 90 minutes, while **7b** achieved complete COD consumption after 120 minutes (Fig. 4). The better performance of **7a** might be due to an increased initiation and decreased steric obstruction for the substrates during reaction [29]. Reducing the catalyst loading, a decrease of catalysts initiation rate and the catalytic activity were observed. Complex **7a** needed 3 hours to fully convert the COD with a catalyst loading of 0.1 mol%, and the same time was required for 95% with 0.05 mol% catalyst loading (Fig. 4). Complex **7b**, on the other hand, could not reach full conversion even after 3 hours of reaction with neither 0.1 mol% nor 0.05 mol% catalyst loadings (Fig. 4).



(2)

RCM of DEDAM. The complexes **7a-b** were further investigated using the RCM of DEDAM (**9**) (3). Since these *bis*-NHC complexes generally need an elevated temperature to be active, the RCM reaction was performed at 80 °C in toluene at different catalyst loadings. Under these conditions, complex **7a** required 180 minutes to complete the reaction with a catalyst loading of 5 mol%, 240 minutes for 95% conversion of the substrate at 1.25 mol% catalyst loading, and 1170 minutes for 81.75% conversion at

0.5 mol% catalyst loading (Fig. 5). In contrast, complex **7b** needs 240 minutes for full conversion of the substrate (at a catalyst loading of 5 mol%), 1170 minutes for 95% conversion (1.25 mol%), and 1170 minutes for 81.75% conversion of the substrate (catalyst loading of 0.5 mol%) (Fig. 5). The ability of these catalysts to remain in solution at high temperature (80 °C) for such a long time (up to 1170 minutes) during catalytic reactions without noticeable decomposition proves their stability.



The RCM of diethyl diallylmalonate

(3)

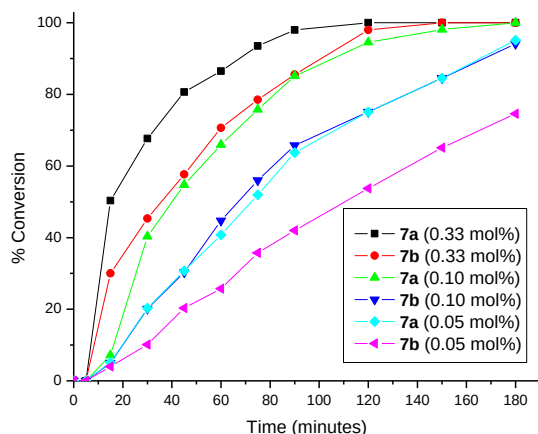


Fig. 4. ROMP of COD with complexes **7a** and **7b** (0.05–0.33 mol%) at 80 °C in toluene

Рис. 4. Метатезисная полимеризация с раскрытием цикла цис,цис-1,5-циклооктадиена с комплексами **7a** и **7b** (0,05–0,33 мол.%) при 80 °C в толуоле

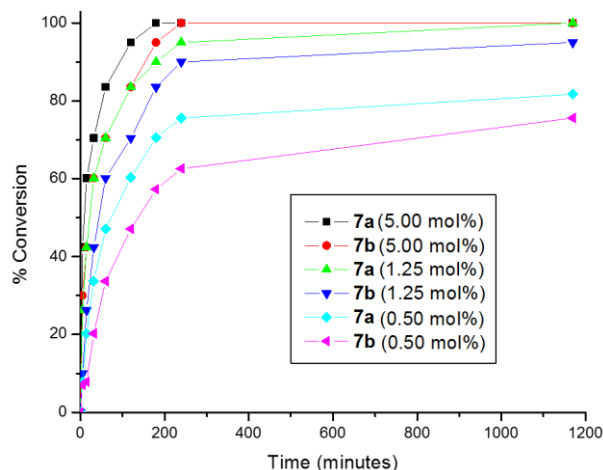
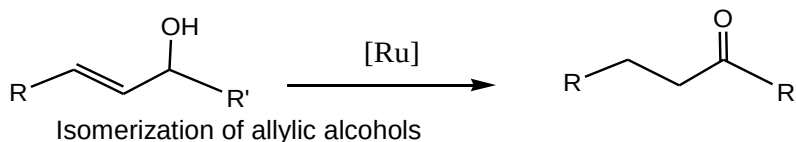


Fig. 5. The RCM of DEDAM with complexes **7a** and **7b** (0.5–5 mol%) at 80 °C in toluene

Рис. 5. Метатезис с замыканием цикла диэтилдиаллилмалоната с комплексами **7a** и **7b** (0,5–5 мол.%) при 80 °C в толуоле

Isomerization of Allylic Alcohols. In addition, the synthesized catalysts were investigated for their performance in the isomerization of allylic alcohols (4).



(4)

Our initial efforts focused on the isomerization of penten-3-ol, hepten-3-ol, and 2-cyclohexen-1-ol to their corresponding carbonyl compounds at room temperature. However, by applying 5 mol% of either catalyst at room temperature, no noticeable conversion was observed after 72 hours of reaction for all substrates. From a mechanistic perspective, allylic alcohols can coordinate to the ruthenium center either via olefin or alcoholate functionalities. For the isomerization toward the aldehyde to occur, one of the NHC ligands has to disassociate from the complex before consecutive coordination of the olefin moiety to the metal center can be realized [40]. Therefore, the failure to isomerize the substrate using the catalysts at low temperatures is probably due to the difficulty in de-coordination of the NHCs from the ruthenium core. However, upon addition of 5 mol% of KOtBu, 94 and 92% of the isomerization of hepten-3-ol and penten-3-ol, respectively, was observed after 72 hours, applying complex **7a** (Fig. 6). Under these conditions, using catalyst **7b**, the conversion of hepten-3-ol and penten-3-ol reached 95 and 90%, respectively (Fig. 6). In these two reac-

tions, complex **7a** revealed a higher catalyst initiation rate and a similar activity relative to complex **7b**. Nevertheless, even with the addition of 5 mol% of KOtBu at room temperature, the isomerization of 2-cyclohexen-1-ol was not possible applying these catalysts.

By raising the temperature to 80 °C, a significant increase in reaction rate was observed. For the isomerization of hept-3-ol, 98 and 90% conversion were revealed, with complexes **7a** and **7b**, respectively, after 180 minutes (Fig. 7). In the case of the isomerization of penten-3-ol, the reaction reached 95 and 90% conversion, with catalysts **7a** and **7b**, respectively, after 240 minutes (Fig. 7).

Using 5 mol% of catalyst without base, no conversions were observed with all substrates after 24 hours of reactions, even at 80 °C. However, by increasing the catalyst loading to 10 mol%, all catalysts isomerized the substrates without adding a base (Tab. 2). The catalysts' performance under these conditions resembles those when 5 mol% of the base was used in addition to 5 mol% of catalyst (Fig. 6). It is worth noting that 5 mol% of the cata-

lysts can be replaced by 5 mol% of the base in this reaction; however, the catalyst cost is not comparable to that of the base.

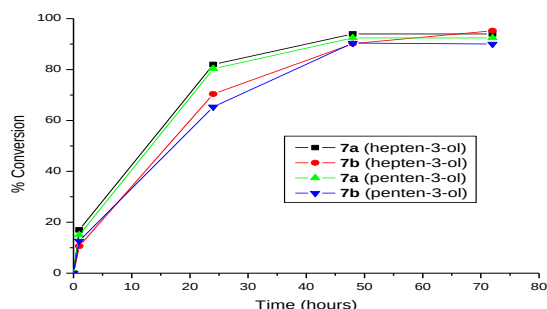


Fig. 6. Isomerization of hepten-3-ol and penten-3-ol using 5 mol% of complexes **7a** and **7b** with 5 mol% of KOtBu at room temperature

Рис. 6. Изомеризация гептен-3-ола и пентен-3-ола с использованием 5 мол.% комплексов **7a** и **7b** при 5 мол.% KOtBu при комнатной температуре

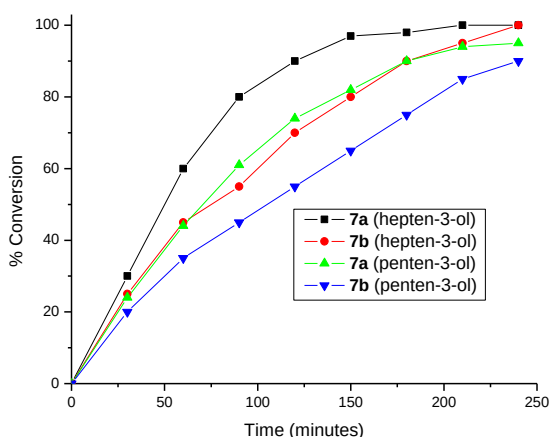


Fig. 7. Isomerization of hepten-3-ol and penten-3-ol using 5 mol% of catalysts **7a** and **7b** with 5 mol% of KOtBu at 80 °C. The lines are intended as a visual aid

Рис. 7. Изомеризация гептен-3-ола и пентен-3-ола с использованием 5 мол.% катализаторов **7a** и **7b** с 5 мол.% KOtBu при 80 °C. Линии представлены в качестве наглядного пособия

Table 2. Isomerization of allylic alcohols using 10 mol% catalysts at 80 °C

Таблица 2. Изомеризация аллиловых спиртов с использованием 10 мол.% катализаторов при 80 °C

Substrate	Catalyst	Time (h)	%Conversion
hepten-3-ol	7a	2.5	100
hepten-3-ol	7b	4	98
penten-3-ol	7a	4	95
penten-3-ol	7b	5	90

CONCLUSION

We have successfully synthesized two ruthenium indenylidene initiators bearing *bis*(*N*-alkyl/*N'*-mesityl)-heterocyclic carbene ligands (**7a-b**), which were fully characterized by NMR spectroscopy, elemental analysis, IR, HRMS, and single-crystal X-ray diffraction analysis. It is interesting to observe that the mesityl groups of **7a** and **7b** orient in the opposite direction toward the indenylidene moiety. For complexes **7a** and **7b**, a similar ligand arrangement around the ruthenium center is exhibited, while an opposite direction of the NHC ligands toward the indenylidene moiety was found. For the olefin metathesis reactions, complexes **7a-b** produced activities comparable with complexes **4a-b**, respectively. For the non-metathesis reaction, the new initiators were evaluated on the isomerization of allylic alcohols. The optimum and cost-effective conditions occurred when the KOtBu base was added as co-initiator. The catalyst's failure to initiate reactions at room temperature was associated with the difficulty in de-coordination of the NHCs from the metal center due to the stronger Ru-C_{NHC} bond relative to Ru-P bond, and thus high thermal stability and low degree of lability. In all tested reactions, complex **7a** performed better. The better performance of **7a** was associated with increased initiation and decreased steric obstruction for the substrates during the reaction. The results imply that fine-tuning of the ligands environment can substantially impact both the structure and activity pattern of the resulting catalytic system.

REFERENCES

1. Fürstner A. Olefin metathesis and beyond. *Angewandte Chemie International Edition*. 2000;39(17):3013-3043. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20000901\)39:17<3012::AID-ANIE3012>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20000901)39:17<3012::AID-ANIE3012>3.0.CO;2-G).
2. Trnka T. M., Grubbs R. H. The development of L₂X₂RuCHR Olefin Metathesis Catalysts: an organometallic success story. *Accounts of Chemical Research*. 2001;34(1):18-29. <https://doi.org/10.1021/ar000114f>.
3. Grubbs R. H., Wenzel A. G., O'Leary D. J., Khosravi E. *Handbook of metathesis*. Weinheim: Wiley-VCH; 2015. 1608 p.
4. Astruc D. The metathesis reactions: from a historical perspective to recent developments. *New Journal of Chemistry*. 2005;29(1):42-56. <https://doi.org/10.1039/B412198H>.
5. Deshmukh P. H., Blechert S. Alkene metathesis: the search for better catalysts. *Dalton Transactions*. 2007;(24):2479-2491. <https://doi.org/10.1039/B703164P>.
6. Samojłowicz C., Bieniek M., Grela K. Ruthenium-based olefin metathesis catalysts bearing

- N*-heterocyclic carbene ligands. *Chemical Reviews*. 2009;109(8):3708-3742. <https://doi.org/10.1021/cr800524f>.
7. Dragutan I., Dragutan V., Delaude L., Demonceau A. Exploring new achievements in olefin metathesis catalysts. Part 2. Compelling innovations in ruthenium complexes. *Chimica Oggi-chemistry Today*. 2009;27:13-16.
8. Díez-González S., Marion N., Nolan S. P. *N*-heterocyclic carbenes in late transition metal catalysis. *Chemical Reviews*. 2009;109(8):3612-3676. <https://doi.org/10.1021/cr900074m>.
9. Vougioukalakis G. C., Grubbs R. H. Ruthenium-based heterocyclic carbene-coordinated olefin metathesis catalysts. *Chemical Reviews*. 2010;110(3):1746-1787. <https://doi.org/10.1021/cr9002424>.
10. Lozano-Vila A. M., Monsaert S., Bajek A., Verpoort F. Ruthenium-based olefin metathesis catalysts derived from alkynes. *Chemical Reviews*. 2010;110(8):4865-4909. <https://doi.org/10.1021/cr900346r>.
11. Scholl M., Trnka T. M., Morgan J. P., Grubbs R. H. Total synthesis of (–)- and (±)-frontalin via ring-closing metathesis. *Tetrahedron Letters*. 1999;40(8):2247-2250. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(98\)02677-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)02677-X).
12. Scholl M., Ding S., Lee C. W., Grubbs R. H. Synthesis and activity of a new generation of ruthenium-based olefin metathesis catalysts coordinated with 1,3-dimesityl-4,5-dihydroimidazol-2-ylidene ligands. *Organic Letters*. 1999;1(6):953-956. <https://doi.org/10.1021/ol990909q>.
13. Hu X., Castro-Rodríguez I., Olsen K., Meyer K. Group 11 metal complexes of *N*-heterocyclic carbene ligands: nature of the metal–carbene bond. *Organometallics*. 2004;23(4):755-764. <https://doi.org/10.1021/om0341855>.
14. Cavallo L., Correa A., Costabile C., Jacobsen H. Steric and electronic effects in the bonding of *N*-heterocyclic ligands to transition metals. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2005;690(24-25):5407-5413. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2005.07.012>.
15. Jacobsen H., Correa A., Costabile C., Cavallo L. π -Acidity and π -basicity of *N*-heterocyclic carbene ligands. A computational assessment. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2006;691(21):4350-4358. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2006.01.026>.
16. Jacobsen H., Correa A., Poater A., Costabile C., Cavallo L. Understanding the M–(NHC) (NHC = *N*-heterocyclic carbene) bond. *Coordination Chemistry Reviews*. 2009;253(5-6):687-703. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.06.006>.
17. Hamad F. B., Sun T., Xiao S., Verpoort F. Olefin metathesis ruthenium catalysts bearing unsymmetrical heterocyclic carbenes. *Coordination Chemistry Reviews*. 2013;257(15-16):2274-2292. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.04.015>.
18. Montgomery T. P., Johns A. M., Grubbs R. H. Recent advancements in stereoselective olefin metathesis using ruthenium catalysts. *Catalysts*. 2017;7(3):87-125. <https://doi.org/10.3390/catal7030087>.
19. Paradiso V., Bertolasi V., Costabile C., Grisi F. Ruthenium olefin metathesis catalysts featuring unsymmetrical *N*-heterocyclic carbenes. *Dalton Transactions*. 2016;45:561-571. <https://doi.org/10.1039/C5DT03758A>.
20. Dinger M. B., Niecypor P., Mol J. C. Adamantyl-substituted *N*-heterocyclic carbene ligands in second-generation grubbs-type metathesis catalysts. *Organometallics*. 2003;22(25):5291-5296. <https://doi.org/10.1021/om034062k>.
21. Ledoux N., Allaert B., Pattyn S., Mierde H. V., Vercaemst C., Verpoort F. *N,N'*-dialkyl- and *N*-alkyl-*N*-mesityl-substituted *N*-heterocyclic carbenes as ligands in grubbs catalysts. *Chemistry – A European Journal*. 2006;12(17):4654-4661. <https://doi.org/10.1002/chem.200600064>.
22. Ledoux N., Allaert B., Linden A., Van Der Voort P., Verpoort F. Bis-coordination of *N*-(alkyl)-*N'*-(2,6-diisopropylphenyl) heterocyclic carbenes to Grubbs catalysts. *Organometallics*. 2007;26(4):1052-1056. <https://doi.org/10.1021/om060937u>.
23. Cadot C., Dalko P. I., Cossy J. Olefin isomerization by a ruthenium carbenoid complex. Cleavage of allyl and homoallyl groups. *Tetrahedron Letters*. 2002;43(10):1839-1841. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(02\)00141-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(02)00141-7).
24. Alcaide B., Almendros P., Alonso J. M., Aly M. F. A novel use of Grubbs' carbene. Application to the catalytic deprotection of tertiary allyl amines. *Organic Letters*. 2001;3(23):3781-3784. <https://doi.org/10.1021/ol0167412>.
25. Kinderman S. S., van Maarseveen J. H., Schoemaker H. E., Hiemstra H., Rutjes F. P. J. T. Enamide-olefin ring-closing metathesis. *Organic Letters*. 2001;3(3):2045-2048. <https://doi.org/10.1021/ol016013e>.
26. Malinowska M., Hryniewicka A. Ruthenium indenylidene metathesis catalysts. *Current Organic Synthesis*. 2017;14:1022-1035.
27. Rouen M., Borré E., Falivene L., Toupet L., Berthod M., Cavallo L., et al. Cycloalkyl-based unsymmetrical unsaturated (U₂)-NHC ligands: flexibility and dissymmetry in ruthenium-catalysed olefin metathesis. *Dalton Transactions*. 2014;43(19):7044-7049. <https://doi.org/10.1039/C4DT00142G>.
28. Abilialimov O., Kedziorek M., Torborg C., Malinska M., Wozniak K., Grela K. New ruthenium(II) indenylidene complexes bearing unsymmetrical *N*-heterocyclic carbenes. *Organometallics*. 2012;31:7316-7319. <https://doi.org/10.1021/om300783g>.
29. Abilialimov O., Kedziorek M., Malinska M., Wozniak K., Grela K. Synthesis, structure, and catalytic activity of new ruthenium(II) indenylidene complexes bearing unsymmetrical *N*-heterocyclic carbenes. *Organometallics*. 2014;33:2160-2171. <https://doi.org/10.1021/om4009197>.
30. Yu B., Hamad F. B., Sels B., Van Hecke K.,

Verpoort F. Ruthenium indenylidene complexes bearing N-alkyl/N-mesityl-substituted N-heterocyclic carbene ligands. *Dalton Transactions*. 2015;44(26): 11835-11842. <https://doi.org/10.1039/c5dt00967g>.

31. Peeck L. H., Plenio H. Synthesis and RCM activity of [(NHC)(NHC_{ewg})RuCl₂(3-phenylindenylid-1-ene)] complexes. *Organometallics*. 2010;29(12): 2761-2766. <https://doi.org/10.1021/om1002717>.

32. Smolen M., Kosnik W., Gajda R., Wozniak K., Skoczen A., Kajetanowicz A., et al. Ruthenium complexes bearing thiophene-based unsymmetrical N-heterocyclic carbene ligands as selective catalysts for olefin metathesis in toluene and environmentally friendly 2-methyltetrahydrofuran. *Chemistry – A European Journal*. 2018;24(57):15372-15379. <https://doi.org/10.1002/chem.201803460>.

33. Harlow K., Hill A., Wilton-Ely J. E. The first co-ordinatively unsaturated Group 8 allenylidene complexes: insights into Grubbs' vs. Dixneuf–Fürstner olefin metathesis catalysts. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*. 1999;(3):285-292. <https://doi.org/10.1039/A808817I>.

34. Fürstner A., Guth O., Döffels A., Seidel G., Liebl M., Gabor B., et al. Indenylidene complexes of ruthenium: optimized synthesis, structure elucidation, and performance as catalysts for olefin metathesis—application to the synthesis of the ADE-ring system of nakadomarin A. *Chemistry – A European Journal*. 2001;7(22):4811-4820. [https://doi.org/10.1002/1521-3765\(20011119\)7:22<4811::aid-chem4811>3.0.co;2-p](https://doi.org/10.1002/1521-3765(20011119)7:22<4811::aid-chem4811>3.0.co;2-p).

35. Fürstner A., Grabowski J., Lehmann C. W. Total synthesis and structural refinement of the cyclic tripyrrole pigment nonylprodigiosin. *Journal of Organic Chemistry*. 1999;64(22):8275-8280. <https://doi.org/10.1021/jo991021i>.

36. Schanz H.-J., Jafarpour L., Stevens E. D., Nolan S. P. Coordinatively unsaturated 16-electron ruthenium allenylidene complexes: synthetic, structural, and catalytic studies. *Organometallics*. 1999;18(24): 5187-5190. <https://doi.org/10.1021/om9906316>.

37. Monsaert S., De Canck E., Drozdak R., Van Der Voort P., Verpoort F., Martins J. C., et al. Indenylidene complexes of ruthenium bearing NHC ligands – structure elucidation and performance as catalysts for olefin metathesis. *European Journal of Organic Chemistry*. 2009;(5):655-665. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200800973>.

38. Opstal T., Verpoort F. Synthesis of highly active ruthenium indenylidene complexes for atom-transfer radical polymerization and ring-opening-metathesis polymerization. *Angewandte Chemie International Edition*. 2003;42(25):2876-2879. <https://doi.org/10.1002/anie.200250840>.

39. Vehlow K., Maechling S., Blechert S. Ruthenium metathesis catalysts with saturated unsymmetrical N-heterocyclic carbene ligands. *Organometallics*. 2006;25(1):25-28. <https://doi.org/10.1021/om0508233>.

40. van der Drift R. C., Bouwman E., Drent E. J. Homogeneously catalysed isomerisation of allylic alcohols to carbonyl compounds. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2002;650(1-2):1-24.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Baoyi Yu,

Associate Professor,
Key Laboratory of Urban Agriculture
(North China), Ministry of Agriculture,
College of Biosciences and Resources
Environment,
Beijing University of Agriculture,
Beinong Road, 102206, Beijing, China,
yubaoyi123@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2437-6614>

Fatma B. Hamad,

Lecturer,
Department of Chemistry, College of Education,
Dar es Salaam University,
P.O. Box 2329, Dar es Salaam, Tanzania,
hamadfatma@yahoo.com
<https://orcid.org/> not available

Kristof Van Hecke,

Associate Professor,
Department of Chemistry,
Ghent University,
Krijgslaan 281-S3, 9000, Ghent, Belgium,

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Юй Б.,

доцент,
Ключевая лаборатория городского сельского хозяйства (Северный Китай), Министерство сельского хозяйства,
Колледж биологических наук и ресурсов окружающей среды,
Пекинский сельскохозяйственный университет,
102206, г. Пекин, Бейнонг роад, Китай,
yubaoyi123@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2437-6614>

Хамад Ф. Б.,

преподаватель,
Химический факультет, Педагогический колледж Дар-эс-Саламского университета, а/я 2329, г. Дар-эс-Салам, Танзания,
hamadfatma@yahoo.com
<https://orcid.org/> not available

Ван Хекке К.,

доцент,
кафедра химии, Гентский университет,
9000, г. Гент, Крийгслаан 281-S3, Бельгия,
Kristof.VanHecke@UGent.be

Kristof.VanHecke@UGent.be
<https://orcid.org/0000-0002-2455-8856>

Francis Verpoort,
Professor,
State Key Laboratory of Advanced Technology
for Material Synthesis and Processing
Wuhan University of Technology,
Luoshi Lu 122, Wuhan 430070, PR China,
Francis@whut.edu.cn
<https://orcid.org/0000-0002-5184-5500>

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 01.04.2022.
Approved after reviewing 16.05.2022.
Accepted for publication 30.05.2022.*

<https://orcid.org/0000-0002-2455-8856>

Верпоорт Ф.,
профессор,
Государственная ключевая лаборатория
перспективных технологий синтеза
и обработки материалов,
Уханьский технологический университет,
430070, г. Ухань, Люоши Лю, 122, Китай,
francis@whut.edu.cn
<https://orcid.org/0000-0002-5184-5500>

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 01.04.2022.
Одобрена после рецензирования 16.05.2022.
Принята к публикации 30.05.2022.*

Научная статья

УДК 547-1:678-5

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-192-207>



Полимерные композиты и их свойства

Оксана Викторовна Лебедева, Евгения Иннокентьевна Сипкина

Иркутский национальный исследовательский технический университет,

г. Иркутск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Лебедева Оксана Викторовна, lebedeva@istu.edu

Аннотация. В данном обзоре обобщены результаты исследований в области полимерных композитов, полученных различными методами. Разработка полимерных материалов и композитов на их основе является одним из перспективных направлений. Композиты, в которых матрицей служит полимерный материал (полимеры, олигомеры, сополимеры), являются одним из самых многочисленных и разнообразных видов материалов. Они широко применяются в промышленности для изготовления стекловидных, керамических, электроизоляционных покрытий, в качестве адсорбентов при очистке сточных вод от ионов тяжелых металлов, а также для получения ионообменных мембран. Композиционные материалы обладают уникальными свойствами, такими как большая площадь поверхности, термическая и механическая стабильность, хорошая селективность по отношению к различным загрязнителям, экономическая эффективность. В обзоре представлены физико-химические и структурные характеристики композитных материалов на основе синтетических полимеров (полимер-углеродные, полимерглинистые композиты), полимерных гетероциклических и кремнийорганических соединений. Полимер-углеродные и полимерглинистые композиты эффективны для удаления органических и неорганических загрязняющих веществ в различных областях применения. Однако следует заметить, что они не достигли оптимальных эксплуатационных характеристик в качестве адсорбентов для крупносерийного производства. Гибридные материалы, полученные золь-гель методом, заслуживают особого внимания. При использовании этого метода можно сравнительно легко влиять на состав и строение поверхностного слоя в таких материалах, которые применяются в качестве адсорбентов тяжелых и благородных металлов, катализаторов, мембран, сенсоров, в биологическом антибиозе, ионообменном катализе и т. д. Такие композиты отличаются повышенной механической прочностью и термостабильностью, обладают улучшенными термохимическими, реологическими, электрическими и оптическими свойствами.

Ключевые слова: полимерные композиты, адсорбенты, мембраны, сорбционная емкость, протонная проводимость

Для цитирования: Лебедева О. В., Сипкина Е. И. Полимерные композиты и их свойства // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 192–207. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-192-207>.

CHEMICAL SCIENCES

Review article

Polymer composites and their properties

Oksana V. Lebedeva, Evgeniya I. Sipkina

Irkutsk National Research Technical University,

Irkutsk, Russian Federation

Corresponding author: Oksana V. Lebedeva, lebedeva@istu.edu

Abstract. The review article summarizes the results of studies conducted in the field of polymer composites obtained by various methods. An important industrial activity is structured around the development of polymeric materials and composites based on them. Composite materials having a matrix comprised of a polymeric material (polymers, oligomers, copolymers) are highly numerous and diverse. They are widely used in the industry for the manufacture of vitreous, ceramic, electrically insulating coatings, as adsorbents in the treatment of wastewater from heavy metal ions, and in the production of ion-exchange membranes. Compo-

site materials have unique properties such as a large surface area, thermal and mechanical stability, good selectivity against various contaminants, and cost-effectiveness. The review presents the physicochemical and structural characteristics of composite materials based on synthetic polymers (polymer-carbon, polymer-clay composites), polymeric heterocyclic and organosilicon compounds. Used across a variety of applications, polymer-carbon and polymer-clay composites are effective in removing organic and inorganic contaminants. However, when used as adsorbents for large-scale production, they have yet to achieve optimum performance. Hybrid materials obtained by the sol-gel method deserve special attention. This method can be conveniently used to influence the composition and structure of the surface layer of such materials as adsorbents of heavy and noble metals, catalysts, membranes and sensors for applications in biological antibiosis, ion exchange catalysis, etc. Such composites are characterized by their increased mechanical strength and thermal stability, as well as offering improved thermochemical, rheological, electrical and optical properties.

Keywords: polymer composites, adsorbents, membranes, sorption capacity, proton conductivity

For citation: Lebedeva O. V., Sipkina E. I. Polymer composites and their properties. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):192-207. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-192-207>.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка полимерных материалов и композитов на их основе является одним из перспективных направлений. Полимеры – это органические материалы с рядом уникальных характеристик (высокой механической прочностью, гибкостью, химической стабильностью). Введение органических или неорганических компонентов в полимерные матрицы позволяет получать новые материалы с целевыми свойствами (например, низкая плотность, вязкость, жесткость, термическая, химическая и механическая стабильность, в зависимости от цели использования), называемые полимерными композитами. Полимерные композиты, в которых матрицей служит полимерный материал (полимеры, олигомеры, сополимеры), являются одним из самых многочисленных и разнообразных видов материалов. Они нашли применение в строительной промышленности, космической и авиационной технике (стеклопластики, углепластики, боропластики, органопластики, текстолиты, пенополистирол, пенополиуретан и т. д.), в качестве адсорбентов при очистке и опреснении воды, для удаления красителей из сточных вод, ионов тяжелых металлов, в мембранных технологиях и т. д. [1–3].

КОМПОЗИТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРОВ

Полимер-углеродные композиты. В настоящее время большое внимание уделяется полимерным композитам из углеродных наноматериалов. Они обладают уникальными свойствами (большая площадь поверхности и повышенная термическая и механическая стабильность), которые эффективны для удаления органических и неорганических загрязняющих веществ в различных областях применения.

Полимерные композиты с углеродными нанотрубками (УНТ) являются перспективными кандидатами для повышения эффективности удаления масла из водонефтяной смеси. Так, например, мембрана на основе поли(N-изопропилакриламида) с добавлением одностенных

УНТ была использована для разделения водонефтяной смеси и показала удаление масла на 99,99%. Для отделения нефти от водонефтяной смеси использовали блочный сополимер полисульфона-полиэфира с образованием УНТ-полимерной мембраны. В ходе исследований показано влияние количества многослойных УНТ на эффективность удаления нефти. Увеличение количества многослойных УНТ до 2 масс.% приводит к улучшенной способности удаления масла от 91,4 до 99,79%. Поток проницаемости увеличился в 3 раза, когда коэффициент загрузки многослойных УНТ достиг 0,5 масс.%. Дальнейшее увеличение коэффициента загрузки многослойных УНТ выше 2 масс.% привело к снижению потока пермеата на 30% [7].

Функционализация полимеров УНТ – это эффективный путь повышения не только адсорбционных свойств композитов, но и их гидрофильности и растворимости в воде. Привитый композит полигидроксibuтират – УНТ [5], УНТ, покрытый полиамидоамином [6], УНТ, включенный в полимерный гидрогель, содержащий полиакриламид и альгинат натрия [7], полианилиновый привитый многослойный УНТ-композит с последующим легированием гидрофильными группами п-толуолсульфоновой кислотой [8] были применены в качестве наноадсорбентов для удаления тяжелых металлов из промышленных сточных вод. Поверхностная функционализация привитого сополимера полисульфоната натрия – п-стирола многослойным УНТ, покрытого дофамином, показала хорошую адсорбционную способность к метиленовому синему красителю [9]. Адсорбционная способность достигла 174 мг/г через 25 мин.

Композиционные полимерные материалы на основе графена приобретают большой исследовательский интерес в качестве наноадсорбентов, поскольку обладают 3-мерной структурой, обеспечивающей более высокую пористость, имеют большую удельную поверхность, а также высокую электропроводность, механические свойства

и термостабильность.

С целью получения наномембраны для ультрафильтрации оксид графена был привит на поли-N,N-2-этиламиноэтилметакрилат. Эта мембрана была протестирована на захват родамина-B и метилоранжевых красителей. Средние показатели захвата для этих 2-х красителей составили 98,9 и 96,5% соответственно [10]. Полимерная мембрана на основе сшитого N-изопропилакриламида с N,N-метилendiакриламидом и привитым графеном показала [11] улучшенные механические характеристики с высокой производимостью. Водный поток через полученную мембрану составил 25,8 л/м²ч. Синтезирована прочная и многоразовая губчатая мембрана путем объединения полидиметилсилоксана и наноматериалов оксида графена в процессе химического амидирования. В этом полимерно-углеродном композите оксид графена работал в качестве механического укрепителя, способствуя долговечности формованной губки. Этот композит был испытан для разделения различных масел и органических загрязнителей. Адсорбционная способность губки была в 724 раза больше ее первоначального веса [12].

Композиционное образование полимеров с активированным углем также оказывается перспективным методом очистки и опреснения воды. Так, для удаления ионов свинца из водных сред использовали композит на основе полипиррола и активированного угля, который был получен методом карбонизации в присутствии химического активатора. Максимальная адсорбция достигала 50,0 мг/г через 4 ч при pH=5,5. Кинетические исследования композита показали, что адсорбция является процессом хемосорбции, а не диффузии [13].

Полимерглинистые композиты. Полимерглинистые композиты привлекли внимание при обработке воды тем, что они демонстрировали широкий спектр поровых структур, хорошую площадь поверхности, сверхлегкий вес, улучшенную обрабатываемость и стабильность, хорошую селективность по отношению к различным загрязнителям, экономическую эффективность и почти отсутствие потерь на регенерацию для повторного использования. Полимерглинистые композиты могут быть получены в различных формах путем интеркаляции, нанесения покрытия, флокуляции или отслаивания.

В качестве нового адсорбента загрязняющих веществ был синтезирован полимерный привитый глинистый композит, содержащий поливинилпиридин и монтмориллонит. Структура композита показала высокую полимерную нагрузку без выщелачивания полимера, более низкую зависимость от pH и высокий ζ -потенциал. При низком или умеренном pH реагирующий на загрязнители полимер принимает протоны, что приводит к усилению адсорбции загрязняющих

веществ. Однако при повышенном pH реагирующий на загрязнители полимер теряет протоны, что приводит к десорбции загрязняющих веществ. Кроме того, этот композит исследован на удаление микрополлютантов (сульфентразона, арсената, атразина) из сточных вод [14]. Эксфолированные и интеркалированные монтмориллониты были привиты полимерами натрия 2-акриламида-2-метилпропансульфонатом и N-изопропилакриламидом с использованием метода безповерхностно-активных веществ. Полученный композит продемонстрировал хорошую способность к удалению кобальта, никеля и метиленового синего красителя. Композит показал снижение поверхностного натяжения, что привело к улучшению абсорбционной способности глины и, соответственно, к эффективному удалению ионов металлов и молекул красителя. Этот композит также показал повторное использование (4 цикла) без потери эффективности удаления [15]. В качестве эффективных и экономических адсорбентов для удаления ионов ртути из воды предложен композит, полученный комплексобразованием монтмориллонита с поливиниловым спиртом и поли-4-стиролсульфоновой кислотой-соединенной кислотой [16].

Для удаления красителей получен новый гидрогелевый композит на основе акриламида, 2-акриламида-2-метилпропансульфонокислоты и монтмориллонита. В качестве сшивающего агента использовали бис-[2-(метакрилоилокси)этил]фосфат. Гидрогелевый композит применялся для удаления красителей из сточных вод: метилового красного (МК), метиленового синего (МС) и кристаллического фиолетового (КФ). Максимальная адсорбционная способность этого гидрогелевого композита составила 113, 155 и 176 мг/г для МК, МС и КФ соответственно. Десорбцию красителей из композита проводили в растворе этанола [17]. Для этой же цели был синтезирован гидрогель акриламида, N-изопропилакриламида и монтмориллонита для удаления метиленового синего. Полученный композит показал хорошее свойство набухания-сжатия. Процесс адсорбции зависел от pH и температуры среды. Кинетические исследования показали, что адсорбция соответствует псевдovторому порядку. Композит также показал хорошую регенерационную способность (5 циклов адсорбционно-десорбционных процессов) [18].

Однако следует заметить, что полимер-углеродные и полимерглинистые композиты не достигли оптимальных эксплуатационных характеристик в качестве адсорбентов для крупносерийного производства.

КОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРНЫХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Молекулярно-импринтированные полимеры (МИП) – это новое поколение адсорбентов, которое принципиально отличается от других адсор-

бентов способами синтеза, структурой и свойствами. Основное требование к сорбционным материалам – высокая селективность, которая решается путем формирования в полимере функциональных групп. Эффективным решением создания высокоселективных сорбционных материалов на основе полимерных систем являются полимеры с «молекулярными отпечатками», получаемые методом молекулярного импринтинга.

Метод получения полимеров с «молекулярными отпечатками» включает 3 этапа. На 1-м этапе мономер и молекулярный шаблон смешивают в подходящем растворителе до начала полимеризации, происходит образование устойчивого предполимеризационного комплекса молекул мономера и вещества-шаблона. На 2-м этапе в результате полимеризации или поликонденсации предполимеризационных комплексов с большим избытком сшивающего агента образуется сшитый полимер с жесткой структурой. На 3-м этапе – удаление шаблона для получения отпечатанного полимера.

На основе 1-винилимидазола (ВИМ), 4-винилпиридина (4-ВП), 2-винилпиридина (2-ВП), 4-ВП/диазоаминобензола и стирола (СТ) были приготовлены МИПы, которые продемонстрировали высокую селективность и высокую адсорбционную способность по отношению к ионам Hg(I), MeHg(I), Hg(II) [19–21].

Исследования селективности As-ИП на основе ВИМ, 4-ВП, СТ показали, что адсорбент As-ИП на основе ВИМ лучше удерживает As, чем As-ИП на основе 4-ВП [21]. As-ИП на основе 1-винилимидазола продемонстрировал хорошую селективность по отношению к ионам As среди 23 (V, Mo, In, Sc, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ge, Se, Ag, Cd, Sb, Ba, Au, Hg, Tl, Pb и Bi) конкурирующих

элементов с 25-кратным увеличением практического диапазона динамической и статической адсорбционной емкости (0,048–4,925 ммоль/г). Адсорбент имеет хорошую возможность многократного использования до 20 циклов, а также широкий рабочий диапазон pH=5–7 для применения в твердофазной экстракции.

МИПы на основе 2-ВП, 4-ВП/диазоаминобензол были синтезированы для распознавания форм органической и неорганической ртути: Hg(I), MeHg(I), Hg(II). Сорбционная емкость в воде Hg(II)-ИП на основе 2-ВП составила 25 мг/г, Hg(II)-ИП на основе 4-ВП/диазоаминобензол – 205 мг/г. Сополимеры Hg(II)-ИП можно использовать не менее 20 раз с извлечением не менее 95% [19, 20].

УНТ представляют собой наноадсорбенты, которые в настоящее время считаются наиболее используемыми для адсорбции ионов металлов. Однако адсорбционные свойства зависят от функциональных групп, диспергируемости в водных средах, плотности размещения и площади поверхности. С этой точки зрения нанокompозитные материалы на основе УНТ и хелатирующих полимеров перспективны для устранения этих недостатков. Так, композиты УНТ/ПАНИ, поли-3,4-диокситиофен были применены в качестве адсорбентов Au, УНТ/поли-2-аминотиофен – Cd и Pb, УНТ/полипиррол – Pb, Ni и Cd, УНТ/поливинилпиридин – Cd и Pb [22, 23]. Композит УНТ/поливинилпиридин повышает чувствительность определения ионов Cd в 2,6 раза. Чувствительность может быть увеличена с использованием большей массы адсорбента и более высокой концентрации объема. Синтез нанокompозитов на основе многостенных углеродных нанотрубок и 4-винилпиридина представлен на рис. 1 [23].

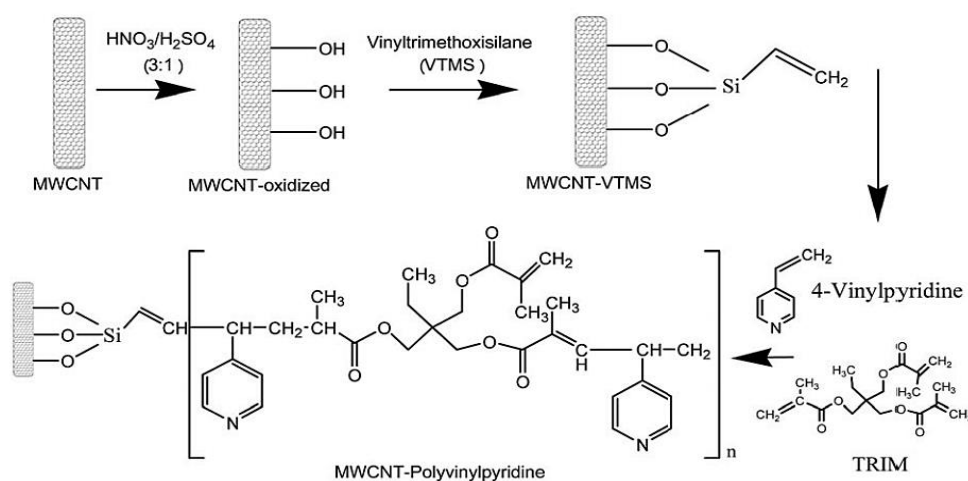


Рис. 1. Схематическое представление синтеза нанокompозитов на основе многостенных углеродных нанотрубок и 4-винилпиридина [23]

Fig. 1. Schematic representation of the synthesis of nanocomposites based on multi-walled carbon nanotubes and 4-vinylpyridine [23]

Разработка высокоактивных и многоразовых катализаторов на носителе для реакции Сузуки–Мияура и каталитического С–Н-ариллирования важна для фундаментальной и прикладной химии, поскольку эти реакции используются для получения медицинских и функциональных материалов. Для этих реакций разработаны полимерные палладиевые катализаторы, такие как поли-N-изопропилакриламид-N-винилимидазол/ PdCl_2 [24], поли-4-винилпиридин/ Na_2PdCl_4 [25], поливинилимидазол-акриламид/ $(\text{NH}_4)_2\text{PdCl}_4$ [26], полипиррол/ $[\text{Pd}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_2]$ [27]. Нанокompозиты полипиррол/ $[\text{Pd}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_2]$ могут эффективно связывать 2-бутилфуран и 2-бутилтиофен с бромбензолом и бромхинолином, а также с активированными или дезактивированными электронно-бедными и богатыми электронами, функционализированными бромаренами. Композит поли-4-винилпиридин/ Na_2PdCl_4 был легко приготовлен путем молекулярной свертки поли-4-винилпиридина и тетрахлорпалладата натрия с получением труднорастворимого композита полимер–металл (рис. 2). Сочетание Сузуки–Мияура и С–Н-ариллирование арилхлоридов и бромидов с арилбороновыми кислотами, тиофенами,

фуранами, бензолом и анизолом происходило в присутствии композита, содержащего от 0,004 до 1 мол.% Pd. Анализ адсорбции/десорбции газообразного N_2 показал, что катализатор имеет мезопористую природу, что играет решающую роль в катализе.

Однако лучшие характеристики показали не сами проводящие полимеры, а композиты на их основе. Так, композит политертиофен/УНТ был синтезирован и использован в качестве катодного материала в литиевом элементе, собранном либо с ионной жидкостью, либо с обычным жидким электролитом [27]. Электролит – ионная жидкость, состоящая из тетрафторбората 1-этил-3-метилимидазолия, содержащего LiBF_4 и небольшое количество винилкарбоната. Литиевые элементы были охарактеризованы с помощью циклической вольтамперометрии и гальваностатического цикла заряда/разряда. Удельная емкость ячеек с ионной жидкостью и обычными жидкими электролитами после 1-го цикла составила 50 и 47 $\text{mAh} \cdot \text{g}^{-1}$, соответственно на C/5 баллов. Сохранение емкости после 100-го цикла составило 78 и 53% соответственно.

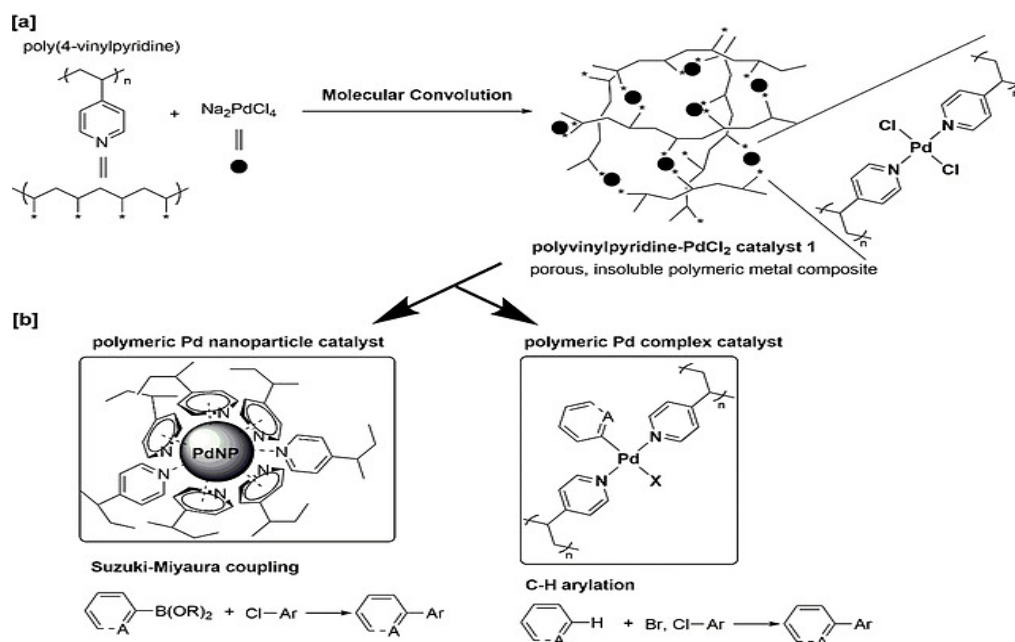


Рис. 2. Сочетание Сузуки–Мияура и С–Н-ариллирование с помощью гетерогенных полимерных Pd 2-режимных катализаторов:

а – молекулярная свертка для приготовления полимерных металлических катализаторов;
б – 2-режимные катализаторы [25]

Fig. 2. Suzuki–Miyaura Coupling and C–H Arylation with Heterogeneous Polymeric Pd 2-mode catalysts:

a – molecular convolution for the preparation of polymer metal catalysts;
b – 2-mode catalysts [25]

КОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

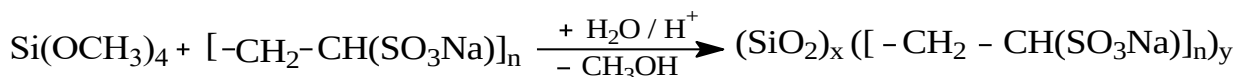
Большой вклад в развитие направления, связанного с синтезом и исследованием функциональных полисилоксановых ксерогелей, был внесен академиком М. Г. Воронковым (СО РАН,

Россия), академиком А. А. Чуйко (НАН Украины) и их научно-исследовательскими группами. В 1977 году впервые было сообщено о синтезе ксерогеля с использованием реакции гидролитической поликонденсации меркаптометил-триметоксисилана, что стало началом серии работ по

серосодержащим кремнийорганическим сорбционным материалам [28]. Рассмотрены пути синтеза с использованием золь-гель метода нового класса сорбентов и носителей – полисилоксановых ксерогелей, функционализированных азот-, кислород-, фосфор- и серосодержащими лигандами. С применением различных физических методов установлено строение ксерогелей и их поверхностного слоя. Проанализирован ряд факторов, влияющих на структурно-адсорбционные характе-

ристики ксерогелей [29, 30].

Показана возможность получения с помощью золь-гель метода новых материалов, представляющих собой полисилоксановые матрицы со встроенными фрагментами или органическими полимерами [30]. Так, были получены ксерогели на основе тетраметоксисилана и поливинилсульфоната натрия с разным соотношением компонентов в исходном растворе:



Значения удельной поверхности и сорбционного объема пор находятся в зависимости от количества введенного в силоксановую матрицу полимера. В настоящее время это направление продолжает активно развиваться, при этом большое внимание уделяется разработке путей синтеза органо-неорганических гибридных материалов. Технология золь-гель синтеза композитов позволяет вводить в химически инертную и термически стабильную кремнеземную матрицу практически любые органические мономеры, олигомеры и полимеры. Образующиеся при этом органо-неорганические гибриды могут использоваться в самых различных технологических формах – в виде объемных блоков, тонких пленок, волокон, покрытий на различных подложках. Несомненным достоинством органо-неорганических гибридных материалов является возможность сочетания высокой термической и химической стабильности неорганической матрицы и практически полезных функциональных свойств органического компонента. Введение неорганических наполнителей в полимерную матрицу повышает ее прочность и жесткость, а иногда и определяет конечные характеристики материала.

Среди первых объектов, получаемых золь-гель методом, были тонкослойные покрытия (толщиной от долей микрона до нескольких микрон) [31]. В настоящее время их применение остается актуальным и в оптике, и в микроэлектронике. В микроэлектронике [32] тонкие наноразмерные покрытия (толщиной 30–200 нм) получают из водно-спиртовых растворов тетраэтоксисилана, допированных органическими и неорганическими соединениями соответствующих элементов, методом центрифугирования. Их наносят на полупроводниковые и другие матери-

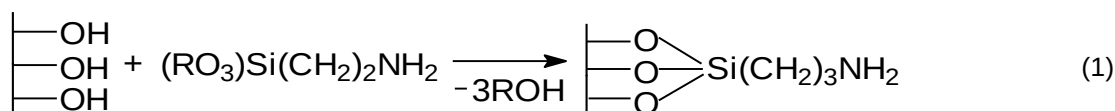
алы электронной техники, например, на кремний.

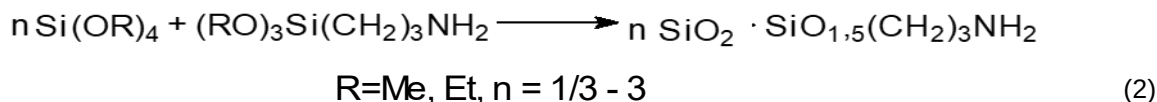
Наибольшее распространение тонкие стекловидные покрытия получили в качестве источников диффузентов. Их наносят на поверхность полупроводниковых материалов при обычной температуре. Далее при высокотемпературной термообработке (800–1230 °С) протекает диффузия атомов допирующих элементов в полупроводник. Важным достоинством золь-гель метода легирования полупроводниковых материалов диффузией из наноразмерных покрытий является возможность вводить в них сначала допанты, которые трудно или невозможно вводить другими методами [32]. Такой способ легирования предпочтителен при изготовлении, например, маломощных транзисторов.

При использовании золь-гель метода можно сравнительно легко влиять на состав и строение поверхностного слоя в таких материалах, которые применяются в качестве адсорбентов, катализаторов, мембран, сенсоров и т. д. В конце прошлого столетия возможности золь-гель метода были продемонстрированы при синтезе полисилоксановых ксерогелей с монофункциональным гидрофобным поверхностным слоем [33], позднее – при получении ксерогелей, функционализированных группами, способными к комплексообразованию [34].

Основными способами [35] получения гибридных ионообменных и комплексообразующих материалов являются:

- химическая модификация исходных оксидных носителей кремнийорганическими соединениями (схема 1);
- непосредственный синтез сорбента гидролитической поликонденсацией соответствующих алкоксидов (схема 2).



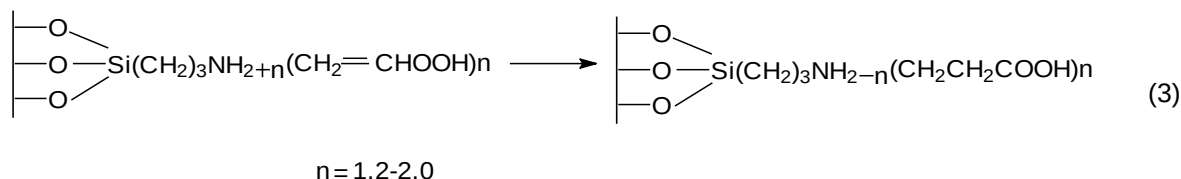
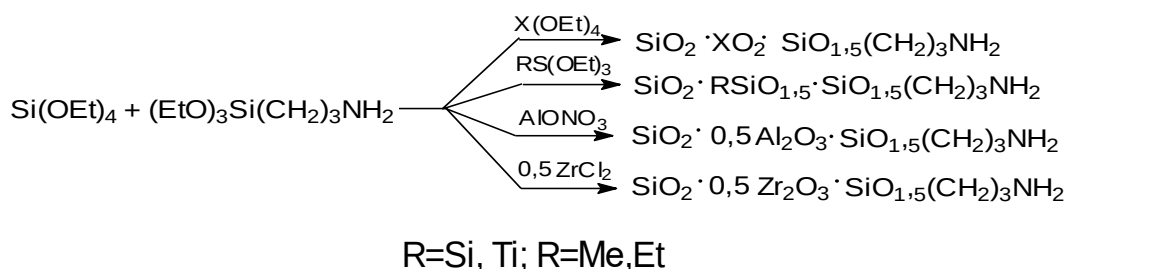


В 1-м методе все функциональные группы находятся на поверхности носителя, тогда как 2-й метод позволяет синтезировать адсорбенты с большим содержанием функциональных групп, распределенных по всему объему.

В настоящее время промышленно производятся силикагели («Диасорб-ИДК», «БиоХим-Мак», Россия), содержащие иминодиацетатные группы. Описано их успешное использование в металл-хелатной хроматографии [36], при адсорбционном концентрировании и разделении сложных смесей ионов металлов [37], в тест-

методах анализа [38]. Однако сведений о методах получения и свойствах такого рода гибридных адсорбентов недостаточно.

Синтезирован ряд новых гибридных органо-неорганических адсорбентов с 3-аминопропионатной хелатной группой [35]. Синтез проведен сополиконденсацией тетраэтоксисилана, 3-аминопропилтриэтоксисилана и ряда модификаторов ($\text{MeSi}(\text{OEt})_3$, $\text{EtSi}(\text{OEt})_3$, $\text{Ti}(\text{OEt})_4$, AlONO_3 , ZrOCl_2) с последующим карбоксиэтилированием акриловой кислотой (схема 3).



Адсорбционная емкость полученных образцов была исследована в растворе, содержащем катионы Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} и Zn^{2+} . Полученные N-карбоксиэтилированные адсорбенты имеют более высокую адсорбционную емкость по отношению к ионам металлов (0,5–0,9 ммоль/г; pH=6,3; NH_4OAc ; 20 °C), чем исходные адсорбенты с первичной аминогруппой (0,05–0,2 ммоль/г). Они проявляют значительную избирательность при извлечении ионов меди (II).

Композиционные аэрогели функциональный полимер/ SiO_2 , полученные с помощью золь-гель процесса, нашли применение в качестве адсорбентов тяжелых металлов, в биологическом антибиозе, ионообменном катализе. В качестве функциональных полимеров были использованы метилметакрилат, полиметилметакрилат, полиэтилендиоксидтиофен, полистирол, N-винилимидазол, 4-винилпиридин и т. д. [39]. Однако чтобы улучшить совместимость органической и неорганической фазы в композиционном материале, был добавлен эмульгатор или неорганические частицы, предварительно обработанные или модифицированные заранее, что приводило к сложным процессам получения композита. Объ-

единение органической и неорганической фазы композита посредством кислотно-основного взаимодействия упрощает процесс его получения. Так, например, взаимодействие между атомом азота в азотсодержащем полимере и поверхностной силанольной группой силикагеля привело к получению композита, который способен адсорбировать $\text{Cu}(\text{II})$ из сточных вод (рис. 3). Полученный композит имеет высокую удельную поверхность по БЭТ 314 $\text{м}^2/\text{г}$ и сорбционную способность до 85 $\text{мг}/\text{г}$ в нейтральных условиях.

Синтезированы и охарактеризованы новые гибридные материалы тетраэтоксисилан/1,3,4-тиадиазол-2,5-диамина (M_1), тетраэтоксисилан/1,3,4-тиадиазол-2,5-дитиола (M_2) [40]. Механизм синтеза представлен на рис. 4.

Структура гибридных материалов была изучена методами ЯМР ^{13}C , масс- и ИК-спектроскопией, СЭМ, а также посредством анализа адсорбции-десорбции азота. Гибридные материалы имеют мезопористую структуру (рис. 5), относительно высокие удельные поверхности и объемы пор ($S_{\text{БЭТ}} = 290\text{--}310 \text{ м}^2 \cdot \text{г}^{-1}$, $V_{\text{пор}} = 0,4\text{--}0,2 \text{ см}^3 \cdot \text{г}^{-1}$, $d_{\text{пор}} = 34,80\text{--}20 \text{ \AA}$ соответственно для композитов M_1 и M_2).

Полученные ксерогели были исследованы в

качестве адсорбентов тяжелых металлов, таких как Pb(II), Cd(II) и Zn(II), из реальных сточных вод. Они демонстрируют высокую адсорбционную способность от 214 до 410 мг·г⁻¹, которая может быть объяснена высокой удельной по-

верхностью, а также количеством хелатных фрагментов на поверхности синтезированных адсорбентов. Полученные адсорбенты могут быть использованы в течение 5 циклов с небольшим снижением поглощающей способности.

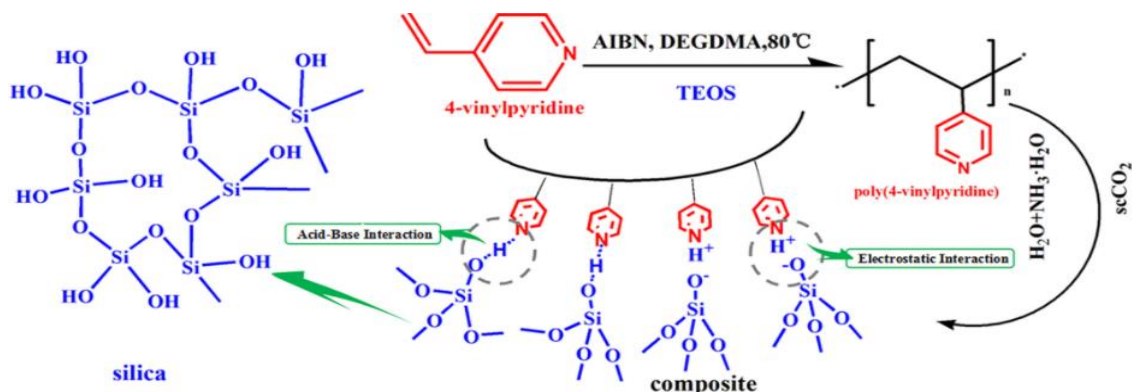


Рис. 3. Образование азотсодержащего композита поли-4-винилпиридин/SiO₂ [39]

Fig. 3. Formation of a nitrogen-containing composite poly-4-vinylpyridine/SiO₂ [39]

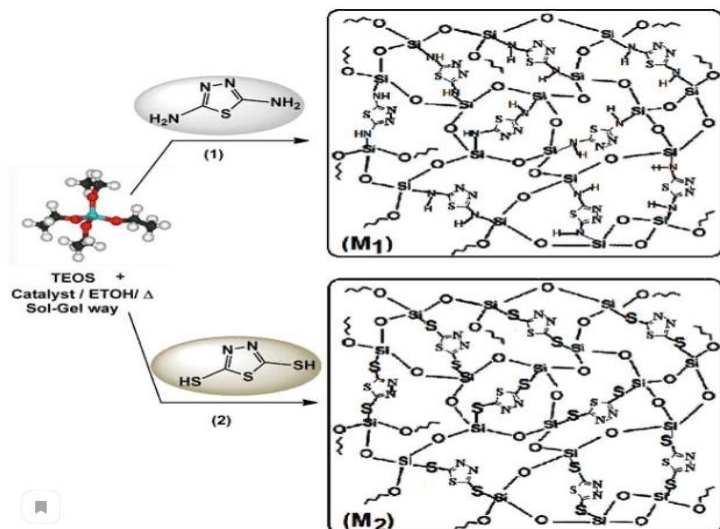


Рис. 4. Бифункциональные гибридные материалы как новые адсорбенты для удаления тяжелых металлов из водного раствора: пакетные и стационарные методы / IntechOpen [40]

Fig. 4. Bifunctional hybrid materials as new adsorbents for the heavy metals removal from an aqueous solution: batch and stationary methods / IntechOpen [40]

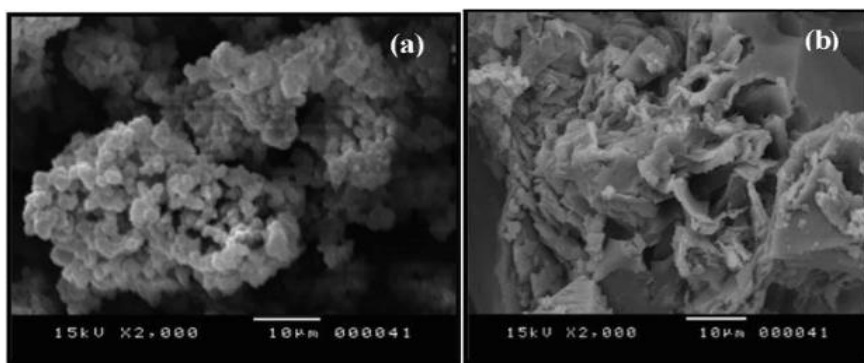


Рис. 5. Сканирующая электронная микроскопия адсорбентов M₁ и M₂

Fig. 5. Scanning electron microscopy of M₁ and M₂ adsorbents

Нанокompозитные пленки были предметом обширных работ по разработке эффективности накопления энергии электростатическими конденсаторами. Такие факторы, как чистота полимера, размер наночастиц и морфология пленки, резко влияют на электростатическую эффективность диэлектрического материала, который образует изолирующая пленка между проводящими электродами конденсатора. Это, в свою очередь, влияет на энергию и запоминающую способность конденсатора. В работе [41] исследовали диэлектрические свойства 4-х пленок аморфных полимеров высокой чистоты: полиметилметакрилата (ПММА), полистирола, полиимида и поли-4-винилпиридина. Сравнение диэлектрических свойств этих полимеров показало, что более высокие характеристики пробоя характерны для полиимида (ПИ) и ПММА. Экспериментальные данные показывают, что добавление коллоидного кремнезема (1% об.) к ПММА и ПИ приводит к снижению диэлектрических свойств по сравнению с исходным полимером. При добавлении коллоидного раствора кремнезема от 5 до 15% об. к поли-4-винилпиридину или полистиролу значения электростатического пробоя увеличиваются. Добавление диоксида кремния к аморфным полимерам делает их такими же прочными диэлектриками. Фактически кремнезем помогает заряду, присутствующему в «хозяине» и наночастицах, быть либо разбросанным, либо захваченным. Это стимулирует диэлектрические свойства полимеров и усиливает энергетические характеристики хранения этих аморфных материалов.

Топливные элементы с полимерно-электролитными мембранами становятся все более популярными для различных отраслей промышленности (электромобилей, поездов, кораблей и т. д.). В настоящее время применяемая мембрана Нафион® имеет ряд недостатков, которые можно решить либо введением наполнителей, либо получением новых мембран. В качестве альтернативы мембранам типа Нафион выступают мембраны на основе полибензимидазола (ПБИ) и сульфированного полиэфирэфиркетона (СПЭЭК), но они требуют значительного кислотного легирования. Наполнители предназначены для увеличения удержания воды за счет гигроскопичности, снижения расхода топлива и перехода кислорода, они индуцируют быструю подвижность протонов на границах раздела, улавливают вредные радикалы и улучшают механические свойства [42].

Одним из методов получения композиционных мембран является золь-гель синтез. Золь-гель процесс *in situ* был использован для изготовления мембран Нафион, содержащих ZrO_2 , SiO_2 и TiO_2 . Результаты этого исследования показали, что композитная мембрана либо удерживала, либо увеличивала поглощение воды. Мем-

браны с ZrO_2 увеличивают водоудерживающую способность на 33 и 45% при температуре 90 и 120 °C соответственно, TiO_2 – на 20–25%, а SiO_2 – на 15% при температуре 120 °C. Однако измерения проводимости показали, что введение в мембрану TiO_2 , SiO_2 не приводит к увеличению ее проводимости, в отличие от ZrO_2 , где увеличение проводимости произошло всего на 8–10% по сравнению с исходным Нафионом. Авторы пришли к выводу, что увеличение водопоглощения не всегда приводит к более высокой проводимости [43].

Композитные мембраны ПБИ/ SiO_2 [44] и ПБИ/ Fe_2TiO_5 [45], легированные H_3PO_4 , увеличивают способность удерживать кислоту и облегчают транспорт протонов поперек полимерной матрицы. Протонная проводимость композитной мембраны практически не зависела от концентрации наполнителя и была близка к проводимости свободной кислоты [45]. Также было изучено влияние наполнителей на характеристики мембранно-электродного блока (МЭБ) [46]. Введение 20 масс.% SiO_2 в мембрану дало максимальную плотность мощности 83 мВт/см² при 300 мА/см², что на 20% выше, чем у мембран, использующих чистый полимер ПБИ.

СЭМ-изображение поперечного сечения нанокompозитной мембраны, содержащей 4 и 16 масс.% Fe_2TiO_5 (рис. 6), показало, что в случае 4 масс.% Fe_2TiO_5 наночастицы равномерно диспергированы внутри матрицы ПБИ, а в случае 16 масс.% Fe_2TiO_5 наблюдалась значительная агломерация наночастиц.

Максимум протонной проводимости – 78 мСм/см – был достигнут мембранами ПБИ/ Fe_2TiO_5 , легированными H_3PO_4 (12 масс.%) и содержанием Fe_2TiO_5 (4 масс.%) при температуре 180 °C в сухих условиях (рис. 7, а). Хорошую протонную проводимость можно объяснить тем, что катионы Fe^{3+} расположены рядом с катионами Ti^{4+} в наночастицах и увеличивают кислотность свойств этих ионов. Следовательно, взаимодействие между H_3PO_4 и Fe_2TiO_5 внутри структуры намного сильнее, что приводит к более высокой протонной проводимости. Характеристики МЭБ показали, что производительность топливного элемента значительно увеличилась от 100 до 180 °C, что связано с более быстрой кинетикой реакции и повышенной протонной проводимостью мембраны, значения мощности и плотности тока при 180 °C составили 430 мВт /см² и 850 мА/см² соответственно (рис. 7, б).

Композиты СПЭЭК, содержащие 10% аморфного SiO_2 , ZrP или 40% аморфного циркония (фосфат сульфобензилфосфонат), также были предложены в качестве альтернативных мембран для топливных элементов. Протонная проводимость композитов составила 30–90 мСм/см при 100 °C и относительной влажности 100%. Композитные мембраны СПЭЭК/ Fe_2TiO_5 (1 масс.%) показали самую высокую протонную проводимость – 96 мСм/см

при 80 °С, что на 65,5 и 6,6% выше, чем у чистой мембраны СПЭЭК и Нафийон 117 соответственно. Плотность тока составила 188 мВт/см² при 80 °С и относительной влажности 90% [47].

Гибридные материалы, полученные золь-гель методом, отличаются повышенной механической прочностью и термостабильностью, обладают

улучшенными термохимическими, реологическими, электрическими и оптическими свойствами. Также гибридные композиты находят широкое применение при очистке сточных и природных вод, извлечении и концентрировании металлов в аналитической химии.

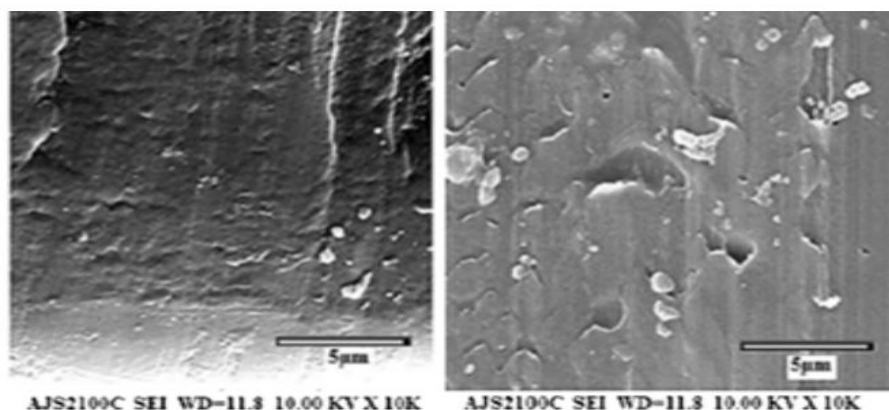


Рис. 6. Сканирующая электронная микроскопия поперечного сечения нанокompозитной мембраны полибензимидазол/ Fe_2TiO_5 , легированной H_3PO_4 4 и 16 масс. %

Fig. 6. Scanning electron microscopy of a cross section of a nanocomposite membrane polybenzimidazole/ Fe_2TiO_5 doped with H_3PO_4 4 and 16 wt. %

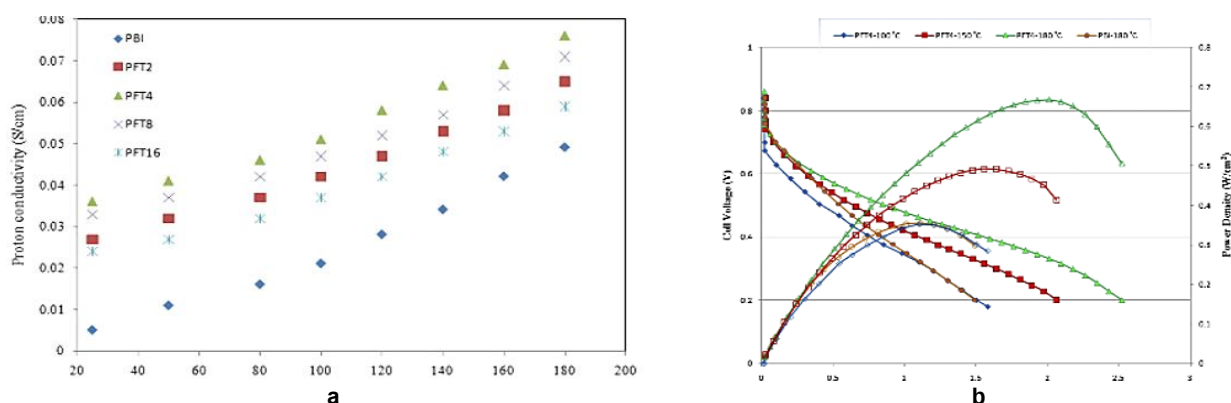


Рис. 7. Характеристики мембран: а – протонная проводимость при влажности 0%; б – поляризационные кривые мембраны полибензимидазол/ Fe_2TiO_5 , легированной H_3PO_4 4 масс. % [45]

Fig. 7. Membrane characteristics: а – proton conductivity at 0% humidity; б – polarization curves of a polybenzimidazole/ Fe_2TiO_5 membrane doped with 4 wt. % H_3PO_4 [45]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получение композиционных материалов является одним из перспективных направлений. Композиты, в которых матрицей служит полимерный материал, являются одним из самых многочисленных и разнообразных видов материалов.

Композиционные материалы обладают уникальными свойствами, такими как большая площадь поверхности, термическая и механическая стабильность, хорошая селективность по отношению к различным загрязнителям, экономическая эффективность. В обзоре представлены физико-химические и структурные характеристики композитных материалов на основе синтети-

ческих полимеров (полимер-углеродные, полимерглинистые композиты), полимерных гетероциклических и кремнийорганических соединений. Полимер-углеродные и полимерглинистые композиты эффективны для удаления органических и неорганических загрязняющих веществ в различных областях применения. Однако следует заметить, что они не достигли оптимальных эксплуатационных характеристик в качестве адсорбентов для крупносерийного производства.

Широчайшие возможности в получении функциональных композиционных полимерных материалов предоставляет золь-гель метод, имеющий малые ограничения в отношении термодинамической совместимости компонентов

системы. Благодаря этому в процесс золь-гель синтеза можно вводить практически неограниченный набор полимерных матриц, функциональных соединений и армирующих компонентов, характеризующихся разнообразным составом и строением химически активных групп. При использовании этого метода можно сравнительно легко влиять на состав и строение поверхностного слоя в таких материалах, которые применяются в качестве адсорбентов тяжелых и благородных металлов, катализаторов, мембран, сенсоров, в биологическом антибиозе, ионообменном катализе и т. д. Такие композиты отличаются повышенной механической прочностью и термостабильностью, обладают улучшенными термохимическими, реологическими, электрическими и оптическими свойствами.

Однако в рассматриваемой области существует ряд вопросов, ответы на которые пока отсутствуют. Прежде всего, это относится к недостаточному вниманию исследователей к хими-

ческой структуре композитов, природе связей, удерживающих компоненты системы, составу продуктов золь-гель процесса. Отсутствие такой информации создает сложности в регулировании условий синтеза гибридных систем, от которых существенным образом зависит морфология композитов, их термическая и химическая стабильность, функциональные и эксплуатационные характеристики.

Несмотря на высокий уровень развития золь-гель технологий, существующие сведения о полимерных композиционных материалах на основе кремнийорганических прекурсоров носят фрагментарный и поверхностный характер. В эпизодических исследованиях авторы ограничивались лишь констатацией синтеза новых композитных материалов, а также исследованием их базисных характеристик. Возможности создания сорбционных, мембранных, биологически и каталитически активных материалов на основе таких продуктов не были раскрыты в полной мере.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Pang H., Wu Y., Wang X., Hu B., Wang X. Recent advances in composites of graphene and layered double hydroxides for water remediation: a review // *Chemistry Asian Journal*. 2019. Vol. 14, no. 15. P. 2542–2552. <https://doi.org/10.1002/asia.201900493>.
2. Liu X., Ma R., Wang X. Graphene oxide-based materials for efficient removal of heavy metal ions from aqueous solution: a review // *Environmental Pollution*. 2019. Vol. 252. P. 62–73. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.050>.
3. Wang X., Chen L., Wang L., Fan Q., Pan D., Li J., et al. Synthesis of novel nanomaterials and their application in efficient removal of radionuclides // *Science China Chemistry*. 2019. Vol. 62, no. 8. P. 933–967. <https://doi.org/10.1007/s11426-019-9492-4>.
4. Saadati J., Pakizeh M. Separation of oil/water emulsion using a new PSf/pebax/F-MWCNT nanocomposite membrane // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2017. Vol. 71. P. 265–276. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2016.12.024>.
5. Bankole M. T., Abdulkareem A. S., Mohammed I. A., Ochigbo S. Sh., Tijani J. O., Abubakre O. K., et al. Selected heavy metals removal from electroplating wastewater by purified and polyhydroxybutyrate functionalized carbon nanotubes adsorbents // *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9, no. 1. P. 4475–4494. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37899-4>.
6. Hayati B., Maleki A., Najafi F., Gharibi F., McKay G., Gupta V. K., et al. Heavy metal adsorption using PAMAM/CNT nanocomposite from aqueous solution in batch and continuous fixed bed systems // *Chemical Engineering Journal*. 2018. Vol. 346. P. 258–270. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.03.172>.
7. Yue Y., Wang X., Wu Q., Han J., Jiang J. Assembly of polyacrylamide-sodium alginate-based organic-inorganic hydrogel with mechanical and adsorption properties // *Polymers*. 2019. Vol. 11, no. 8. P. 1239–1256. <https://doi.org/10.3390/polym11081239>.
8. Kumar R., Ansari M. O., Alshahrie A., Darwesh R., Parveen N., Yadav S. K., et al. Adsorption modeling and mechanistic insight of hazardous chromium on para toluene sulfonic acid immobilized-polyaniline/CNTs nanocomposites // *Journal of Saudi Chemical Society*. 2019. Vol. 23, no. 2. P. 188–197. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2018.06.005>.
9. Xie Y., He C., Liu L., Mao L., Wang K., Huang Q., et al. Carbon nanotube-based polymer nanocomposites: biomimic preparation and organic dye adsorption applications // *RSC Advances*. 2015. Vol. 5, no. 100. P. 82503–82512. <https://doi.org/10.1039/C5RA15626B>.
10. Dong L., Fan W., Tong X., Zhang H., Chen M., Zhao Y. A CO₂-responsive graphene oxide/polymer composite nanofiltration membrane for water purification // *Journal of Materials Chemistry A*. 2018. Vol. 6, no. 16. P. 6785–791. <https://doi.org/10.1039/C8TA00623G>.
11. Kim S., Lin X., Ou R., Liu H., Zhang X., Simon G. P., et al. Highly crosslinked, chlorine tolerant polymer network entwined graphene oxide membrane for water desalination // *Journal of Materials Chemistry A*. 2017. Vol. 5, no. 4. P. 1533–1540. <https://doi.org/10.1039/C6TA07350F>.
12. Zhao J., Chen H., Ye H., Zhang B., Xu L. Poly(dimethylsiloxane)/graphene oxide composite sponge: a robust and reusable adsorbent for efficient oil/water separation // *Soft Matter*. 2019. Vol. 15, no. 45. P. 9224–9232. <https://doi.org/10.1039/C9SM01984G>.
13. Alghamdi A. A., Al-Odayni A.-B., Saeed W. S., Al-Kahtani A., Alharthi F. A., Aouak T. Efficient adsorption of lead (II) from aqueous phase solutions using polypyrrole-based activated carbon // *Materials*. 2019. Vol. 12, no. 12. P. 2020. <https://doi.org/10.3390/ma12122020>.

14. Gardi I., Mishaal Y. G. Designing a regenerable stimuli-responsive grafted polymer-clay sorbent for filtration of water pollutants // *Science and Technology of Advanced Materials*. 2018. Vol. 19, no. 1. P. 588–598. <https://doi.org/10.1080/14686996.2018.1499381>.
15. Atta A. M., Al-Lohedan H. A., Allothman Z. A., Abdel Khalek A. A., Tawfeek A. M. Characterization of reactive amphiphilic montmorillonite nanogels and its application for removal of toxic cationic dye and heavy metals water pollutants // *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2015. Vol. 31. P. 374–384. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2015.07.012>.
16. Medhat Bojnourd F., Pakizeh M. Preparation and characterization of a nanoclay/PVA/PSf nanocomposite membrane for removal of pharmaceuticals from water // *Applied Clay Science*. 2018. Vol. 162. P. 326–338. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.06.029>.
17. Nakhjiri M. T., Marandi G. B., Kurdtabar M. Effect of bis[2-(methacryloyloxy)ethyl] phosphate as a crosslinker on poly (AAm-co-AMPS)/Na-MMT hydrogel nanocomposite as potential adsorbent for dyes: kinetic, isotherm and thermodynamic study // *Journal of Polymer Research*. 2018. Vol. 25, no. 11. Article number 244. <https://doi.org/10.1007/s10965-018-1625-0>.
18. Wang Y., Xiong Y., Wang J., Zhang X. Ultrasound-assisted fabrication of montmorillonite-lignin hybrid hydrogel: highly efficient swelling behaviors and super-sorbent for dye removal from wastewater // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2017. Vol. 520. P. 903–913. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.02.050>.
19. Jinadasa K. K., Peña-Vázquez E., Bermejo-Barrera P., Moreda-Piñeiro A. New adsorbents based on imprinted polymers and composite nanomaterials for arsenic and mercury screening/speciation: a review // *Microchemical Journal*. 2020. Vol. 156. P. 104886–104895. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104886>.
20. Liu Y., Chang X., Yang D., Guo Y., Meng S. Highly selective determination of inorganic mercury(II) after preconcentration with HG(II)-imprinted diazoaminobenzene-vinylpyridine copolymers // *Analytica Chimica Acta*. 2005. Vol. 538, no. 1-2. P. 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.02.017>.
21. Tsoi Y.-K., Ho Y.-M., Leung K. S. Y. Selective recognition of arsenic by tailoring ion-imprinted polymer for ICP-MS quantification // *Talanta*. 2012. Vol. 89. P. 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.12.007>.
22. Nabid M. R., Sedghi R., Hajimirza R., Oskooie H. A., Heravi M. M. A nanocomposite made from conducting organic polymers and multi-walled carbon nanotubes for the adsorption and separation of gold(III) ions // *Microchimica Acta*. 2011. Vol. 175. P. 315–322. <https://doi.org/10.1007/s00604-011-0680-6>.
23. Tarley C. R. T., Diniz K. M., Suquilaa F. A. C., Segatellia M. G. Study on the performance of micro-flow injection preconcentration method on-line coupled to thermospray flame furnace AAS using MWCNTs wrapped with polyvinylpyridine nanocomposites as adsorbent // *RSC Advances*. 2017. Vol. 7. P. 19296. <https://doi.org/10.1039/C7RA01220A>.
24. Yamada Y. M. A., Sarkar S. M., Uozumi Y. Self-assembled poly(imidazole-palladium): highly active, reusable catalyst at parts per million to parts per billion levels // *Journal of the American Chemical Society*. 2012. Vol. 134. P. 3190–3198. <https://doi.org/10.1021/ja210772v>.
25. Ohno A., Sato T., Mase T., Uozumi Y., Yamada Y. M. A. A convoluted polyvinylpyridine-palladium catalyst for Suzuki–Miyaura coupling and C–H arylation // *Advanced Synthesis & Catalysis*. 2020. Vol. 362, no. 21. P. 4687–4698. <https://doi.org/10.1002/adsc.202000742>.
26. Sato T., Ohno A., Shaheen M., Uozumi S. Y., Yamada Y. M. A. A Convoluted polymeric imidazole palladium catalyst: structural elucidation and investigation of the driving force for the efficient Mizoroki–Heck reaction // *ChemCatChem*. 2015. Vol. 7, no. 14. P. 2141–2148. <https://doi.org/10.1002/cctc.201500249>.
27. Zinovyeva V. A., Vorotyntsev M. A., Bezverkhy I., Chaumont D., Hierso J.-C. Highly dispersed palladium-polypyrrole nanocomposites: In-water synthesis and application for catalytic arylation of heteroaromatics by direct C–H bond activation // *Advanced Functional Materials*. 2011. Vol. 21, no. 6. P. 1064–1075. <https://doi.org/10.1002/adfm.201001912>.
28. Voronkov M. G., Vlasova N. N., Pozhidaev Yu. N. Organosilicon ion-exchange and complexing adsorbents // *Applied Organometallic Chemistry*. 2000. Vol. 14, no. 6. P. 287–303. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0739\(200006\)14:6<287::AID-AOC989>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0739(200006)14:6<287::AID-AOC989>3.0.CO;2-Y).
29. Zub Yu. L., Chuiko A. A. Salient features of synthesis and structure of surface of functionalized polysiloxane xerogels. In: *Colloidal silica: fundamentals and applications*. Bergna H. E., Roberts W. O. (eds.). Boca Raton: CRC Press, 2006. Vol. 131. P. 397–424. <https://doi.org/10.1201/9781420028706>.
30. Zub Yu. L., Chuiko A. A. Synthesis, structure and adsorption properties of functionalized polysiloxane materials // *Combined and Hybrid Adsorbents*. 2006. Vol. 45. P. 3–21. https://doi.org/10.1007/1-4020-5172-7_1.
31. Armanini L., Carturan G., Boninsegna S., Dal Monte R., Muraca M. SiO₂-Entrapment of animal cells. Part 2: protein diffusion through collagen membranes coated with sol-gel SiO₂ // *Journal of Materials Chemistry*. 1999. Vol. 9, no. 12. P. 3057–3060. <https://doi.org/10.1039/A907302G>.
32. Wei Y., Xu J., Feng Q., Dong H., Lin M. Encapsulation of enzymes in mesoporous host material via the nonsurfactant-templated sol-gel process // *Materials Letters*. 2000. Vol. 44, no. 1. P. 6–11. [https://doi.org/10.1016/S0167-577X\(99\)00287-6](https://doi.org/10.1016/S0167-577X(99)00287-6).
33. Patel S., Bandyopadhyay A., Vijayabaskar V., Bhowmick A. K. Effect of acrylic copolymer and terpolymer composition on the properties of *in-situ* pol-

mer/silica hybrid nanocomposites // *Journal of Materials Science*. 2006. Vol. 41, no. 3. P. 927–936. <https://doi.org/10.1007/s10853-006-6576-x>.

34. Bonilla G., Martinez M., Mendoza A. M., Widmaier J.-M. Ternary interpenetrating networks of polyurethane-poly(methyl methacrylate)-silica: preparation by the sol-gel process and characterization of films // *European Polymer Journal*. 2006. Vol. 42, no. 11. P. 2977–2986. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2006.07.011>.

35. Li S., Shah A., Hsieh A. J., Haghighat R., Praveen S. S., Mukherjee I., et al. Characterization of poly(2-hydroxyethyl methacrylate-silica) hybrid materials with different silica contents // *European Polymer Journal*. 2007. Vol. 48, no. 14. P. 3982–3989. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2006.07.011>.

36. Tamai T., Watanabe M. Acrylic polymer/silica hybrids prepared by emulsifier-free emulsion polymerization and the sol-gel process // *Journal of Polymer Science*. 2006. Vol. 44, no. 1. P. 273–280.

37. Ogoshi T., Chujo Y. Synthesis of poly(vinylidene fluoride) (PVdF)/silica hybrids having interpenetrating polymer network structure by using crystallization between PVdF chains // *Journal of Polymer Science*. 2005. Vol. 43, no. 16. P. 3543–3550.

38. Das N. S., Cordoba T. S. I., Zoppi R. A. Template synthesis of polyaniline: a route to achieve nanocomposites // *Synthetic Metals*. 1999. Vol. 101, no. 1-3. P. 754–755.

39. Yang X., Wang W., Cao L., Wang J. Effects of reaction parameters on the preparation of P₄VP/SiO₂ composite aerogel via supercritical CO₂ drying // *Polymer Composites*. 2019. Vol. 40, no. 11. P. 4205–4214. <https://doi.org/10.1002/pc.25281>.

40. Hannachi Y., Hafidh A., Ayed S. Bi-Functionalized hybrid materials as novel adsorbents for heavy metal removal from aqueous solution: batch and fixed-bed techniques. In: *Water chemistry*. Eyvaz M., Yüksel E. (eds.). 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86802>.

41. Abdalla S., Al-Marzouki F., Obaid A., Gamal S. Effect of addition of colloidal silica to films of polyimide, polyvinylpyridine, polystyrene, and polymethylmethacrylate nano-composites // *Materials*. 2016. Vol. 9, no. 2. P. 104–115. <https://doi.org/10.3390/ma9020104>.

42. Bakangura E., Wu L., Ge L., Yang Z., Xu T. Mixed matrix proton exchange membranes for fuel cells: state of the art and perspectives // *Progress in Polymer Science*. 2016. Vol. 57. P. 103–152. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.11.004>.

43. Jalani N. H., Dunn K., Datta R. Synthesis and characterization of Nafion®-MO₂ (M=Zr, Si, Ti) nanocomposite membranes for higher temperature PEM fuel cells // *Electrochimica Acta*. 2005. Vol. 51, no. 3. P. 553–560. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2005.05.016>.

44. He R., Li Q., Xiao G., Bjerrum N. J. Proton conductivity of phosphoric acid doped polybenzimidazole and its composites with inorganic proton conductors // *Journal of Membrane Science*. 2003. Vol. 226, no. 1-2. P. 169–184. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2003.09.002>.

45. Enhessari M., Razi M. K., Etemad L., Parviz A., Sakhaei M. Structural, optical and magnetic properties of the Fe₂TiO₅ nanopowders // *Journal of Experimental Nanoscience*. 2014. Vol. 9. P. 167–176. <https://doi.org/10.1080/17458080.2011.649432>.

46. Bonnet B., Jones D. J., Roziere J., Tchicaya L., Alberti G., Casciola M., et al. Hybrid organic-inorganic membranes for a medium temperature fuel cell // *Journal of New Materials for Electrochemical Systems*. 2000. Vol. 3. P. 87–92.

47. Salarizadeh P., Javanbakht M., Pourmahdian S. Fabrication and physico-chemical properties of iron titanate nanoparticles based sulfonated poly(ether ether ketone) membrane for proton exchange membrane fuel cell application // *Solid State Ionics*. 2015. Vol. 281. P. 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.ssi.2015.08.014>.

REFERENCES

1. Pang H., Wu Y., Wang X., Hu B., Wang X. Recent advances in composites of graphene and layered double hydroxides for water remediation: a review. *Chemistry Asian Journal*. 2019;14(15):2542–2552. <https://doi.org/10.1002/asia.201900493>.

2. Liu X., Ma R., Wang X. Graphene oxide-based materials for efficient removal of heavy metal ions from aqueous solution: a review. *Environmental Pollution*. 2019;252:62–73. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.050>.

3. Wang X., Chen L., Wang L., Fan Q., Pan D., Li J., et al. Synthesis of novel nanomaterials and their application in efficient removal of radionuclides. *Science China Chemistry*. 2019;62(8):933–967. <https://doi.org/10.1007/s11426-019-9492-4>.

4. Saadati J., Pakizeh M. Separation of oil/water emulsion using a new PSf/pebax/F-MWCNT nanocomposite membrane. *Journal of the Taiwan Insti-*

tute of Chemical Engineers. 2017;71:265–276. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2016.12.024>.

5. Bankole M. T., Abdulkareem A. S., Mohammed I. A., Ochigbo S. Sh., Tijani J. O., Abubakre O. K., et al. Selected heavy metals removal from electroplating wastewater by purified and polyhydroxybutyrate functionalized carbon nanotubes adsorbents. *Scientific Reports*. 2019;9(1):4475–4494. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37899-4>.

6. Hayati B., Maleki A., Najafi F., Gharibi F., McKay G., Gupta V. K., et al. Heavy metal adsorption using PAMAM/CNT nanocomposite from aqueous solution in batch and continuous fixed bed systems. *Chemical Engineering Journal*. 2018;346:258–270. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.03.172>.

7. Yue Y., Wang X., Wu Q., Han J., Jiang J. Assembly of polyacrylamide-sodium alginate-based organic-inorganic hydrogel with mechanical and ad-

- sorption properties. *Polymers*. 2019;11(8):1239-1256. <https://doi.org/10.3390/polym11081239>.
8. Kumar R., Ansari M. O., Alshahrie A., Darwesh R., Parveen N., Yadav S. K., et al. Adsorption modeling and mechanistic insight of hazardous chromium on para toluene sulfonic acid immobilized-polyaniline/CNTs nanocomposites. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2019;23(2):188-197. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2018.06.005>.
9. Xie Y., He C., Liu L., Mao L., Wang K., Huang Q., et al. Carbon nanotube-based polymer nanocomposites: biomimic preparation and organic dye adsorption applications. *RSC Advances*. 2015;5(100):82503-82512. <https://doi.org/10.1039/C5RA15626B>.
10. Dong L., Fan W., Tong X., Zhang H., Chen M., Zhao Y. A CO₂-responsive graphene oxide/polymer composite nanofiltration membrane for water purification. *Journal of Materials Chemistry A*. 2018;6(16):6785-791. <https://doi.org/10.1039/C8TA00623G>.
11. Kim S., Lin X., Ou R., Liu H., Zhang X., Simon G. P., et al. Highly crosslinked, chlorine tolerant polymer network entwined graphene oxide membrane for water desalination. *Journal of Materials Chemistry A*. 2017;5(4):1533-1540. <https://doi.org/10.1039/C6TA07350F>.
12. Zhao J., Chen H., Ye H., Zhang B., Xu L. Poly(dimethylsiloxane)/graphene oxide composite sponge: a robust and reusable adsorbent for efficient oil/water separation. *Soft Matter*. 2019;15(45):9224-9232. <https://doi.org/10.1039/C9SM01984G>.
13. Alghamdi A. A., Al-Odayni A.-B., Saeed W. S., Al-Kahtani A., Alharthi F. A., Aouak T. Efficient adsorption of lead (II) from aqueous phase solutions using polypyrrole-based activated carbon. *Materials*. 2019;12(12):2020. <https://doi.org/10.3390/ma12122020>.
14. Gardi I., Mishaal Y. G. Designing a regenerable stimuli-responsive grafted polymer-clay sorbent for filtration of water pollutants. *Science and Technology of Advanced Materials*. 2018;19(1):588-598. <https://doi.org/10.1080/14686996.2018.1499381>.
15. Atta A. M., Al-Lohedan H. A., Althman Z. A., Abdel Khalek A. A., Tawfeek A. M. Characterization of reactive amphiphilic montmorillonite nanogels and its application for removal of toxic cationic dye and heavy metals water pollutants. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2015;31:374-384. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2015.07.012>.
16. Medhat Bojnourd F., Pakizeh M. Preparation and characterization of a nanoclay/PVA/PSf nanocomposite membrane for removal of pharmaceuticals from water. *Applied Clay Science*. 2018;162:326-338. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.06.029>.
17. Nakhjiri M. T., Marandi G. B., Kurdtabar M. Effect of bis[2-(methacryloyloxy)ethyl] phosphate as a crosslinker on poly (AAm-co-AMPS)/Na-MMT hydrogel nanocomposite as potential adsorbent for dyes: kinetic, isotherm and thermodynamic study. *Journal of Polymer Research*. 2018;25(11). Article number 244. <https://doi.org/10.1007/s10965-018-1625-0>.
18. Wang Y., Xiong Y., Wang J., Zhang X. Ultrasonic-assisted fabrication of montmorillonite-lignin hybrid hydrogel: highly efficient swelling behaviors and super-sorbent for dye removal from wastewater. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2017;520:903-913. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.02.050>.
19. Jinadasa K. K., Peña-Vázquez E., Bermejo-Barrera P., Moreda-Piñeiro A. New adsorbents based on imprinted polymers and composite nanomaterials for arsenic and mercury screening/speciation: a review. *Microchemical Journal*. 2020;156:104886-104895. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104886>.
20. Liu Y., Chang X., Yang D., Guo Y., Meng S. Highly selective determination of inorganic mercury(II) after preconcentration with HG(II)-imprinted diazoaminobenzene-vinylpyridine copolymers. *Analytica Chimica Acta*. 2005;538(1-2):85-91. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.02.017>.
21. Tsoi Y.-K., Ho Y.-M., Leung K. S. Y. Selective recognition of arsenic by tailoring ion-imprinted polymer for ICP-MS quantification. *Talanta*. 2012;89:162-168. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.12.007>.
22. Nabid M. R., Sedghi R., Hajimirza R., Os-kooie H. A., Heravi M. M. A nanocomposite made from conducting organic polymers and multi-walled carbon nanotubes for the adsorption and separation of gold(III) ions. *Microchimica Acta*. 2011;175:315-322. <https://doi.org/10.1007/s00604-011-0680-6>.
23. Tarley C. R. T., Diniz K. M., Suquillaa F. A. C., Segatellia M. G. Study on the performance of micro-flow injection preconcentration method on-line coupled to thermospray flame furnace AAS using MWCNTs wrapped with polyvinylpyridine nanocomposites as adsorbent. *RSC Advances*. 2017;7:19296. <https://doi.org/10.1039/C7RA01220A>.
24. Yamada Y. M. A., Sarkar S. M., Uozumi Y. Self-assembled poly(imidazole-palladium): highly active, reusable catalyst at parts per million to parts per billion levels. *Journal of the American Chemical Society*. 2012;134:3190-3198. <https://doi.org/10.1021/ja210772v>.
25. Ohno A., Sato T., Mase T., Uozumi Y., Yamada Y. M. A. A convoluted polyvinylpyridine-palladium catalyst for Suzuki-Miyaura coupling and C-H arylation. *Advanced Synthesis & Catalysis*. 2020;362(21):4687-4698. <https://doi.org/10.1002/adsc.202000742>.
26. Sato T., Ohno A., Shaheen M., Uozumi S. Y., Yamada Y. M. A. A Convoluted polymeric imidazole palladium catalyst: structural elucidation and investigation of the driving force for the efficient Mizoroki-Heck reaction. *ChemCatChem*. 2015;7(14):2141-2148. <https://doi.org/10.1002/cctc.201500249>.
27. Zinovyeva V. A., Vorotyntsev M. A., Bezverkhy I., Chaumont D., Hierso J.-C. Highly dispersed palladium-polypyrrole nanocomposites: in-water synthesis and application for catalytic arylation of heteroaromatics by direct C-H bond activation. *Advanced Functional Materials*. 2011;21(6):1064-

1075. <https://doi.org/10.1002/adfm.201001912>.

28. Voronkov M. G., Vlasova N. N., Pozhidaev Yu. N. Organosilicon ion-exchange and complexing adsorbents. *Applied Organometallic Chemistry*. 2000;14(6):287-303. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0739\(200006\)14:6<287::AID-AOC989>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0739(200006)14:6<287::AID-AOC989>3.0.CO;2-Y).

29. Zub Yu. L., Chuiko A. A. Salient features of synthesis and structure of surface of functionalized polysiloxane xerogels. In: *Colloidal silica: fundamentals and applications*; Bergna H. E., Roberts W. O. (eds.). Boca Raton: CRC Press; 2006, vol. 131, p. 397-424. <https://doi.org/10.1201/9781420028706>.

30. Zub Yu. L., Chuiko A. A. Synthesis, structure and adsorption properties of functionalized polysiloxane materials. *Combined and Hybrid Adsorbents*. 2006;45:3-21. https://doi.org/10.1007/1-4020-5172-7_1.

31. Armanini L., Carturan G., Boninsegna S., Dal Monte R., Muraca M. SiO₂-Entrapment of animal cells. Part 2: protein diffusion through collagen membranes coated with sol-gel SiO₂. *Journal of Materials Chemistry*. 1999;9(12):3057-3060. <https://doi.org/10.1039/A907302G>.

32. Wei Y., Xu J., Feng Q., Dong H., Lin M. Encapsulation of enzymes in mesoporous host material via the nonsurfactant-templated sol-gel process. *Materials Letters*. 2000;44(1):6-11. [https://doi.org/10.1016/S0167-577X\(99\)00287-6](https://doi.org/10.1016/S0167-577X(99)00287-6).

33. Patel S., Bandyopadhyay A., Vijayabaskar V., Bhowmick A. K. Effect of acrylic copolymer and terpolymer composition on the properties of *in-situ* polymer/silica hybrid nanocomposites. *Journal of Materials Science*. 2006;41(3):927-936. <https://doi.org/10.1007/s10853-006-6576-x>.

34. Bonilla G., Martinez M., Mendoza A. M., Widmaier J.-M. Ternary interpenetrating networks of polyurethane-poly(methyl methacrylate)-silica: preparation by the sol-gel process and characterization of films. *European Polymer Journal*. 2006;42(11):2977-2986. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2006.07.011>.

35. Li S., Shah A., Hsieh A. J., Haghighat R., Praveen S. S., Mukherjee I., et al. Characterization of poly(2-hydroxyethyl methacrylate-silica) hybrid materials with different silica contents. *European Polymer Journal*. 2007;48(14):3982-3989. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2006.07.011>.

36. Tamai T., Watanabe M. Acrylic polymer/silica hybrids prepared by emulsifier-free emulsion polymerization and the sol-gel process. *Journal of Polymer Science*. 2006;44(1):273-280.

37. Ogoshi T., Chujo Y. Synthesis of poly(vinylidene fluoride) (PVdF)/silica hybrids having interpenetrating polymer network structure by using crys-

tallization between PVdF chains. *Journal of Polymer Science*. 2005;43(16):3543-3550.

38. Das N. S., Cordoba T. S. I., Zoppi R. A. Template synthesis of polyaniline: a route to achieve nanocomposites. *Synthetic Metals*. 1999;101(1-3):754-755.

39. Yang X., Wang W., Cao L., Wang J. Effects of reaction parameters on the preparation of P₄VP/SiO₂ composite aerogel via supercritical CO₂ drying. *Polymer Composites*. 2019;40(11):4205-4214. <https://doi.org/10.1002/pc.25281>.

40. Hannachi Y., Hafidh A., Ayed S. Bi-Functionalized hybrid materials as novel adsorbents for heavy metal removal from aqueous solution: batch and fixed-bed techniques. In: *Water chemistry*; Eyvaz M., Yüksel E. (eds.). 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86802>.

41. Abdalla S., Al-Marzouki F., Obaid A., Gamal S. Effect of addition of colloidal silica to films of polyimide, polyvinylpyridine, polystyrene, and polymethylmethacrylate nano-composites. *Materials*. 2016;9(2):104-115. <https://doi.org/10.3390/ma9020104>.

42. Bakangura E., Wu L., Ge L., Yang Z., Xu T. Mixed matrix proton exchange membranes for fuel cells: state of the art and perspectives. *Progress in Polymer Science*. 2016;57:103-152. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.11.004>.

43. Jalani N. H., Dunn K., Datta R. Synthesis and characterization of Nafion®-MO₂ (M=Zr, Si, Ti) nanocomposite membranes for higher temperature PEM fuel cells. *Electrochimica Acta*. 2005;51(3):553-560. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2005.05.016>.

44. He R., Li Q., Xiao G., Bjerrum N. J. Proton conductivity of phosphoric acid doped polybenzimidazole and its composites with inorganic proton conductors. *Journal of Membrane Science*. 2003;226(1-2):169-184. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2003.09.002>.

45. Enhessari M., Razi M. K., Etemad L., Parviz A., Sakhaei M. Structural, optical and magnetic properties of the Fe₂TiO₅ nanopowders. *Journal of Experimental Nanoscience*. 2014;9:167-176. <https://doi.org/10.1080/17458080.2011.649432>.

46. Bonnet B., Jones D. J., Roziere J., Tchicaya L., Alberti G., Casciola M., et al. Hybrid organic-inorganic membranes for a medium temperature fuel cell. *Journal of New Materials for Electrochemical Systems*. 2000;3:87-92.

47. Salarizadeh P., Javanbakht M., Pourmahdian S. Fabrication and physico-chemical properties of iron titanate nanoparticles based sulfonated poly (ether ether ketone) membrane for proton exchange membrane fuel cell application. *Solid State Ionics*. 2015;281:12-20. <https://doi.org/10.1016/j.ssi.2015.08.014>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

О. В. Лебедева,

к.х.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
lebedeva@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-1609-4924>

Е. И. Сипкина,

к.х.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
evgiv84@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9220-9765>

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 01.09.2021.
Одобрена после рецензирования 17.05.2022.
Принята к публикации 30.05.2022.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Oksana V. Lebedeva,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., 664074, Irkutsk,
Russian Federation,
lebedeva@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-1609-4924>

Evgeniya I. Sipkina,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., 664074, Irkutsk,
Russian Federation,
evgiv84@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9220-9765>

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 01.09.2021.
Approved after reviewing 17.05.2022.
Accepted for publication 30.05.2022.



The effect of methyl methacrylate transformations during photocatalysis in the presence of $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ on the change of the complex oxide surface

Victoria O. Chasova*, Diana G. Fukina*,
Alexey V. Boryakov*, Evgeny V. Zhizhin**,
Alexandra V. Koroleva**, Lyudmila L. Semenycheva*,
Evgeny V. Suleimanov*

*Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation

**St. Petersburg University, St. Petersburg, Russian Federation

Corresponding author: Victoria O. Chasova, tchasowa.vika@yandex.ru

Abstract. The features of the surface changes of the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ photocatalyst during polymerization processes involving methyl methacrylate (MMA) under irradiation with visible light $\lambda = 400\text{--}700$ nm at a temperature of $20\text{--}25$ °C, as well as regeneration conditions for its reuse, have been studied. The realization of a chemical reaction in a mixture of a photocatalyst and a monomer is determined by its kinetic parameters and the concentration of reacting particles. The formation of $\text{OH}\cdot$ radicals, which are active in radical polymerization, occurs in this case by both ways: interacting between water molecules adsorbed on the surface, as well as during the recovery of oxygen dissolved in water. Due to the high reactivity of the hydroxyl radical, an active process of radical polymerization of MMA could be expected. However, the formation of polymethyl methacrylate (PMMA) in the reaction takes place with a low conversion – the formation of 5–10% polymer, which is related to changes on the surface of the complex oxide $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ during the reaction. Scanning electron microscopy (SEM) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) methods have been used to investigate the catalyst surface. The presence of organic and polymer substrates was revealed on the catalyst surface after the reaction. As a result of the catalyst treatment by ultrasound in an aqueous emulsion, polymer macromolecules are not identified on the surface, but chemically adsorbed monomer and oligomers formed under the ultrasound destruction of the polymer are presented. Other methods of cleaning the catalyst surface by washing in different solutions as chloroform and tetrahydrofuran also are not effective and cause the adsorbates transformations on the surface. It leads to decreasing the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ catalyst's activity for repeated polymerization. Thus, to successful regeneration of the catalyst's powder not only ultrasound treatment is required, but also heating it at $300\text{--}400$ °C to remove organic substrates.

Keywords: photocatalysis, β -pyrochlore, complex oxide $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$, emulsion polymerization, X-ray photoelectron spectroscopy, scanning electron microscopy

Acknowledgements. This work was supported on the equipment of the Collective Usage Center “New Materials and Resource-saving Technologies” (Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod). The XPS study was conducted at the resource center “Physical Methods of Surface Research” on the basis of St. Petersburg State University.

Funding. This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (assignment 0729-2020-0053).

For citation: Chasova V. O., Fukina D. G., Boryakov A. V., Zhizhin E. V., Koroleva A. V., Semenycheva L. L., Suleimanov E. V. The effect of methyl methacrylate transformations during photocatalysis in the presence of $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ on the change of the complex oxide surface. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):208-221. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-208-221>.

Научная статья

УДК 544.72:544.526.5:678.744.325

Влияние превращений метилметакрилата при фотокатализе в присутствии $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ на изменение поверхности сложного оксида

Виктория Олеговна Часова*, Диана Георгиевна Фукина*,
Алексей Владимирович Боряков*, Евгений Владимирович Жижин**,
Александра Владимировна Королева**, Людмила Леонидовна Семенычева*,
Евгений Владимирович Сулейманов*

*Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского,
г. Нижний Новгород, Российская Федерация

**Санкт-Петербургский государственный университет,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Часова Виктория Олеговна, tchasowa.vika@yandex.ru

Аннотация. Изучены особенности изменения поверхности фотокатализатора $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в полимеризационных процессах с участием метилметакрилата (ММА) при облучении видимым светом $\lambda=400\text{--}700$ нм и температуре $20\text{--}25$ °С, а также условия регенерации для его повторного применения. Реализация той или иной химической реакции в смеси фотокатализатора и мономера определяется ее кинетическими параметрами и концентрацией реагирующих частиц. Образование $\text{OH}^\bullet$ радикалов, активных в радикальной полимеризации, происходит в этом случае как при взаимодействии с адсорбированными на поверхности молекулами воды, так и в объеме раствора, а также при восстановлении растворенного в воде кислорода. В связи с тем, что гидроксильный радикал обладает высокой реакционной способностью, можно было ожидать активный процесс радикальной полимеризации ММА. Однако образование ПММА в рассматриваемой реакции проходит с низкой конверсией – наблюдается образование 5–10% полимера, что связано с изменениями на поверхности сложного оксида $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в процессе реакции. Для исследования поверхности катализатора были использованы методы сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС). После реакции на поверхности катализатора было обнаружено присутствие органических и полимерных субстратов. В результате обработки катализатора ультразвуком в водной эмульсии макромолекулы полимера не идентифицируются на поверхности, но представлены химически адсорбированные мономер и олигомеры, образующиеся при разрушении полимера ультразвуком. Другие способы очистки поверхности катализатора путем промывки в различных растворах, таких как хлороформ и тетрагидрофуран, также неэффективны и вызывают превращения адсорбатов на поверхности. Это приводит к снижению активности катализатора $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ при повторной полимеризации. Таким образом, для успешной регенерации порошка катализатора требуется не только обработка ультразвуком, но и нагрев его при $300\text{--}400$ °С для удаления органических субстратов.

Ключевые слова: фотокатализ, β -пирохлор, комплексный оксид $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$, эмульсионная полимеризация, рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия, сканирующая электронная микроскопия

Благодарности. Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н. И. Лобачевского). Исследование РФЭС проводилось в ресурсном центре «Физические методы исследования поверхности» на базе Санкт-Петербургского государственного университета.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект №0729-2020-0053).

Для цитирования: Часова В. О., Фукина Д. Г., Боряков А. В., Жижин Е. В., Королева А. В., Семенычева Л. Л., Сулейманов Е. В. Влияние превращений метилметакрилата при фотокатализе в присутствии $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ на изменение поверхности сложного оксида // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 208–221. (In English). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-208-221>.

INTRODUCTION

Photocatalytic reactions under the influence of visible light attract attention due to compliance with the principles of green chemistry and the wide range of possibilities with their use. Different metal oxides, which are capable of catalyzing reactions under visible light irradiation rather than ultraviolet, have recently become the most widespread [1–5].

Photocatalytic oxidation is especially widely known for the decomposition of pollutants with different nature in water and air. It is due to the presence of variety active particles in the reaction volume: charged particles, radicals, singlet oxygen, hydrogen peroxide, capable of destroying organic compounds. Significant progress has been recently reached in this direction [1, 6–17].

It is attractive to use an active hydroxyl radical, also formed under irradiation of metal oxides, to obtain new polymer materials for a number of reasons: the possibility of carrying out the process at room temperature, the absence of fragments of material initiators with organic nature, etc. Photo-catalytic radical polymerization at low temperatures with the active hydroxyl radical participation is the best known for titanium oxide [18, 19]. A number of articles describe similar studies for the production of composites used for 3D printing of biomedicine materials [20], or along with controlled copolymerization by the mechanism of reversible transfer of the addition-fragmentation chain for the synthesis of block copolymers of acrylic monomers with a certain composition [21].

In previous studies, we have described the synthesis of the MMA polymer and its graft copolymers with natural polymers, collagen and pectin, in an aqueous emulsion in the presence of a complex oxide $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ under irradiation with visible light $\lambda=400\text{--}700\text{ nm}$ at a temperature of $20\text{--}25\text{ }^\circ\text{C}$ [22, 23]. The structural and relief organization of the obtained graft copolymers is typical of scaffolds and allows us to consider them as a promising material for medical materials – hydrogel scaffolds with a new set of properties. Such composites based on copolymers of natural and synthetic polymers are well known, especially for tissue engineering [22–31]. The repeated usage of the catalyst deserves special attention in case of developing new methods for obtaining polymer materials. Such studies have been carried out for many catalysts with a practical focus of research. For example, the reuse of catalysts Ag_3PO_4 -Guar gum [32], $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CeO}_2/\text{g-C}_3\text{N}_4$ [33], $\text{SiO}_2/\text{WO}_3\text{--TiO}_2@\text{rGO}$ [34] is possible for several cycles with a slight loss of activity after solvent treatment and heating. Thus, the study of the reuse possibility of the complex oxide $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ is relevant due to photocatalytic activity for polymerization processes.

In this paper, different surface purification methods of the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ catalyst after polymerization of MMA have been carried out. In order

to analyze the surface behavior of the complex oxide $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ in detail during the adsorption of organic substrates and further photocatalytic polymerization in water MMA emulsion under irradiation with visible light $\lambda=400\text{--}700\text{ nm}$ at a temperature of $20\text{--}25\text{ }^\circ\text{C}$, the methods of XPS and SEM were used, which allows to qualitatively and quantitatively determine the chemical composition of compounds at the near-surface layer from 1–2 nm to several micrometers.

EXPERIMENTAL SECTION

Materials. Commercial organic solvents were used in the study: tetrahydrofuran (99.5%, Component-Reagent, Russia), chloroform (99.85%, Component-Reagent, Russia). MMA (99.8%, Energoeffekt, Russia) was used as a monomer. It was previously purified from the stabilizer by washing the monomer with a 10% w/w alkali solution in a ratio of 1:1 at least 4 times, and then it was repeatedly washed with cold water to a neutral pH. Then the monomer was dried using calcium chloride for at least a day. At the end, the MMA was distilled under vacuum (1.33 Pa) at $40\text{ }^\circ\text{C}$. Potassium salts of resin and fatty acids (Ediscan, Orghim, Russia) and dimethacrylic ether of triethylene glycol (TEGDME, Khimtransit, Russia) played the role of emulsion stabilizers.

Preparation of MMA-in-water emulsion. The synthesis of a polycrystalline sample of the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ compound with an average particle size of $\sim 700\text{ nm}$ was carried out by a solid-state reaction, a detailed experimental technique was described earlier in our papers [13, 23, 35]. The emulsion for the reaction was prepared by mixing $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ powder, water and monomer with the addition of emulsion stabilizers (mass ratio monomer-water mixture : Ediscan : TEGDME : catalyst = 100:1:3:1), treating with ultrasound for 5 minutes using the ultrasonic dispersator UZDN-A650. The v/v ratio of water and monomer was 75:25. The reaction was carried out in an argon current, irradiation was carried out using an LED lamp of visible radiation (white, 30 W LED, 6500 K) (Fig. 1).

Photocatalyst treatment after emulsion polymerization reactions. After the end of the reaction, the emulsion was centrifuged for 30 minutes to separate the catalyst. Catalyst powders after parallel polymerization experiments were subjected to different purification methods (purification was not carried out sequentially, and a specific procedure was carried out for each catalyst powder after the polymerization reaction):

- 1) washing at $50\text{ }^\circ\text{C}$ in THF solution for 3 hours;
- 2) chloroform extraction at $61\text{ }^\circ\text{C}$ in the Soxhlet extractor for 15 h;
- 3) powder treatment with ultrasound for 40 minutes in the presence of water at $20\text{ }^\circ\text{C}$;
- 4) powder heating at $300\text{--}400\text{ }^\circ\text{C}$ in the Pt crucible in a muffle oven.

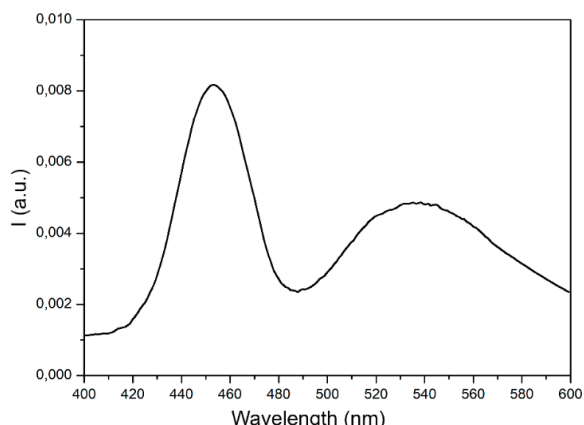


Fig. 1. Lamp spectrum (white, 30 W LED, 6500 K)

Рис. 1. Спектр лампы (белый, 30 Вт LED, 6500 К)

Then all the powders were dried under vacuum (1.33 Pa) at 40 °C to a constant mass.

Characterization. The obtained samples of the catalyst powder were examined by scanning electron microscopy (SEM) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). The study of the surface of photocatalyst powder was performed using a scanning electron microscope JSM-IT300 (Jeol Ltd, Japan) with an electron probe diameter of 5 nm (operating voltage 20 kV), using a backscattered electron

detector in high vacuum mode. Determination of the features of the chemical composition of the surface in the samples was carried out by XPS on an electronic spectrometer "Escalab 250Xi". A monochromatized line Al K α =1486.6 eV was used as the radiation source. The spectra were recorded in the mode of constant transmission energy at 100 eV for the survey spectrum and 50 eV for the spectra of regions of elements with a spot size of 650 microns. The depth of the surface analysis is up to 2 nm. The total energy resolution was about 0.3 eV. A neutralizer gas was used to neutralize the surface charge. The pressure in the chamber during the study was no more than 10⁻⁹ mbar, which guaranteed a clean surface. Correction of the position of the element lines in all cases was carried out along the carbon line C 1s (285 eV). The study of the surface composition by depth was carried out by etching the surface with an ion gun (Ar⁺) with an accelerating voltage of 3 kV.

RESULTS AND DISCUSSION

It was previously shown [36] that after the catalyst – oxide RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ irradiation with visible light, electron-hole pairs are formed, which can lead to a number of transformations according to schemes 1–7 in Fig. 2.

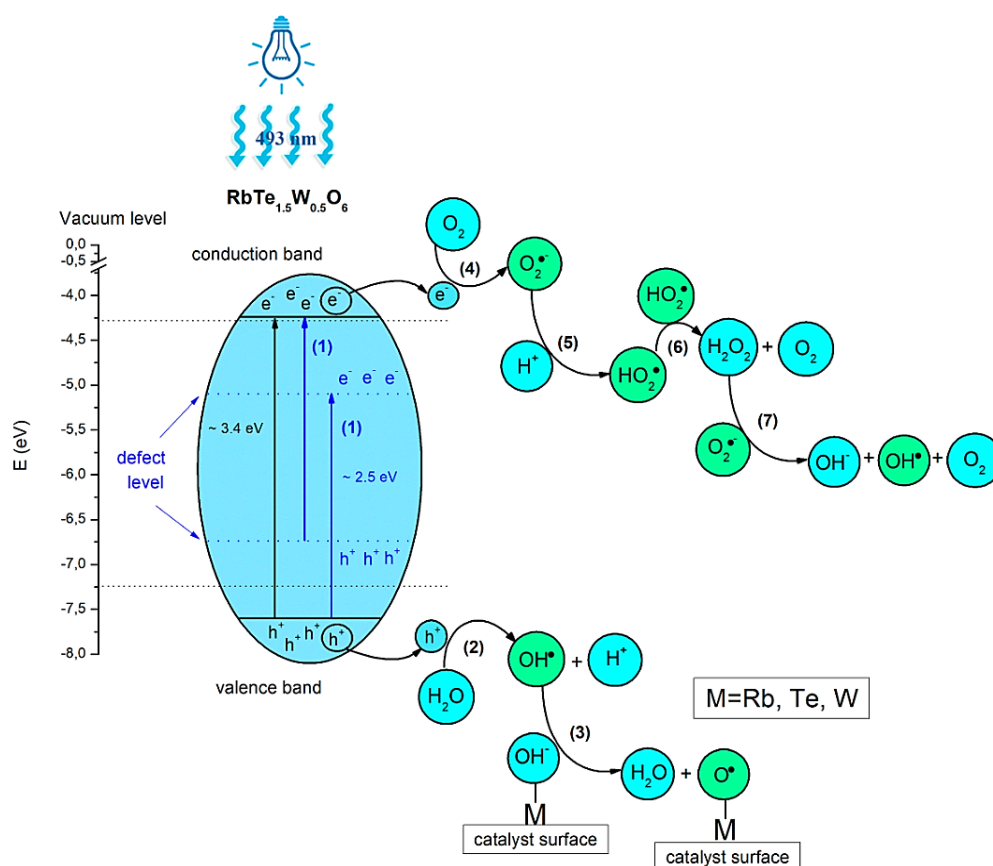


Fig. 2. Scheme of formation of electron-hole pairs during photocatalysis

Рис. 2. Схема образования электронно-дырочных пар при фотокатализе

Reactions (1–7) indicate that several chemical transformations can actually occur simultaneously in the reaction mixture of a photocatalyst and a monomer. The realization of a chemical reaction is determined by its kinetic parameters and the concentration of reacting particles. The formation of $\text{OH}\cdot$ radicals, which are active in radical polymerization, occurs in this case by both ways: interacting between water molecules adsorbed on the surface (scheme 2, 3), as well as during the recovery of oxygen dissolved in water (scheme 6, 7). Due to the high reactivity of the hydroxyl radical, an active process of radical polymerization of MMA could be expected. However, as was shown in the work [22], the formation of polymethyl methacrylate (PMMA) in the reaction takes place with a low conversion - the formation of 5–10% polymer with molecular weight (MW) and polydispersity coefficient (PDI) 140–145 kDa and 2.2, respectively, are observed. In addition, the product of oxidative dimerization of MMA (OMMA) and its oligomer were also isolated in small amounts and polymer on the catalyst's surface. If a natural polymer (collagen, pectin) is presented in the reaction mixture, a graft copolymer is formed [22, 23]. Schematically, reactions in a mixture of a catalyst with a monomer, including in the presence of a natural polymer, are shown in Fig. 3.

Thus, it was necessary to conduct a detailed study of the catalyst powder surface and test it after the photocatalytic polymerization reaction for reuse. To achieve this goal, PMMA was synthesized from

an MMA emulsion using a photocatalyst. To study the features of the processes occurring on the surface, the catalyst powder after the reaction was subjected to various purification methods.

Analysis of the catalyst powder after the MMA polymerization reaction by SEM showed the presence on the surface of a significant number of polymer fibers with a length of up to 200–700 microns, as well as smaller organic particles with a size of 5–10 microns (Fig. 4), as previously in works [22, 23].

Study of the catalyst powder surface by SEM after washing in THF and chloroform, as in the previous experiments [22, 23], showed the presence of polymer and organic fibers (Fig. 4, b, c). However, after purification in water by ultrasound and subsequent drying in vacuum, polymer fibers on the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ oxide surface are not identified by the SEM method (Fig. 4, d) as well as after further heating at 300–400 °C.

However, the catalyst powder after ultrasonic purification in water without additional calcination showed a significant drop in its effectiveness in the synthesis of a polymer based on MMA. Such powder leads to PMMA formation with a conversion of less than 5% (when using fresh powder, up to ~10% of the polymer can be isolated from the reaction mixture) [22]. It is obvious that the change in the efficiency of the photocatalyst is associated with a change in the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ oxide surface, which are not identified by the SEM method.

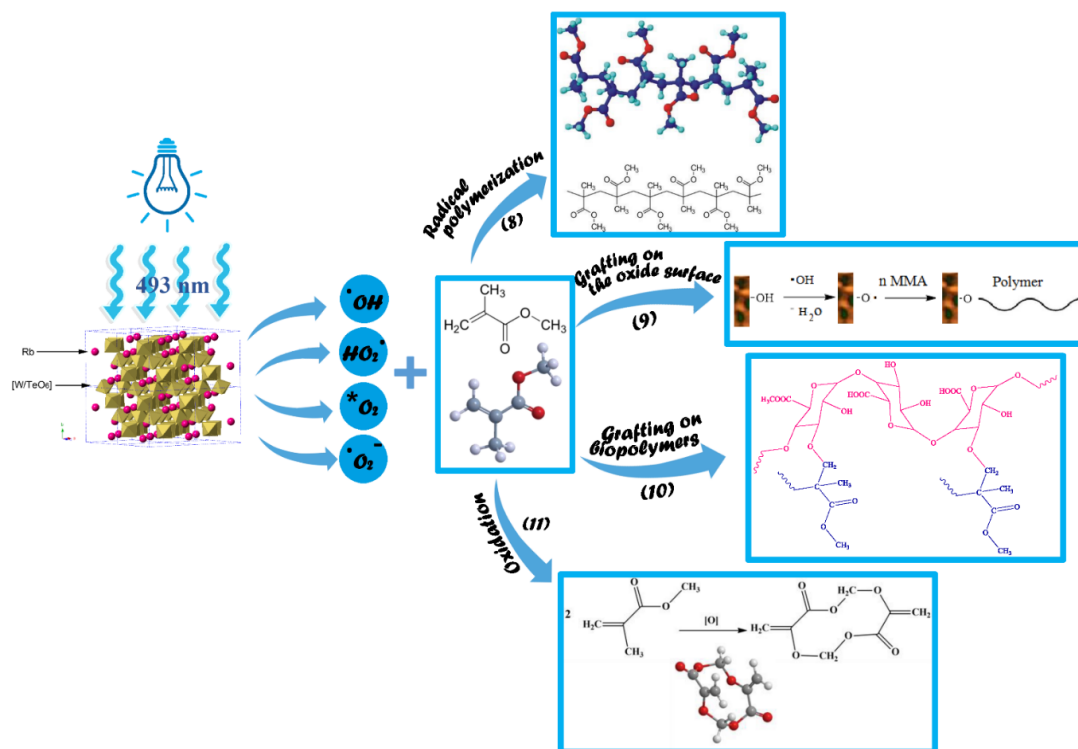


Fig. 3. Schemes of various directions of interaction of formed radicals with the substrate

Рис. 3. Схемы различных направлений взаимодействия образованных радикалов с субстратом

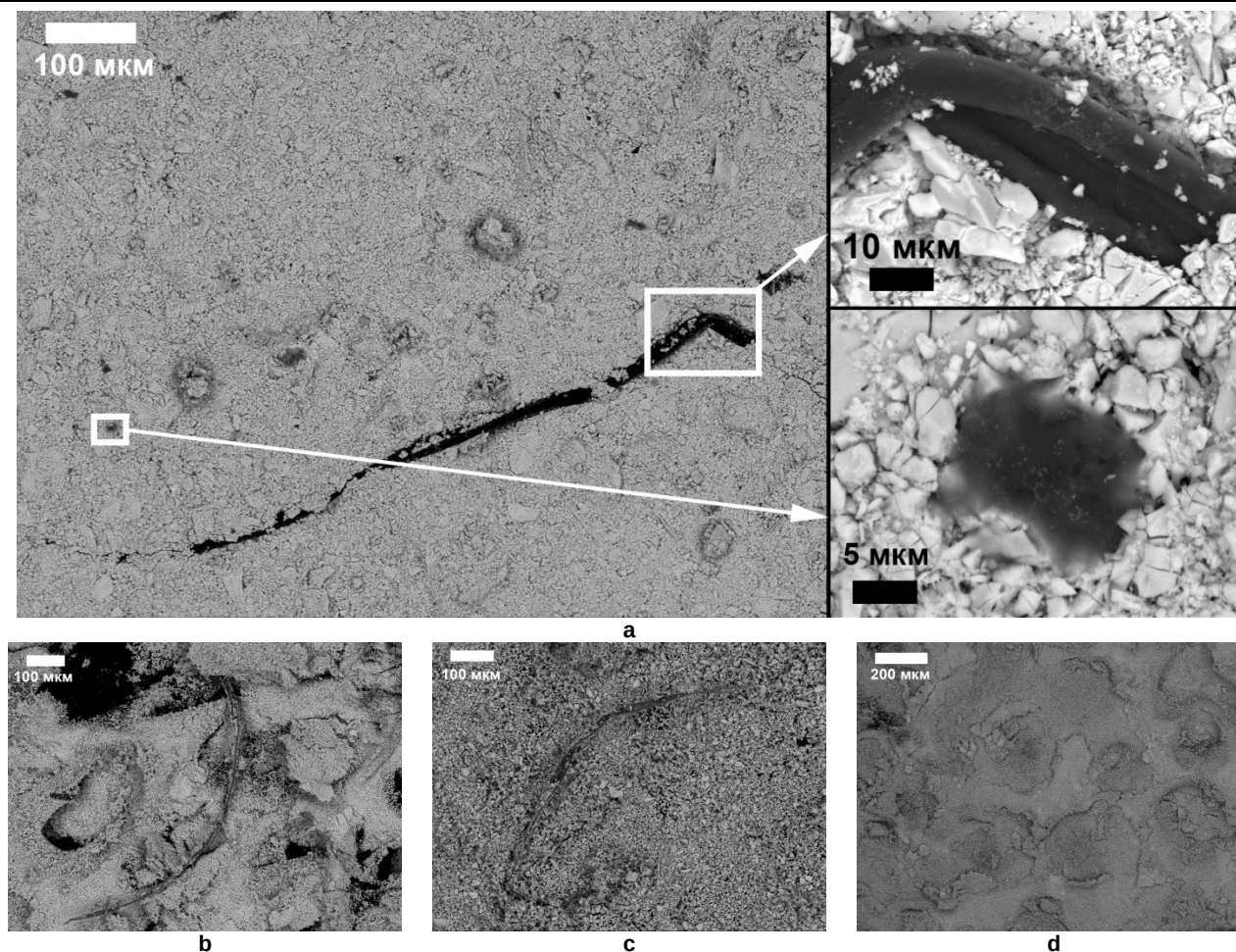


Fig. 4. Polymer macromolecules on the surface of the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ catalyst powder after the polymerization reaction of MMA (a); the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ catalyst powder surface after washing of PMMA in a THF solution (b), CHCl_3 (c) and water in UZDN-A650 (d)

Рис. 4. Макромолекулы полимера на поверхности порошка катализатора $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ после проведения реакции полимеризации метилметакрилата (a); поверхность порошка катализатора $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ после отмывания полиметилметакрилата в растворе тетрагидрофурана (b), CHCl_3 (c) и воды в УЗДН-А650 (d)

A more in-depth study of the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ oxide surface after the 1st, 2d and 3d purification methods by the XPS method showed that a shift of the photoelectronic lines of Rb, Te, W metals towards high binding energies respect to $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ initial sample is observed [13, 35]. The shift shows Rb, Te, W atoms on the surface are predominantly connected to oxygen that is, all the atoms on the surface after the polymerization process and purification are in an oxidized state "M-O-" (Fig. 5). Simultaneously, ultrasound purification with further calcination at 300–400 °C leads to almost full recovering the positions of the metals photoelectron lines on the surface.

The behavior of the surface carbon also should be noted. Photoelectronic lines C 1s and O 1s for the initial catalyst powder show the presence of a characteristic insignificant amount of adsorbed organic pollutants and CO_2 on the surface (Fig. 6, a, b), while there are significant changes of C1s and O1s for samples after the 1st, 2d and 3d treatment methods. Only ultrasonic treatment with next heating allows to reach quite close the initial decompositions of the C

1s and O 1s lines. Moreover, as it has been confirmed earlier [35], the ratio of Rb:Te:W atoms on the surface strongly impacts on the photocatalytic activity of the powder. Using XPS method, it has been obtained that the Rb:Te:W ratio is significantly depended on purification procedure, and it becomes close to the initial only after chloroform solution treatment and ultrasound conditions with further heating.

Decomposition of photoelectronic lines of carbon C 1s and oxygen O 1s showed that chemically adsorbed MMA and its oligomers are present on the surface of the powder sample washed in an ultrasonic bath: contributions of the C–C (285 eV), C=C=O (285.75 eV), C–O (286.7 eV), O–C=O (289.1 eV) bonds are correlated as 2.4:1:0.7:0.4 (Fig. 6, c, d; Tab. 1). A slight change in the peaks ratio compared to pure PMMA (2:1:1:1) in the line C 1s occurs due to the influence of the metals of the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ compound on the distribution of electron density along the bonds, formed between Rb, Te, W and carbon of the MMA molecules though

oxygen. Besides the chemical bonds of MMA, there is a small excess of C=O – ether group bonds on the photocatalyst surface, as well as potassium (doublet), which got to the surface of the catalyst from the emulsifier, and C–F bonds associated with the storage of samples in plastic bags, are observed at the level of impurities. Thus, although the powder treatment in an ultrasonic dispergator leads to the destruction of large catalyst-bound macromolecules observed by SEM, the monomer and oligomers formed during the destruction of macromolecules by ultrasound form chemical bonds with the catalyst and remain on its surface. Thus, while SEM does not identify polymer macromolecules, XPS shows the catalyst surface is not free.

After prolonged chloroform extraction, part of the MMA and OMMA macromolecules formed in the reaction mixture (Fig. 3), passes into solution. Previously it was noted [6] that MMA and OMMA polymers were also identified in chloroform after washing the photocatalyst powder by ^{13}C NMR spectroscopy

and MALDI methods (Fig. 4). However, a significant part of macromolecules remains on the surface of the catalyst, and it is detected by the SEM method (Fig. 4, c). Despite this, the analysis of the photocatalyst powder washed in chloroform at boiling point (61 °C) immediately after the synthesis of the polymer by the XPS method shows the absence of PMMA and MMA molecules on the surface. In this case, decomposition of the photoelectronic carbon line 1s gives a distribution of bond contribution intensities that does not correspond to PMMA. There is a significant increase in the contribution of the C=O bonds of the ether group and C–O–R and the appearance of CO_3^{2-} groups on the powder surface (Fig. 6, e, f; Tab. 1), which can be attributed to the oxidation products of polymer molecules and monomers. That is, although large macromolecules remain bound to the photocatalyst powder after treatment with chloroform, the surface layer of the adsorbed MMA is noticeably oxidized.

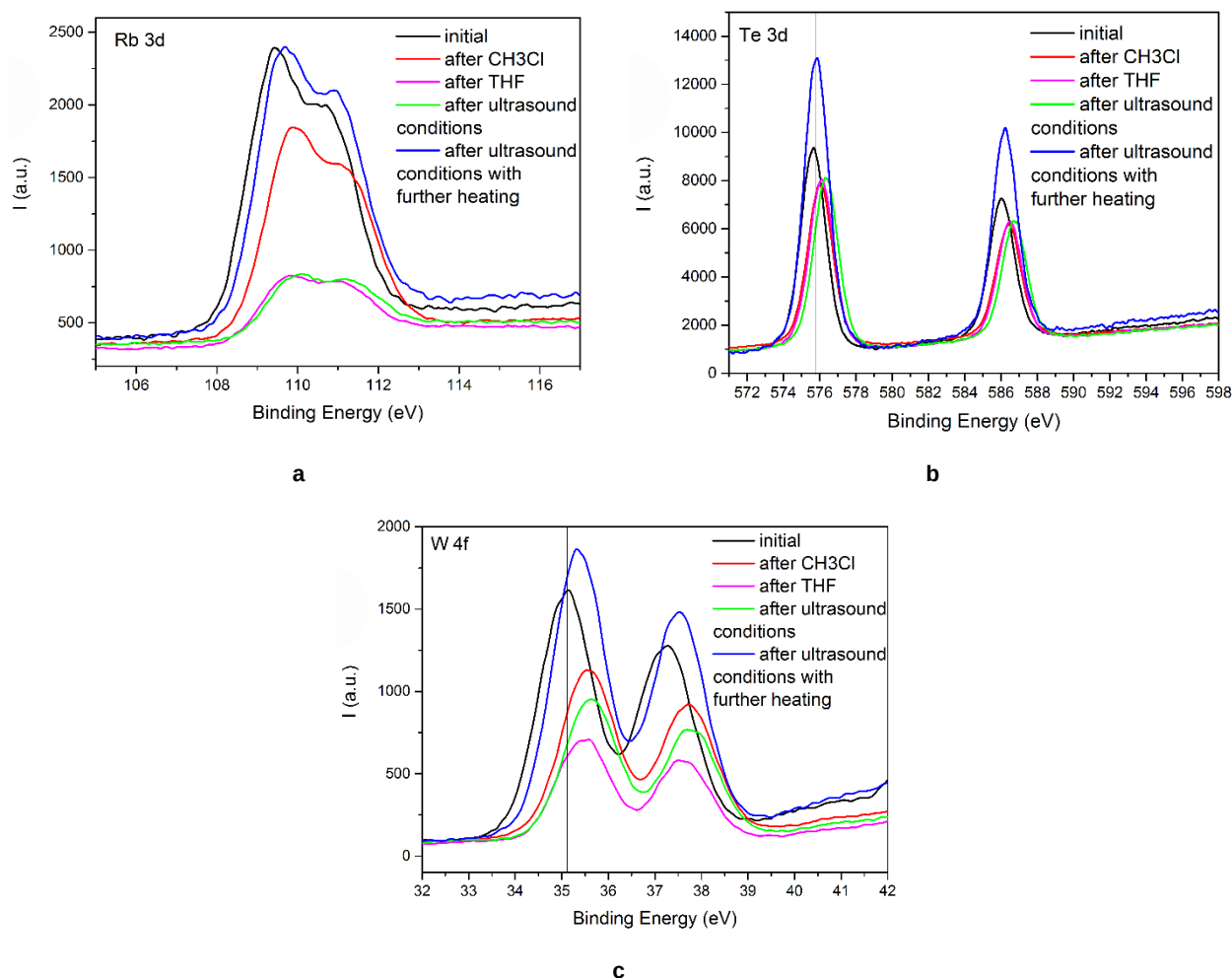


Fig. 5. Rb 3d (a), Te 3d (b) and W 4f (c) lines for samples of initial catalyst, after ultrasonic treatment, after washing in CHCl_3 , in THF and after heating at 300–400 °C

Рис. 5. Линии Rb 3d (a), Te 3d (b) и W 4f (c) для образцов катализатора после ультразвуковой обработки, после промывания в CHCl_3 , в тетрагидрофуране и после нагревания при 300–400 °C

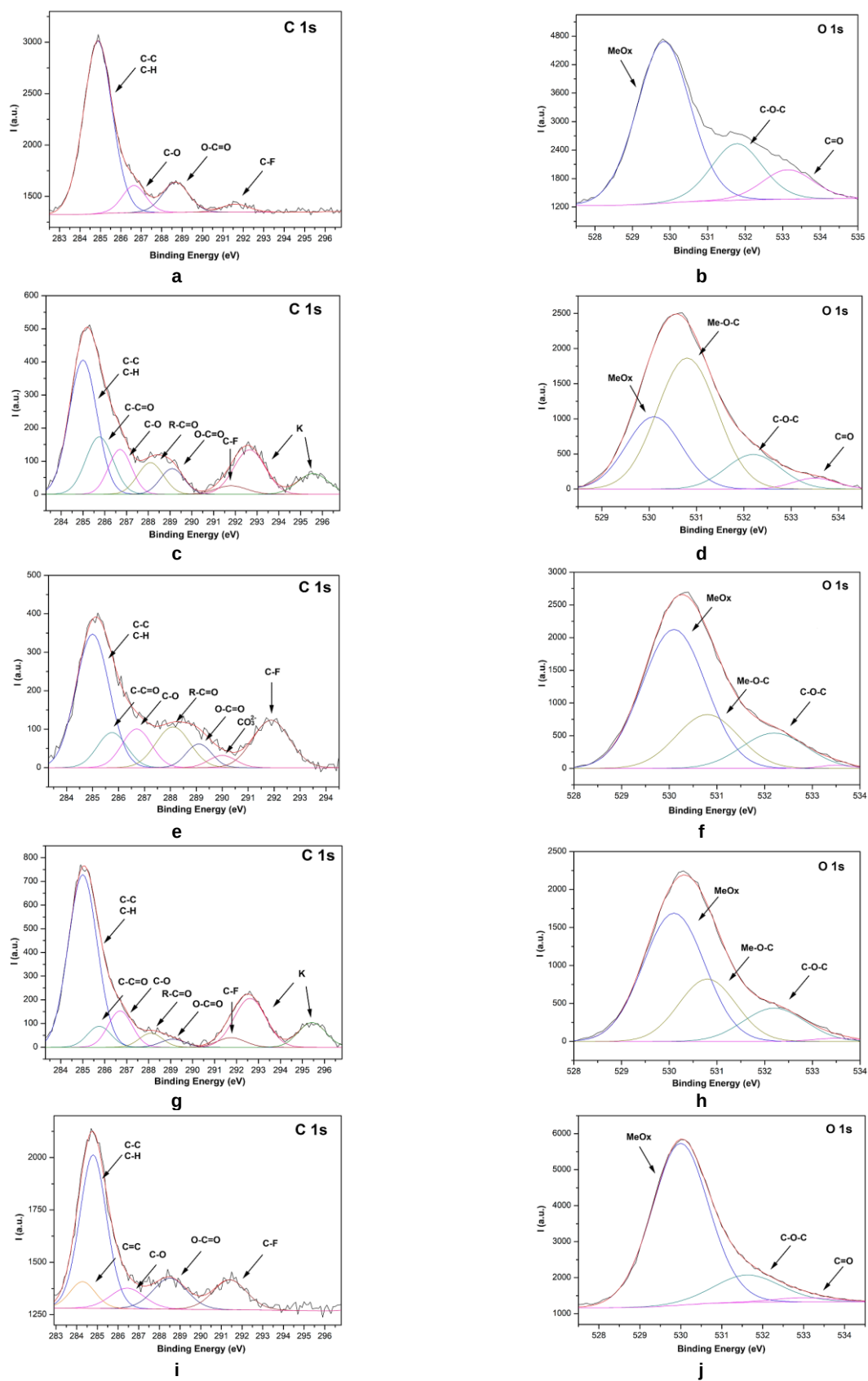


Fig. 6. C 1s and O 1s photoelectron lines for samples of initial catalyst (a, b); after ultrasonic treatment (c, d); after washing in CHCl_3 (e, f); in THF (g, h) and after heating at 300–400 °C (i, j)

Рис. 6. Фотоэлектронные линии C 1s и O 1s для образцов исходного катализатора (а, б); после ультразвуковой обработки (с, д); после промывки в CHCl_3 (е, ф); в тетрагидрофуране (г, h) и после нагревания при 300–400 °C (и, j)

Table 1. The contributions of bonds to the carbon photoelectron line C 1s for the studied samples of $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ powder in atomic %

Таблица 1. Вклады связей в фотоэлектронную линию углерода C 1s для исследованных образцов порошка $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в атомных %

Type of chemical bond	E, eV	Initial powder	Powder after ultrasonic treatment	Powder after CHCl_3	Powder after THF	Powder after firing 300–400 °C
C–C, C–H	285	77.5%	48.19%	49.88%	72.48	63%
C–C=O	285.75	12.5%	20.08%	11.48%	7.22	16%
C–O	286.7	10%	13.34%	12.68%	12.67	10.7
O–C=O	289.1	–	7.90	6.70	2.86	–
C=O	288.1	–	10.49	15.55	4.77	–
CO_3^{2-}	290	–	–	3.71	–	–
C=C	284.2	–	–	–	–	10.3

After washing the powder with a THF solution, polymer molecules (Fig. 4, b) are also visible on the SEM images [6], however, they are not identified on the catalyst's surface by the XPS method. Potassium from the emulsifier is also detected on the surface (Fig. 6, g, h; Tab. 1). The proportion of C–C and C–H bonds on the photocatalyst's surface increases significantly compared to the other two samples. Probably, in this case, the excess of THF substitutes adsorbed MMA on the catalyst surface with the opening of the ring according to the scheme in Fig. 7 proposed in the work [37].

The study of the composition of the catalyst samples by depth during ion profiling shows that after 2–4 nm adsorbed monomers and oligomers in the line C 1s are absent. There are also no contributions of C–O and C=O bonds in the O 1s photoelectronic line. It suggests that MMA molecules and oligomers are adsorbed only on the thin layer of the catalyst's surface with thickness no more than 1–2 nm.

In general, the following features of changes on the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ complex oxide surface after catalysis of methyl methacrylate polymerization should be distinguished. From the previous study of the surface and the photocatalytic properties of $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$, it is known that the compound's surface is enriched with Rb atoms, due to their migration from the volume to the surface through the channels of the crystal lattice [32]. It leads to the appearance of a small positive charge on the surface of the powder particles, which in an aqueous solution well adsorbs water and OH^- . Thus, the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ surface in solution has a partially negative charge, which is confirmed by the increased adsorption of cationic dyes by the catalyst surface [35]. The surface may have the form shown in Fig. 8. In addition, Te and W atoms are presented on the surface, which are also capable of adsorbing water to form $-(\text{Te/W})-\text{OH}$ and $-(\text{Te/W})-\text{O}^-$, however, their contribution to the surface state is less due to the smaller number of atoms on the surface than Rb.

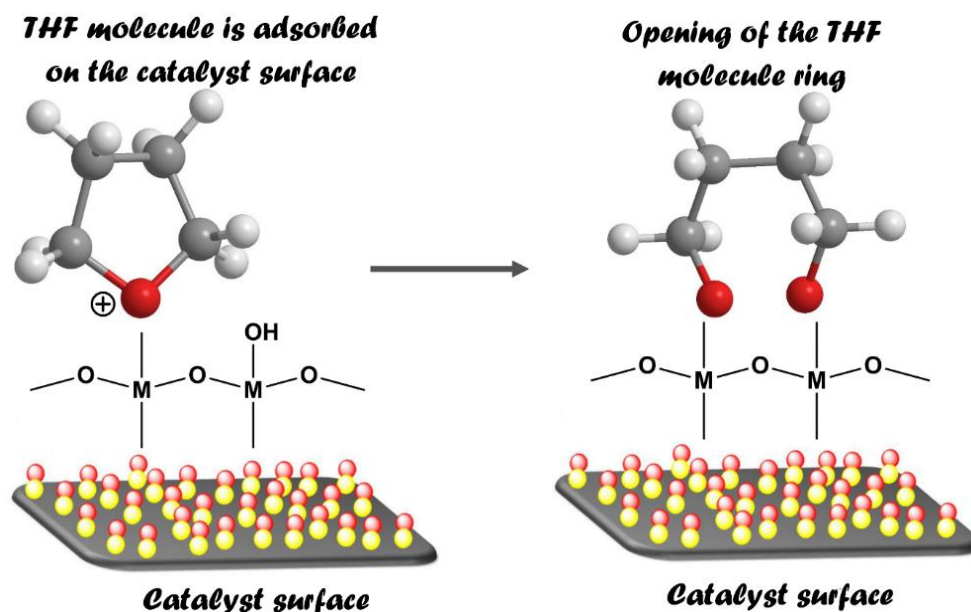


Fig. 7. Mechanism of adsorption of the THF molecule on the catalyst surface

Рис. 7. Механизм адсорбции молекулы тетрагидрофурана на поверхность катализатора

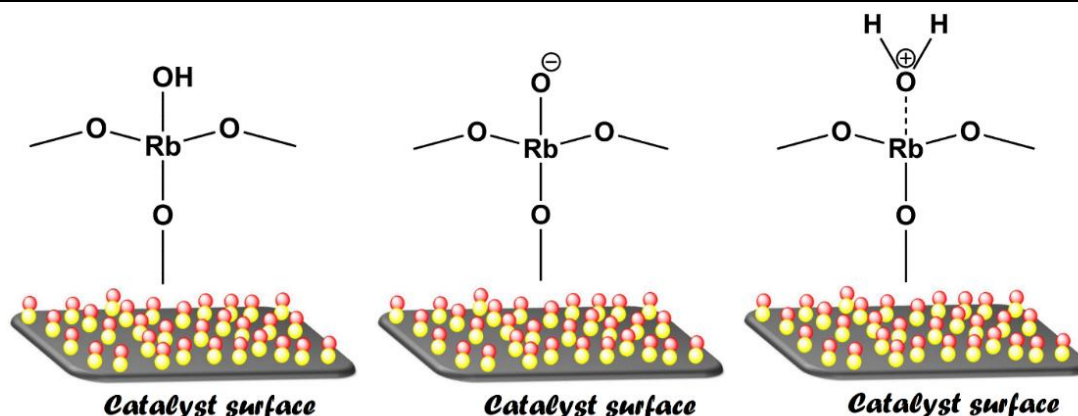


Fig. 8. Types of adsorbed particles on the catalyst's surface in an aqueous solution

Рис. 8. Типы адсорбированных частиц на поверхности катализатора в водном растворе

After the polymerization reaction, metal atoms on the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ surface are in an oxidized state. It means that the active centers $-\text{M}-\text{O}^\bullet$, where the radical polymerization process starts, are occupied. After the powder is treated with ultrasound, polymer macromolecules are destroyed, while oligomers can still occupy active centers $-\text{M}-\text{O}^\bullet$. The atomic concentration of Rb (3d), Te (3d) and W (4f) is corresponds to 19.2, 62 and 18.8%, respectively, while initial powder possess containing 49.8, 35.5 and 14.7% for Rb (3d), Te (3d) and W (4f) in atom%, respectively. Thus, it is clearly seen, the Rb-sites on the surface is not recovered (Fig. 5). In addition, due to multiple bonds in the monomer and polymer, organic substrates interact with the complex oxide $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ with the formation of coordination complexes [38–40], which prevent the release of hydroxyl radicals into the volume of the monomer solution. These features in the reaction mixture explain the small yield of PMMA (5–10%) in solution after the reaction [12]. Probably, with the formation and growth of a MMA and OMMA oligomers chain on the catalyst surface, the process of interaction between electron-hole pairs and solvent-water becomes sterically difficult, and reactions (2), (4–7) (Fig. 2) practically stop. On the other hand, growth of the electron migration path along the chain of PMMA molecules from the catalyst to the radical center in solution increases the probability of recombination of the electron-hole pair. It leads to a sharp decrease of the number of active particles and formed radicals, and, consequently, to a slow-down and stop of the polymerization reaction on the surface and in solution.

Moreover, for the regeneration of the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ photocatalyst, the treatment by using organic solvents of PMMA is not sufficient for reuse too. After washing the powder in TG solution, the atomic concentration of Rb (3d), Te (3d) and W (4f) on the surface becomes 19.3, 62 and 14.8%, respectively, which is also distinguished in comparison to initial one and characterized by loss of Rb (Fig. 5). In case of using chloroform as solvent, the surface atomic

concentrations of Rb (3d), Te (3d) and W (4f) seems to be almost recovered and corresponds to 40.7, 42.7 and 16.6%, respectively (Fig. 5). Despite the fact, strong oxidation of the surface is still observed and influences the photocatalytic activity.

Thus, for the regeneration of the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ photocatalyst, the treatment of its aqueous solution with ultrasound or using PMMA organic solvents is not sufficient for reuse. It was clearly shown by XPS studies, as well as a decrease in the effectiveness of MMA polymerization processes and MMA grafting on collagen and pectin.

To remove organic molecules from the catalyst's surface, it was fired at a temperature of 300–400 °C after ultrasonic treatment. After such treatment of the catalyst, the polymerization process of MMA leads to the isolation of its polymer with a conversion rate of ~5%, which is slightly less, than for the fresh catalyst. It is due to the recovery of the chemical state of metals and their quantitative distribution on the surface to close the original (Rb (3d), Te (3d) and W (4f) is 42.9, 42.8 and 14.3% in atom%, respectively). The surface is also cleaned of organic compounds – reagents and products of the polymerization process, which can be confirmed by the decomposition of the C 1s and O 1s photoelectronic lines for the heated sample (Fig. 6, i, j) to a state close to the original, except for the presence of a small number of bonds $\text{C}=\text{C}$ (~284.2 eV).

CONCLUSIONS

Different ways of surface purification of the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ catalyst after MMA polymerization in an aqueous emulsion under irradiation with visible light $\lambda=400\text{--}700$ nm at a temperature of 20–25 °C for further reuse have been carried out. Analysis of the catalyst surface by SEM and XPS methods showed that the treatment of the catalyst under ultrasonic conditions in an aqueous emulsion allows the destruction of polymer macromolecules, but the monomer and oligomers formed under the action of ultrasound due to the destruction of the polymer remain on the surface of the catalyst, forming chem-

ical bonds with it. It was also found that prolonged treatment of the catalyst powder with chloroform at its boiling point in the Soxhlet extractor, as well as mixing it in THF, leads to partial removal of organic substrates – oxidative products and solvents. These processes lead to inactivation of the $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$

catalyst during polymerization. To reach the efficient regeneration of the powder, not only ultrasound treatment is required, but also its heating at 300–400 °C to fully clean the surface of organic substrates and recover the Rb:Te:W ratio.

REFERENCES

1. 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;30(3):1-18. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01762-9>.
2. Gong X., Tang L., Zou J., Guo Z., Li Y., Lei J., et al. Introduction of cation vacancies and iron doping into TiO_2 enabling efficient uranium photoreduction. *Journal of Hazardous Materials*. 2022;423(1):126935. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126935>.
3. Zhao S., Chen C., Ding J., Yang S., Zang Y., Ren N. One-pot hydrothermal fabrication of $\text{BiVO}_4/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{rGO}$ composite photocatalyst for the simulated solar light-driven degradation of Rhodamine B. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*. 2022;16(3):36. <https://doi.org/10.1007/s11783-021-1470-y>.
4. Kaviyarasu K., Magdalane C. M., Jayakumar D., Samson Y., Bashir A. K. H., Letsholathebe D., et al. High performance of pyrochlore like $\text{Sm}_2\text{Ti}_2\text{O}_7$ heterojunction photocatalyst for efficient degradation of rhodamine-B dye with waste water under visible light irradiation. *Journal of King Saud University – Science*. 2019;32(2):1516-1522. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.12.006>.
5. Venkataswamy P., Sudhakar Reddy C. H., 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;14(4). <https://doi.org/10.1007/s13391-018-0055-9>.
6. Long Z., Li Q., Wei T., Zhang G., Ren Z. Historical development and prospects of photocatalysts for pollutant removal in water. *Journal of Hazardous Materials*. 2020;395:122599. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122599>.
7. You J. H., Guo Y., Guo R., Liu X. A review of visible light-active photocatalysts for water disinfection: features and prospects. *Chemical Engineering Journal*. 2019;373. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.05.071>.
8. 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*. 2020;15(4):1-13. <https://doi.org/10.1007/s11783-020-1344-8>.
9. 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>.
10. Wang W., Wang X., Gan L., Ji X., Wu Z., Zhang R. 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>.
11. Hussain M. Z., Yang Z., Linden B. V. D., Huang Z., Jia Q., Cerrato E., et al. Surface functionalized N-C-TiO₂/C nanocomposites derived from metal-organic framework in water vapour for enhanced photocatalytic H₂ generation. *Journal of Energy Chemistry*. 2021;57:485-495. <https://doi.org/10.1016/j.jechem.2020.08.048>.
12. Khan K., Xu L., Shi M., Qu J., Tao X., Feng Z., et al. Surface assembly of cobalt species for simultaneous acceleration of interfacial charge separation and catalytic reactions on $\text{Cd}_{0.9}\text{Zn}_{0.1}\text{S}$ photocatalyst. *Chinese Journal of Catalysis*. 2021;42(6):1004-1012. [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(20\)63717-2](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(20)63717-2).
13. 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, $\text{M}^{6+}=\text{Mo}, \text{W}$) solid solutions with β -pyrochlore structure. *Journal of Solid State Chemistry*. 2021;293:121787. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2020.121787>.
14. Zhang D., Bi C., Zong Z., Fan Y. 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(12):5148-5156. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01657-9>.
15. Chanu W. C., Gupta A., Singh M. K., Pandey O. P. Group V elements (V, Nb and Ta) doped CeO_2 particles for efficient photooxidation of methylene blue dye. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2021;31(2):636-647. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01822-0>.
16. Wang H., Zhang J.-R., Wu X.-F., Wang C., Li Y., 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(12):4847-4857. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01756-7>.

17. Ali N., Ali F., Khurshid R., Ikramullah, Ali Z., Afzal A., et al. TiO₂ nanoparticles and epoxy-TiO₂ nanocomposites: a review of synthesis, modification strategies, and photocatalytic potentialities. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2020;30(12):4829-4846. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01668-6>.

18. Amorim S. M., Steffen G., de S Junior J. M. N., Brusamarello C. Z., Romio A. P., Domenico M. D. Synthesis, characterization, and application of polypyrrole/TiO₂ composites in photocatalytic processes. *Polymers and Polymer Composites*. 2021;29(7):1055-1074. <https://doi.org/10.1177/0967391120949489>.

19. Lobry E., Bah A. S., Vidal L., Oliveros E., Braun A. M., Criqui A., et al. Colloidal and supported TiO₂: 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>.

20. Zhang Y., Xu Y., Simon-Masseron A., Lalevee J. Radical photoinitiation with LEDs and applications in the 3D printing of composites. *Chemical Society Reviews*. 2021;50(6):3824-3841. <https://doi.org/10.1039/D0CS01411G>.

21. Luo X., Zhao S., Chen Y., Zhang L., Tan J. Switching between thermal initiation and photoinitiation redirects RAFT-mediated polymerization-induced self-assembly. *Macromolecules*. 2021;54:2948-2959. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.1c00038>.

22. 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 RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2021;31(8):3572-3583. <https://doi.org/10.1007/s10904-021-02054-6>.

23. Semenycheva L. L., Chasova V. O., Fukina D. G., Koryagin A. V., Valetova N. B., Suleimanov E. V. Synthesis of polymethyl methacrylate-collagen graft copolymer, using photocatalyst – complex oxide RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆. *Polymer Science, Series D*. 2022;15:110-117. <https://doi.org/10.1134/S1995421222010166>.

24. 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. <https://doi.org/10.1134/S0042132419020042>. (In Russian).

25. Chen S., Li Y., Xie L., Liu S., Fan Y., Fang C., et al. Thermosensitive chitosan-collagen composite hydrogel loaded with basic fibroblast growth factor retards ventricular remodeling after myocardial infarction in mice. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*. 2021;25:2472.

26. 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. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19502-y>.

27. Vedhanayagam M., Ananda S., Nair B. U., Sreeram K. J. Polymethyl methacrylate (PMMA) grafted collagen scaffold reinforced by PdO-TiO₂ nanocomposites. *Materials science & Engineering C*. 2020;108:110378. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110378>.

28. Bas O., De-Juan-Pardo E. M., Chhaya M. P., Wunner F. M., Jeon J. E., Klein T. J., et al. Enhancing structural integrity of hydrogels by using highly organised melt electrospun fibre constructs. *European Polymer Journal*. 2015;72:451-463. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.07.034>.

29. Fujisawa S., Kadoma Y. Tri-n-butylborane/water complex-mediated copolymerization of methyl methacrylate with proteinaceous materials and proteins. *Polymers*. 2010;2:575-595. <https://doi.org/10.3390/polym204057>.

30. Kuznetsova Y. L., Morozova E. A., Vavilova A. S., Markin A. V., Smirnova O. N., Zakharycheva N. S., et al. Synthesis of biodegradable grafted copolymers of gelatin and polymethyl methacrylate. *Polymer Science, Series D*. 2020;13:453-459. <https://doi.org/10.1134/S1995421220040115>.

31. Egorikhina M. N., Semenycheva L. L., Chasova V. O., Bronnikova I. I., Rubtsova Y. P., Zakharychev E. A., et al. Changes in the molecular characteristics of bovine and marine collagen in the presence of proteolytic enzymes as a stage used in scaffold formation. *Marine Drugs*. 2021;19:502. <https://doi.org/10.3390/md19090502>.

32. Balachandramohan J., Singh R., Sivasankar T., Manickam S. Sonochemical synthesis of highly efficient Ag₃PO₄-Guar gum nanocomposite with photooxidation property under visible light irradiation. *Chemical Engineering and Processing – Process Intensification*. 2021;168:108549. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2021.108549>.

33. Rashid J., Parveen N., Haq T., Iqbal A., Talib S. H., Awan S. U., et al. g-C₃N₄/CeO₂/Fe₃O₄ ternary composite as an efficient bifunctional catalyst for overall water splitting. *ChemCatChem*. 2018;10(24):5587-5592. <https://doi.org/10.1002/cctc.201801597>.

34. Keshavarz I., Ashjari M. Efficient SiO₂/WO₃-TiO₂@rGO nanocomposite photocatalyst for visible-light degradation of colored pollutant in water. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*. 2021;32:20184-20196. <https://doi.org/10.1007/s10854-021-06523-z>.

35. Fukina D. G., Koryagin A. V., Koroleva A. V., Zhizhin E. V., Suleimanov E. V., Kirillova N. I. Photocatalytic properties of β-pyroclore RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ under visible-light irradiation. *Journal of Solid State Chemistry*. 2021;300:122235. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2021.122235>.

36. Fukina D. G., Koryagin A. V., Volkova N. S., Suleimanov E. V., Kuzymichev V. V., Mitin A. V.

Features of the electronic structure and photocatalytic properties under visible light irradiation for $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ with β -pyrochlore structure. *Solid State Sciences*. 2022;126:106858. <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2022.106858>.

37. Park S., Kim K., Youn Y.-S. Ring-opening reaction of tetrahydrofuran on Ge(100) surface. *ACS Omega*. 2020;5(36):22926-22930. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02406>.

38. Zhao W., Yan L., Gu H., Li Z., Wang Y., Luo Q., et al. Zinc oxide coated carbon dot nanoparticles as

electron transport layer for inverted polymer solar cells. *ACS Applied Energy Materials*. 2020;3:11388-11397. <https://doi.org/10.1021/acsaem.0c02323>.

39. Grishin D. F., Semyonicheva L. L. Problems of control of the reactivity of macroradicals and the growth of polymer chains. *Russian Chemical Reviews*. 2001;70:486-509. <https://doi.org/10.1070/RC2001v070n05ABEH000635>.

40. Kabanov V. A., Zubov V. P., Semchikov Yu. D. *Radical complex polymerization*. Moscow: Khimiya; 1987. 256 p. (In Russian).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Victoria O. Chasova,

Junior Researcher,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., 603950, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
tchasowa.vika@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8038-8441>

Diana G. Fukina,

Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., 603950, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
dianafuk@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8375-6863>

Alexey V. Boryakov,

Cand. Sci. (Physics and Mathematics),
Researcher,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., 603950, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
albrv@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8674-5315>

Evgeny V. Zhizhin,

Cand. Sci. (Physics and Mathematics),
Deputy Director Resource Center,
St. Petersburg University,
7/9, Universitetskaya Emb., 199034,
St.-Petersburg, Russian Federation,
evgeny_liquid@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5577-7456>

Alexandra V. Koroleva,

Research Engineer,
St. Petersburg University,
7/9, Universitetskaya Emb., 199034,
St.-Petersburg, Russian Federation,
dalika@inbox.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5899-0436>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. О. Часова,

младший научный сотрудник,
Нижегородский государственный
университет им. Н. И. Лобачевского,
603950, г. Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23, Российская Федерация,
tchasowa.vika@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8038-8441>

Д. Г. Фукина,

к.х.н., научный сотрудник,
Нижегородский государственный
университет им. Н. И. Лобачевского,
603950, г. Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23, Российская Федерация,
dianafuk@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8375-6863>

А. В. Боряков,

к.ф.-м.н., научный сотрудник,
Нижегородский государственный
университет им. Н. И. Лобачевского,
603950, г. Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23, Российская Федерация,
albrv@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8674-5315>

Е. В. Жижин,

к.ф.-м.н., заместитель директора ресурсного
центра,
Санкт-Петербургский государственный
университет,
199034, г. Санкт-Петербург, Университетский
пр., 7/9, Российская Федерация,
evgeny_liquid@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5577-7456>

А. В. Королева,

инженер-исследователь,
Санкт-Петербургский государственный
университет,
199034, г. Санкт-Петербург, Университетский
пр., 7/9, Российская Федерация,
dalika@inbox.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5899-0436>

Lyudmila L. Semenycheva,
Dr. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,
Head of Research Laboratory,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave, 603950, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
llsem@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3413-2899>

Evgeny V. Suleimanov,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Director of the Research Institute,
Lobachevsky State University
of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave, 603950, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
suev@unn.ru

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 16.05.2022.
Approved after reviewing 10.06.2022.
Accepted for publication 15.06.2022.*

Л. Л. Семенычева,
д.х.н., старший научный сотрудник,
заведующая научно-исследовательской
лабораторией,
Нижегородский государственный
университет им. Н. И. Лобачевского,
603950, г. Нижний Новгород, пр-т Гагарина, 23,
Российская Федерация,
llsem@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3413-2899>

Е. В. Сулейманов,
д.х.н., профессор,
директор научно-исследовательского
института,
Нижегородский государственный
университет им. Н. И. Лобачевского,
603950, г. Нижний Новгород, пр-т Гагарина, 23,
Российская Федерация,
suev@unn.ru

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 16.05.2022.
Одобрена после рецензирования 10.06.2022.
Принята к публикации 15.06.2022.*

Научная статья

УДК 544.32; 544.42

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-222-230>



Термодинамические и кинетические параметры экстракции йода из хлоридных водных растворов

Полина Александровна Пономарева, Ольга Николаевна Каныгина,
Елена Владимировна Сальникова

Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Пономарева Полина Александровна, pnomareva@narod.ru

Аннотация. Экстракция – универсальный и относительно простой метод извлечения редких и рассеянных элементов, позволяющий добиться хороших результатов при минимальных затратах на реагентное и аппаратное оснащение. Знание тепловых эффектов и кинетических зависимостей процесса экстракции позволяет прогнозировать и оперативно реагировать при изменении внешних условий. Изучены термодинамические и кинетические параметры процесса экстракции йода на модельных растворах, содержащих в качестве фоновой минерализации хлорид натрия с ионной силой от 0 до 5 моль/л, что наилучшим образом соотносится с природными и техногенными водами нефтяных и нефтегазоконденсатных месторождений. В качестве экстрагента применялась композиция три-н-бутилфосфата и изооктана. Для оценки термодинамических параметров были построены изотермы экстракции при температурах 278 и 288 К. Для различных фоновых значений ионной силы определены равновесные параметры экстракции: степень извлечения, коэффициент распределения, константа равновесия, изменение энтальпии, энтропии и энергии Гиббса процесса. Изучение кинетических зависимостей экстракционного извлечения йода из водных растворов с различными значениями ионной силы при температурах 278, 288 и 293 К позволило установить истинный и кажущийся порядки реакции, а также энергию активации процесса экстракции. Во всем изученном интервале значений ионной силы растворов извлечение йода происходит самопроизвольно с высокими коэффициентами распределения и степенью извлечения более 86%. Кинетические параметры экстракции (энергия активации процесса, временной и концентрационный порядки реакции) свидетельствуют о диффузионном характере лимитирующей стадии, наличии промежуточных стадий комплексообразования и об отсутствии влияния температуры на скорость процесса.

Ключевые слова: экстракция, йод, термодинамические параметры, кинетические параметры, лимитирующая стадия

Для цитирования: Пономарева П. А., Каныгина О. Н., Сальникова Е. В. Термодинамические и кинетические параметры экстракции йода из хлоридных водных растворов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 222–230. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-222-230>.

CHEMICAL SCIENCES

Original article

Thermodynamic and kinetic parameters of iodine extraction from chloride aqueous solutions

Polina A. Ponomareva, Olga N. Kanygina,
Elena V. Salnikova

Orenburg State University, Orenburg, Russian Federation

Corresponding author: Polina A. Ponomareva, pnomareva@narod.ru

Abstract. Extraction is a versatile and relatively simple method for extracting rare and scattered elements, producing good results at minimal expenses in terms of reagents and equipment. Information about the thermal effects and kinetic dependencies of the extraction process is essential for predicting and counteracting fluctuations in external conditions. In this work, the thermodynamic and kinetic parameters of the iodine extraction process were studied using model solutions that contained sodium chloride with an ionic strength of 0–5 mol/l as a background mineralization. This composition closely corresponds to natural and man-made

waters of oil and gas condensate fields. A mixture of tri-n-butyl phosphate and isooctane was used as the extractant. In order to evaluate thermodynamic parameters, extraction isotherms were constructed at temperatures of 278 and 288 K. For different background ionic strength values, equilibrium extraction parameters were determined, including the extraction degree, distribution coefficient and equilibrium constant, as well as changes in the enthalpy, entropy and Gibbs energy of the process. A study of the kinetic dependencies of iodine extraction from aqueous solutions under different ionic strength values at temperatures of 278, 288 and 293 K allowed the true and apparent orders of reaction to be established, along with the activation energy of the extraction process. Across the entire range of the studied ionic strength values, iodine extraction occurs spontaneously with high distribution coefficients and an extraction degree of over 86%. The kinetic parameters of the iodine extraction process (activation energy, temporal and concentration reaction order) indicate the diffusion nature of the rate-determining step, the presence of intermediate complexation stages and the absence of temperature effects on the reaction rate.

Keywords: extraction, iodine, thermodynamic parameters, kinetic parameters, limiting stage

For citation: Ponomareva P. A., Kanygina O. N., Salnikova E. V. Thermodynamic and kinetic parameters of iodine extraction from chloride aqueous solutions. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):222-230. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-222-230>.

ВВЕДЕНИЕ

С момента, когда был получен в свободном состоянии, и до настоящего времени исследование химии его природных соединений, вопросов миграции, процессов аккумуляции и извлечения связано с определенными трудностями, поскольку йод относится к рассеянным элементам [1]. Современные технологии, лежащие в основе промышленного производства, достаточно отработаны. В их основе – последовательные операции подкисления воды, окисления иодид-ионов до элементного йода и собственно извлечение йода [2]. Метод экстракции с высокой степенью эффективности используется для извлечения и разделения элементов [3]. Применение фосфорорганических экстрагентов в последнее время получило широкое распространение для большого круга неорганических простых и комплексных соединений [4–6]. Известны экстракционные композиции, позволяющие экстрагировать йод с высокой эффективностью [7, 8]. Для современного производства актуальным является снижение затрат на переработку бедного сырья [9] и увеличение эффективности процессов извлечения за счет контроля и изменения условий проведения процесса [10, 11]. В Оренбургской области потенциальная сырьевая база представлена пластовыми и техногенными водами Оренбургского нефтегазоконденсатного месторождения. К моменту переработки данные воды являются бедными по извлекаемому компоненту (содержат йод в концентрации не более 0,079 ммоль/л, фоновые соли – в концентрации до 5 моль/л с преобладанием хлорида натрия – до 96% от общей минерализации) и не являются термальными [12], поэтому в качестве фоновой соли выбран хлорид натрия.

Изучение кинетики и тепловых эффектов, сопровождающих экстракцию, позволяет прогнозировать и управлять процессом извлечения при изменении внешних условий [13, 14].

Цель работы – изучить кинетические и тер-

модинамические параметры процесса экстракции йода из водных растворов с различной минерализацией.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводили на модельных водных растворах йода, содержащих извлекаемый элемент в концентрациях от $0,5 \cdot 10^{-3}$ до $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л с ионной силой (I) от 0 до 5 моль/л, задаваемой добавлением хлорида натрия. Модельные растворы готовили путем растворения кристаллического йода в воде с последующим подкислением соляной кислотой. Величина степени извлечения не зависит от pH раствора, однако работа в области $\text{pH} > 3,5$ сопровождалась потерей элементного йода в результате гидролитического диспропорционирования [15].

Органическая фаза представляла собой композицию, состоящую из экстрагента – три-н-бутилфосфат (ТБФ) марки х.ч. – и активного разбавителя – изооктана. Содержание ТБФ в изооктане составляло 10% (по объему) [7, 8].

Экстракцию проводили в статических условиях. При изучении равновесных параметров применяли метод переменных объемов. Для этого активно перемешивали 10 мл экстракционной композиции и аликвоты модельного раствора йода по 40, 50, 70, 80, 100, 200 и 400 мл. Процесс экстракции термостатировали при 278 и 288 К. Изменение энтальпии, энтропии и свободной энергии Гиббса определяли путем графического анализа линейных изотерм Вант-Гоффа [15]:

$$\ln \frac{D_{T_2}}{D_{T_1}} = \frac{-\Delta H}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right), \quad (1)$$

где ΔH – энтальпия, Дж/моль; D_{T_1} , D_{T_2} – коэффициенты распределения при температурах T_1 и T_2 ; R – универсальная газовая постоянная, $R = 8,314$ Дж/моль*К; T_1 , T_2 – температура, К.

В частности зависимости $\lg D \sim f(1/T)$ [16].

Изучение кинетических параметров проводили при соотношении органической и водной фаз 1:10 и температурах 278, 288 и 293 К, поскольку правило Вант-Гоффа справедливо для ограниченного числа гомогенных реакций.

Для определения энергии активации применялся метод трансформации, для реализации которого требуется использовать не менее 3-х температур.

Разделение фаз осуществляли в делительных воронках.

Анализ водной фазы после экстракции проводили титриметрическим методом с тиосульфатом натрия [12].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На предварительном этапе было изучено влияние скорости перемешивания (оборотов/минуту) раствора на процесс экстракции – на коэффициент распределения йода (D) и степень извлечения йода (R, %). Эксперименты проводили на бессолевых модельных растворах.

Степень извлечения йода (R) рассчитывали по формуле:

$$R, \% = \frac{m_{(\text{орг.})}}{m_{(\text{исх.})}} \times 100\%, \quad (2)$$

где $m_{(\text{орг.})}$ – масса йода, перешедшего в органическую фазу; $m_{(\text{исх.})}$ – масса йода в исходном растворе [17].

Для описания экстракционных равновесий целесообразно использовать коэффициент распределения, учитывающий все формы существования распределяемого компонента как в водной, так и в органической фазах. Коэффициент распределения определяется как:

$$D = \frac{C(I_2(\text{орг.}))}{C(I_2(\text{водн.}))}, \quad (3)$$

где $C(I_2(\text{орг.}))$ и $C(I_2(\text{водн.}))$ – суммарные концентрации йода в органической и водной фазах, моль/л [16].

Полученные значения степени извлечения йода и коэффициентов распределения приведены в табл. 1.

По результатам, приведенным в табл. 1, можно сделать вывод, что скорость перемешивания мало влияет на степень извлечения йода: при увеличении скорости перемешивания в 5 раз степень извлечения выросла на 11%. Данный факт возможно объяснить изначально высокими значениями степени извлечения. Однако коэффициент распределения стабилизируется только

по достижении скорости перемешивания более 120 об/мин. При этом отношение $D_{120} : D_{50} = 5,6$. В связи с этим фактом в дальнейших исследованиях использовали скорость, равную 200 об/мин.

На следующем этапе рассчитывали изменения термодинамических параметров – энтропии, энтальпии и энергии Гиббса – в процессе экстракции, используя изотермы $S_{\text{орг}}/S_{\text{водн.}}$, построенные по экспериментальным данным. Изотермы во всех случаях линейны с коэффициентом аппроксимации более 95%, что позволяет рассчитать коэффициент распределения йода между водной и органической фазами как тангенс угла наклона изотермы к оси абсцисс. Изотермы экстракции при 278 и 288 К представлены на рис. 1 и 2 [18].

Результаты расчета значений коэффициентов распределения и констант равновесия процесса экстракции йода при различной ионной силе водной фазы представлены в табл. 2.

Увеличение температуры процесса способствует росту коэффициента распределения йода для бессолевого раствора и растворов, содержащих умеренное количество фоновой соли. При ионной силе более 1 моль/л проявляется обратная тенденция. Введение фоновой соли до ионной силы 0,5–1,0 моль/л способствует росту коэффициента распределения йода, однако с ростом минерализации значение коэффициентов распределения падает.

Результаты расчета зависимостей термодинамических параметров от ионной силы растворов представлены на рис. 3. Экстракция из бессолевого и маломинерализованных растворов является эндотермическим процессом, однако с ростом ионной силы растворов процесс становится экзотермическим (рис. 3, а). Аналогичная зависимость наблюдается и для энтропии процесса (рис. 3, б). Величина свободной энергии Гиббса (рис. 3, в) во всем интервале задаваемых значений ионной силы растворов является величиной отрицательной, что свидетельствует о смещении равновесия экстракции в сторону распределения йода в органическую фазу.

Поскольку

$$\Delta G^0 = -2.3RT \lg D, \quad (4)$$

$$\lg D = -\frac{\Delta H^0}{2.3RT} + \frac{\Delta S^0}{2.3R}, \quad (5)$$

представилось возможным рассчитать константу равновесия процесса K_p^{298} .

Таблица 1. Влияние скорости перемешивания фаз на экстракцию йода

Table 1. Influence of phase mixing rate on iodine extraction

Параметры	Скорость перемешивания раствора, об/мин					
	50	90	120	170	230	300
D	64,20	161,2	356,3	362,8	341,9	360,6
R, %	86,50	94,2	97,3	97,3	97,2	97,3

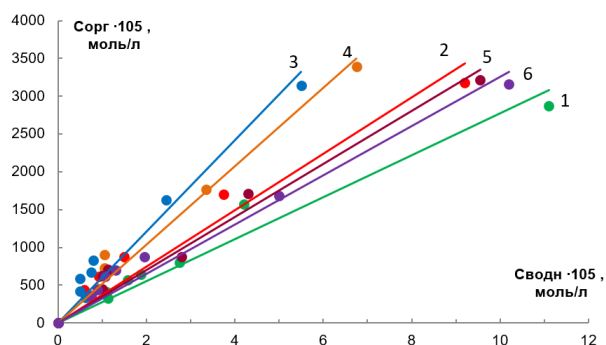


Рис. 1. Изотермы экстракции йода из водных растворов с различной фоновой минерализацией при 278 К и концентрации хлорида натрия: 1 – 0 моль/л; 2 – 0,5 моль/л; 3 – 1,0 моль/л; 4 – 2,0 моль/л; 5 – 4,0 моль/л; 6 – 5,0 моль/л

Fig. 1. Iodine extraction isotherms from aqueous solutions with different background mineralization at 278 K and sodium chloride concentration: 1 – 0 mol/l; 2 – 0,5 mol/l; 3 – 1,0 mol/l; 4 – 2,0 mol/l; 5 – 4,0 mol/l; 6 – 5,0 mol/l

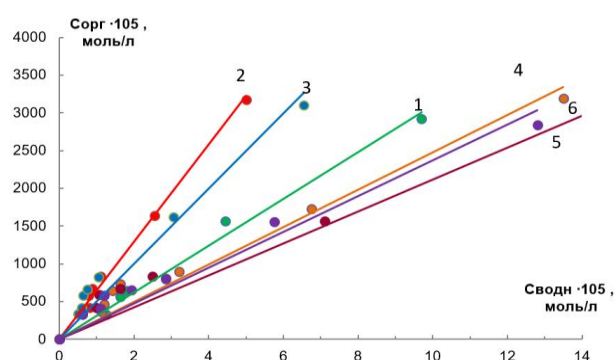


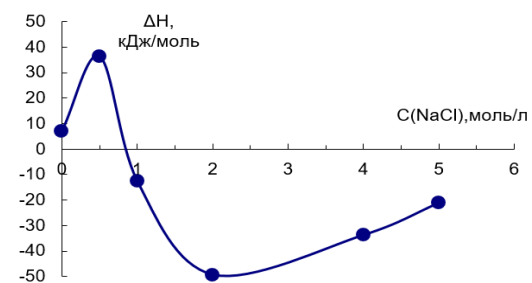
Рис. 2. Изотермы экстракции йода из водных растворов с различной фоновой минерализацией при 288 К и ионной силе: 1 – 0 моль/л; 2 – 0,5 моль/л; 3 – 1,0 моль/л; 4 – 2,0 моль/л; 5 – 4,0 моль/л; 6 – 5,0 моль/л

Fig. 2. Iodine extraction isotherms from aqueous solutions with different background mineralization at 288 K and sodium chloride concentration: 1 – 0 mol/l; 2 – 0,5 mol/l; 3 – 1,0 mol/l; 4 – 2,0 mol/l; 5 – 4,0 mol/l; 6 – 5,0 mol/l

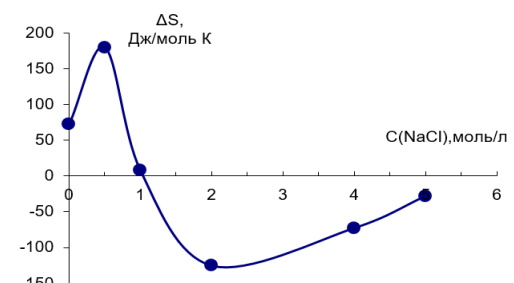
Таблица 2. Зависимость коэффициента распределения и константы равновесия процесса экстракции йода от ионной силы водной фазы

Table 2. Dependence of the distribution coefficient and the equilibrium constant of the iodine extraction on aqueous phase ionic strength

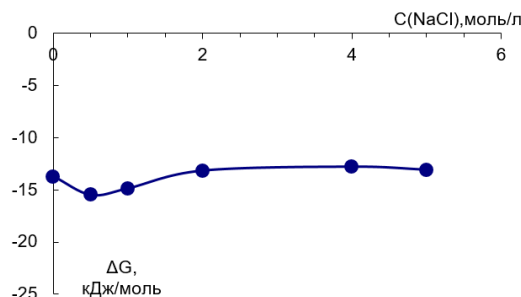
Параметр	I, моль/л					
	0	0,5	1,0	2,0	4,0	5,0
K_p^{298}	257,8	524,9	408,5	206,4	177,6	199,2
D^{278}	278,9	373,7	603,8	518,9	351,1	326,7
D^{288}	303,9	644,3	499,3	247,5	211,5	237,9



a



b



c

Рис. 3. Влияние ионной силы водной фазы на энтальпию (а), энтропию (б) и энергию Гиббса (с) процесса экстракции йода

Fig. 3. Influence of aqueous phase ionic strength on the enthalpy (a), entropy (b) and Gibbs energy (c) of the iodine extraction process

Изучение кинетики экстракции при температурах 278, 288 и 293 К позволило сделать предварительный вывод о характере процесса в неравновесных условиях. На рис. 4 и 5 представлены кинетические зависимости экстракции для различных исходных концентраций йода при ионной силе 1 и 5 моль/л соответственно.

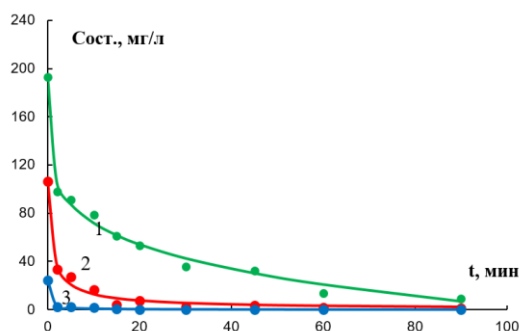


Рис. 4. Кинетические зависимости остаточной концентрации йода от времени экстракции при ионной силе раствора 1 моль/л для различных исходных концентраций извлекаемого компонента: 1 – 192,8 мг/л; 2 – 106,3 мг/л; 3 – 24,2 мг/л

Fig. 4. Kinetic dependences of the iodine residual concentration on the extraction time with ionic strength of 1 mol/l for various initial concentrations of the extracted component: 1 – 192,8 mg/l; 2 – 106,3 mg/l; 3 – 24,2 mg/l

На рис. 6 представлены зависимости скорости процесса от концентрации в логарифмических координатах, позволяющие определить временной и концентрационный порядки реакции.

Тангенс угла наклона билогарифмической зависимости скорости процесса в начальный момент времени при различной исходной концентрации извлекаемого компонента позволяет установить истинный (p_c) порядок реакции. Кажущийся (p_t) порядок реакции определяется скоростями процесса в различные моменты времени при фиксированной исходной концентрации извлекаемого компонента.

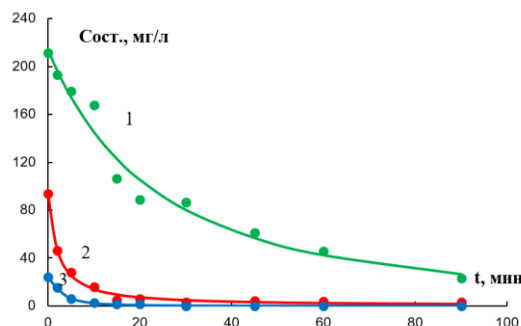
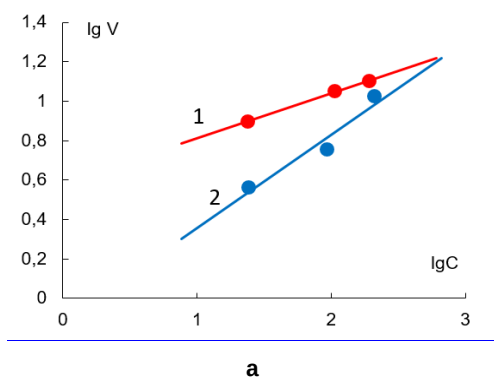


Рис. 5. Кинетические зависимости остаточной концентрации йода от времени экстракции при ионной силе раствора 5 моль/л для различных исходных концентраций извлекаемого компонента: 1 – 211,1 мг/л; 2 – 94,1 мг/л; 3 – 24,3 мг/л

Fig. 5. Kinetic dependences of the iodine residual concentration on the extraction time with ionic strength of 5 mol/l for various initial concentrations of the extracted component: 1 – 211,1 mg/l; 2 – 94,1 mg/l; 3 – 24,3 mg/l

Влияние ионной силы водных растворов на значения порядков реакции при экстракции йода представлено в табл. 3.

Для минерализованных растворов величина временного порядка реакции и значительное различие с концентрационным порядком, вероятнее всего, свидетельствует о параллельном с экстракцией сложном комплексобразовании.

Для изучения энергий активации процесса экстракции были построены кинетические зависимости при различных температурах и фиксированной исходной концентрации йода. На рис. 7 а и б представлены кинетические кривые, определенные как зависимость остаточной концентрации йода от времени контакта фаз при температурах 278, 288 и 293 К с ионной силой 1 и 5 моль/л соответственно. Полученные зависимости были трансформированы по оси времени, что в аррениусовских координатах ($\ln k \sim 1/T$) позволило определить энергию активации процесса экстракции йода.

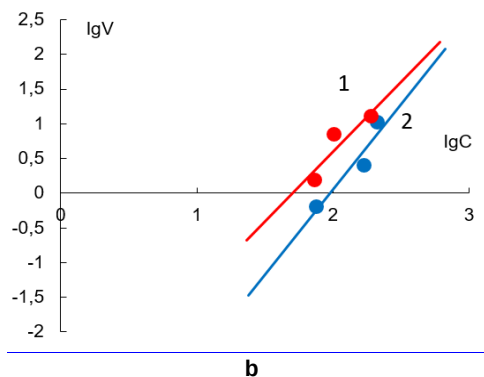


Рис. 6. Билогарифмические отношения для определения концентрационного (а) и временного (б) порядков реакции при различной ионной силе растворов: 1 – 1,0 моль/л; 2 – 5,0 моль/л

Fig. 6. Logarithmic ratios for determining concentration (a) and time orders (b) of the reaction at different ionic strength: 1 – 1,0 mol/l; 2 – 5,0 mol/l

Таблица 3. Значения порядков реакции и энергий активации экстракции йода из растворов с различной ионной силой
Table 3. Values of reaction orders and activation energies of iodine extraction from solutions with different ionic strength

I, моль/л	ρ_c	ρ_t	$E_{акт}$, кДж/моль
0	1,63	0,99	10,13
0,5	0,84	2,07	12,10
1	0,23	2,01	6,73
2	0,80	1,76	9,37
4	0,28	2,28	6,18
5	0,58	2,87	3,17

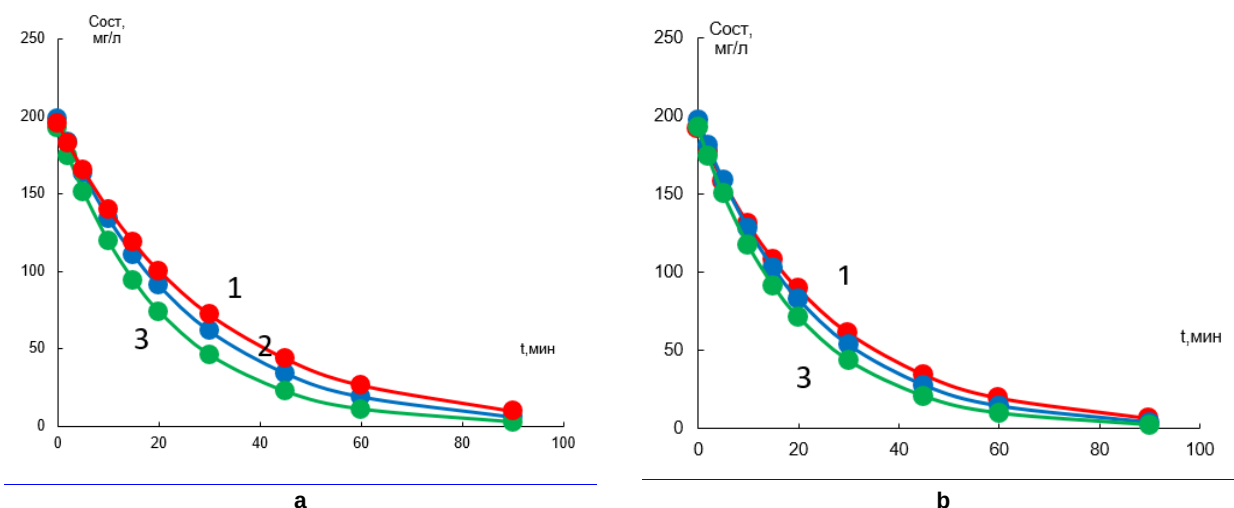


Рис. 7. Временные зависимости остаточной концентрации йода при различной ионной силе:
а – 1,0 моль/л; б – 5,0 моль/л; для температур: 1 – 278 К; 2 – 288 К; 3 – 293 К

Fig. 7. Time dependences of the iodine residual concentration at various ionic strength degrees:
а – 1,0 mol/l; б – 5,0 mol/l; for temperatures: 1 – 278 K; 2 – 288 K; 3 – 293 K

Величина энергии активации менее 40 кДж/моль и параболический характер убывания скорости остаточной концентрации свидетельствуют о диффузионной природе лимитирующей стадии.

ВЫВОДЫ

1. Степень извлечения йода из водных растворов в диапазоне скоростей перемешивания фаз от 50 до 300 об/мин составляет от 86,5 до 97,3%.
2. Коэффициент распределения йода D между водной и органической фазами не изменяется при скорости перемешивания выше 120 об/мин.
3. Изотермы процесса экстракции имеют линейный характер. Коэффициенты распределения и константы равновесия достигают наибольших значений при ионной силе растворов 0,5 и 1,0 моль/л.

4. Термодинамические параметры (энтальпия, энтропия и свободная энергия Гиббса) характеризуют процесс как самопроизвольный [19] в интервале заданных значений ионной силы растворов.

5. При ионной силе водной фазы 1 моль/л процесс из эндотермического превращается в экзотермический.

6. Анализ кинетических зависимостей экстракции йода показал, что процесс лимитируется диффузией. Различия в величинах концентрационного и временного порядков реакции свидетельствуют о наличии промежуточных стадий комплексобразования [20]. С ростом минерализации энергия активации уменьшается, а температура практически не влияет на скорость процесса.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кирюхин В. К., Швец В. М. Процессы формирования йодных вод. М.: Недра, 1980. 95 с.
2. Ponomareva P. A., Salnikova E. V., Osipova E. A., Yudin A. A. Extraction of iodine from natural and technogenic waters // Trace Elements and Electrolytes. 2021. Vol. 38, no. 3. P. 153.
3. Дошарова Д. Т., Сальникова Е. В., Верева В. Н., Карева Е. Ю. Исследование термодинамических и кинетических параметров экстракции неодима

из кислых сред // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8. N 2. С. 39–47. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-2-39-47>.

4. Arkhipin A. S., Nesterov A. V., Kovalenko N. A., Uspenskaya I. A. Liquid – liquid equilibria in the water – nitric acid – europium nitrate – gadolinium nitrate – tributyl phosphate system at 298.15 K // Journal of Chemical and Engineering Data. 2021. Vol. 66, no. 4. P. 1694–1702. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.1c00000>.

1021/acs.jced.0c01006.

5. Kurdakova S. V., Kovalenko N. A., Petrov V. G., Uspenskaya I. A. Liquid – liquid equilibria in multi-component systems containing o-xylene, Di-(2-ethylhexyl) phosphoric acid, water, nitric acid, and europium (gadolinium, dysprosium) nitrate at 298.15 K // *Journal of Chemical and Engineering Data*. 2017. Vol. 62, no. 12. P. 4337–4343. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.7b00696>.

6. Kurdakova S. V., Zapolskih T. V., Kovalenko N. A., Uspenskaya I. A. Volumetric properties of the D2ENPA – o-xylene – neodymium (samarium, europium, gadolinium, terbium, dysprosium) Di(2-ethylhexyl)phosphate systems at 298.15 K // *Journal of Chemical and Engineering Data*. 2018. Vol. 63, no. 10. P. 3839–3845. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.8b00487>.

7. Пат. № 2326810, Российская Федерация, C01B 7/14, B01D11/00. Способ извлечения йода / П. А. Пономарева, Э. В. Строева, М. А. Кiekпаев; заявитель и патентообладатель Оренбургский государственный университет. Заявл. 12.09.2006; опубл. 20.06.2008. Бюл. № 17.

8. Пат. № 2331576, Российская Федерация, C01B7/14, B01D11/00. Способ извлечения йода / А. С. Горяева, Ю. В. Гаврюшенко, Э. В. Строева, М. А. Кiekпаев, П. А. Пономарева; заявитель и патентообладатель Оренбургский государственный университет. Заявл. 27.07.2006; опубл. 20.08.2008. Бюл. № 23.

9. Сальникова Е. В., Кван О. В., Сизенцов А. Н. Показатели качества подземных вод Оренбургской области // *Микроэлементы в медицине*. 2017. Т. 18. N 1. С. 52–56.

10. Skalny A. V., Salnikova E. V., Burtseva T. I., Skalnaya M. G., Tinkov A. A. Zinc, copper, cadmium, and lead levels in cattle tissues in relation to different metal levels in ground water and soil // *Environmental Science and Pollution Research*. 2019. Vol. 26, no. 1. P. 559–569. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3654-y>.

11. Звягина О. А., Макорина О. Г., Дошарова Д. Т., Сальникова Е. В., Каныгина О. Н. Изучение влияния ионов Fe(III) на кинетические параметры экстракции неодима смесями экстрагентов различного состава // *Фундаментальная наука и технологии – перспективные разработки: материалы XIX Международной научно-практической*

конференции (г. Северный Чарльстон, 10–11 июня 2019 г.). Северный Чарльстон: LuluPress Inc., 2019. С. 110–114.

12. Пономарева П. А., Строева Э. В. Определение термодинамических и кинетических параметров экстракции йода ТБФ в смеси с изооктаном из бессолевых растворов // *Химическая промышленность сегодня*. 2007. N 12. С. 22–26.

13. Восков А. Л., Коваленко Н. А., Куценко И. Б., Успенская И. А. Развитие расчетных методов в лаборатории химической термодинамики химического факультета МГУ // *Журнал физической химии*. 2019. Т. 93. N 10. С. 1445–1454. <https://doi.org/10.1134/S0044453719100327>.

14. Ponomareva P. A., Yudin A. A. Thermodynamic parameters of iodine extraction by a mixture of aromatic and aliphatic extragents from aqueous solutions of various mineralization // *Chemical Physics of Molecules and Polyfunctional Materials: Proceedings of the Japanese–Russian Conference, 9–11 December 2020, Hiroshima*. Orenburg: OSU, 2021. P. 153–157.

15. Пономарева П. А. Определение равновесных параметров экстракции йода смесями экстрагентов различной природы // *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2017. N 9. С. 40–43.

16. Коренман И. М. Экстракция в анализе органических веществ. М.: Химия, 1977. 200 с.

17. Экстракция неорганических веществ / под ред. А. В. Николаева. Новосибирск: Наука, 1970. 311 с.

18. Пономарева П. А. Равновесие экстракции йода смесью индивидуальных экстрагентов ароматического и алифатического ряда // *Университетский комплекс как региональный центр образования, науки и культуры: материалы Международной научно-методической конференции (г. Оренбург, 25–27 января 2021 г.)*. Оренбург: ОГУ, 2021. С. 2814–2819.

19. Сальникова Е. В., Скальный А. В., Осипова Е. А., Бурцева Т. И. Физико-химические методы исследования в анализе объектов окружающей среды (обзор) // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2016. Т. 19. N 8. С. 32–36.

20. Золотов Ю. А. Экстракция внутрикомплексных соединений. М.: Наука, 1968. 295 с.

REFERENCES

1. Kiryukhin V. K., Shvets V. M. *Iodine waters formation*. Moscow: Nedra; 1980. 95 p. (In Russian).

2. Ponomareva P. A., Salnikova E. V., Osipova E. A., Yudin A. A. Extraction of iodine from natural and technogenic waters. *Trace Elements and Electrolytes*. 2021;38(3):153.

3. Dosharova D. T., Salnikova E. V., Verevka V. N., Kareva E. Y. Investigation of the thermodynamic and kinetic parameters of neodymium extraction

from acid media. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2018;8(2):39-47. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-2-39-47>.

4. Arkhipin A. S., Nesterov A. V., Kovalenko N. A., Uspenskaya I. A. Liquid – liquid equilibria in the water – nitric acid – europium nitrate – gadolinium nitrate – tributyl phosphate system at 298.15 K. *Jour-*

nal of Chemical and Engineering Data. 2021;66(4):1694-1702. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.0c01006>.

5. Kurdakova S. V., Kovalenko N. A., Petrov V. G., Uspenskaya I. A. Liquid – liquid equilibria in multi-component systems containing o-xylene, Di-(2-ethylhexyl) phosphoric acid, water, nitric acid, and europium (gadolinium, dysprosium) nitrate at 298.15 K. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 2017;62(12):4337-4343. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.7b00696>.

6. Kurdakova S. V., Zapolskih T. V., Kovalenko N. A., Uspenskaya I. A. Volumetric properties of the D2EHPA – o-xylene – neodymium (samarium, europium, gadolinium, terbium, dysprosium) Di(2-ethylhexyl)phosphate systems at 298.15 K. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 2018;63(10):3839-3845. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.8b00487>.

7. Ponomareva P. A., Stroeve E. V., Kiekpaev M. A. *Method of extracting iodine*. Patent RF, no. 2326810; 2008. (In Russian).

8. Gorjaeva A. S., Gavryushenko J. V., Stroeve E. V., Kiekpaev M. A., Ponomareva P. A. *Method of extraction of iodine*. Patent RF, no. 2331576; 2008. (In Russian).

9. Salnikova E. V., Kwan O. V., Sizentsov A. N. Quality indicators of underground water in Orenburg region. *Mikroelementy v meditsine = Trace Elements in Medicine*. 2017;18(1):52-56. (In Russian).

10. Skalny A. V., Salnikova E. V., Burtseva T. I., Skalnaya M. G., Tinkov A. A. Zinc, copper, cadmium, and lead levels in cattle tissues in relation to different metal levels in ground water and soil. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019;26(1):559-569. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3654-y>.

11. Zvyagina O. A., Makorina O. G., Dosharova D. T., Sal'nikova E. V., Kanygina O. N. Investigation of Fe(III) ions effect on the kinetic parameters of the neodymium extraction by extractants mixtures. In: *Fundamental'naya nauka i tekhnologii – perspektivnye razrabotki: materialy XIX Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Fundamental Science and Technology – Promising Developments: Materials of the XIX International Scientific and Practical Conference*. 10–11 June 2019, North Charleston. North Charleston, 2019. P. 110-114. (In Russian).

12. Ponomareva P. A., Stroeve E. V. Determination of the thermodynamic and kinetic parameters of the iodine extraction by TBP mixtured with isooctane

from salt-free solutions. *Khimicheskaya promyshlennost' segodnya = Chemical Industry Today*. 2007;(12):22-26. (In Russian).

13. Voskov A. L., Kovalenko N. A., Kutsenok I. B., Uspenskaya I. A. Developing calculation methods in the laboratory of chemical thermodynamics at the chemistry department of Moscow State University. *Zhurnal Fizicheskoi Khimii = Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2019;93(10):1445-1454. <https://doi.org/10.1134/S0044453719100327>.

14. Ponomareva P. A., Yudin A. A. Thermodynamic parameters of iodine extraction by a mixture of aromatic and aliphatic extragents from aqueous solutions of various mineralization. In: *Chemical Physics of Molecules and Polyfunctional Materials: Proceedings of the Japanese–Russian Conference*. 9–11 December 2020, Hiroshima. Orenburg: OSU; 2021. P. 153-157.

15. Ponomareva P. A. Determination of equilibrium parameters of extraction of iodine by mixtures of extragents of various nature. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta = Vestnik of the Orenburg State University*. 2017;(9):40-43. (In Russian).

16. Korenman I. M. *Extraction in the analysis of organic substances*. Moscow: Khimiya; 1977. 200 p. (In Russian).

17. *Extraction of inorganic substances*. Nikolaeva A. V. (ed.). Novosibirsk: Nauka; 1970. 311 p.

18. Ponomareva P. A. Equilibrium of iodine extraction with a mixture of individual aromatic and aliphatic extractants. In: *The University Complex as a Regional Center for Education, Science and Culture: Proceedings of the International Scientific and Methodological Conference = The University Complex as a Regional Center for Education, Science and Culture: Proceedings of the International Scientific and Methodological Conference*. 25–27 January 2021, Orenburg. Orenburg: Orenburgskii Gosudarstvennyi Universitet; 2021. P. 2814-2819. (In Russian).

19. Sal'nikova E. V., Skal'nyi A. V., Osipova E. A., Burtseva T. I. Physico-chemical methods of investigation the object of analysis the environment (overview). *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2016;19(8):32-36. (In Russian).

20. Zolotov Yu. A. *Extraction of chelate compounds*. Moscow: Nauka; 1968. 295 p.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

П. А. Пономарева,
старший преподаватель,
Оренбургский государственный университет,
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13,
Российская Федерация,
pponomareva@narod.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2003-3390>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Polina A. Ponomareva,
Senior Lecturer,
Orenburg State University,
13, Pobedy Ave., 460018, Orenburg,
Russian Federation,
pponomareva@narod.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2003-3390>

О. Н. Каныгина,
д.ф.-м.н., профессор,
Оренбургский государственный университет,
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13,
Российская Федерация,
onkan@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6501-900X>

Е. В. Сальникова,
д.б.н., заведующая кафедрой химии,
Оренбургский государственный университет,
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13,
Российская Федерация,
salnikova_ev@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8901-1798>

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 20.05.2022.
Одобрена после рецензирования 03.06.2022.
Принята к публикации 15.06.2022.*

Olga N. Kanygina,
Dr. Sci. (Physics, Mathematics), Professor,
Orenburg State University,
13, Pobedy Ave., 460018, Orenburg,
Russian Federation,
onkan@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6501-900X>

Elena V. Salnikova,
Dr. Sci. (Biology), Head of the Department
of Chemistry,
Orenburg State University,
13, Pobedy Ave., 460018, Orenburg,
Russian Federation,
salnikova_ev@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8901-1798>

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 20.05.2022.
Approved after reviewing 03.06.2022.
Accepted for publication 15.06.2022.*



Review of phytochemical and some biological activity of *Leptopyrum fumarioides* (L.) Reichenb.

Amgalan Solongo*, Tsvetelina Doncheva**, Boldbaatar Delgerbat***,
Dangaa Selenge*

*Institute of Chemistry and Chemical Technology, Mongolian Academy of Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia

**Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences,
Sofia, Bulgaria

***The Liver Center, Dalai Tower, Ulaanbaatar, Mongolia

Corresponding author: Amgalan Solongo, solongoa@mas.ac.mn

Abstract. The phytochemical study of *Leptopyrum fumarioides* started in 2011 and since then 14 volatile compounds have been identified by GC-MS. 7 flavonoids and 4 alkaloids have been isolated and 2 of them have been recognized as new natural compounds. The structures of the natural products have been determined and ascertained by MS, as well as IR, 1D NMR and 2D NMR spectroscopic methods. The antioxidant, antimutagenic, antiproliferative, hepatoprotective, immunomodulatory, and anticancer activity of *Leptopyrum fumarioides* extracts and some isolated pure compounds were examined. The new alkaloids leptopyrine (3) and leptofumarine (4) were identified. Leptopyrine (3) is a new type of dimer alkaloid of benzyliisoquinoline and simple isoquinoline with imine nitrogen. Leptofumarine (4) is the first example of aporphine and benzyliisoquinoline alkaloid with two ether bridges which have head-to-head and tail-to-tail coupling. This review clearly shows that the phytochemical study of plant species is just beginning and requires more detailed and comprehensive study.

Keywords: *Leptopyrum fumarioides* (L.) Reichenb., traditional uses, phytochemistry and biological activities

For citation: Solongo A., Doncheva Ts., Delgerbat B., Selenge D. Review of phytochemical and some biological activity of *Leptopyrum fumarioides* (L.) Reichenb. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotehnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):231-237. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-231-237>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Обзорная статья

УДК 615.322

Обзор фитохимических и некоторых исследований биологической активности *Leptopyrum fumarioides* (L.) Reichenb.

Амгалан Солонго*, Цветелина Дончева**, Болдбаатар Дэлгэрбат***,
Дангаа Сэлэнгэ*

*Институт химии и химической технологии Монгольской академии наук, г. Улан-Батор, Монголия

**Институт органической химии с центром фитохимии Болгарской академии наук,
г. София, Болгария

***Центр печени, башня Далай, г. Улан-Батор, Монголия

Автор, ответственный за переписку: Амгалан Солонго, solongoa@mas.ac.mn

Аннотация. Фитохимическое изучение *Leptopyrum fumaroides* началось в 2011 году, с тех пор с помощью ГХ-МС было определено 14 летучих соединений, а также выделены и идентифицированы 7 флавоноидов и 4 алкалоида, 2 из которых были новыми природными соединениями. Строение природных продуктов определено и установлено методами МС-, ИК-, 1D ЯМР- и 2D ЯМР-спектроскопии. Новые алкалоиды получили названия лептопирин (3) и лептофумарин (4). Лептопирин (3) представляет собой новый тип димерного бензилизохинолина и простого изохинолино-

вого алкалоида с иминным азотом. Лептофумарин (4) является первым примером алкалоида апорфина и бензилизохинолина с двумя эфирными мостиками, которые имеют связи «голова к голове» и «хвост к хвосту». Исследованы антиоксидантная, антимутагенная, антипролиферативная, гепатопротекторная, иммуномодулирующая и противораковая активность различных экстрактов *Leptopyrum fumaroides* и некоторых выделенных чистых соединений. В данном обзоре наглядно показано, что фитохимическое и биологическое изучение этого вида растений только начинается и требует более детального и всестороннего изучения.

Ключевые слова: *Leptopyrum fumaroides* (L.) Reichenb., традиционное использование, фитохимия и биологическая активность

Для цитирования: Солонго А., Дончева Ц., Дэлгэрбат Б., Сэлэнгэ Д. Обзор фитохимических и некоторых исследований биологической активности *Leptopyrum fumaroides* (L.) Reichenb. // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 231–237. (In English). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-231-237>.

INTRODUCTION

Leptopyrum fumaroides belongs to the Ranunculaceae family. *L. fumaroides* is distributed in Siberia, Mongolia, China and North Korea. There are three species of the genus *Leptopyrum* – *Leptopyrum fumaroides* (L.) Reichenb., *L. tenellum* Raf. and *L. generale* E.H.L. Of these, only *Leptopyrum fumaroides* grows in Mongolia as Khubsugul, Khentii, Khangai, Mongol Daguur, Mongol Altai, Dundad Khalkh, Dornod Mongol and Gobi Altai regions [1–3]. *Leptopyrum* was previously assigned to the genus *Isopteryum*, but in 1964 Xiao Pei-Keng and Wang Wen-Cai recognized *Leptopyrum* as a separate genus [4]. The genus *Isopteryum* has about 60 species. However, its chemical composition and biological activity have been little studied. So, European researchers isolated and found only alkaloids [5–12].

Compared to the genus *Isopteryum* there is no detailed study on the genus *Leptopyrum*. There is no scientific justification for the use of many medicinal plants, based on the study of the biological functions and activity of their extracts and components. The use of these plants for the manufacture of medicines is based solely on traditions that have been preserved for generations. Therefore, it is important to study the chemical composition, biological functions, and activity of traditional medicinal plants, and confirm their use on a scientific basis [13]. *L. fumaroides* (L.) Reichenb. is an example of one such plant species. However, we could not find any information about the chemical composition and biological activity of the other two species of *Leptopyrum*, so we tried to review the studies of *Leptopyrum fumaroides* and hope that this may help further researchers.

Traditional uses of *L. fumaroides*. Aerial parts of the plant are used in Mongolian and Tibetan folk medicine for the treatment of fever, typhoid fever, high blood pressure, liver diseases, and dropsy, cardiovascular, gastrointestinal diseases, and for the treatment of various intoxications¹ [14]. In tradi-

tional Mongolian medicine, *Leptopyrum fumaroides* and *Hypocoum erectum* L. have similar usage under the same name “Barbad” in variety of traditional medicine for the treatment of liver diseases. *H. erectum* is an ingredient of “Hepamon” drug and in combination with *Salsola colina* it is used for the treatment of liver. The comparative study of “Hepamon” and Silymarin was performed in the liver treatment of rats poisoned with CCl₄. After liver intoxication with CCl₄, the concentrations of succinate dehydrogenase (SDH) and lactate dehydrogenase (LDH) in the animals treated with Hepamon were higher than in the animals treated with silymarin [15]. It is worth to mention that *L. fumaroides* extract is one of the components of an anticancer drug in the traditional Chinese folk medicine [16].

Study of chemical compositions of *L. fumaroides*. The chemical composition of this plant species has been little studied. Previously, it was only found that the herb contains alkaloids, saponins [17, 18], cyanogenic glycosides, and a small amount of ascorbic acid [19, 20].

Alkaloids. From the aerial part of *L. fumaroides* growing in Mongolia, the isoquinoline alkaloid such as known alkaloids protopine (1), thalifoline (2), and new alkaloids leptopyrine (3) and leptofumarine (4) were isolated and identified. Leptopyrine (3) is a new type of dimer alkaloid of benzylisoquinoline and simple isoquinoline with imine nitrogen (Fig. 1) [21]. Leptofumarine (4) is the first example of aporphine and benzylisoquinoline alkaloid with two ether bridges which have head-to-head and tail-to-tail coupling² (Fig. 1) [21, 22].

Non-alkaloid components. From dichloromethane extract of the aerial part of *L. fumaroides*, D. Boldbaatar et al. the 14 hydrocarbons were isolated and identified by the GC-MS method, and among them 1-Propoxypentane (5), 6,10,13-trimethyltetradecanol (6), 8-methylheptadecane (7), tetracosane (8), heneicosane (9), eicosane (10), hexadecanoic acid, methyl ester (11), phytol (12),

¹Sanchir Ch., Batkhui J., Boldsaikhan B., Komatsu K. The encyclopedia of Mongolian useful plants. Ulanbataatar: Admon Printing, 2005. Vol. 2. 180 p.

²Solongo A. The isoquinoline alkaloids from *Berberis sibirica* Pall. and *Leptopyrum fumaroides* (L.) Reichenb. of Mongolian origin: PhD Thesis. National University of Mongolia, 2019.

2,4-decadienal (**13**), 2-pentadecanone (**14**), 10-methylcosane (**15**), tetradecahydro-7-isopropyl-1,4a-dimethylphenanthren-1-methanol (**16**), pentadecane (**17**), pentadecanoic acid (**18**) (Table). From the n-butanol and aqueous extracts, 7 flavonoids were isolated and identified, such as luteolin-7-O-glucoside (**19**), luteolin 6-C- β -D-glucopyranoside (**20**), apigenin 7-glucuronide (**21**), isovitexin (**22**), naringenin-7-O-glucoside (**23**), 6-hydroxynaringenin (**24**), naringin (**25**)³ (Fig. 2) [23, 24].

Biological activities. Antioxidative, hepatoprotective, antibacterial, antigenotoxic, immunomodulatory and anti-cancer activities of various extracts and some isolated pure compounds of *Leptopyrum fumarioides* were studied.

Antigenotoxic effects or DNA damaging effects. The results of the investigations of *L. fumarioides* showed that its sub extracts and some pure compounds can to prevent catechol-induced DNA damage and possibly play a potent antioxidant role [23]. The various extracts and the most common components of these extracts were tested for their ability to induce DNA damage. It has been shown that Luteolin-7-O-glucoside (**9**) has no effect on DNA damage up to 10 μ g/ml (higher concentrations could not be tested)⁴ [24].

The acute toxicity. The acute toxicity of a 40% ethanol dry extract of *L. fumarioides* was studied. The LD50 of this extract was 2500 $\pm$ 176 mg/kg. As a result, the extract of *L. fumarioides* was assigned to the group of practically non-toxic substances [25].

DNA protective effects. The DNA-protective effects of various components of *L. fumarioides* have been studied in mouse lymphoma cells exposed to high concentrations of the DNA-damaging pro-oxidant catechol. Low concentrations of the three sub-extracts significantly reduced catechol-induced

DNA degradation, and the most successful protective agent was flavone luteolin-7-O-glucoside isolated from the n-butanol sub-extract. This compound has been shown to reduce catechol-induced DNA degradation to almost control levels [24].

Immunomodulatory activity. New alkaloids Leptofumarine and Leptopyrine isolated from *L. fumarioides* were evaluated for their effect on macrophages and bone marrow (BM) cells *in vitro*. Our results showed that both alkaloids inhibit cytokine production by LPS-stimulated peritoneal macrophages. Leptopyrine suppressed the formation of osteoclasts and osteoblasts, while leptofumarine only affected osteoblastogenesis [22].

Anticancer and antiepileptic activity. *L. fumarioides* extracts inhibit activity of U-937 GTB in lung cancer cells; in addition, their positive antiepileptic activity has been discovered⁵ [24].

Antioxidant activity. The free radical scavenging antioxidant activity of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) was tested on sub-extracts and *L. fumarioides* extract. The n-butanol sub-extract had the stronger antioxidative activity than both the extract and the other two sub-extracts (the dichloromethane sub-extract was the least effective). The most striking result of the assay was that the isolated flavone, luteolin-7-O-glucoside (**9**), had a very strong antioxidant activity and were found to have an almost the same IC₅₀-value as the positive control rutin⁶ [24].

The screening of DPPH radical scavenging of antioxidant activity, hepatoprotective and antiproliferative activity was carried out. The total alkaloids (**IIIb**, **IIIc**, **IIId**, **IIIe**) were isolated from 4 kg air-dry arial part of *L. fumarioides*. About 4.0 kg of the plant sample was extracted with 95% ethanol 5 times.

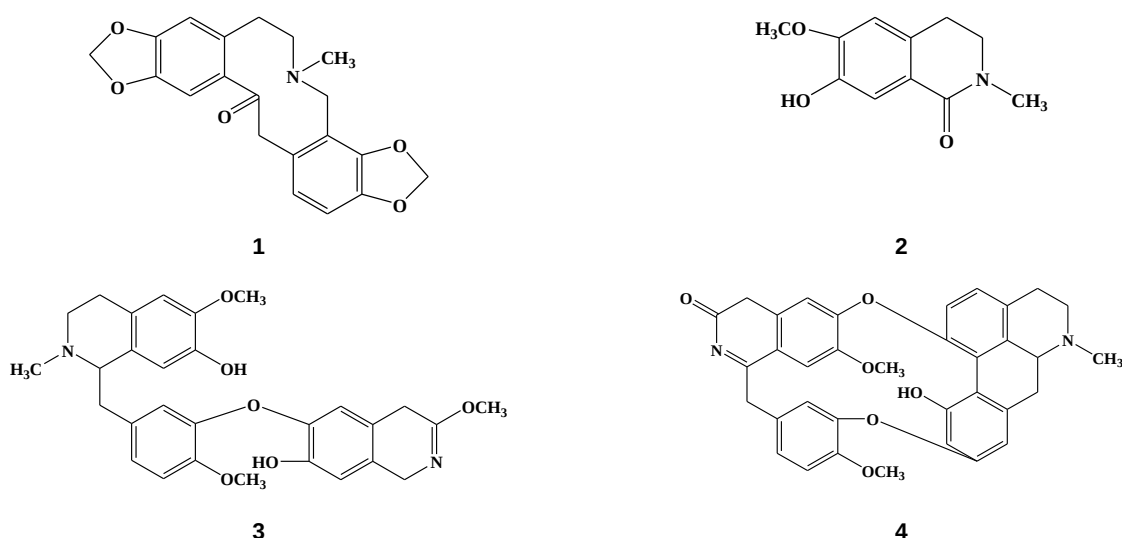


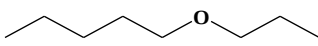
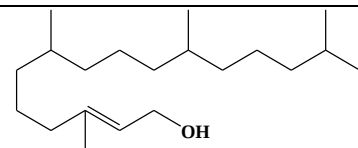
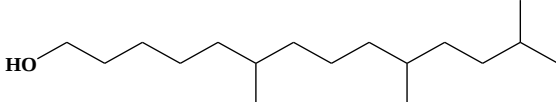
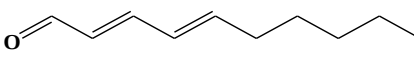
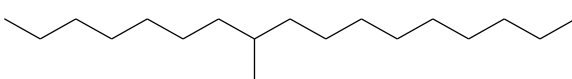
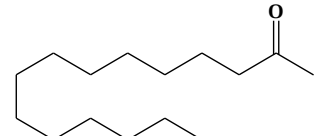
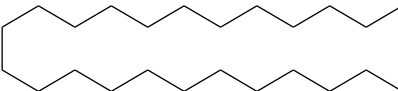
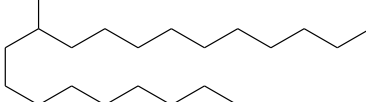
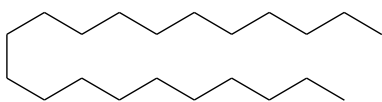
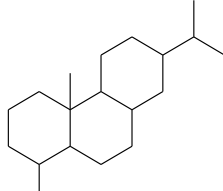
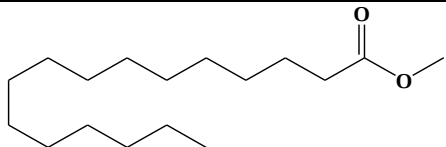
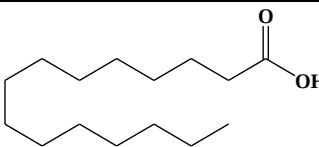
Fig. 1. Structure of alkaloids from *L. fumarioides*

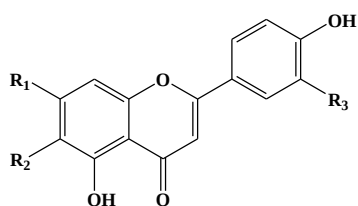
Рис. 1. Структура алкалоидов *L. fumarioides*

³Boldbaatar D. Phytochemistry and antimutagenic activity of *Leptopyrum fumarioides* (L.) RCHB.: PhD Thesis. National University of Mongolia, 2018.

The volatile compounds from *L. fumarioides* identified by GC-MS

Летучие соединения *L. fumarioides*, идентифицированные с помощью ГХ-МС

№	Formula	№	Formula
5		12	
6		13	
7		14	
8		15	
9		16	
10		17	
11		18	



	19	20	21	22	23	24	25
R ₁	-O-Glu	-OH	-Glr	-OH	-O-Glu	-OH	-O-Rp
R ₂	-H	-Glp	-H	-Glu	-H	-OH	-H
R ₃	-OH	-OH	-H	-H	-H	-H	-H

-O-Glu=O-glucoside

-Glr= glucuronide

-Glu=C-glucoside

-O-Rp=rhamnopyranosyl

Fig. 2. Structure of flavonoids from *L. fumarioides*

Рис. 2. Структура флавоноидов *L. fumaroides*

After evaporation 478.25 g of thick extract was obtained (I). The extract was dissolved in 5% HCl and purified by hexane 3 times (IIIa). The acidic solution was alkalinized by 25% NH₄OH to pH 7–8 and extracted with chloroform to obtain 3.06 g of crude alkaloid mixture (IIIb). Besides, 25% NH₄OH was added to acidic solution up to pH 9–10 and extracted with chloroform to obtain 2.04 g of crude alkaloid mixture (IIIc). If the acid solution was alkalinized to pH 9–10 and extracted with chloroform-methanol (4:1), then 0.75 g of polar crude alkaloid mixture (IIId) was isolated, while the extraction with butanol gave 163.14 g of crude alkaloid mixture (IIIe).

In addition, a 1.5 kg of plant sample was extracted with 70% ethanol 4 times. After evaporation 330.72 g of thick extract was obtained (II). After the use of various organic solvents, the 29.84 g of dichloromethane (IV) fraction, 3.66 g of ethyl acetate (V) fraction, and 65.79 g butanol (VI) fraction were isolated. Alkaloid fractions III_B, III_C, III_D, and III_E were different from each other. All fractions were passed through preliminary screening for hepatoprotective, antiproliferative, and antioxidant activity. According to our study of DPPH radical scavenging screening, all extracts and sub-extracts of *L. fumaroides*, ethyl acetate (IC₅₀ 168.58±0.68), and total alkaloids

(IC₅₀ 97.84±0.39) showed high antioxidant activity. The antioxidant activity of the extract is considered to be highly active if the IC₅₀ is less than 100, moderately active if the IC₅₀ is 100-200, and inactive if it is more than 200. Further study will take up the three various assays such as DPPH radical scavenging antioxidant activity, ABTS antioxidant and Ferric reducing antioxidant power assays on effective fractions [26].

Hepatoprotective activity. Toxic hepatitis had been caused in white rats by subcutaneous injection of 50% oil solution of carbon tetrachloride (CCl₄) at the rate of 0.4 ml / 100 g of body weight once a day for four consecutive days. *L. fumarioides* extract at a dose of 200 mg/kg (experimental – therapeutic dose) in the form of an aqueous solution was intragastric administered starting from the second day once a day for 10 days of the experiment. For comparison, a separate group of rats was similarly injected with Holosas in a volume of 1.0 ml/kg of body weight (experimental therapeutic dose). Animals of the control group were injected with an equal volume of purified water according to a similar scheme. After 7, 14 and 21 days from the start of CCl₄ administration, the bile-forming and bile-diverting function and the structural state of the rat liver were assessed.

As a result of the study, it was found that the aqueous and 40% ethanol extract of *L. fumarioides* showed choleric and hepatoprotective effect on rats, as well as stimulating effect on the synthesis and release of cholic acid. It has been shown that *L. fumarioides* extract causes a pronounced inhibition of cholera-forming and choleric functions of the liver and their destructive changes [25].

According to our study, the hepatoprotective effect of extracts and sub-extracts of *L. fumarioides* is induced by t-BHP in cell culture. Ethanol extract, ethyl acetate and butanol sub-extracts have shown a protective effect against cell toxicity. In addition, a more

detailed study of the hepatoprotective effects of this species using certain fractions and isolated pure compounds is needed [26].

Antiproliferative effects. The antiproliferative activity of *L. fumarioides* in liver cancer cells Hep G2 was compared with positive control 5-fluoroacyl (an agent that treats many cancers, including colon, rectum, breast, stomach, pancreas, ovaries, bladder, and liver). As a result of this screening, it was found that 29.34% crude ethanol extract and 38.44% crude mixture of alkaloids, and 10.84% dichloromethane sub-extract of *L. fumarioides* showed more pronounced inhibition of the cell growth of liver cancer than the positive control 5-fluoroacyl [26].

CONCLUSIONS

It was found that 4 alkaloids, 7 flavonoids and 14 volatile compounds identified from the *L. fumarioides*. Thus, 25 natural compounds of *L. fumarioides* were isolated and identified.

The antioxidant, antimutagenic, antiproliferative, hepatoprotective, immunomodulatory and anticancer effects of various extracts and some isolated pure compounds of *L. fumarioides* have been studied. In comparison, all of these biologically active studies show that low-polar compounds of plant species have genotoxic and antiproliferative effects. The polar compounds of plant species have antigenotoxic, hepatoprotective, and antioxidant effects. Therefore, they are extensively used in the Mongolian as well as Tibetan traditional medicines to relief fever, treat liver diseases and dropsy and also for the treatment of various intoxications. Moreover, it is used as an essential component in the anticancer drug in the Chinese traditional medicine. From this review, it may be possible to provide scientific evidence for the use of traditional medicine. But it may be worthwhile to make a final conclusion based on a more detailed study.

REFERENCES

1. Tserenbaljid G. *The colored album of flora of Mongolia*. Ulaanbaatar; 2002, p. 47-88.
2. Urgamal M., Oyuntsetseg B., Nyambayar D., Dulamsuren Ch. *Conspectus of the vascular plants of Mongolia: monograph*. Ulaanbaatar: Admon Press; 2014. 282 p.
3. Gubanov I. A. *Conspectus of the flora of Outer Mongolia (vascular plants)*. Moscow: Valang; 1996. 136 p. (In Russian).
4. Hsiao P.-K., Wang W.-T. A new genus of Ranunculaceae-Dichocarpum. *Journal of Systematics and Evolution*. 1964;9(4):315-334.
5. Moulis C., Gleye J., Stanislas E. Isopyrum thalictroid alkaloids—quaternary leaf bases—isolation and identification of four pseudoprotoberberines. *Phytochemistry*. 1977;16(8):1283-1287. (In French). [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)94375-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)94375-9).
6. Frencel I. Alkaloids from *Isopyrum thalictroides*. *Planta Medica*. 1966;14(2):204-208. (In German). <https://doi.org/10.1055/s-0028-1100046>.
7. Košťálová D., Hrochová V., Uhrín D., Tomko J. Isoquinoline alkaloids of *Isopyrum thalictroides* L. *Chemical Papers*. 1988;42(6):841-843.
8. Philipov S. A., Istatkova R. S. Alkaloids from *Isopyrum thalictroides*. *Phytochemistry*. 1997;44(8):1591-1594. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00696-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00696-6).
9. Istatkova R., Doncheva Ts., Philipov S. A. A comparative study of the alkaloid composition of *Isopyrum thalictroides* (Ranunculaceae). *Phytologia Balcanica*. 2004;10(2-3):257-259.
10. Istatkova R. S., Philipov S. A. Alkaloids from *Isopyrum thalictroides* L. *Phytochemistry*. 2000;54(8):959-964. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00068-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00068-6).
11. Istatkova R. S., Philipov S. A. Alkaloids from *Isopyrum thalictroides* L. *Natural Product Research*.

2004;18(3):259-263. <https://doi.org/10.1080/14786410310001620510>.

12. Philipov S. A., Istatkova R. S. Alkaloids from *Isopyrum thalictroides*. *Phytochemistry*. 1999;51(8):1161-1165. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00012-6).

13. Lopes L. C., Albano F., Laranja G. A. T., Alves L. M., de Silva L. F. M., de Souza G. P., et al. Toxicological evaluation by *in vitro* and *in vivo* assays of an aqueous extract prepared from *Echinodorus macrophyllus* leaves. *Toxicology Letters*. 2000;116(3):189-198. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(00\)00220-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(00)00220-4).

14. Ligaa U., Davaasuren D., Ninjil N. *Medicinal plants of Mongolia used in Western and Eastern medicine*. Ulanbaatar: JCK Printing; 2006. 378 p.

15. Narantsetseg S., Ambaga M., Lkhagvasuren Ts., Sarantsetseg B., Nikolaev S. M., Lonshakova K. S. Changing the succinate dehydrogenase and lactate dehydrogenase at the acute gangrene of liver cell. *Mongol Medical*. 2006;1(135).

16. Abdula S. *Method for preparation of traditional Chinese medicine-containing antitumor agent with anti-inflammatory effect*. Patent CN, no. 102886014; 2013. (In Chinese).

17. Blinova K. F., Stukkei K. L. Qualitative phytochemical study of some plants of Tibetan medicine in Transbaikalia. *Voprosy farmakognozii*. 1961;(1): 135-155. (In Russian).

18. Makarov A. A. *Herbal remedies of the Yakut folk medicine*. Yakutsk, 1974. 64 p. (In Russian).

19. Gammernan A. F., Shupinskaya M. D. Preliminary chemical studies of medicinal raw materials of Tibetan medicine collected by the Siberian expedition VIEM. *Farmatsiya i Farmakologiya*. 1973;(3): 20-26. (In Russian).

20. Hegnauer R. *Chemotaxonomy of plants*. Stuttgart, 1973. Vol. 6. 378 p.

21. Doncheva Ts., Solongo A., Kostova N., Gerelt-Od Ya., Selenge D., Philipov S. Leptopyrine, new alkaloid from *Leptopyrum fumarioides* L. (Ranunculaceae). *Natural Product Research*. 2015;29(9):853-856. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.991322>.

22. Solongo A., Doncheva Ts., Kostova N., Gerelt-Od Ya., Philipov S., Ivanovska N. Alkaloids from the aerial parts of *Leptopyrum fumarioides* express immunomodulatory activity. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2020;22(9):886-894. <https://doi.org/10.1080/10286020.2019.1666821>.

23. Boldbaatar D., Tumurbaatar O., Dendev B., Choidash B., Javzan B. Antimutagenic activity of some Mongolian medicinal plants. *Journal of Agricultural Science*. 2010;(5):24-28. (In Mongolian).

24. Boldbaatar D., El-Seedi H. R., Findakly M., Jabri S., Javzan B., Choidash B., et al. Antigenotoxic and antioxidant effect of the Mongolian medicinal plant *Leptopyrum fumarioides* (L.): an *in vitro* study. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014;155(1):599-606. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.06.005>.

25. Nikolayev S. M., Zandanov A. O., Sambuyeva Z. G., Razuvayeva Ya. G., Fedorov A. V. Effect of the *Leptopyrum fumarioides* (L.) on exocrine liver function in white rats. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2012;(4):21-24. (In Russian).

26. Solongo A., Zulsar B., Odgerel O., Purevdorj E., Nomin M., Munkhtsetseg Ts. Fractions and their biological activities of *Leptopyrum fumarioides* (L.) Reichenb. In: *Abstract book of 5th International Conference on Chemical Investigation and Utilization of Natural Resources*. 14-15 October 2021, Ulaanbaatar. Ulaanbaatar; 2021.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Amgalan Solongo,

PhD (Chemistry), Senior Researcher,
Department of Natural Products Chemistry,
Institute of Chemistry and Chemical Technology,
Mongolian Academy of Sciences,
4, Peace Ave., 13330, Ulaanbaatar, Mongolia,
solongoa@mas.ac.mn
<https://orcid.org/0000-0002-0292-0279>

Tsvetelina Doncheva,

PhD (Chemistry), Associated Professor,
Senior Researcher,
Department of Natural Products Chemistry,
Institute of Organic Chemistry with Centre
of Phytochemistry, Bulgarian Academy
of Sciences,
4, Acad. Georgy Bonchev Ave., 1113, Sofia,
Bulgaria,

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. Солонго,

к.х.н., старший научный сотрудник,
Лаборатория химии натуральных продуктов
Института химии и химической технологии
Монгольской академии наук,
13330, г. Улан-Батор, пр-т Мира, корп. 4,
Монголия,
solongoa@mas.ac.mn
<https://orcid.org/0000-0002-0292-0279>

Ц. Дончева,

к.х.н., доцент, старший научный сотрудник,
Лаборатория химии натуральных продуктов,
Институт органической химии с центром
фитохимии Болгарской академии наук,
1113, г. София, пр-т акад. Георгия Бончева, 4,
Болгария,
Tsvetelina.Doncheva@orgchm.bas.bg
<https://orcid.org/0000-0002-5252-2615>

Tsvetelina.Doncheva@orgchm.bas.bg
<https://orcid.org/0000-0002-5252-2615>

Boldbaatar Delgerbat,
PhD (Biology), Researcher,
The Liver Center, Dalai Tower,
31, Unesco St., 14230, Ulaanbaatar, Mongolia,
b.delgerbat@onomfoundation.org
<https://orcid.org/0000-0001-8095-0345>

Dangaa Selenge,
PhD (Chemistry), Leading Researcher,
State prize of Mongolia winner,
Department of Natural Products Chemistry,
Institute of Chemistry and Chemical Technology,
Mongolian Academy of Sciences,
4, Peace Ave., 13330, Ulaanbaatar, Mongolia,
selengedangaa@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3449-2088>

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 15.11.2021.
Approved after reviewing 28.04.2022.
Accepted for publication 30.05.2022.*

Б. Дэлгэрбат,
к.б.н., научный сотрудник,
Центр печени, башня Далай,
14230, г. Улан-Батор, ул. Юнеско, 31,
Монголия,
b.delgerbat@onomfoundation.org
<https://orcid.org/0000-0001-8095-0345>

Д. Сэлэнгэ,
к.х.н., ведущий исследователь, лауреат
Государственной премии Монголии,
Лаборатория химии натуральных продуктов
Института химии и химической технологии
Монгольской академии наук,
13330, г. Улан-Батор, пр-т Мира, корп. 4,
Монголия,
selengedangaa@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3449-2088>

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.

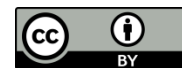
Информация о статье

*Поступила в редакцию 15.11.2021.
Одобрена после рецензирования 28.04.2022.
Принята к публикации 30.05.2022.*

Обзорная статья

УДК 67.08, 504.054, 579.26

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-238-253>



Перспективы переработки пластиковых отходов на основе полиэтиленгликольтерефталата с применением живых систем (обзор)

Денис Владимирович Белов, Сергей Николаевич Беляев

Институт прикладной физики РАН,

г. Нижний Новгород, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Белов Денис Владимирович, belov.denbel2013@yandex.ru

Аннотация. В последние годы биodeградация полиэтиленгликольтерефталата стала играть важную роль в решении проблемы загрязнения окружающей среды пластиковыми отходами. В данном обзоре обобщена новейшая информация о различных микроорганизмах, способных к биodeградации полиэтиленгликольтерефталата. Подробно изучены механизмы ферментативных реакций гидролиза полиэтиленгликольтерефталата и строение ферментов биodeградации. В обзоре рассмотрены существующие проблемы промышленной реализации метода биodeградации полиэтиленгликольтерефталата и высказаны некоторые соображения по продвижению соответствующих технологий утилизации отходов на основе полиэтиленгликольтерефталата. Биodeградация является привлекательным современным методом экологически чистого и эффективного удаления отходов пластмасс. Актуальность данной темы объясняется тем, что еще не разработаны технологии, позволяющие в коммерческих масштабах утилизировать полиэтиленгликольтерефталат путем биodeградации. В этой области проводится большое количество исследований, очевидно, что разработка рентабельных и высоко технологичных процессов биodeградации – это вопрос времени. Будущие достижения в этой области будут основаны на стратегиях синтетической биологии и метаболической инженерии. Их целью станет конструирование искусственных микробных консорциумов и модифицирование микробных гидролаз полиэтиленгликольтерефталата, нацеленных на более полную биodeградацию и биоконверсию полиэтиленгликольтерефталата и других сложных полимеров.

Ключевые слова: полиэтиленгликольтерефталат, переработка отходов, биodeградация, *Thermobifida fusca*, гидролаза, кутиназа, *Ideonella sakaiensis*, биоремедиация, терефталевая кислота, этиленгликоль, ПЭТаза (PETase), МГЭТаза (MHETase), рециклинг

Для цитирования: Белов Д. В., Беляев С. Н. Перспективы переработки пластиковых отходов на основе полиэтиленгликольтерефталата с применением живых систем (обзор) // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 238–253. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-238-253>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Review article

Prospects for recycling plastic waste based on polyethylene glycol terephthalate using living systems (a review)

Denis V. Belov, Sergey N. Belyaev

Institute of Applied Physics of the RAS,

Nizhny Novgorod, Russian Federation

Corresponding author: Denis V. Belov, belov.denbel2013@yandex.ru

Abstract. In recent years, the biodegradation of polyethylene glycol terephthalate has become an important direction in solving the problem of environmental pollution with plastic waste. This review generalizes the latest data on various microorganisms capable of biodegrading polyethylene glycol terephthalate. The mechanisms of enzymatic reactions of polyethylene glycol terephthalate hydrolysis and the structure of bio-

degradation enzymes are elucidated. Challenges to the industrial implementation of polyethylene glycol terephthalate biodegradation are considered along with proposals on the promotion of appropriate waste disposal technologies. Biodegradation comprises a promising method for the environmentally friendly and efficient disposal of waste plastics. So far, no commercial biodegradation technologies for recycling polyethylene glycol terephthalate have been developed. This area is attracting increased research attention, which is expected to result in the appearance of cost-effective and high-tech biodegradation processes. Future advances are likely to be based on synthetic biology and metabolic engineering strategies capable of constructing artificial microbial consortia and modifying microbial polyethylene glycol terephthalate hydrolases aimed at a more complete biodegradation and bioconversion of polyethylene glycol terephthalate and other complex polymers.

Keywords: polyethylene glycol terephthalate, waste disposal, biodegradation, *Thermobifida fusca*, hydrolase, cutinase, *Ideonella sakaiensis*, bioremediation, terephthalic acid, ethylene glycol, PETase, MHETase, recycling

For citation: Belov D. V., Belyaev S. N. Prospects for recycling plastic waste based on polyethylene glycol terephthalate using living systems (a review). *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):238-253. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-238-253>.

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире широко распространены синтетические полимеры и материалы на их основе. С точки зрения экологии они представляют глобальную проблему, являясь самыми многочисленными загрязнителями окружающей среды. Большинство полимеров и пластмасс, в частности полиэтиленгликольтерефталат (ПЭТ), представляют собой цунамический и постоянно растущий риск для фауны и флоры как на суше, так и в воде. Основной проблемой является устойчивость полимерных материалов к деградации и естественному разложению и, как следствие, постоянно нарастающая экологическая нагрузка на все экосистемы. Например, огромную проблему представляет загрязнение пластмассами морской среды. Находясь в морской среде, пластмассы быстро колонизируются разнообразными микроорганизмами, называемыми пластисферой. Как и микроорганизмы биопленок, члены пластисферы выполняют множество различных функций, в том числе участвуют в биоразложении пластика. Однако в естественной среде этот процесс длителен.

Сейчас, как никогда, можно наблюдать постоянно возрастающее давление антропогенного воздействия человека на природу. К настоящему времени на планете скопилось около 6,5 млрд тонн различных пластиковых отходов. При сохранении современных тенденций производства пластика и обращения с переработанными пластиковыми отходами уже к 2050 году это количество возрастет до 12 млрд тонн¹.

Производство пластмасс стало незаменимым для современного общества благодаря их невероятной универсальности в сочетании с низкими производственными затратами. Одновременно с

этим менее чем за сто лет это производство нанесло серьезный ущерб экологии и биосфере Земли. Признано, что синтетические пластмассы представляют собой серьезную угрозу глобального загрязнения, особенно морских экосистем, из-за их сверхдлительного срока естественного разложения.

В этой связи разработка и внедрение технологий переработки постпотребительского ПЭТ (POSTC-PET) представляет собой важнейшую современную междисциплинарную задачу [1].

В настоящее время на практике используются три метода борьбы с отходами пластмасс: захоронение, сжигание и переработка. Захоронение и сжигание отходов приводят к выбросу в окружающую среду опасных вторичных загрязнителей. Рециркуляция полимеров решает определенные экологические проблемы первых двух методов, однако этот процесс является малоэффективным, ограниченным низкой стоимостью сбора и переработки отходов, невысоким качеством получаемого вторичного полимера. В связи с этим биodeградация ПЭТ привлекает все больше внимания как экологически чистая альтернатива другим методам переработки отходов, что является эффективным методом контроля загрязнения пластиком. Процесс требует умеренной температуры, небольшого энергопотребления, несложного аппаратного оформления процесса. Продукты биodeградации ПЭТ могут быть легко встроены в существующие технологические линии.

Полиэтиленгликольтерефталат – это термопластик, представитель класса полиэфиров, который известен под разными названиями: полиэтилентерефталат, ПЭТ, ПЭТФ, лавсан, майлар и др. (рис. 1).

¹В поисках пластика. Как Greenpeace в России и люди по всей стране изучали пластиковый мусор на берегах морей, рек и озер: отчет Greenpeace о пластиковом загрязнении берегов водных объектов в России. 2020. 43 с. [Электронный ресурс]. URL: <https://greenpeace.ru/wp-content/uploads/2020/03/Greenpeace-plastic-pollution-report.pdf> (19.06.2022).

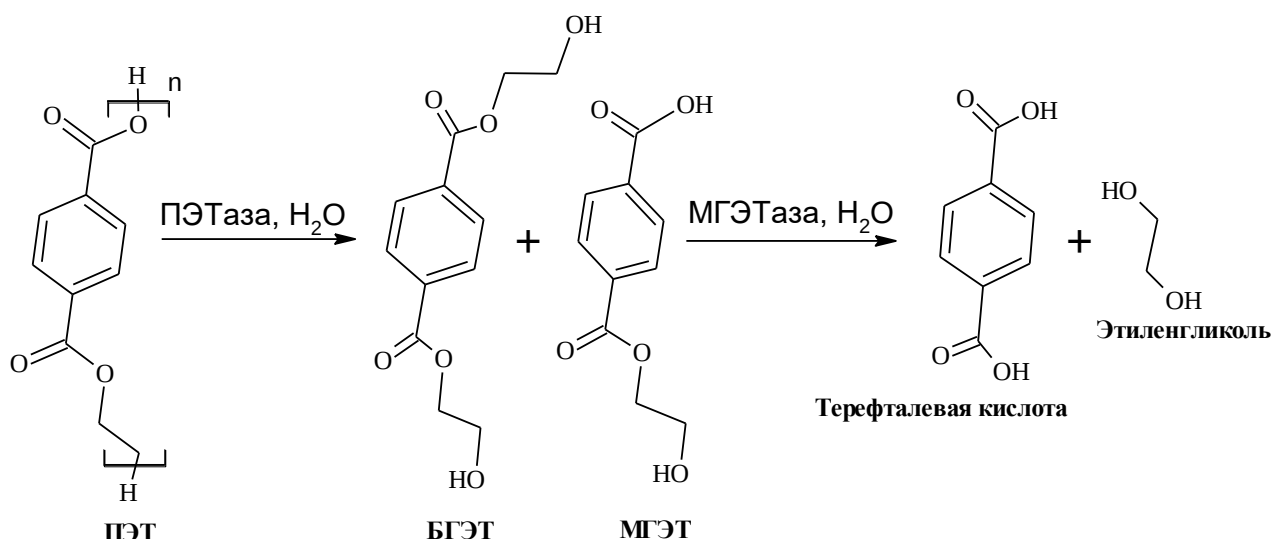


Рис. 1. Схема процесса биодegradации полиэтилентерефталата и продукты его биоразложения

Fig. 1. PET biodegradation process and its biodegradation products

ПЭТ является продуктом реакции поликонденсации этиленгликоля с терефталевой кислотой или ее диметилowym эфиром. По внешнему виду представляет собой в аморфном состоянии твердое, бесцветное и прозрачное вещество, в кристаллическом состоянии – белое, непрозрачное вещество, которое при нагревании до температуры стеклования переходит в прозрачное состояние и остается в нем при резком охлаждении. Будучи конструкционным материалом ПЭТ прочен, износостоек, проявляет свойства диэлектрика. Физические свойства ПЭТ: плотность 1,37–1,46 г/см³, температура размягчения 245 °С, температура плавления 260 °С, температура стеклования 70 °С, температура разложения 350 °С.

Вещество нерастворимо в воде и большинстве органических растворителей, однако неустойчиво к кетонам, сильным кислотам и щелочам. В России полиэтилентерефталат используется главным образом для изготовления пластиковых емкостей и в первую очередь одноразовых пластиковых бутылок. В меньшей степени этот полиэфир применяется для переработки в волокно и пленку. Во всем мире большая часть ПЭТ идет на производство нитей и волокон [1].

ТРАДИЦИОННЫЕ СПОСОБЫ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ ПЭТ

Способы переработки отходов полиэтилентерефталата можно разделить на три основные группы: механические, физико-химические и химические. Основным механическим способом переработки отходов ПЭТ является измельчение. Такая переработка позволяет получить порошкообразные материалы и крошку для последующего литья под давлением. При переработке этим способом ПЭТ-тары получают «флексy» (от англ. flakes – хлопья), качество которых определяется степенью загрязнения материала

и содержанием в нем других полимеров (полипропилена, поливинилхлорида и др.).

Физико-химические методы переработки отходов ПЭТ классифицируют следующим образом: деструкция отходов с целью получения мономеров или олигомеров, пригодных для получения волокна и пленки; плавление отходов для получения изделий экструзией или литьем под давлением, гранулята и агломерата; переосаждение из растворов с получением порошков для последующего нанесения покрытий; получение композиционных материалов; химическая модификация для производства материалов с новыми свойствами.

Среди химических способов переработки отходов на основе ПЭТ можно упомянуть гидролиз, метанолиз (взаимодействие с метиловым спиртом), гликолиз (взаимодействие с гликолями), аминолиз (взаимодействие с аминами), аммонолиз (взаимодействие с аммиаком) и др. [2].

Полиэтилентерефталат, используемый в производстве одноразовых бутылок, одежды, упаковки и ковровых покрытий, устойчив к каталитической или биологической деполимеризации из-за ограниченной доступности сложноэфирных связей. Промышленный способ деполимеризации ПЭТ с помощью химических веществ, способных расщеплять сложноэфирные связи, может быть реализован, но на сегодняшний день это не оправдано экономически из-за сравнительной дешевизны первичного ПЭТ. Кроме того, наличие множества ароматических фрагментов делает полимерную молекулу полиэтилентерефталата жесткой и химически инертной по отношению к гидролизу [3].

Известна технология разложения ПЭТ в гидrolитических и фотолитических условиях, которые являются основными процессами разложения, протекающими в естественной среде. Одна-

ко полного понимания механизма с идентификацией ключевых промежуточных продуктов, образующихся в ходе деградации ПЭТ, пока нет [4].

Термомеханический способ переработки требует больших затрат энергии. К тому же механические свойства пластика в процессе его термомеханической переработки значительно ухудшаются [5]. Часть пластиковых отходов (не менее 10–12%) сжигается, однако подобная утилизация имеет негативные последствия для окружающей среды. Утилизация ПЭТ производится управляемым сжиганием при температуре не менее 850 °С.

Перечисленные выше условия в итоге приводят к накоплению пластиковых отходов в окружающей среде. Если не будут найдены экономически и технологически оправданные пути переработки полимерных отходов, накопление пластика приведет к ужасающим последствиям. Ежегодно пластиковое загрязнение является причиной гибели около 1 млн морских птиц, а также 100 000 тыс. морских млекопитающих и черепах [6]. В настоящее время считается, что почвы могут представлять собой еще больший концентратор пластика. Поскольку микропластик может легко вымываться в грунтовые воды и загрязнять другие водные ресурсы, считается, что эта проблема затрагивает организмы во всей экосистеме планеты [7].

Становится все более очевидным, что в ответ на накопление пластика в биосфере микробы приспосабливают, настраивают и развивают свои ферментные системы и катаболические пути для частичного разложения искусственного пластика и использования его в качестве источника углерода и энергии. Для того чтобы помочь решить надвигающуюся экологическую угрозу, создаваемую искусственными синтетическими пластиками, микромир бактерий предлагает свои эволюционно опосредованные механизмы, которые являются многообещающими отправными точками для промышленной биотехнологии и синтетической биологии.

АГЕНТЫ БИОХИМИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ ПЭТ

Ферменты бактерий. Свойства, которые делают ПЭТ незаменимым и универсальным материалом, также наделяют его опасной устойчивостью к биоразложению, что способствует сохранению и накоплению его в окружающей среде. Высокая стабильность основной цепи полимера, а также его кристалличность и гидрофобность поверхности являются одними из основных факторов, ограничивающих естественное разрушение этого пластика [6, 8, 9].

Почвенная палочковидная аэробная грамположительная бактерия *Thermobifida fusca* способна к росту и размножению при высоких температурах, оптимально существует при 55 °С в

широком диапазоне pH (4–10). Бактерия способна формировать эндогенные споры. Она является деструктором клеточных стенок мертвых растений. При помощи ферментов она разрушает полимеры клеточных стенок, кроме лигнина и пектина. Естественная среда обитания *T. fusca* – компостные кучи, городские мусорные свалки. С помощью своего ферментативного аппарата *T. fusca* может разрушать пластмассы, поэтому эта бактерия представляет интерес как перспективный объект для исследований.

Изначально из бактерий *T. fusca* был выделен ряд целлюлаз и подробно изучено их строение, каталитические механизмы, пути регулирования каталитической активности [10, 11]. Важность изучения биохимии и биотехнологии целлюлаз, понимание их каталитических механизмов открывают ряд перспектив в производстве топлива из биомассы.

Термофильная бактерия *T. fusca* является продуцентом ферментов для гидролиза ПЭТ. Многочисленными исследованиями было показано, что штаммы *T. fusca* продуцируют гидролазы BTA-1 (TfH) и BTA-2, кутиназы TfCut1 и TfCut2 (EC 3.1.1.74), липазы Tfu_0882 и Tfu_0883 (EC 3.1.1.3). Гидролазы *T. fusca* BTA-2, Tfu_0882, TfCut1, TfCut2 и TfH были оценены на предмет их способности к разложению аморфной (некристаллической) пленки из ПЭТ. Инкубация с участием этих 5 ферментов при температуре от 55 до 65 °С в течение 48 ч приводила к потере массы пленки до 4, 5, 11, 12 и 14% соответственно. Было показано, что TfCut2 достигают 25% потери веса пленки при температурных условиях 65–80 °С в течение 48 ч и 45% после 50 ч инкубации при 65 °С [12, 13].

Гидролазы ПЭТ, являясь универсальными полиэстеразами, могут гидролизовать не только ПЭТ, но и другие полиэфиры. Кроме того, термостабильность гидролаз технологически выгодна с точки зрения их применения в сочетании с высокими температурами при переработке ПЭТ, что увеличивает скорость реакции [14]. Большинство ПЭТ-гидролаз содержат С-концевую дисульфидную связь, которая отвечает за обеспечение термической и кинетической стабильности [15].

Бактериальные ферменты, представляющие интерес для гидролиза ПЭТ, не ограничиваются ферментами, полученными из термофильной бактерии *T. fusca*; известны и другие примеры: эстераза из *Bacillus subtilis*, кутиназа из *Pseudomonas mendocina*, липаза из *Burkholderia*.

Фермент кутиназа TfCut2 был охарактеризован структурно и функционально. Были проанализированы его структурные фрагменты, ответственные за специфичность. Фермент TfCut2 имеет стандартную α/β -гидролазную складку, каталитическая триада Ser 130–His 208–Asp 176 обнаружена в щели на поверхности фермента. Термостабильность TfCut2 объясняется присутствием дисульфидного мостика между остатками

Cys 241 и Cys 259 [16].

В 2020 году [17] из морской бактерии *Pseudomonas aestusnigri* был выделен фермент, названный РЕ-Н, и идентифицирован как карбоксилэстераза (ЕС 3.1.1.1), способный разлагать сложные полиэфиры. В частности, была доказана его гидролитическая способность по отношению к ПЭТ. РЕ-Н гидролизует аморфную пленку ПЭТ при 30 °С с выделением промежуточного продукта – моно(2-гидроксиэтил)терефталевой кислоты (МГЭТ). В его структуре была найдена каноническая α/β -гидролазная складка. Этот фермент имел высокую гомологию с известными полиэстеразами.

С момента открытия ПЭТ-гидролазы из *T. fusca* в 2005 году были исследованы новые ПЭТ-гидролазы и их доступность для технологий переработки отходов ПЭТ. В настоящее время известно большое количество термофильных гидролаз, которые можно использовать для переработки отходов ПЭТ. В отличие от ферментативного гидролиза аморфного ПЭТ, механизм ферментативного гидролиза кристаллического ПЭТ еще до конца не выяснен.

Ферменты микроскопических грибов. Кутиназы грибов также проявляют активность по отношению к ПЭТ в качестве субстрата, причем представители родов *Fusarium* и *Humicola* являются наиболее важными источниками этих ферментов [18]. Например, активность кутиназы из *Fusarium solani* (FsC) и *Humicola insolens* (HiC) была оценена на образцах ПЭТ разной степени кристалличности [19]. Было показано, что кутиназы в 10 раз более активны в отношении ПЭТ с низкой кристалличностью. Водорастворимые продукты разложения состояли исключительно из терефталевой кислоты и этиленгликоля.

Микроскопические грибы *Aspergillus oryzae*, *Candida antarctica* и *Penicillium citrinum* являются продуцентами ферментов, которые также были исследованы на активность в отношении ПЭТ [9].

Открытие микроорганизмов, способных разрушать синтетические макромолекулы, дает большие надежды на прогресс в биоремедиации (комплекс методов очистки вод, грунтов и атмосферы с использованием метаболического потенциала микроорганизмов, грибов, растений, насекомых, червей и других живых систем).

История вопроса. Группа японских исследователей из Технологического института Киото и Университета Кейо предложила три стратегии, которые можно было бы использовать для биоремедиации и биологической переработки отходов ПЭТ вместе с другими возможными потенциальными приложениями, включая биоконверсию, переработку микропластика и деградацию микрогранул [20].

Первая стратегия основана на микробном консорциуме, состоящем из бактерий, простей-

ших и дрожжеподобных клеток. Они были выделены после обширного скрининга проб из окружающей среды на наличие микроорганизмов, разлагающих ПЭТ. Были проверены сточные воды, активный ил, почва и отложения с территории, окружающей завод по переработке отходов тары из ПЭТ [20]. Оказалось, что микробный консорциум как разлагает ПЭТ, так и ассимилирует продукты разложения до CO₂ и H₂O [21]. Этот консорциум живых организмов обладал прекрасной адгезионной способностью к пленке ПЭТ и вызывал значительные изменения в ее морфологии, вплоть до разрушения пленки. В составе консорциума были идентифицированы более 20 типов бактерий, для некоторых были охарактеризованы их индивидуальные роли в процессе разложения: *Bacillus megaterium* создает биопленку на поверхности пленки ПЭТ; *Rhizopus* sp. действует внутри биопленки, расщепляя сложноэфирные связи полимера ПЭТ с образованием БГЭТ (бис(2-гидроксиэтил)терефталат); *Pseudomonas* sp. разлагает БГЭТ на мономеры – терефталевую кислоту и этиленгликоль, а *Pigmentiphaga* sp. и *Mycobacterium* sp. ассимилируют их.

Из консорциума был выделен штамм бактерий *Ideonella sakaiensis* 201-F6, который составил основу второй стратегии деградации [22]. Эта бактерия оказалась ПЭТ-литической, и ее рост на питательной среде, содержащей ПЭТ, был намного выше, чем на контрольной среде без ПЭТ [20]. При выращивании бактерии в жидкой питательной среде были обнаружены продукты гидролиза ПЭТ, что доказало способность *I. sakaiensis* полностью разлагать и ассимилировать ПЭТ (использовать ПЭТ в качестве основного источника энергии и углерода) [23]. Причем скорость деградации ПЭТ бактерией была примерно в два раза выше, чем у микробного консорциума, из которого она была изолирована.

Таким образом, бактерия *Ideonella sakaiensis* 201-F6 вырабатывает два гидролитических фермента класса гидролаз, которые катализируют деградацию ПЭТ с образованием мономеров. Затем мономеры, являясь для бактерии единственным источником углерода, катаболизируются ею до простых молекул [20] (рис. 2).

Бактерии *Ideonella sakaiensis* – это вид грамотрицательных аэробных неспорообразующих бактерий палочковидной формы из группы протеобактерий. Клетки подвижны и несут полярный жгутик. Они содержат цитохромоксидазу и каталазу. Бактерии были обнаружены в ходе скрининга образцов почвы, воды и ила, взятых из мест утилизации и переработки бутылок, состоящих из ПЭТ, в городе Сакаи (Япония). Есть мнение, что этот микроорганизм эволюционировал в почвах, содержащих ПЭТ. Первые результаты исследований были опубликованы в 2016 году [6].

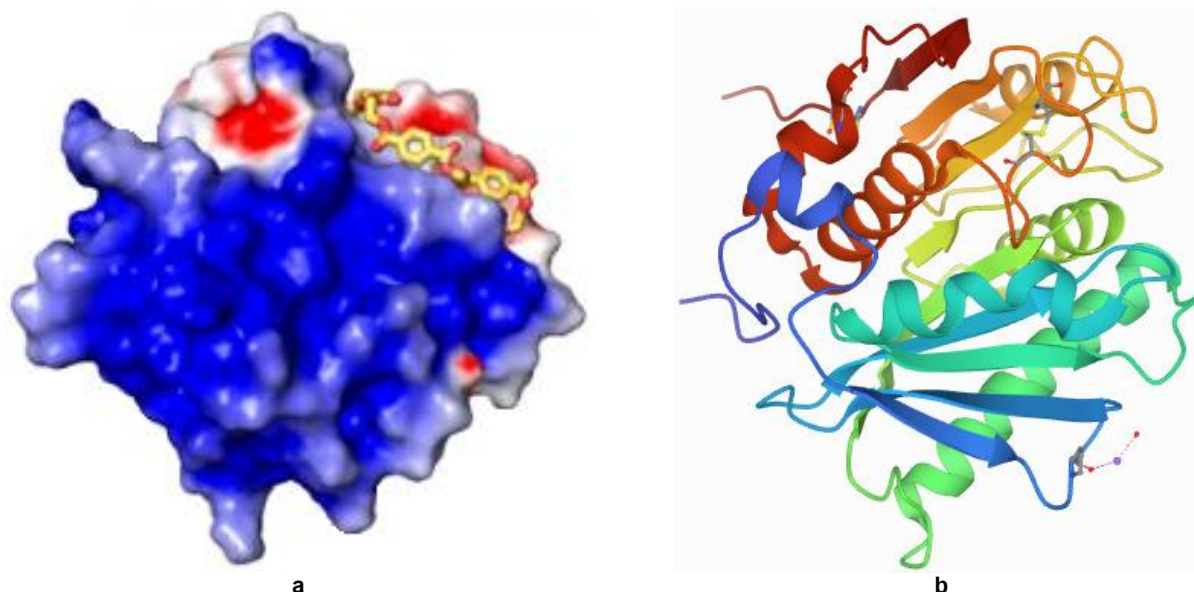


Рис. 2. Модель строения ПЭТаза (а); кристаллическая структура (b) ПЭТаза из *Ideonella sakaiensis* [27]

Fig. 2. Model of PETase structure (a); crystal structure of PETase from *Ideonella sakaiensis* (b) [27]

Последний подход основан на использовании новых ферментов, идентифицированных у бактерии *I. sakaiensis*. В ее геноме была расшифрована аминокислотная последовательность, имеющая 51% идентичности с геномом бактерии *Thermobifida fusca* (TfH), обладающей ПЭТ-гидролазной активностью [20]. Соответствующий рекомбинантный белок высвобождает продукты разложения ПЭТ в водную среду, а пленка ПЭТ демонстрирует кратерообразные ямки при воздействии фермента. Фермент бактерии *I. sakaiensis* подобно кутиназе был назван Poly(ethylene terephthalate)hydrolase, или IsPETase (ПЭТаза). Позже было показано, что его активность в отношении гидролиза ПЭТ превосходит таковую уже известных к тому времени гидролитических ферментов ПЭТ, в частности бактерии *T. fusca* (TfH), кутиназы гриба *F. solani* (FsC) [24] и LC-кутиназы (LCC) [25]. Ферменты оценивали по их активности в отношении способности разрушать пленку и кристаллический ПЭТ. Было определено, что активность IsPETase в сотни раз выше активности TfH, LCC и FsC [21]. Однако необходимо учитывать, что IsPETase хорошо работает при умеренных температурах, тогда как остальные ферменты активны при более высоких температурах, являясь термофильными. Эффективность и специфичность IsPETase в отношении гидролиза ПЭТ сделали ее многообещающим кандидатом для новых стратегий биodeградации ПЭТ.

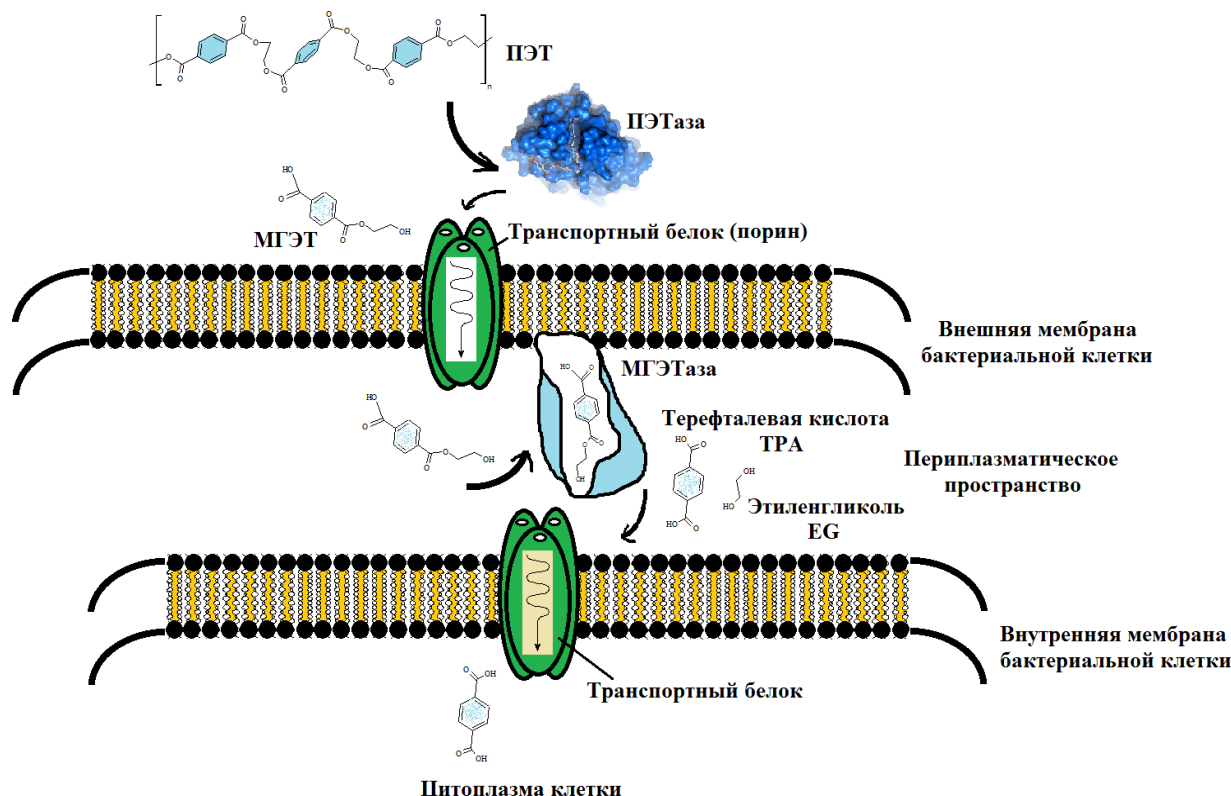
МЕХАНИЗМ БИОДЕГРАДАЦИИ ПЭТ

В ответ на накопление пластика в биосфере микробы развивают способность использовать синтетические полимеры в качестве источников углерода и энергии. Бактерия *Ideonella sakaiensis* секретирует 2-ферментную систему для разло-

жения ПЭТ на составляющие его мономеры. Клетки бактерий, выделенных с поверхности пленки из ПЭТ, прикрепляются к ней и соединяются друг с другом с помощью ворсинок. Возможно, они участвуют в транспорте ферментов, разлагающих ПЭТ. Под действием бактериальных ферментов пленка из ПЭТ разрушается и полностью разлагается через 6 недель при температуре 30 °C [21].

Предполагаемый механизм разрушения ПЭТ бактериями *Ideonella sakaiensis* таков: вначале внеклеточный термолабильный фермент ПЭТ гидролаза, или ПЭТаза (poly(ethylene terephthalate) hydrolase, PETase), деполимеризует ПЭТ до основного продукта – моно(2-гидроксиэтил)терефталевой кислоты, или МГЭТ (mono-(2-hydroxyethyl)terephthalic acid, MHET), и побочного продукта – бис(2-гидроксиэтил)терефталевой кислоты, или БГЭТ (bis-(2-hydroxyethyl) terephthalic acid, BHET). Фермент моно(2-гидроксиэтил)терефталат гидролаза (МГЭТаза), или моно(2-hydroxyethyl) terephthalate hydrolase (MHETase), расщепляет МГЭТ до этиленгликоля (ethylene glycol, EG) и терефталевой кислоты (terephthalic acid, TPA), подвергая гидролизу сложноэфирную связь МГЭТ. Это второй фермент пути разложения ПЭТ (рис. 3) [26].

Моно(2-гидроксиэтил)терефталевая кислота подвергается гидролизу МГЭТазой до этиленгликоля и терефталевой кислоты, которая доставляется в бактериальную клетку посредством специального белка-переносчика и последовательно катаболизируется до протокатеховой кислоты. После чего специальная 3,4-диоксигеназа разрушает ароматическое кольцо протокатеховой кислоты [21].



Метаболический путь гидролиза ПЭТ бактерией *I. sakaiensis* включает следующие стадии: внеклеточная ПЭТаза гидролизует ПЭТ с образованием МГЭТ в качестве основного продукта. Побочным продуктом является терефталевая кислота (ТРА). Затем продукты гидролиза ПЭТ транспортируются в периплазматическое пространство через белок внешней мембраны (порин). Фермент МГЭТаза как липопротейн, заякоренный на внешней мембране, гидролизует МГЭТ до ТРА и этиленгликоля (ЕГ). Затем молекула ТРА попадает в цитоплазму клетки через белок-переносчик ТРА, связанный с ТРА-связывающим белком. ТРА интегрируется в цикл трикарбоновых кислот через протокатеховую кислоту, а ЕГ метаболизируется через глиоксиловую кислоту

The metabolic pathway of PET hydrolysis by the bacterium *I. sakaiensis* includes the following stages: extracellular PETase hydrolyzes PET with the formation of MGET as the main product. Terephthalic acid (TPA) is the by-product. PET hydrolysis products are then transported to the periplasmic space through the outer membrane protein (porin). The enzyme MGETase, as a lipoprotein anchored to the outer membrane, hydrolyzes MGET to TPA and ethylene glycol (EG). The TPA molecule then enters the cell cytoplasm via a TPA transporter protein coupled to a TPA-binding protein. TPA is integrated into the citric acid cycle via protocatechuic acid, while EG is metabolized via glyoxylic acid

Рис. 3. Схематическое представление действия ферментов на полиэтиленгликольтерефталат

Fig. 3. Schematic representation of enzymes effect on PET

ХАРАКТЕРИСТИКА ДВУХФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ ДЕПОЛИМЕРИЗАЦИИ ПЭТ

Комиссией по ферментам (Enzyme Commission, EC) Международного биохимического союза ферментам ПЭТазе и МГЭТазе были присвоены новые номера – 3.1.1.101 и 3.1.1.102 соответственно.

ПЭТазы – это ферменты класса эстераз, которые катализируют гидролиз ПЭТ до МГЭТ [8]. Первая ПЭТаза была выделена из штамма бактерий *I. sakaiensis* 201-F6 [27] (рис. 4).

ПЭТаза (IsPETase) действует внеклеточно, сначала превращая ПЭТ в олигомеры (в основном МГЭТ), затем гидролизаты ПЭТ транспортируются белком внешней мембраны (например, порином) в периплазматическое пространство и далее гидролизуются МГЭТазой до мономеров ПЭТ (см. рис. 3).

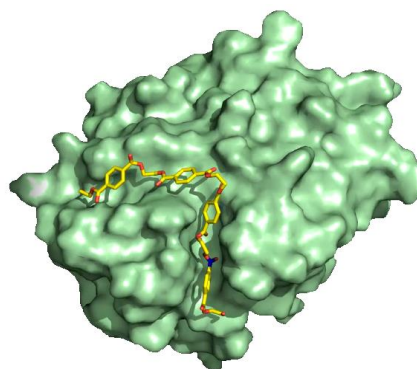


Рис. 4. Схематическое расположение участка полимерной цепи полиэтиленгликольтерефталата в активном центре фермента ПЭТазы [29]

Fig. 4. Schematic location of the PET polymer chain section in the active center of the PETase enzyme [29]

Изучение кристаллической структуры ПЭТаза методом длинноволновой рентгеновской кристаллографии позволило выявить некоторые схожие черты с ферментами кутиназой (ЕС 3.1.1.74) и липазой (ЕС 3.1.1.3). Кутиназа принадлежит к семейству эстераз класса гидролаз, которые гидролизуют сложноэфирные связи в молекулах природных полиэфиров типа кутина, образуемого на поверхности листьев растений для их защиты. Кутиназа является гликопротеином, способным высвобождаться в окружающую среду (экзофермент). Липаза – это фермент семейства эстераз, катализирующий гидролиз жиров. По сравнению с гомологичными кутиназами ПЭТаза сохраняет предковую α/β -гидролазную складку, но содержит более доступную для субстрата щель в активном центре. За счет мутации 2-х консервативных остатков аминокислот и сужения щели связывания в активном сайте кутиназы можно ожидать приобретение ферментом способности к разложению ПЭТ. Вероятно, схожий эволюционный механизм оптимизации структуры активного центра ПЭТаза происходил в среде, содержащей большое количество ПЭТ, что способствовало развитию способности разлагать полимер [28].

Как было отмечено выше, ПЭТаза унаследовала классическую α/β -гидролазную складку с центром, состоящим из восьми β -цепей и шести α -спиралей [29].

ПЭТаза имеет достаточно близкую идентичность с бактериальными кутиназами. Однако ПЭТаза, в отличие от них, обладает более широкой щелью в активном центре, которая необходима для размещения молекул ароматических полиэфиров.

В активном центре ПЭТаза сохраняется хорошо изученная каталитическая триада, характерная для липаз и кутиназ. Она включает аминокислотные остатки Ser 160, Asp 206 и His 237. Каталитические остатки располагаются на петлях, причем нуклеофильный серин занимает высоко консервативное положение, образуя структурный мотив «нуклеофильный локоть». ПЭТаза имеет две дисульфидные связи, одна из которых примыкает к активному сайту, а другая – к С-концу белка. Дисульфидные связи важны для стабилизации структуры активного центра ПЭТаза.

Фермент имеет базовую структуру, напоминающую другие ферменты, гидролизующие ПЭТ, с укладкой α/β -гидролазы и каталитической триадой нуклеофил–His–кислота. Семейство α/β -сериновых гидролаз демонстрирует каталитический механизм, основанный на нуклеофильной атаке сложноэфирной связи субстрата остатком серина [20]. Ковалентный тетраэдрический интермедиат, образованный в результате связывания серина с карбонильной группой сложного эфира, стабилизируется двумя водородными связями с аминокислотными остатками расположенной рядом «оксианионной дыры», сформиро-

ванной остатками Tyr 87 и Met 161 [30]. Складка IsPETase состоит из 9 β -цепей, которые образуют скрученную центральную конформацию β -листа, окруженную 6-ю α -спиралями, остатки Ser 160–His 237–Asp 206 создают каталитическую триаду [8, 13].

В отличие от TfCut2 и LCC, IsPETase демонстрирует заметно более широкий активный центр и имеет удлиненную щель для связывания субстрата, которая состоит из 2-х участков (I и II). Четыре остатка МГЭТ связываются в субсайтах I, IIa, IIb и IIc [31]. На участке расщепления I происходит разрыв сложноэфирной связи (рис. 5).

Фермент также имеет дополнительную дисульфидную связь в своем активном центре. IsPETase обладает следующими отличительными особенностями [20]:

- в субсайте II IsPETase пара остатков Trp 159–Ser 238 обеспечивает достаточное пространство, необходимое для связывания субстрата. Ширина кармана связывания субстрата является решающей для эффективного гидролиза кристаллического ПЭТ [32];

- IsPETase имеет вытянутую соединительную петлю из 3-х аминокислотных остатков: Ser 245, Asn 246 и Gln 247, которые создают дополнительное место для связывания ПЭТ;

- фермент IsPETase имеет 2 дисульфидные связи. Ранее изученные кутиназы обладают только одной дисульфидной связью. Эта дополнительная дисульфидная связь соединяет α - и β -петли, содержащие каталитическую триаду, а также отвечает за более высокую гибкость активного центра. Эта гибкость позволяет IsPETase приспосабливаться к жесткости субстрата ПЭТ без нарушения структурной целостности фермента. Удаление дисульфидной связи приводит к снижению активности и ослаблению каталитической триады [13, 33].

Структура МГЭТаза была определена в 2019 году [26]. Этот фермент также принадлежит к суперсемейству α/β -гидролаз. Согласно классификации в базе данных ESTHER, МГЭТаза относится к семейству танназ [34]. Предполагается, что МГЭТаза представляет собой липопроtein, который, вероятно, закреплен на внешней мембране [21]. МГЭТаза расщепляет МГЭТ до этиленгликоля и терефталевой кислоты. Фермент состоит из 2-х доменов: гидролитический домен содержит каталитические остатки Ser 225, His 528 и Asp 492; домен крышки составляет большую часть остатков сайта связывания субстрата, имеет субстратную специфичность. Крышка МГЭТаза имеет решающее значение для гидролиза МГЭТ [36] (рис. 6).

Было показано, что «бескрышечный» мутант МГЭТаза не катализировал соответствующую реакцию [35].

Сердцевинный домен фермента МГЭТаза похож на такой же домен фермента ПЭТаза, за-

крытый крышечным доменом. Моделирование каталитического маршрута предсказывает, что МГЭТаза следует каноническому 2-ступенчатому механизму серингидролазы.

На основании биохимических экспериментов было обнаружено, что МГЭТаза функционирует как экзо-ПЭТаза, гидролизует МГЭТ. Предполага-

ется, что МГЭТаза играет несколько ролей в биодegradации ПЭТ, обладая не только функцией гидролиза МГЭТ, но и гидролизует БГЭТ [37]. Доказано, что деацилирование под действием МГЭТаза является лимитирующей стадией работы фермента.

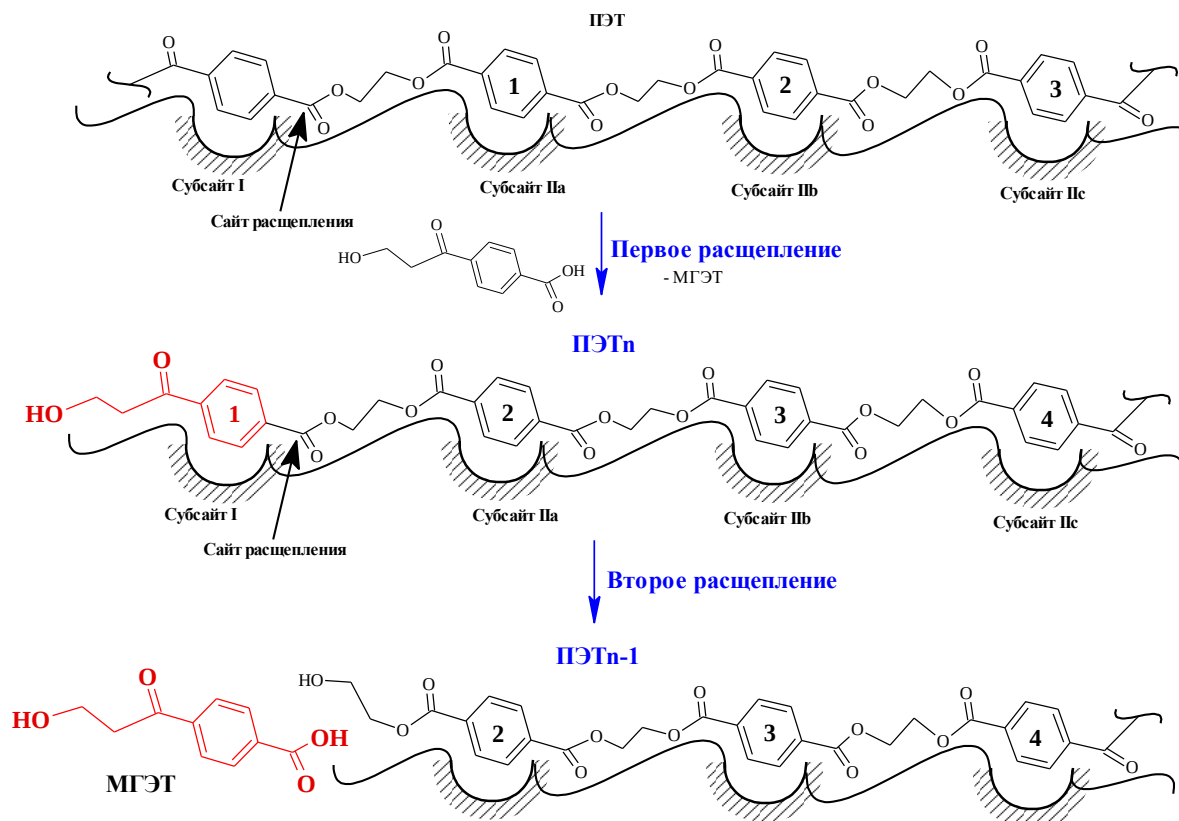


Рис. 5. Способ связывания субстрата с ПЭТазой и схема гидролиза полиэтиленгликольтерефталата [20]

Fig. 5. Method of binding the substrate with PETase and the scheme of PET hydrolysis [20]

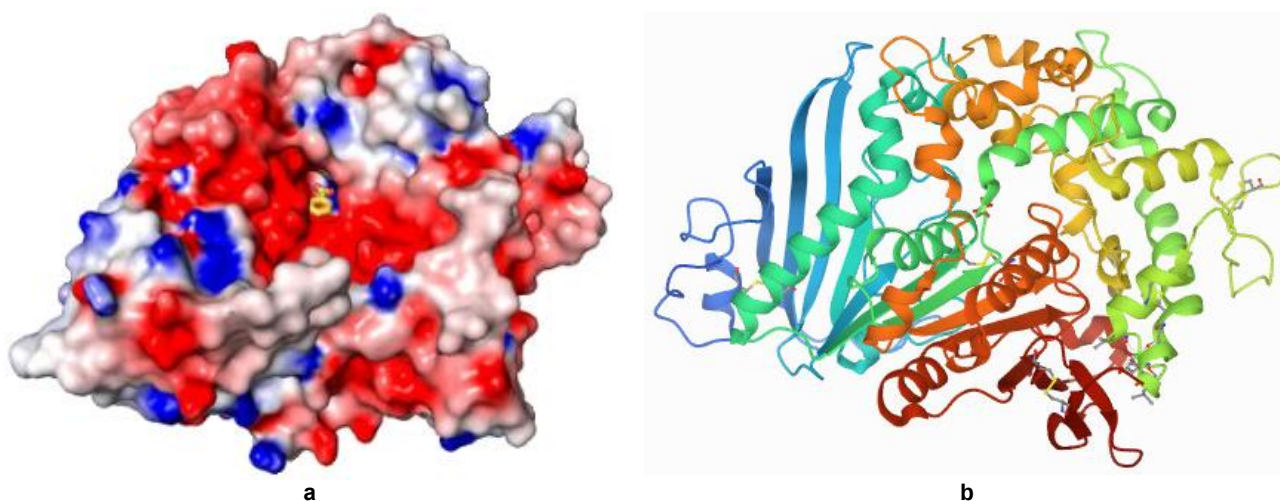


Рис. 6. Модель строения МГЭТаза (а); структура МГЭТаза из *Ideonella sakaiensis* (b) [36]

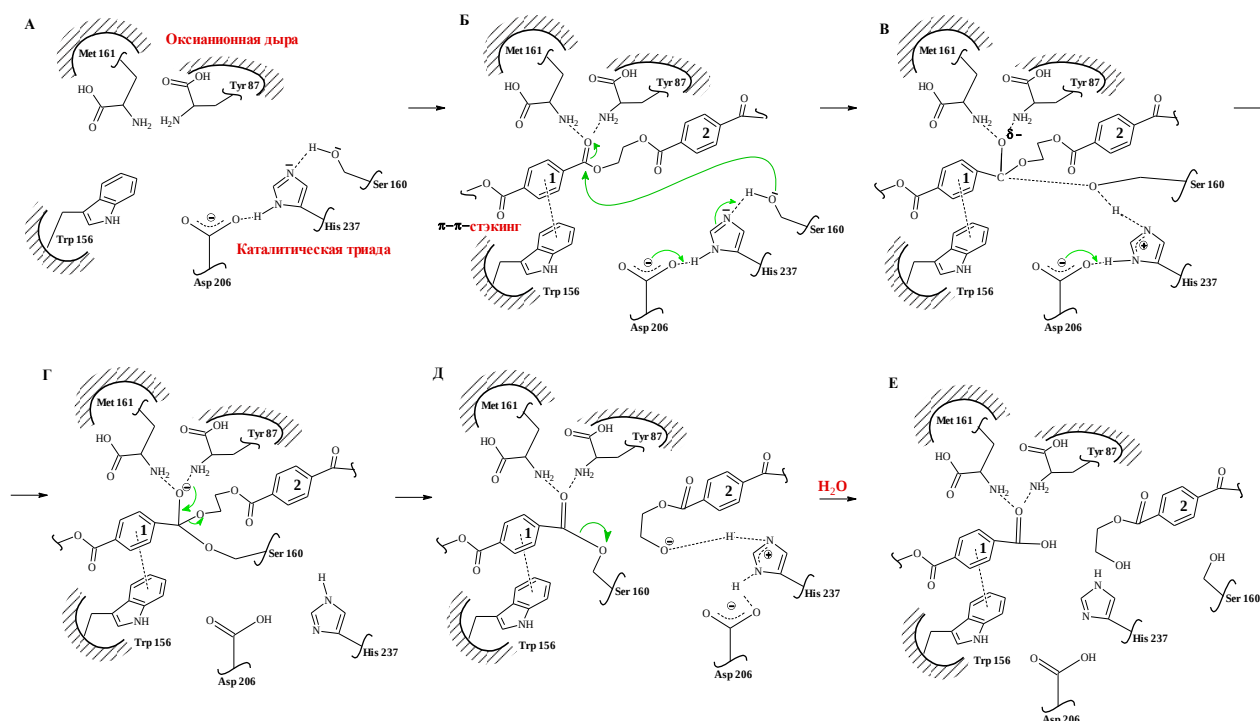
Fig. 6. Model of MHETase structure (a); structure of MHETase from *Ideonella sakaiensis* (b) [36]

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМА РАБОТЫ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ РАЗЛОЖЕНИЯ ПЭТ

После структурного и биохимического анализа фермента IsPETase был предложен подробный молекулярный механизм действия этого фермента [13, 31]. Для изучения режима связывания субстрата с ферментом в модели ковалентной стыковки для имитации работы ПЭТ была выбрана молекула, состоящая из 4-х остатков МГЭТ, названная 2-HE(MHET)₄. В каталитическом центре остаток Ser 160 каталитической триады (Ser 160–His 237–Asp 206) функционирует как ковалентный нуклеофил, действие которого направлено на карбонильный атом углерода сложноэфирной связи. Аминокислотные остатки Tyr 87 и Met 161 образуют оксианионную дыру,

которая стабилизирует тетраэдрический промежуточный продукт реакции. Это стимулирует образование в сайте связывания субстрата длинной неглубокой гидрофобной щели. 1-й фрагмент ПЭТ связан с субсайтом I, тогда как 2, 3 и 4-й фрагменты размещены в субсайте II (рис. 7).

Связывание опосредуется и стабилизируется за счет гидрофобных, полярных и π-π-взаимодействий. Молекула ПЭТ связывается с секретрируемой IsPETase в гидрофобной щели таким образом, что сложноэфирная связь располагается ближе к нуклеофильному остатку Ser 160. Это позволяет расщеплять одну сложноэфирную связь, разрывая молекулу ПЭТ и приводя к 2-м цепям ПЭТ с разными окончаниями (ТРА-конец и EG-конец), которые затем расщепляются до мономеров МГЭТ [13].



А – Апо-форма фермента: карман для связывания субстрата пуст, остаток Trp 156 демонстрирует различные конформации; Б – связывание с макромолекулой субстрата (ПЭТ). ПЭТ закрепляется в щели связывания субстрата. Карбонильная группа субстрата размещается в активном центре, сложноэфирная связь готова к гидролизу. Первое бензольное кольцо переходного состояния ПЭТ взаимодействует с остатком Trp 156 (π-π-стэкинг); В – образование тетраэдрического переходного состояния; Г – ковалентное связывание с остатком серина, образование промежуточного ацил-фермента (АЕИ); Д – образование тетраэдрического интермедиата; Е – остаток Trp 156 заставляет поворачиваться фрагмент макромолекулы с остатком терефталевой кислоты и размещаться параллельно плоскостям ароматических циклов. Выход продуктов гидролиза – терефталевой кислоты и этиленгликоля – из зоны катализа в активном центре фермента

А – Apo-form of the enzyme: the substrate-binding pocket is empty and the Trp 156 residue shows different conformations; Б – binding to the substrate macromolecule (PET). PET is fixed in the substrate binding slot. The carbonyl group of the substrate is placed in the active site and the ester bond is ready for hydrolysis. The first benzene ring of the PET macromolecule interacts with the Trp 156 residue (π-π stacking); В – formation of a tetrahedral transition state; Г – covalent binding to a serine residue, formation of an intermediate acyl-enzyme (AEI); Д – formation of a tetrahedral intermediate; Е – the residue Trp 156 causes the fragment of the macromolecule with the terephthalic acid residue to rotate and be placed parallel to the planes of aromatic cycles. The release of hydrolysis products – terephthalic acid and ethylene glycol – from the catalysis zone in the active site of the enzyme

Рис. 7. Схема механизма гидролиза полиэтиленгликольтерефталата ферментом ПЭТазой

Fig. 7. Mechanism of PET hydrolysis by the PETase enzyme

Считается, что остаток Trp 156, который находится рядом с каталитическим центром, играет важную роль в связывании субстрата ПЭТ. Высококонсервативный остаток Trp 156 демонстрирует 3 различные конформации. Фермент сначала образует неглубокую поверхностную щель, внутри которой имеет место конформационное «колебание» остатка Trp 156. Затем, главным образом посредством гидрофобных взаимодействий, субстрат ПЭТ связывается с ферментом своей карбонильной группой, расположенной в каталитическом центре, в частности атомом кислорода, обращенным к оксианионной дыре, в то время как индольное кольцо Trp 156 взаимодействует с ароматической частью (остатком терефталевой кислоты) ПЭТ. Остаток Trp 156 должен находиться в В-конформации, чтобы обеспечить Т-образное укладывание фрагмента ТРА макромолекулы ПЭТ. После чего происходит последовательное образование промежуточного ацил-фермента (Acyl-Enzyme Intermedi-

ate, AEI) и разрыв сложноэфирной связи при нуклеофильной атаке молекулой воды (гидролитическая реакция). Молекула ТРА образует широкую плоскую поверхность и склонна к сильному π-стэкингу взаимодействию с остатком Trp 156. Гидролиз ПЭТ облегчается за счет слабого взаимодействия между его ароматическими фениленовыми звеньями и близлежащими гидрофобными аминокислотными остатками фермента. Затем продукт поворачивается и высвобождается из каталитического центра после взаимодействия карбоксильной группы кислоты с Trp 156 [38].

Точный способ связывания ПЭТ и лежащий в основе механизм гидролиза ПЭТ кутиназой требует дальнейшего изучения, поскольку структура ПЭТ сильно отличается от субстратов кутиназы, таких как кутин [13, 39]. Деятельность обоих ферментов дает представление о системе 2-ферментного механизма деполимеризации ПЭТ [35]. На рис. 8 приведена схема механизма действия МГЭТаза.

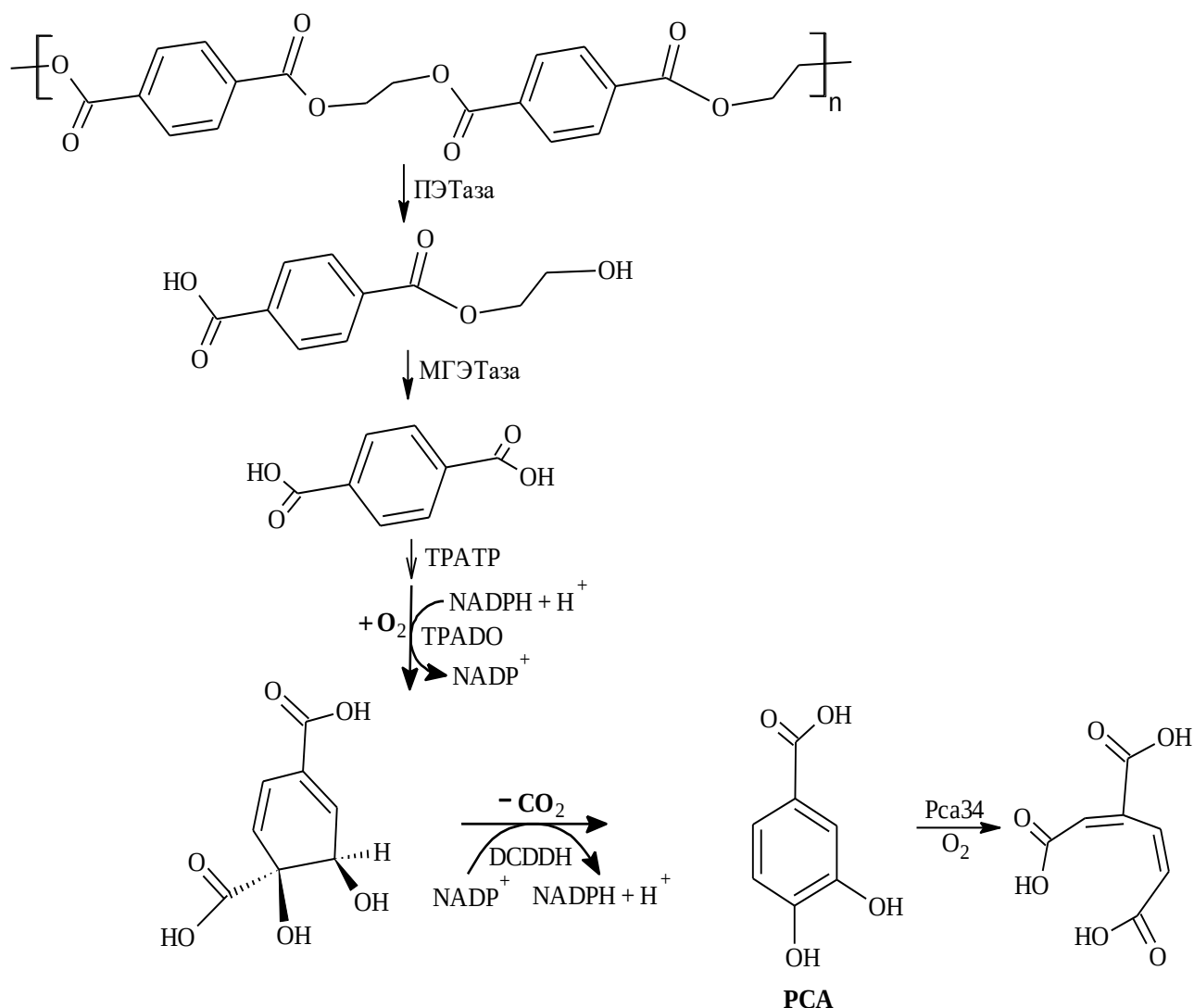


Рис. 8. Прогнозируемый ход конечного пути деградации полиэтилентерепталата [7]

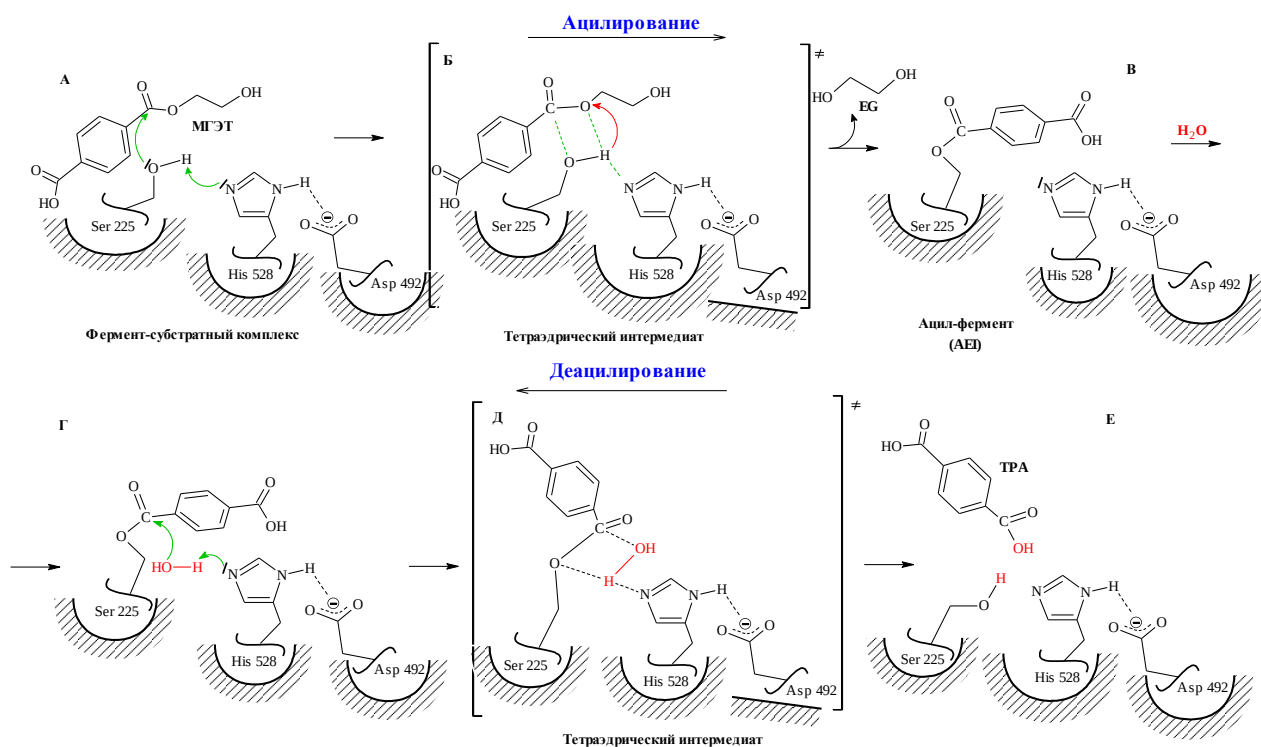
Fig. 8. Predicted path of the final path of PET degradation [7]

Серингидролазы катализируют 2-стадийную реакцию, включающую образование промежуточного ацил-фермента АЕI (стадия ацилирования), который высвобождается на 2-й стадии (стадия деацилирования). При ацилировании каталитический серин (Ser 225) депротонируется с помощью His 528, активируя его для нуклеофильной атаки на карбонильный атом углерода МГЭТ, высвобождая этиленгликоль (EG) и образуя промежуточный ацил-фермент (АЕI). Расчеты методами молекулярной динамики показали, что после отщепления от МГЭТ молекула этиленгликоля EG покидает активный сайт фермента. Молекула EG связывается водородной связью с остатком His 528 в течение ~100 пс, затем выходит из активного центра и в течение 1 нс переходит в раствор. Важным наблюдением послужило то, что стадия деацилирования протекает без участия молекул EG в активном центре фермента. Это обеспечивает больший доступ для молекул воды к заряженному остатку His 528 для дальнейшего протекания процесса деацилирования. Аминокислотный остаток His 528 играет

ту же роль, что и в ацилировании, каталитически депротонируя воду и перенося этот протон на остаток Ser 225, регенерируя его для следующего каталитического цикла (рис. 9).

Деацилирование включает нуклеофильную атаку молекулы воды на промежуточный ацил-фермент АЕI, высвобождая молекулу терефталевой кислоты (TPA). Высказано предположение, что TPA впоследствии входит в цикл трикарбоновых кислот через протокатеховую кислоту, а EG катаболизируется в этом цикле через глиоксиловую кислоту [39].

Внеклеточная ПЭТаза гидролизует ПЭТ с образованием МГЭТ в качестве основного продукта. Липопротеин МГЭТаза гидролизует МГЭТ до TPA и EG. Далее TPA переносится белком-транспортером (TPATP) и катаболизируется под действием TPA-1,2-дигидрокси-3,5-циклогексадиен-1,4-дикарбоксилатдегидрогеназы (DCDDH). Полученная протокатеховая кислота (PCA) расщепляется PCA-3,4-дигидрокси-3,5-циклогексадиен-1,4-дикарбоксилатдегидрогеназой (Pca34) по бензольному кольцу (см. рис. 8) [21].



Каталитический механизм действия МГЭТаза представлен двумя стадиями. Ацилирование, куда входят: А – реагенты, Б – переходное состояние и В – продукт ацилирования, в котором His 528 переносит протон от Ser 225 к отщепляющейся молекуле этиленгликоля (EG). В стадии деацилирования (Г–Е) остаток His 528 играет аналогичную роль и восстанавливает каталитический серин, передавая протон от молекулы воды к Ser 225, высвобождая молекулу терефталевой кислоты (TPA)

The catalytic mechanism of MGETase action is represented by two stages. Acylation, which includes: A – reagents, Б – transition state, and В – acylation product, in which His 528 transfers a proton from Ser 225 to the cleaved ethylene glycol (EG) molecule. In the deacylation step (Г–Е), His 528 plays a similar role and reduces the catalytic serine, transferring a proton from a water molecule to Ser 225, releasing a terephthalic acid (TPA) molecule

Рис. 9. Схема ферментативного механизма разложения моно(2-гидроксиэтил)терефталевой кислоты

Fig. 9. Enzymatic mechanism of MHET decomposition

ПЕРСПЕКТИВЫ МЕТОДА

Открытие бактерии *Ideonella sakaiensis* создает предпосылки для развития биоремедиации – технологии переработки отходов с использованием живых организмов. Было высказано предложение о необходимости ускорить процесс, встроив выявленные гены, участвующие в разложении пластика, в быстро размножающуюся бактерию *Escherichia coli*.

Чтобы проверить, как работают два белка вместе, ПЭТ обработали только ПЭТазой и ПЭТазой в смеси с МГЭТазой. Оказалось, что пленка разлагается быстрее при наличии обоих ферментов. Кроме того, химерный белок, состоящий из остатков обоих ферментов, работает лучше, чем каждый из них в отдельности, как при переработке ПЭТ, так и при расщеплении МГЭТ.

В настоящее время широко применяются инструменты генетической и белковой инженерии для увеличения способности микроорганизмов и их ферментов к деградации ПЭТ [6]. Например, методы рекомбинантной ДНК сделали возможным экспрессию генов деградации полимерных веществ в организм, который более подходит для получения ферментов. Это позволяет получать большое количество фермента для его дальнейшего изучения и применения. Диапазон субстратов и их активность могут быть дополнительно увеличены с использованием таких технологий, как сайт-направленный мутагенез. Использование белковой инженерии для изменения или модификации аминокислотной последовательности белка может привести к повышению активности и устойчивости препаратов к условиям реакции [14, 41].

Рост знаний в этом направлении будет способствовать дальнейшему развитию биологического способа вторичной переработки пластиковых отходов, содержащих ПЭТ.

ПРОМЫШЛЕННАЯ РЕАЛИЗАЦИЯ МЕТОДА

Открытие ферментной системы, способной к биodeградации ПЭТ, является большим толчком на пути к разработке технологии биорециклирования синтетических полимеров. В настоящее время предлагается технология утилизации отходов ПЭТ, связанная с ферментативной деполимеризацией ПЭТ, а также с регенерацией и рекуперацией продуктов гидролиза. В промышленных условиях ферментативный гидролиз полиэтилентерефталата предлагается реализовывать по следующей принципиальной схеме [41]. Расчетное количество измельченного ПЭТ смешивается с необходимым количеством воды и ферментным препаратом, полученным на основе модифицированного фермента кутиназы (leaf-branch compost cutinase, LCC), который был выделен из бактерий листовного компоста. Гидролиз должен проводиться при температуре около 70 °C в слабощелочной среде (pH = 8), которая

создается добавлением гидроксида натрия. После деполимеризации 90% ПЭТ в расчете от его исходного количества процесс останавливают путем снижения температуры в реакторе до нормальной и отделяют центрифугированием твердый остаток непрореагировавшего полимера. Жидкая фаза представляет собой смесь этиленгликоля и терефталата натрия. Ввиду малой растворимости терефталевой кислоты в воде (0,0019 г/100 г H₂O) ее можно выделить из водного раствора натриевой соли обработкой раствором серной кислоты. После этого терефталевую кислоту можно отделить центрифугированием и очистить перекристаллизацией [42]. Терефталевая кислота может быть вновь использована для получения ПЭТ. Из оставшегося водно-солевого раствора можно выделить этиленгликоль, например, диализом с ионообменными мембранами. Для этих целей подойдут катионообменные и анионообменные мембраны на основе сополимеров стирола и дивинилбензола.

Разработка промышленных биокатализаторов разложения ПЭТ открывает большие возможности для биоконверсии и «зеленых» технологий переработки отходов, содержащих ПЭТ. Существует острая необходимость в новых стратегиях повышения стабильности, каталитической активности, возможности повторного использования биокатализаторов разложения ПЭТ. К настоящему времени достигнут определенный прогресс в подходах ферментной биоинженерии, используемых для получения новых биокатализаторов ПЭТ, выяснения молекулярного механизма их действия, улучшения их каталитических характеристик [43].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Способность разлагать полимеры до исходных мономеров важна для их последующего повторного использования с целью производства новых продуктов, что является важнейшим техническим достижением, необходимым для создания замкнутого цикла материалов [44]. Полная деполимеризация ПЭТ до мономеров может быть осуществима при использовании бактерий *I. sakaiensis* с ее ферментной системой, состоящей из 2-х ферментов: МГЭТазы и ПЭТазы.

Ферментативное разрушение устойчивых природных полимеров, таких как целлюлоза и хитин, осуществляется в природе под действием комплекса ферментов, секретируемых микробами. Например, грибковые системы деполимеризации целлюлозы обычно содержат множество ферментов (например, целлюлазы), которые действуют непосредственно на твердые полимерные субстраты посредством межфазных ферментных механизмов, и дополнительные ферменты (например, β-глюкозидазы), которые превращают солюбилизированные промежуточные соединения в мономерные составляющие

(например, гидролиз целлобиозы до глюкозы). Учитывая, что естественные микробные системы эволюционировали в течение миллионов лет для оптимального разложения устойчивых полимеров, возможно, что почвенная бактерия *I. sakaiensis* развила способность использовать кристаллический полиэфирный субстрат посредством 2-ферментной системы.

Таким образом, разработка мультиферментных систем и комплексов, предназначенных для деполимеризации смешанных полимерных отходов, является весьма перспективной областью для продолжения исследований.

Несомненно, что дополнительной модификацией структур белков можно добиться повыше-

ния эффективности биоразложения ПЭТ. Это подчеркивает необходимость дальнейшего изучения взаимосвязей структура–активность в вопросе науки и технологии биоразложения синтетических полиэфиров.

Необходимо продолжать изучать возможные механизмы действия и структурные особенности ключевых ферментов, участвующих в микробном гидролизе ПЭТ, применять технологии геномной и белковой инженерии для получения ферментов, способных разрушать ПЭТ, и оценивать способность этих ферментов работать в практических условиях с целью создания промышленных технологий переработки ПЭТ по типу замкнутого цикла.

REFERENCES

1. Awaja F., Pavel D. Recycling of PET. *European Polymer Journal*. 2005;41(7):1453-1477. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2005.02.005>.
2. Sinha V. K., Patel M. R., Patel J. V. Pet Waste management by chemical recycling. *Journal of Polymers and the Environment*. 2010;18(1):8-25. <https://doi.org/10.1007/s10924-008-0106-7>.
3. Marten E., Müller R.-J., Deckwer W.-D. Studies on the enzymatic hydrolysis of polyesters. II. Aliphatic-aromatic copolyesters. *Polymer Degradation and Stability*. 2005;88(3):371-381. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.12.001>.
4. Sang T., Wallis C. J., Hill G., Britovsek J. P. G. Polyethylene terephthalate degradation under natural and accelerated weathering conditions. *European Polymer Journal*. 2020;136:109873. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109873>.
5. Ragaert K., Delva L., Van Geem K. Mechanical and chemical recycling of solid plastic waste. *Waste Management*. 2017;69:24-58. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.044>.
6. Jaiswal S., Sharma B., Shukla P. Integrated approaches in microbial degradation of plastics. *Environmental Technology & Innovation*. 2019;17:100567. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100567>.
7. Song Y., Cao C., Qiu R., Hu J., Liu M., Lu S. Uptake and adverse effects of polyethylene terephthalate microplastics fibers on terrestrial snails (*Achatina fulica*) after soil exposure. *Environmental Pollution*. 2019;250:447-455. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.066>.
8. Liu C., Shi C., Zhu S., Wei R., Yin C.-C. Structural and functional characterization of polyethylene terephthalate hydrolase from *Ideonella sakaiensis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018;508(1):289-294. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.11.148>.
9. Kawai F., Kawabata T., Oda M. Current knowledge on enzymatic PET degradation and its possible application to waste stream management and other fields. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019;103:4253-4268. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09717-y>.
10. Vuong V. T., Wilson B. D. Engineering *Thermobifida fusca* cellulases: catalytic mechanisms and improved activity. *Proteomics Research Journal*. 2010;4(1-2):21-37. <https://www.researchgate.net/publication/233752023>.
11. Gomez del Pulgar E. M., Saadeddin A. The cellulolytic system of *Thermobifida fusca*. *Critical Reviews in Microbiology*. 2013;40(3):236-247. <https://doi.org/10.3109/1040841x.2013.776512>.
12. Wei R., Zimmermann W. Biocatalysis as a green route for recycling the recalcitrant plastic polyethylene terephthalate. *Microbial Biotechnology*. 2017;10:1302-1307. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12714>.
13. Carr C. M., Clarke D. J., Dobson A. D. W. Microbial polyethylene terephthalate hydrolases: current and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:571265. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.571265>.
14. Kawai F., Kawabata T., Oda M. Current state and perspectives related to the polyethylene terephthalate hydrolases available for biorecycling. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2020;8:8894-8908. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c01638>.
15. Then J., Wei R., Oeser T., Gerdts A., Schmidt J., Barth M., et al. A disulfide bridge in the calcium binding site of a polyester hydrolase increases its thermal stability and activity against polyethylene terephthalate. *FEBS Open Bio*. 2016;6:425-432. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12053>.
16. Roth C., Wei R., Oeser T., Then J., Föllner C., Zimmermann W., et al. Structural and functional studies on a thermostable polyethylene terephthalate degrading hydrolase from *Thermobifida fusca*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014;98:7815-7823. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5672-0>.
17. Bollinger A., Thies S., Knieps-Grünhagen E., Gertzen C., Kobus S., Höppner A., et al. A novel polyester hydrolase from the marine bacterium *Pseudomonas aestusnigri* – structural and functional insights. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11(114). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00114>.

18. Danso D., Chow J., Streit W. R. Plastics: microbial degradation, environmental and biotechnological perspectives. *Applied and Environmental Microbiology*. 2019;85:01095-1019. <https://doi.org/10.1128/AEM.01095-19>.
19. Ronkvist A., Xie W., Lu W., Gross R. A. Cutinase-catalyzed hydrolysis of poly(ethylene terephthalate). *Macromolecules*. 2009;42:5128-5138. <https://doi.org/10.1021/ma9005318>.
20. Taniguchi I., Yoshida S., Hiraga K., Miyamoto K., Kimura Y., Oda K. Biodegradation of PET: current status and application aspects. *ACS Catalysis*. 2019;9(5):4089-4105. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b05171>.
21. Yoshida S., Hiraga K., Takehana T., Taniguchi I., Yamaji H., Maeda Y., et al. A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). *Science*. 2016;351(6278):1196-1199. <https://doi.org/10.1126/science.aad6359>.
22. Tanasupawat S., Takehana T., Yoshida S., Hiraga K., Oda K. *Ideonella sakaiensis* sp. nov., isolated from a microbial consortium that degrades poly(ethylene terephthalate). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016;66:2813-2818. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001058>.
23. Bornscheuer U. T. Feeding on plastic. *Science*. 2016;351(6278):1154-1155. <https://doi.org/10.1126/science.aaf2853>.
24. Silva C. M., Carneiro F., O'Neill A., Fonseca L. P., Cabral J. S., Guebitz G., et al. Cutinase – a new tool for biomodification of synthetic fibers. *Journal of Polymer Science. Part A – Polymer Chemistry*. 2005;43:2448-2450. <https://doi.org/10.1002/pola.20684>.
25. Sulaiman S., Yamato S., Kanaya E., Kim J.-J., Koga Y., Takano K., et al. Isolation of a novel cutinase homolog with polyethylene terephthalate-degrading activity from leaf-branch compost by using a metagenomic approach. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012;78:1556-1562. <https://doi.org/10.1128/aem.06725-11>.
26. Palm G. J., Reisky L., Böttcher D., Müller H., Michels E. A. P., Walczak M. C., et al. Structure of the plastic-degrading *Ideonella sakaiensis* MHETase bound to a substrate. *Nature Communications*. 2019;10(1):1717. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09326-3>.
27. Liu C. C., Shi C., Zhu S., Wei R., Yin C. C. Crystal structure of PETase from *Ideonella sakaiensis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2019;508:289-294. <https://doi.org/10.2210/pdb6ILW/pdb>.
28. Austin H. P., Allen M. D., Donohoe B. S., Rorrer N. A., Kearns F. L., Silveira R. L., et al. Characterization and engineering of a plastic-degrading aromatic polyesterase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018;115(19):E4350-E4357. <https://doi.org/10.1073/pnas.1718804115>.
29. Furukawa M., Kawakami N., Tomizawa A., Miyamoto K. Efficient degradation of poly(ethylene terephthalate) with *Thermobifida fusca* cutinase exhibiting improved catalytic activity generated using mutagenesis and additive-based approaches. *Scientific Reports*. 2019;9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52379-z>.
30. Chen S., Su L., Chen J., Wu J. Cutinase: characteristics, preparation, and application. *Biotechnology Advances*. 2013;31:1754-1767. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.09.005>.
31. Joo S., Cho I. J., Seo H., Son H. F., Sagong H.-Y., Shin T. J., et al. Structural insight into molecular mechanism of poly(ethylene terephthalate) degradation. *Nature Communications*. 2018;9(382):1-12. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-02881-1>.
32. Liu B., He L., Wang L., Li T., Li C., Liu H., et al. Protein crystallography and site-direct mutagenesis analysis of the poly (ethylene terephthalate) hydrolase petase from *Ideonella sakaiensis*. *ChemBioChem*. 2018;19:1471-1475. <https://doi.org/10.1002/cbic.201800097>.
33. Fecker T., Galaz-Davison P., Engelberger F., Narui Y., Sotomayor M., Parra L. P., et al. Active site flexibility as a hallmark for efficient PET degradation by *I. sakaiensis* PETase. *Biophysical Journal*. 2018;114:1302-1312. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2018.02.005>.
34. Renault L., Nègre V., Hotelier T., Cousin X., Marchot P., Chatonnet A. New friendly tools for users of ESTHER, the database of the α/β -hydrolase fold superfamily of proteins. *Chemico-Biological Interactions*. 2005;157-158:339-343. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.10.100>.
35. Knott B. C., Erickson E., Allen M. D., Gado J. E., Graham R., Kearns F. L., et al. Characterization and engineering of a two-enzyme system for plastics depolymerization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020;117(41):25476-25485. <https://doi.org/10.1073/pnas.2006753117>.
36. Allen M. D., Johnson C. W., Knott B. C., Beckham G. T., McGeehan J. E. Structure of MHETase from *Ideonella sakaiensis*. *Biotechnology and Biological Sciences Research Council*. 2020;117:25476-25485. <https://doi.org/10.2210/pdb6QZ4/pdb>.
37. Sagong H.-Y., Seo H., Kim T., Son H. F., Joo S., Lee S. H., et al. Decomposition of the PET film by MHETase using exo-PETase function. *ACS Catalysis*. 2020;10:4805-4812. <https://doi.org/10.1021/acscatal.9b05604>.
38. Chen C. C., Han X., Ko T. P., Liu W., Guo R. T. Structural studies reveal the molecular mechanism of PETase. *FEBS Journal*. 2018;285:3717-3723. <https://doi.org/10.1111/febs.14612>.
39. Han X., Liu W., Huang J.-W., Ma J., Zheng Y., Ko T.-P., et al. Structural insight into catalytic mechanism of PET hydrolase. *Nature Communications*. 2017;8:1-7. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02255-z>.
40. Mückschel B., Simon O., Klebensberger J., Graf N., Rosche B., Altenbuchner J., et al. Ethylene glycol metabolism by *Pseudomonas putida*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012;78:8531-8539. <https://doi.org/10.1128/aem.02062-12>.

41. Tournier V., Topham C. M., Gilles A., David B., Folgoas C., Moya-Leclair E. An engineered PET depolymerase to break down and recycle plastic bottles. *Nature*. 2020;580:216-219. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2149-4>.

42. Sheehan R. J. Terephthalic acid, dimethyl terephthalate, and isophthalic acid. In: *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. Wiley; 2011. https://doi.org/10.1002/14356007.a26_193.pub2.

43. Samak N. A., Jia Y., Sharshar M. M., Mu T.,

Yang M., Peh S., et al. Recent advances in biocatalysts engineering for polyethylene terephthalate plastic waste green recycling. *Environment International*. 2020;145:1-18. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106144>.

44. Sheldon R. A., Norton M. Green chemistry and the plastic pollution challenge: towards a circular economy. *Green Chemistry*. 2020;22(19):6310-6322. <https://doi.org/10.1039/D0GC02630A>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Д. В. Белов,

к.х.н., доцент, старший научный сотрудник,
Институт прикладной физики РАН,
603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
belov.denbel2013@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7190-0477>

С. Н. Беляев,

младший научный сотрудник,
Институт прикладной физики РАН,
603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
serg_belyaev@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2346-9103>

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 27.05.2022.
Одобрена после рецензирования 08.06.2022.
Принята к публикации 15.06.2022.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Denis V. Belov,

Cand. Sci. (Chemistry),
Institute of Applied Physics of the RAS,
46, Ul'yanov St., 603950, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
belov.denbel2013@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7190-0477>

Sergey N. Belyaev,

Junior Researcher,
Institute of Applied Physics of the RAS,
46, Ul'yanov St., 603950, Nizhny Novgorod,
Russian Federation,
serg_belyaev@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2346-9103>

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.*

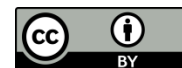
Information about the article

The article was submitted 27.05.2022.
Approved after reviewing 08.06.2022.
Accepted for publication 15.06.2022.

Обзорная статья

УДК 663.053: 664.8.035.7

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-254-267>



Антимикробные препараты природного происхождения: обзор свойств и перспективы применения

Дарья Романовна Червоткина, Анна Викторовна Борисова

Самарский государственный технический университет,
г. Самара, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Борисова Анна Викторовна, anna_borisova_63@mail.ru

Аннотация. В обзорной статье приведены данные по антимикробным добавкам, применяемым в пищевой промышленности для сохранения качества пищевых продуктов. Использование традиционных антимикробных добавок – консервантов искусственного происхождения (бензойной и сорбиновой кислот и их солей) – вызывает негативную реакцию у потребителей и приводит к постепенному вытеснению такой продукции с рынка. В то же время находят широкое применение антимикробные добавки натурального происхождения, изучению которых посвящены многие работы отечественных и зарубежных ученых. В статье рассмотрены основные представители антимикробных добавок животного, растительного и микробного происхождения. Основными представителями антимикробных препаратов животного происхождения являются ферменты лизоцим, лактопероксидаза, пептиды лактоферрин и плевроцидин, а также хитозан – производное хитина. Среди растительного мира антимикробным действием могут обладать как некоторые виды трав и специй в нативном и высушенном виде, так и отдельно извлеченные компоненты растений, проявляющие антимикробные и антиокислительные свойства. Например, к последним относятся эфирные масла, фенольные соединения, органические кислоты. Одним из перспективных и активно изучаемых классов антимикробных препаратов являются препараты микробного происхождения, в частности бактериоцины. Они представляют собой синтезируемые на рибосомах более мелкие полипептидные молекулы, проявляющие антагонистическую активность в отношении близкородственных групп бактерий. Бактериоцины (низин, натамицин, педиоцин, энтероцин, плантарицин) могут обладать бактерицидным действием, но не имеют терапевтического значения и не оказывают отрицательное воздействие на кишечную микрофлору человека, чем отличаются от антибиотиков. Подробное рассмотрение свойств указанных препаратов в статье позволило сделать вывод, что включение таких добавок как в состав продукта, так и в состав активных упаковок имеет широкие перспективы в современной биотехнологии.

Ключевые слова: активная упаковка, лизоцим, хитозан, эфирные масла, фенольные соединения, бактериоцины

Для цитирования: Червоткина Д. Р., Борисова А. В. Антимикробные препараты природного происхождения: обзор свойств и перспективы применения // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 254–267. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-254-267>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Review article

Antimicrobial substances of natural origin: a review of properties and prospects

Darya R. Chervotkina, Anna V. Borisova

Samara State Technical University,
Samara, Russian Federation

Corresponding author: Anna V. Borisova, anna_borisova_63@mail.ru

Abstract. This article reviews data on antimicrobial additives used in the food industry for preserving the quality of food products. The use of conventional antimicrobial additives, including artificial preservatives (benzoic and sorbic acids and their salts), causes a negative response among consumers. As a result, such products are gradually disappearing from the market. At the same time, antimicrobial additives of natural

origin are gaining in popularity, increasingly attracting the attention of both Russian and foreign researchers. In this article, the main antimicrobial additives of animal, vegetable and microbial origin are considered. Antimicrobial additives of animal origin are represented by lysozyme and lactoperoxidase enzymes, lactoferrin and pleurocidin peptides, as well as by chitosan, a derivative of chitin. Plant substances that exhibit antimicrobial and antioxidant properties include herbs and spices, both in native and dried form, as well as separately extracted plant components, such as essential oils, phenolic compounds and organic acids. Substances of microbial origin, in particular bacteriocins, comprise another promising class of antimicrobial additives. These forms represent smaller polypeptide molecules synthesized on ribosomes, which exhibit antagonistic activity against closely related groups of bacteria. Bacteriocins, such as nisin, natamycin, pediocin, enterocin and plantaricin, may exhibit bactericidal properties, at the same time as having little therapeutic value and no negative effect on the human intestinal microflora. This makes them different from antibiotic preparations. The conducted review confirms the prospects of using the considered additives in the composition of both food products and active packaging systems.

Keywords: active packaging, lysozyme, chitosan, essential oils, phenolic compounds, bacteriocins

For citation: Chervotkina D. R., Borisova A. V. Antimicrobial substances of natural origin: a review of properties and prospects. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):254-267. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-254-267>.

ВВЕДЕНИЕ

Пищевые добавки представляют собой вещества, которые добавляют в потребляемые продукты с целью улучшения и поддержания вкуса, текстуры и внешнего вида [1]. Люди с давних пор используют их для увеличения сроков хранения продуктов питания.

Одними из наиболее популярных пищевых добавок являются консерванты. Они предназначены для предотвращения гниения и бактериального загрязнения скоропортящихся пищевых продуктов [2]. В роли консервантов могут выступать различные химические соединения, в том числе многочисленные соли и органические кислоты (пропионаты, бензоаты, сульфиты, нитриты, хлориды, лимонная, винная кислоты) [3]. Однако все больше потребителей осознает потенциальное негативное воздействие химических консервантов на здоровье, что побуждает пищевую промышленность искать замену в качестве натуральных добавок [3, 4]. Так, пропионовая и бензойная кислоты, бензоат натрия, нитрат калия вызывают аллергические реакции; сорбиновая кислота приводит к расщеплению витамина В₁₂. Эти консерванты постепенно накапливаются в организме человека, что в дальнейшем приводит к возникновению заболевания [5].

Примерами природных соединений, обладающих консервирующими антимикробными свойствами, могут служить лизоцим, обнаруженный в яичном белке; полифенолы, полученные из растений; лактопероксидаза, содержащаяся в молоке; хитозан, извлеченный из панцирей креветок; бактериоцины, содержащиеся в молочнокислых бактериях [3] и др.

Природные антимикробные соединения продлевают срок годности пищевых продуктов, подавляя рост микробных клеток или убивая их. Использование природных антимикробных препаратов в качестве пищевых консервантов может помочь избежать чрезмерной физической обработки пи-

щевых продуктов для обеспечения микробной безопасности, которая часто изменяет органолептические свойства пищевых продуктов. Поскольку многие из этих соединений безопасны для употребления, их применение в пищевых продуктах в качестве натуральных консервантов может быть предпочтительным вариантом для многих производителей пищевых продуктов [6].

Кроме того, набирает популярность так называемая «активная» упаковка, препятствующая негативному воздействию микроорганизмов, развивающихся на поверхности пищевых продуктов. Изучению таких упаковок посвящено множество работ разных авторов [7–11].

Целью данной обзорной статьи является анализ существующих натуральных антимикробных препаратов и их влияния на продукты питания.

АНТИМИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Лизоцим. Представляет собой фермент, катализирующий гидролиз пептидогликана в клеточных стенках бактерий [12]. Его получают из куриного яичного белка, который ингибирует рост спор *Clostridium tyrobutyricum* в полутвердых сырах [13]. Молекула лизоцима играет важную роль в защите яйцеклетки и обладает ингибирующей активностью в отношении бактерий, вирусов и простейших [3].

Этот фермент находит применение в молочных продуктах, сырах, мясе, рыбе, алкогольных напитках, фруктовых соках [14]. Он более эффективен против грамположительных бактерий, так как количество пептидогликана в них составляет около 90% от сухого вещества клеточной стенки. У грамотрицательных бактерий пониженное содержание пептидогликана (5–10%), кроме того, имеется достаточное количество липополисахаридов и фосфолипидов, что создает эффективный барьер против лизоцима [3].

Лизоцим был предложен в качестве альтер-

нативы использования диоксида серы для борьбы с размножением молочнокислых бактерий в красном и белом вине. Однако несмотря на то, что лизоцим является натуральной добавкой, были зафиксированы случаи аллергии на этот фермент [14].

Хитозан. Является производным хитина – основного компонента клеточных стенок грибов. Содержится в скелете ракообразных и моллюсков [15].

Химическая модификация сульфонатной группой улучшает растворимость хитозана и придает ему избирательную антигрибковую активность в отношении *Penicillium sp.*, *Botrytis cinerea* и *Aspergillus sacchari*. Сообщается о возможности применения хитозана в качестве противомикробного консерванта для плодов черники, подверженных весьма быстрому гниению, вызванному данными бактериями [16].

Анджела Кэ Т. Чанг с соавторами [15] отмечают высокую эффективность хитозана против *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Их исследования показали, что экстрагированный хитозан проявляет даже большую активность против микроорганизмов, чем хитозан, используемый в промышленности.

Доказана эффективность пленок из хитозана для покрытия бананов. Консервант значительно замедлил потерю бананами витамина С, а также способствовал увеличению сроков хранения продукта [17].

Лактоферрин. Является одним из самых важных железосвязывающих белков молока. Проявляет антимикробную активность в отношении большого количества разнообразных микроорганизмов. Выявлено, что лактоферрин обладает бактериостатическими свойствами против грамотрицательных бактерий, требующих высокого содержания железа, таких как колиформы, а также действует против бактерий рода *Bacillus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Listeria monocytogenes* [18–20].

Антимикробный агент находит применение в мясной промышленности, был одобрен для применения в говядине в США [13]. Антимикробная активность лактоферрина объясняется тем, что он прочно связывается с железом и становится недоступным для микробного роста [3].

Лактопероксидаза. Представляет собой фермент, обладающий противомикробным действием широкого спектра против патогенных микроорганизмов. Она является частью лактопероксидазной системы и широко применяется в пищевой промышленности в качестве добавки к сливкам, мороженому, сырам, детскому питанию [3, 21].

Группой исследователей была протестирована лактопероксидазная система (ЛПС) в сочетании с альгинатными пленками. Фермент в сочетании с пленками проявлял стабильность и активность, действуя в широком диапазоне температур и pH. Были установлены эффективные

концентрации ЛПС и выявлен хороший потенциал для применения в пищевых продуктах [22].

Интересное исследование было проведено французскими учеными. Манго обрабатывали 3-мя концентрациями хитозана с содержанием или без содержания лактопероксидазы. Покрывая с включением ЛПС эффективно ингибировали размножение грибов, а также замедляли созревание манго. На цвет кожуры фрукта лактопероксидаза не повлияла [23].

Плевуроцидин. Это пептид, состоящий из 25 аминокислот и выделенный из слизистой оболочки зимней камбалы. Он активен в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий; солеустойчив, термостабилен и нечувствителен к физиологическим концентрациям кальция и магния. Эффективен против *Vibrio parahemolyticus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Penicillium expansum*. Является хорошей альтернативой химикатам, однако ингибируется кальцием и магнием, что может ограничивать его использование [13, 24].

Сяюань Ванг и др. протестировали эффективность плевуроцидина, входящего в состав нановолокна из поливинилового спирта. Плевуроцидин в составе нановолокна продемонстрировал более высокую активность ингибирования в отношении *E. coli*, чем свободный плевуроцидин. Более того, он был успешно применен в яблочном сидре, что показало возможность его использования в пищевых продуктах [25].

АНТИМИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Эфирные масла (ЭМ). Представляют собой жидкие смеси летучих соединений, получаемых из ароматических растений, чаще всего путем перегонки с водяным паром. Антиоксидантные свойства играют ключевую роль в биологической активности некоторых ЭМ [26].

ЭМ обогащены терпенами. К терпенам относятся линалоол, эвгенол, тимол, карвон, карвакрол, цитраль, лимонен и их предшественники, а также многие другие вещества, обладающие противомикробными свойствами в отношении широкого спектра микроорганизмов, включая бактерии и грибы [3].

Анжелика Клавихо-Ромеро с соавторами изучали антимикробную активность эмульсий ЭМ эвкалипта. Исследование длилось 28 дней, в течение которых было проанализировано 16 эмульсий с различными концентрациями масла. Последние 3 состава (14, 15 и 16) проявили самую высокую бактерицидную активность по отношению к *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, действуя менее чем за 1 мин [27].

Другие исследования показали, что ЭМ розмарина, используемое вместо нитритов, оказало хорошее консервирующее действие на качество колбасных изделий, при этом значительно не

изменяя органолептических свойств продукта [28], а ЭМ чайного дерева оказалось эффективным для ингибирования *L. monocytogenes* в говяжьем фарше [29].

Цзин Ху и др. в своей работе говорят о быстрой порче и легком окислении основных компонентов ЭМ под действием кислорода, света и тепла. Во избежание таких эффектов исследователями были приготовлены нанокапсулы ЭМ корицы, тимьяна и имбиря с хитозаном в качестве стенки. Полученные нанокапсулы, благодаря сочетанию ЭМ и хитозана, продемонстрировали длительную антибактериальную активность в отношении *E. coli*, *B. subtilis* и *S. aureus* [30].

ЭМ лаванды также является противомикробным средством, однако его использование в пищевых продуктах ограничено вследствие плохой растворимости в воде и высокой летучести. Китайские ученые совместили ЭМ лаванды с циклодекстрином и изучили физико-химические свойства полученного комплекса. За счет применения циклодекстрина антимикробная активность ЭМ лаванды возросла в 3 раза [31].

Группа исследователей изучала антимикробную активность 27 ЭМ, среди которых корица, шалфей, кедр, сосна, мускатный орех, кипарис, мята полевая и др., используемых против штаммов *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*. Единственным видом, не проявившим антимикробной активности, оказался кипарисовик. Против грамотрицательных штаммов наибольшую активность проявило ЭМ гвоздики, а против штаммов *S. aureus* – масло черного перца [32].

Фенольные соединения. Наряду с ЭМ являются хорошими антимикробными средствами.

Было выявлено, что большое количество фенольных соединений (фенолов, флавоноидов, антоцианидинов) содержится в спиртовых экстрактах гибискуса. И. Боррас-Линарес и др. протестировали 25 сортов гибискуса и выявили, что фенольные вещества в их составе эффективны в большей степени против грамположительных бактерий *S. aureus* и *Micrococcus luteus* и в меньшей степени против *E. coli* и *Salmonella enterica* [33].

Одной из групп полифенолов являются фенолокислоты (например, коричная). Испанские ученые изучали свойства крахмальных пленок с добавлением коричной и феруловой кислот. Вследствие введения фенольных кислот пленки стали менее растворимыми в воде и менее прочными, однако содержание 2% какой-либо кислоты в пленке эффективно ингибировало рост *E. coli* и *Listeria innocua*. Коричная кислота оказалась эффективнее феруловой, а *L. innocua* более чувствительна, чем *E. coli* [34]. Коричная и хлорогеновая кислоты проявляют антибактериальные свойства путем разрушения мембраны, воздействуя таким образом на *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Поэтому их можно применять в

производстве фруктовых соков и напитков [35].

Полифенолы чая, особенно катехины, – мощные противомикробные средства. Это наиболее важные компоненты листьев чая. Группой исследователей было изучено 13 различных чайных настоев. Лучшие результаты показали зеленый и белый чаи, наибольшая антимикробная активность зафиксирована у неферментированного чая [36].

Органические кислоты. Это природные вещества, содержащиеся в различных фруктах и ферментированных продуктах, проявляющих антимикробную активность в отношении пищевых патогенов [37]. К ним относятся уксусная, лимонная, яблочная, молочная и другие кислоты.

С. А. Ким и М. С. Ри изучали бактерицидное действие лимонной и каприловой кислот на вирулентный патоген *E. coli* O157:H7 и эндогенную микрофлору в непастеризованном свежем морковном соке. Морковный сок обрабатывали либо каприловой, либо лимонной кислотой, либо их смесью при температуре 45–50 °С. Обработка смесью кислот в течение 5 мин значительно снижала содержание патогенной микрофлоры в соке, в то время как кислоты по отдельности такого эффекта не оказывали. Более продолжительная комбинированная обработка полностью уничтожила бактерии, а также усилила цвет морковного сока, что является одним из показателей его качества [38].

Е-Вон Ин и др. исследовали антимикробную активность уксусной, лимонной и молочной кислот в отношении шигелл 4-х видов: *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* и *Shigella dysenteriae*. Молочная кислота (0,5%) ингибировала рост всех видов шигелл. Лимонная кислота слабо влияла на *S. flexneri*, но сильнее всех ингибировала рост *S. dysenteriae*. Уксусная же кислота проявила самую слабую активность в отношении бактерий, однако дала самые высокие показатели поврежденных клеток [37].

Еще одна работа была посвящена оценке противомикробного действия солей сорбиновой и бензойной кислот и их наноразмерных солюбилизаторов в отношении *S. aureus*, *Pseudomonas fluorescens* и микробиоты, выделенной из куриного филе. Были показаны хорошая антимикробная активность против куриной микробиоты, а также значительно лучшее ингибирование бактерий наносолюбилизаторами кислот, чем их нenanоразмерными эквивалентами [39]. Кроме того, сорбиновая кислота является эффективным антибактериальным агентом в сочетании с хитозаном. На их основе были приготовлены микрокапсулы, которые впоследствии использовались для получения противомикробной пленки. Такая пленка проявляет высокую активность против *S. enteritidis* и *E. coli*, а также способна увеличить срок хранения рыбного филе на 4 дня при температуре 4 °С [40].

Травы и специи. Филипп Линс в своей работе изучал антимикробную активность таких специй, как душистый и черный перец, базилик, корица, мускатный орех, орегано, паприка/чили, петрушка и тимьян в отношении *Salmonella oranienburg*. Все образцы были высушены, тщательно измельчены и обработаны паром для улучшения микробиологического статуса приправ. Выживаемость сальмонеллы в образцах сухих трав отслеживалась в течение года. Было установлено, что бактерии более восприимчивы к пряностям, чем к травам, а орегано и корица полностью ингибируют *S. oranienburg* [41].

Имеются также сведения об антибактериальном действии некоторых дикорастущих растений. Были оценены растения Мексики, Пакистана и Египта, а также установлены виды бактерий, ингибируемых ими. Так, многие растения северо-запада Мексики эффективны против *Helicobacter pylori*, вызывающей различные заболевания желудка, метанольные экстракты растений Пакистана проявляют ингибирующее действие в отношении *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus pneumoniae* и *Proteus vulgaris*, а растения Египта обладают антимикробной активностью в отношении *E. coli*, *S. enterica*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus thuringiensis*, *L. monocytogenes* и *S. aureus* [42–44].

АНТИМИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ МИКРОБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Бактериоцины. Представляют собой синтезируемые на рибосомах более мелкие полипептидные молекулы, проявляющие антагонистическую активность в отношении близкородственных групп бактерий [45]. Могут быть отнесены к антибиотикам из-за их бактерицидного действия. Однако продуцентами бактериоцинов являются бактерии, а не актиномицеты или грибы, как в случае антибиотиков. Бактериоцины – продукты первичного обмена, синтезируемые в периодической культуре на логарифмической стадии развития, тогда как антибиотики – это продукты вторичного обмена, образующиеся на стадиях конца стационарной фазы и фазы отмирания. Кроме того, бактериоцины не имеют терапевтического значения и не оказывают отрицательное воздействие на кишечную микрофлору человека. Основное же различие заключается в активности ингибирования специфических микроорганизмов. Бактериоцины ограничивают свою активность штаммами родственных видов, в то время как антибиотики обладают более широким спектром действия и не проявляют преимущественное воздействие на близкородственные штаммы [46, 47].

Низин – наиболее популярный бактериоцин, рекомендованный во всем мире в качестве пищевой добавки, имеет статус GRAS. Представляет собой антимикробный пептид, естественным образом синтезируемый *Lactococcus lactis* [3]. Проявля-

ет антимикробную активность в отношении широкого спектра грамположительных бактерий и оказывается особенно эффективным против спор. Однако неэффективен против плесени, дрожжей и грамотрицательных бактерий, поэтому его целесообразно использовать совместно с консервантами на основе сорбиновой кислоты [48].

Так, низин и сорбат калия в качестве консервантов используются в самых разных мясных продуктах. Группой ученых было исследовано влияние этих добавок на липидные качества овечьего мяса. Было подтверждено, что низин является лучшим консервантом для продления срока годности овечьего мяса, а также снижает потери его питательных веществ [49].

Низин способен контролировать рост бактерий рода *Clostridium* в сыре Чеддер. Через 4 недели хранения сыра и его обработки низином численность бактерий рода *Clostridium* заметно снижается, а бактерии рода *Pediococcus* являются доминирующими [50].

Можно эффективно использовать низин в пивоварении. Он не оказывает отрицательного воздействия на бродильную активность пивоваренных дрожжей, а также вкус, аромат, внешний вид и физическую стабильность пива. Добавление низина в процессе пивоварения позволяет снизить температуру пастеризации и таким образом экономить энергию, уменьшить отрицательное воздействие высоких температур на органолептические показатели пива [46].

Натамицин – фунгицидный противогрибковый препарат, синтезируемый бактериями *Streptomyces natalensis* и *Streptomyces chatanoogen* путем ферментации на углеводных средах. Его концентрируют, кристаллизуют, высушивают и смешивают с лактозой в соотношении 1:1. Консервант активен в отношении большинства патогенных дрожжеподобных грибов (особенно *Candida albicans*), дрожжей (*Torulopsis* и *Rhodotorula*) и других патогенных грибов (*Aspergillus*, *Penicillium*) [48].

Натамицин широко используется в разных странах в качестве пищевой добавки для предотвращения роста плесени и дрожжей на сырах и колбасах. Низкая растворимость позволяет ему достаточно долго находиться на поверхности пищевого продукта. Он также является эффективным антимикробным агентом в составе пленок. Так, биополимеры, содержащие натамицин, ингибируют рост *A. niger* в сыре Кашар, а потому могут использоваться для предотвращения и контроля плесени на молочных продуктах [51].

Известно, что дрожжи негативно влияют на фруктовые соки. В настоящее время является актуальным поиск натуральных консервантов в этой отрасли для увеличения сроков годности готовых продуктов. Не так давно изучалась антидрожжевая активность натамицина в яблочном соке. Было выявлено, что препарат оказывает

заметное воздействие на дрожжи *Zygosaccharomyces bailii*, а также повышает антиоксидантную активность яблочного сока при хранении [52].

Эффективным является сочетание натамицина и низина для увеличения срока годности безалкогольных напитков. Группой ученых было изучено их влияние на сохраняемость напитков со вкусом лимона. Исследования показали, что такая комбинация консервантов может снизить образование бензола, выделяемого бензоатами и сорбатами, и ингибирует рост культур *Lactobacillus plantarum* и *Z. bailii* в напитках. Натамицин и низин не изменяют органолептических и микробиологических свойств готовой продукции и служат альтернативой использования бензойной и сорбиновой кислот [53].

Педиоцин – белковый антимикробный препарат, продуцируемый бактериями рода *Pediococcus*. Известен в первую очередь своей способностью подавлять рост бактерий рода *Listeria*, в том числе патогенных штаммов, вызывающих тяжелые пищевые инфекции [54].

М. Серузо и др. изучали антилистерическую активность термофилина 110, также относящегося к бактериоцинам, и педиоцина в ферментированном молоке. Исследования показали, что высокие концентрации термофилина подавляют рост *L. monocytogenes* на срок до 22 ч, а комплексное применение термофилина и педиоцина значительно снижает количество клеток бактерий. Таким образом, была продемонстрирована перспективность использования данных препаратов для предотвращения заражения молочных продуктов листериями [55].

Педиоцин – эффективный агент в составе антимикробных упаковок. Еще в 2009 году было установлено, что пленки с 25 и 50%-м содержанием педиоцина эффективно ингибируют рост *L. innocua* и оказывают небольшое воздействие на *Salmonella sp.* на ломтиках ветчины [56].

Все большим спросом у потребителей пользуется технология су-вид (варка продуктов в вакууме при низких температурах). Однако существуют определенные микробиологические риски, связанные с этой технологией. Исследователями одного из испанских университетов была изучена проблема загрязнения грибов и салата из моллюсков, приготовленных методом су-вид, спорами бактерий рода *Bacillus*. Ее решением стало комплексное применение бактериоцинов – педиоцина и низина. Педиоцин был более эффективен против *B. licheniformis*, а низин – против *B. subtilis*. Вегетативные клетки бактерий не были обнаружены в еде, обработанной бактериоцинами, даже спустя 90 дней [57].

В то время как низин можно применять в пивоварении, педиоцин можно использовать в виноделии. Группой исследователей были определены ингибирующие концентрации для педиоцина в отношении молочнокислых бактерий. Дан-

ный бактериоцин эффективен как в сочетании с диоксидом серы и этанолом, так и без них [58].

Энтероцин – бактериоцин, синтезируемый бактериями рода *Enterococcus*. Являясь продуктом молочнокислых бактерий, может быть интересен в качестве защитных культур для производства сыра, поскольку проявляет ингибирующую активность в отношении *Listeria* и *Clostridium*. А применение энтероцина в сочетании с низином и педиоцином оказывает большой антибактериальный эффект на *Enterococcus faecium* [59].

Энтероцин может использоваться для обеззараживания поверхности фруктов и ягод, а также в качестве консерванта в овощных и фруктовых соках. Обработка энтероцином значительно, а иногда и полностью ингибирует рост *L. Monocytogenes* в клубнике, малине, ежевике и землянике и уменьшает количество жизнеспособных организмов в дыне, арбузе, груше и киви. Однако антибактериальный эффект во многом зависит от температуры хранения. В овощных соках из капусты, салата, сельдерея, фасоли энтероцин очень стабилен в течение первых суток. В свежеприготовленных соках из апельсина, яблока, грейпфрута, груши, ананаса и киви бактериоцин проявляет активность до 30 дней, а в магазинных соках – до 120 дней. Кроме того, энтероцин оказывает большое влияние на *Alicyclobacillus acidoterrestris* – бактерию, вызывающую порчу фруктовых соков [60–62].

Плантарицин – антимикробный препарат, продуцируемый *Lactobacillus plantarum*. Он ингибирует рост многих грамположительных и грамотрицательных бактерий, в частности *Enterococcus mundtii*, поэтому может быть эффективным компонентом закваски для кефира [63].

В Пекине были проведены исследования ингибирующей активности плантарицина в отношении *L. monocytogenes* в вареной ветчине. Было выявлено, что бактериоцин в сочетании с тепловой обработкой заметно уменьшает число жизнеспособных бактерий, а комплексное использование плантарицина, тепловой обработки и нитрита натрия оказывает наибольший антибактериальный эффект на продукт [64].

Реутерин – β-гидроксипропионовый альдегид. Представляет собой молекулу небольших размеров, обладающую уникальными противомикробными свойствами, провоцирующую окислительный стресс в определенных микроорганизмах. Реутерин способен ингибировать рост *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *H. pylori*, а также ряда грибов [65].

В сочетании с глицерином реутерин является эффективным антимикробным агентом в сырах. Так, группа исследователей оценивала ингибирующую активность реутерина против *L. Monocytogenes* и *E. coli O157:H7* в полутвердом сыре. Количество колиформов в сыре уменьшилось в

первый же день использования консерванта [66]. Также была установлена концентрация реутерина, необходимая для контроля роста патогенных микроорганизмов, потенциально присутствующих во время производства и созревания сыра, при которой не образовывались соединения, изменяющие цвет продукта. Первоначально сыр за счет присутствия глицерина приобретал розоватый оттенок [67]. Применение *Lactobacillus reuteri*, продуцирующих реутерин, не оказывает заметного влияния на органолептические характеристики сыра. Общий запах и аромат сыра остаются прежними, но тем не менее значительно снижаются показатели запаха. Сырный аромат преобладает над молочным, йогуртовым [68].

Реутерин может использоваться для повышения безопасности и продления срока годности слабоконсервированных морепродуктов, например, копченого лосося, так как при умеренной или высокой температуре он снижает рост *L. Monocytogenes* [69]. Кроме того, он оказывает большое воздействие на дрожжи и плесень, в связи с чем находит применение в биоконсервации йогурта [70].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, представленная в обзорной статье информация позволяет сделать вывод, что в настоящее время изучено немало натуральных антимикробных препаратов, многие из которых могут составить конкуренцию химическим консервантам. Такие добавки практически не оказывают вредного воздействия на здоровье человека. Часть из них уже находит применение в пищевой промышленности, другие пока лишь готовятся к внедрению в некоторые производства.

Интерес людей к использованию натуральных консервантов неустанно растет. Проводятся новые исследования, изучаются новые и совершенствуются старые методики внесения антимикробных препаратов в продукты питания. Применяются новейшие технологии, такие как нанокапсулирование, для обеспечения более качественного ингибирующего эффекта природных добавок. Поэтому не исключено, что в ближайшем будущем натуральные антимикробные препараты смогут эффективно заменить химические.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Юркова А. А. Пищевые добавки в составе популярных продуктов // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. 2021. Т. 56. N 5-1. С. 91–94. <https://doi.org/10.24412/2500-1000-2021-5-1-91-94>.
2. Esimbekova E. N., Asanova A. A., Deeva A. A., Kratasyuk V. A. Inhibition effect of food preservatives on endoproteinases // Food Chemistry. 2017. Vol. 235. P. 294–297. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.05.059>.
3. Bensid A., El Abed N., Houicher A., Regenstein J. M., Özogul F. Antioxidant and antimicrobial preservatives: Properties, mechanism of action and applications in food – a review // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020. Vol. 62, no. 11. P. 2985–3001. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1862046>.
4. Mei J., Ma X., Xie J. Review on natural preservatives for extending fish shelf life // Foods. 2019. Vol. 8, no. 10. P. 490. <https://doi.org/10.3390/FOODS8100490>.
5. Аскаров И. Р., Холматова М. М. Химический состав консервантов в рыбных консервах и их влияние на организм // Universum: химия и биология. 2021. N 12. С. 58–60. <https://doi.org/10.32743/UniChem.2021.90.12.12584>.
6. Juneja V. K., Dwivedi H. P., Yan X. Novel natural food antimicrobials // Annual Review of Food Science and Technology. 2012. Vol. 3, no. 1. P. 381–403. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-FOOD-022811-101241>.
7. Кирш И. А., Фролова Ю. В., Мяленко Д. М. Упаковочные материалы для пищевой продукции с антимикробным компонентом природного происхождения // Пищевая промышленность. 2018. N 1. С. 24–25.
8. Тверитникова И. С., Кирш И. А., Банникова О. А., Безнаева О. В., Романова В. А., Кондратова Т. А. [и др.]. Исследование многослойных полимерных пленок, модифицированных антимикробным компонентом, предназначенных для упаковки молочных продуктов // Пищевая промышленность. 2020. N 12. С. 66–69. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10146>.
9. Кузьмич В. В., Козлов Н. Г., Карпунин И. И., Балабанова О. В. Экспериментальные исследования по определению состава полимерных упаковочных материалов с биоцидными добавками // Наука и техника. 2019. Т. 18. N 5. С. 409–415. <https://doi.org/10.21122/2227-1031-2019-18-5-409-415>.
10. Ногина А. А., Тихонов С. Л., Тихонова Л. В. Разработка и исследование влияния биоразлагаемых пленок на показатели свежести мясных полуфабрикатов // Техника и технология пищевых производств. 2018. Т. 49. N 4. С. 73–78. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-73-78>.
11. Родионов Г. В., Олесюк А. П., Колтинова Е. Я., Егоров В. В., Малофеева Н. А., Ощепков М. С. Полиэтиленовая упаковка с микрочастицами серебра и цинка, и ее влияние на качество молока // Известия вузов. Химия и химическая технология. 2021. Т. 64. N 3. С. 82–91. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20216403.6295>.
12. Branen J. K., Davidson P. M. Enhancement of nisin, lysozyme, and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lactoferrin // International Journal of Food Microbiology. 2004. Vol. 90, no. 1. P. 63–74. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.001>.

10.1016/S0168-1605(03)00172-7.

13. Tiwari B. K., Valdramidis V. P., O'Donnell C. P., Muthukumarappan K., Bourk P., Cullen P. J. Application of natural antimicrobials for food preservation // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009. Vol. 57, no. 14. P. 5987–6000. <https://doi.org/10.1021/JF900668N>.

14. Liburdi K., Benucci I., Esti M. Lysozyme in wine: an overview of current and future applications // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014. Vol. 13, no. 5. P. 1062–1073. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12102>.

15. Chang A. K. T., Frias R. R., Alvarez L. V., Bigol U. G., Guzman J. P. M. D. Comparative antibacterial activity of commercial chitosan and chitosan extracted from *Auricularia sp.* // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019. Vol. 17. P. 189–195. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2018.11.016>.

16. Liu Y., Sun Z., Xiu L., Huang J., Zhou F. Selective antifungal activity of chitosan and sulfonated chitosan against postharvest fungus isolated from blueberry // *Journal of Food Biochemistry*. 2018. Vol. 42, no. 6. <https://doi.org/10.1111/JFBC.12658>.

17. Kritchenkov A. S., Egorov A. R., Volkova O. V., Zabodalova L. A., Suchkova E. P., Yagafarov N. Z., et al. Active antibacterial food coatings based on blends of succinyl chitosan and triazole betaine chitosan derivatives // *Food Packaging and Shelf Life*. 2020. Vol. 25. P. 100534. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2020.100534>.

18. Niaz B., Saeed F., Ahmed A., Imran M., Maan A. A., Khan M. K. I., et al. Lactoferrin (LF): a natural antimicrobial protein // *International Journal of Food Properties*. 2019. Vol. 22, no. 1. P. 1626–1641. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1666137>.

19. Conesa C., Rota M. C., Pérez M.-D., Calvo M., Sánchez L. Antimicrobial activity of recombinant human lactoferrin from *Aspergillus awamori*, human milk lactoferrin and their hydrolysates // *European Food Research and Technology*. 2008. Vol. 228, no. 2. P. 205–211. <https://doi.org/10.1007/S00217-008-0924-9>.

20. Zhang Y., Lu C., Zhang J. Lactoferrin and its detection methods: a review // *Nutrients*. 2021. Vol. 13, no. 8. P. 2492. <https://doi.org/10.3390/NU13082492>.

21. Boroujeni M. B., Nayeri H. Stabilization of bovine lactoperoxidase in the presence of ectoine // *Food Chemistry*. 2018. Vol. 265. P. 208–215. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.05.067>.

22. Yener F. Y. G., Korel F., Yemenicioğlu A. Antimicrobial activity of lactoperoxidase system incorporated into cross-linked alginate films // *Journal of Food Science*. 2009. Vol. 74, no. 2. P. 73–79. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2009.01057.X>.

23. Cissé M., Polidori J., Montet D., Loiseau G., Ducamp-Collin M. N. Preservation of mango quality by using functional chitosan-lactoperoxidase systems coatings // *Postharvest Biology and Technology*. 2015. Vol. 101. P. 10–14. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2014.11.003>.

24. Burrowes O. J., Hadjicharalambous C., Di-

amond G., Lee T.-C. Evaluation of antimicrobial spectrum and cytotoxic activity of pleurocidin for food applications // *Journal of Food Science*. 2004. Vol. 69, no. 3. P. 66–71. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2004.TB13373.X>.

25. Wang X., Yue T., Lee T. Development of Pleurocidin-poly(vinyl alcohol) electrospun antimicrobial nanofibers to retain antimicrobial activity in food system application // *Food Control*. 2015. Vol. 54. P. 150–157. <https://doi.org/10.1016/J.FOOD-CONT.2015.02.001>.

26. Amorati R., Foti M. C., Valgimigli L. Antioxidant activity of essential oils // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013. Vol. 61, no. 46. P. 10835–10847. <https://doi.org/10.1021/JF403496K>.

27. Clavijo-Romero A., Quintanilla-Carvajal M. X., Ruiz Y. Stability and antimicrobial activity of eucalyptus essential oil emulsions // *Food Science and Technology International*. 2019. Vol. 25, no. 1. P. 24–37. <https://doi.org/10.1177/1082013218794841>.

28. Abbasi M. A., Ghazanfari S., Sharifi S. D., Ahmadi Gavligi H. Effect of rosemary essential oil as nitrite substitute on quality of sausage produced using chicken fed by thymus essential oil and rapeseed oil // *Journal of Food Science and Technology*. 2020. Vol. 6, no. 1. P. 54–68. <https://doi.org/10.1007/S13197-020-04786-8>.

29. De Sá Silva C., de Figueiredo H. M., Stamford T. L. M., da Silva L. H. M. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil in ground beef // *International Journal of Food Microbiology*. 2019. Vol. 293. P. 79–86. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2019.01.004>.

30. Hu J., Zhang Y., Xiao Z., Wang X. Preparation and properties of cinnamon-thyme-ginger composite essential oil nanocapsules // *Industrial Crops and Products*. 2018. Vol. 122. P. 85–92. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2018.05.058>.

31. Yuan C., Wang Y., Liu Y., Cui B. Physicochemical characterization and antibacterial activity assessment of lavender essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin // *Industrial Crops and Products*. 2019. Vol. 130. P. 104–110. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2018.12.067>.

32. Andrade B. F. M. T., Barbosa L. N., da Silva Probst I., Fernandes Júnior A. Antimicrobial activity of essential oils // *Journal of Essential Oil Research*. 2014. Vol. 26, no. 1. P. 34–40. <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.860409>.

33. Borrás-Linares I., Fernández-Arroyo S., Arráez-Roman D., Palmeros-Suárez P. A., Del Val-Díaz R., Andrade-González I., et al. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) // *Industrial Crops and Products*. 2015. Vol. 69. P. 385–394. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.02.053>.

34. Ordoñez R., Atarés L., Chiralt A. Physicochemical and antimicrobial properties of cassava starch films with ferulic or cinnamic acid // *LWT* –

- Food Science and Technology. 2021. Vol. 144. P. 111242. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111242>.
35. Cai R., Miao M., Yue T., Zhang Y., Cui L., Wang Z., et al. Antibacterial activity and mechanism of cinnamic acid and chlorogenic acid against *Alicyclobacillus acidoterrestris* vegetative cells in apple juice // International Journal of Food Science and Technology. 2019. Vol. 54. P. 1697–1705. <https://doi.org/10.1111/IJFS.14051>.
36. Almajano M. P., Carbó R., Jiménez J. A. L., Gordon M. H. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions // Food Chemistry. 2008. Vol. 108, no. 1. P. 55–63. <https://doi.org/10.1016/J.FOOD-CHEM.2007.10.040>.
37. In Y. W., Kim J. J., Kim H. J., Oh S. W. Antimicrobial activities of acetic acid, citric acid and lactic acid against shigella species // Journal of Food Safety. 2013. Vol. 33, no. 1. P. 79–85. <https://doi.org/10.1111/JFS.12025>.
38. Kim S. A., Rhee M. S. Synergistic antimicrobial activity of caprylic acid in combination with citric acid against both *Escherichia coli* O157:H7 and indigenous microflora in carrot juice // Food Microbiology. 2015. Vol. 49. P. 166–172. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2015.02.009>.
39. Sullivan D. J., Azlin-Hasim S., Cruz-Romero M., Cummins E., Kerry J. P., Morris M. A. Antimicrobial effect of benzoic and sorbic acid salts and nanosolubilates against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* and chicken microbiota biofilms // Food Control. 2020. Vol. 107. P. 106786. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2019.106786>.
40. Hu S., Yu J., Wang Z., Li L., Du Y., Wang L., et al. Effects of sorbic acid-chitosan microcapsules as antimicrobial agent on the properties of ethylene vinyl alcohol copolymer film for food packaging // Journal of Food Science. 2017. Vol. 82, no. 6. P. 1451–1460. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13731>.
41. Lins P. Antimicrobial activities of spices and herbs against *Salmonella* Oranienburg // Food Control. 2018. Vol. 83. P. 123–130. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2017.05.041>.
42. Robles-Zepeda R. E., Velázquez-Contreras C. A., Garibay-Escobar A., Gálvez-Ruiz J. C., Ruiz-Bustos E. Antimicrobial activity of northwestern mexican plants against *Helicobacter pylori* // Journal of Medicinal Food. 2011. Vol. 14, no. 10. P. 1280–1283. <https://doi.org/10.1089/JMF.2010.0263>.
43. Khan H., Jan S. A., Javed M., Shaheen R., Khan Z., Ahmad A., et al. Nutritional composition, antioxidant and antimicrobial activities of selected wild edible plants // Journal of Food Biochemistry. 2016. Vol. 40, no. 1. P. 61–70. <https://doi.org/10.1111/JFBC.12189>.
44. Rashed K., Ivanisova E., Kacaniova M. Evaluation of antioxidant, antimicrobial activities and phytochemical content of some Egyptian plants // International Food Research Journal. 2018. Vol. 25, no. 6. P. 2292–2300.
45. Johnson E. M., Jung D. Y.-G., Jin D. Y.-Y., Jayabalan D. R., Yang D. S. H., Suh J. W. Bacteriocins as food preservatives: challenges and emerging horizons // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2018. Vol. 58, no. 16. P. 2743–2767. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1340870>.
46. Волкова Т. Н., Борисенко О. А., Селина И. В., Созинова М. С. Применение низина в пивоваренной промышленности // Пиво и напитки. 2019. N 4. С. 20–25. <https://doi.org/10.24411/2072-9650-2019-10014>.
47. Ramith R., Prithvi S. S., Devi A. T., Ashwini P., Kumuda J., Lochana M. S., et al. Nagendra. Bacteriocins and their applications in food preservation (retraction of 10.1080/10408398.2015.1020918, 2015) // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020. Vol. 60, no. 18. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1020918>.
48. Кудряшов В. Л., Алексеев В. В., Фурсова Н. А. Низин и натамицин – эффективные пищевые микробиологические консерванты // Пищевая индустрия. 2020. N 2. С. 67–71. <https://doi.org/10.24411/9999-008A-2020-10007>.
49. Jia W., Wu X., Li R., Liu S., Shi L. Effect of nisin and potassium sorbate additions on lipids and nutritional quality of Tan sheep meat // Food Chemistry. 2021. Vol. 365. P. 130535. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130535>.
50. Hassan H., St-Gelais D., Goma A., Fliss I. Impact of nisin and nisin-producing *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* on *Clostridium tyrobutyricum* and bacterial Ecosystem of cheese matrices // Foods. 2021. Vol. 10, no. 4. P. 898. <https://doi.org/10.3390/FOODS10040898>.
51. Ture H., Eroglu E., Ozen B., Soyer F. Effect of biopolymers containing natamycin against *Aspergillus niger* and *Penicillium roquefortii* on fresh kashar cheese // International Journal of Food Science and Technology. 2011. Vol. 46, no. 1. P. 154–160. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2010.02465.X>.
52. Karaman K., Sagdic O., Yilmaz M. T. Evaluation of natamycin performance to control the growth of *Zygosaccharomyces bailii* and *Z. rouxii* in apple juice during storage // International Journal of Food Microbiology. 2020. Vol. 332. P. 108771. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2020.108771>.
53. Garavaglia J., Nunes Pinto L. M., de Souza D., de Castilhos J., Rossi R. C., Machado I. C. K., et al. Natamycin and nisin to improve shelf life and minimize benzene generation in lemon soft drinks // Food Science and Technology. 2019. Vol. 39, no. 2. P. 274–279. <https://doi.org/10.1590/FST.13217>.
54. Баландин С. В., Шереметьева Э. В., Овчинникова Т. В. Педиоцин-подобные антимикробные пептиды бактерий // Биохимия. 2019. Т. 84. N 5. С. 616–633. <https://doi.org/10.1134/S0320972519050026>.
55. Ceruso M., Liu Y., Gunther N. W., Pepe T., Anastasio A., Qi P. X., et al. Anti-listerial activity of thermophilin 110 and pediocin in fermented milk and whey // Food Control. 2021. Vol. 125. P. 107941.

<https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.107941>.

56. Santiago-Silva P., Soares N. F. F., Nóbrega J. E., Junior M. A. W., Barbosa K. B. F., Volp A. C. P., et al. Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA® 2351) on preservation of sliced ham // *Food Control*. 2009. Vol. 20, no. 1. P. 85–89. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2008.02.006>.

57. Cabo M. L., Torres B., Herrera J. J. R., Bernárdez M., Pastoriza L. Application of nisin and pediocin against resistance and germination of bacillus spores in sous vide products // *Journal of Food Protection*. 2009. Vol. 72, no. 3. P. 515–523. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.3.515>.

58. Díez L., Rojo-Bezares B., Zarazaga M., Rodríguez J. M., Torres C., Ruiz-Larrea F. Antimicrobial activity of pediocin PA-1 against *Oenococcus oeni* and other wine bacteria // *Food Microbiology*. 2012. Vol. 31, no. 2. P. 167–172. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2012.03.006>.

59. Kaur G., Singh T. P., Malik R. K., Bhardwaj A., De S. Antibacterial efficacy of nisin, pediocin 34 and enterocin FH99 against *L. monocytogenes*, *E. faecium* and *E. faecalis* and bacteriocin cross resistance and antibiotic susceptibility of their bacteriocin resistant variants // *Journal of Food Science and Technology*. 2014. Vol. 51, no. 2. P. 233–244. <https://doi.org/10.1007/S13197-011-0500-3>.

60. Molinos A. C., Abriouel H., Ben Omar N., Lucas R., Valdivia E., Gálvez A. Inactivation of *Listeria monocytogenes* in raw fruits by Enterocin AS-48 // *Journal of Food Protection*. 2008. Vol. 71, no. 12. P. 2460–2467. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.12.2460>.

61. Grande M. J., Lucas R., Valdivia E., Abriouel H., Maqueda M., Ben Omar N., et al. Stability of Enterocin AS-48 in fruit and vegetable juices // *Journal of Food Protection*. 2005. Vol. 68, no. 10. P. 2085–2094. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.10.2085>.

62. Grande M. J., Lucas R., Abriouel H., Ben Omar N., Maqueda M., Martínez-Bueno M., et al. Control of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit juices by enterocin AS-48 // *International Journal of Food Microbiology*. 2005. Vol. 104, no. 3. P. 289–297. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2005.03.010>.

63. Kareem A. R., Razavi S. H. Plantaricin bacteriocins: as safe alternative antimicrobial peptides

in food preservation – a review // *Journal of Food Safety*. 2020. Vol. 40, no. 1. <https://doi.org/10.1111/JFS.12735>.

64. Wu S., Zhang H., Zhou H., Jin J., Xie Y. Synergistic effect of plantaricin BM-1 combined with physicochemical treatments on the control of *Listeria monocytogenes* in cooked ham // *Journal of Food Protection*. 2017. Vol. 80, no. 6. P. 976–981. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-434>.

65. Захарова И. Н., Бережная И. В., Сугян Н. Г., Санникова Т. Н., Кучина А. Е., Сазанова Ю. О. Что мы знаем сегодня о *Lactobacillus reuteri*? // *Медицинский совет*. 2018. N 2. С. 163–169. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-2-163-169>.

66. Langa S., Martin-Cabrejas I., Montiel R., Peirotten A., Arques J. L., Medina M. Protective effect of reuterin-producing *Lactobacillus reuteri* against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in semi-hard cheese // *Food Control*. 2018. Vol. 84. P. 284–289. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2017.08.004>.

67. Martin-Cabrejas I., Langa S., Gaya P., Rodríguez E., Landete J. M., Medina M., et al. Optimization of reuterin production in cheese by *Lactobacillus reuteri* // *Journal of Food Science and Technology*. 2017. Vol. 54, no. 5. P. 1346–1349. <https://doi.org/10.1007/S13197-017-2563-2>.

68. Gomez-Torres N., Avila M., Delgado D., Garde S. Effect of reuterin-producing *Lactobacillus reuteri* coupled with glycerol on the volatile fraction, odour and aroma of semi-hard ewe milk cheese // *International Journal of Food Microbiology*. 2016. Vol. 232. P. 103–110. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2016.05.031>.

69. Montiel R., Martin-Cabrejas I., Langa S., El Aouad N., Arques J. L., Reyes F., et al. Antimicrobial activity of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* on *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon // *Food Microbiology*. 2014. Vol. 44. P. 1–5. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2014.05.006>.

70. Vimont A., Fernandez B., Ahmed G., Fortin H.-P., Fliss I. Quantitative antifungal activity of reuterin against food isolates of yeasts and moulds and its potential application in yogurt // *International Journal of Food Microbiology*. 2019. Vol. 289. P. 182–188. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2018.09.005>.

REFERENCES

1. Yurkova A. A. Food additives in the composition of popular products. *Mezhdunarodnyi zhurnal gumanitarnykh i estestvennykh nauk = International Journal of Humanities and Natural Sciences*. 2021; 56(5-1):91-94. (In Russian). <https://doi.org/10.24412/2500-1000-2021-5-1-91-94>.

2. Esimbekova E. N., Asanova A. A., Deeva A. A., Kratasyuk V. A. Inhibition effect of food preservatives on endoproteinases. *Food Chemistry*. 2017; 235:294-297. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.05.059>.

3. Bensid A., El Abed N., Houicher A., Regen-

stein J. M., Özogul F. Antioxidant and antimicrobial preservatives: Properties, mechanism of action and applications in food – a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020;62(11):2985-3001. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1862046>.

4. Mei J., Ma X., Xie J. Review on natural preservatives for extending fish shelf life. *Foods*. 2019; 8(10):490. <https://doi.org/10.3390/FOODS8100490>.

5. Askarov I. R., Kholmatova M. M. The chemical composition of canned fish preservatives and their effect on the body. *Universum: Khimiya i Biologiya*. 2021 12):58-60. (In Russian). <https://doi.org/10.32743/Uni>

Chem.2021.90.12.12584.

6. Juneja V. K., Dwivedi H. P., Yan X. Novel natural food antimicrobials. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2012;3(1):381-403. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-FOOD-022811-101241>.
7. Kirsh I. A., Frolova Yu. V. Packaging materials for food products with an antimicrobial component of natural origin. *Pishchevaya promyshlennost' = Food Industry*. 2018;(1):24-25. (In Russian).
8. Tveritnikova I. S., Kirsh I. A., Bannikova O. A., Beznaeva O. V., Romanova V. A., Kondratova T. A., et al. Study of multilayered polymer films modified by antimicrob component intended for packaging dairy products. *Pishchevaya promyshlennost' = Food Industry*. 2020;(12):66-69. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10146>.
9. Kuzmich V. V., Kozlov N. G., Karpunin I. I., Balabanova O. V. Experimental investigations on determination. *Nauka i Tekhnika*. 2019;18(5):409-415. (In Russian). <https://doi.org/10.21122/2227-1031-2019-18-5-409-415>.
10. Nogina A. A., Tikhonov S. L., Tikhonova N. V. The influence of biodegradable food films on freshness indices of semi-finished meat products. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv = Food Processing: Techniques and Technology*. 2018;49(4):73-78. (In Russian). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-73-78>.
11. Rodionov G. V., Olesyuk A. P., Koltinova E. Ya., Egorov V. V., Malofeeva N. A., Oshchepkov M. S. Polyethylene packaging with silver and zinc micro-particles and its influence on milk quality. *Izvestiya vuzov. Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya = ChemChemTech*. 2021;64(3):82-91. (In Russian). <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20216403.6295>.
12. Branen J. K., Davidson P. M. Enhancement of nisin, lysozyme, and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lactoferrin. *International Journal of Food Microbiology*. 2004;90(1):63-74. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00172-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00172-7).
13. Tiwari B. K., Valdramidis V. P., O'Donnell C. P., Muthukumarappan K., Bourke P., Cullen P. J. Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009;57(14):5987-6000. <https://doi.org/10.1021/JF900668N>.
14. Liburdi K., Benucci I., Esti M. Lysozyme in wine: an overview of current and future applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014;13(5):1062-1073. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12102>.
15. Chang A. K. T., Frias R. R., Alvarez L. V., Bigol U. G., Guzman J. P. M. D. Comparative antibacterial activity of commercial chitosan and chitosan extracted from *Auricularia sp.* *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019;17:189-195. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2018.11.016>.
16. Liu Y., Sun Z., Xiu L., Huang J., Zhou F. Selective antifungal activity of chitosan and sulfonated chitosan against postharvest fungus isolated from blueberry. *Journal of Food Biochemistry*. 2018;42(6). <https://doi.org/10.1111/JFBC.12658>.
17. Kritchenkov A. S., Egorov A. R., Volkova O. V., Zabolalova L. A., Suchkova E. P., Yagafarov N. Z., et al. Active antibacterial food coatings based on blends of succinyl chitosan and triazole betaine chitosan derivatives. *Food Packaging and Shelf Life*. 2020;25:100534. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2020.100534>.
18. Niaz B., Saeed F., Ahmed A., Imran M., Maan A. A., Khan M. K. I., et al. Lactoferrin (LF): a natural antimicrobial protein. *International Journal of Food Properties*. 2019;22(1):1626-1641. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1666137>.
19. Conesa C., Rota M. C., Pérez M.-D., Calvo M., Sánchez L. Antimicrobial activity of recombinant human lactoferrin from *Aspergillus awamori*, human milk lactoferrin and their hydrolysates. *European Food Research and Technology*. 2008;228(2):205-211. <https://doi.org/10.1007/S00217-008-0924-9>.
20. Zhang Y., Lu C., Zhang J. Lactoferrin and its detection methods: a review. *Nutrients*. 2021;13(8):2492. <https://doi.org/10.3390/NU13082492>.
21. Boroujeni M. B., Nayeri H. Stabilization of bovine lactoperoxidase in the presence of ectoine. *Food Chemistry*. 2018;265:208-215. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.05.067>.
22. Yener F. Y. G., Korel F., Yemenicioğlu A. Antimicrobial activity of lactoperoxidase system incorporated into cross-linked alginate films. *Journal of Food Science*. 2009;74(2):73-79. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2009.01057.X>.
23. Cissé M., Polidori J., Montet D., Loiseau G., Ducamp-Collin M. N. Preservation of mango quality by using functional chitosan-lactoperoxidase systems coatings. *Postharvest Biology and Technology*. 2015;101:10-14. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARV-BIO.2014.11.003>.
24. Burrowes O. J., Hadjicharalambous C., Diamond G., Lee T.-C. Evaluation of antimicrobial spectrum and cytotoxic activity of pleurocidin for food applications. *Journal of Food Science*. 2004;69(3):66-71. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2004.TB13373.X>.
25. Wang X., Yue T., Lee T. Development of Pleurocidin-poly(vinyl alcohol) electrospun antimicrobial nanofibers to retain antimicrobial activity in food system application. *Food Control*. 2015;54:150-157. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2015.02.001>.
26. Amorati R., Foti M. C., Valgimigli L. Antioxidant activity of essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013;61(46):10835-10847. <https://doi.org/10.1021/JF403496K>.
27. Clavijo-Romero A., Quintanilla-Carvajal M. X., Ruiz Y. Stability and antimicrobial activity of eucalyptus essential oil emulsions. *Food Science and Technology International*. 2019;25(1):24-37. <https://doi.org/10.1177/1082013218794841>.
28. Abbasi M. A., Ghazanfari S., Sharifi S. D., Ahmadi Gavlighi H. Effect of rosemary essential oil as nitrite substitute on quality of sausage produced using

chicken fed by thymus essential oil and rapeseed oil. *Journal of Food Science and Technology*. 2020;6(1):54-68. <https://doi.org/10.1007/S13197-020-04786-8>.

29. De Sá Silva C., de Figueiredo H. M., Stamford T. L. M., da Silva L. H. M. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil in ground beef. *International Journal of Food Microbiology*. 2019;293:79-86. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2019.01.004>.

30. Hu J., Zhang Y., Xiao Z., Wang X. Preparation and properties of cinnamon-thyme-ginger composite essential oil nanocapsules. *Industrial Crops and Products*. 2018;122:85-92. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2018.05.058>.

31. Yuan C., Wang Y., Liu Y., Cui B. Physico-chemical characterization and antibacterial activity assessment of lavender essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Industrial Crops and Products*. 2019;130:104-110. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2018.12.067>.

32. Andrade B. F. M. T., Barbosa L. N., da Silva Probst I., Fernandes Júnior A. Antimicrobial activity of essential oils. *Journal of Essential Oil Research*. 2014;26(1):34-40. <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.860409>.

33. Borrás-Linares I., Fernández-Arroyo S., Arráez-Roman D., Palmeros-Suárez P. A., Del Val-Díaz R., Andrade-González I., et al. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Industrial Crops and Products*. 2015;69:385-394. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.02.053>.

34. Ordoñez R., Atarés L., Chiralt A. Physico-chemical and antimicrobial properties of cassava starch films with ferulic or cinnamic acid. *LWT – Food Science and Technology*. 2021;144:111242. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111242>.

35. Cai R., Miao M., Yue T., Zhang Y., Cui L., Wang Z., et al. Antibacterial activity and mechanism of cinnamic acid and chlorogenic acid against *Alicyclobacillus acidoterrestris* vegetative cells in apple juice. *International Journal of Food Science and Technology*. 2019;54:1697-1705. <https://doi.org/10.1111/IJFS.14051>.

36. Almajano M. P., Carbó R., Jiménez J. A. L., Gordon M. H. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*. 2008;108(1):55-63. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2007.10.040>.

37. In Y. W., Kim J. J., Kim H. J., Oh S. W. Antimicrobial activities of acetic acid, citric acid and lactic acid against shigella species. *Journal of Food Safety*. 2013;33(1):79-85. <https://doi.org/10.1111/JFS.12025>.

38. Kim S. A., Rhee M. S. Synergistic antimicrobial activity of caprylic acid in combination with citric acid against both *Escherichia coli* O157:H7 and indigenous microflora in carrot juice. *Food Microbiology*. 2015;49:166-172. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2015.02.009>.

39. Sullivan D. J., Azlin-Hasim S., Cruz-Romero M., Cummins E., Kerry J. P., Morris M. A. Antimicrobial

effect of benzoic and sorbic acid salts and nano-solubilisates against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* and chicken microbiota biofilms. *Food Control*. 2020;107:106786. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2019.106786>.

40. Hu S., Yu J., Wang Z., Li L., Du Y., Wang L., et al. Effects of sorbic acid-chitosan microcapsules as antimicrobial agent on the properties of ethylene vinyl alcohol copolymer film for food packaging. *Journal of Food Science*. 2017;82(6):1451-1460. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13731>.

41. Lins P. Antimicrobial activities of spices and herbs against *Salmonella* Oranienburg. *Food Control*. 2018;83:123-130. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2017.05.041>.

42. Robles-Zepeda R. E., Velázquez-Contreras C. A., Garibay-Escobar A., Gálvez-Ruiz J. C., Ruiz-Bustos E. Antimicrobial activity of northwestern mexican plants against *Helicobacter pylori*. *Journal of Medicinal Food*. 2011;14(10):1280-1283. <https://doi.org/10.1089/JMF.2010.0263>.

43. Khan H., Jan S. A., Javed M., Shaheen R., Khan Z., Ahmad A., et al. Nutritional composition, antioxidant and antimicrobial activities of selected wild edible plants. *Journal of Food Biochemistry*. 2016;40(1):61-70. <https://doi.org/10.1111/JFBC.12189>.

44. Rashed K., Ivanisova E., Kacaniova M. Evaluation of antioxidant, antimicrobial activities and phytochemical content of some Egyptian plants. *International Food Research Journal*. 2018;25(6):2292-2300.

45. Johnson E. M., Jung D. Y.-G., Jin D. Y.-Y., Jayabalan D. R., Yang D. S. H., Suh J. W. Bacteriocins as food preservatives: challenges and emerging horizons. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2018;58(16):2743-2767. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1340870>.

46. Volkova T. N., Borisenko O. A., Selina I. V., Sozinova M. S. Nisin usage in brewing industry. *Pivo i Napitki*. 2019;(4):20-25. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/2072-9650-2019-10014>.

47. Ramith R., Prithvi S. S., Devi A. T., Ashwini P., Kumuda J., Lochana M. S., et al. Nagendra. Bacteriocins and their applications in food preservation (retraction of 10.1080/10408398.2015.1020918, 2015). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020;60(18). <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1020918>.

48. Kudryashov V. L., Alekseev V. V., Fursova N. A. Nisin and natamycin are effective food microbiological preservatives. *Pishchevaya Industriya*. 2020;(2):67-71. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/9999-008A-2020-10007>.

49. Jia W., Wu X., Li R., Liu S., Shi L. Effect of nisin and potassium sorbate additions on lipids and nutritional quality of Tan sheep meat. *Food Chemistry*. 2021;365:130535. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130535>.

50. Hassan H., St-Gelais D., Goma A., Fliss I. Impact of nisin and nisin-producing *Lactococcus*

lactis ssp. *lactis* on *Clostridium tyrobutyricum* and bacterial Ecosystem of cheese matrices. *Foods*. 2021;10(4):898. <https://doi.org/10.3390/FOODS10040898>.

51. Ture H., Eroglu E., Ozen B., Soyer F. Effect of biopolymers containing natamycin against *Aspergillus niger* and *Penicillium roquefortii* on fresh kashar cheese. *International Journal of Food Science and Technology*. 2011;46(1):154-160. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2010.02465.X>.

52. Karaman K., Sagdic O., Yilmaz M. T. Evaluation of natamycin performance to control the growth of *Zygosaccharomyces bailii* and *Z. rouxii* in apple juice during storage. *International Journal of Food Microbiology*. 2020;332:108771. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2020.108771>.

53. Garavaglia J., Nunes Pinto L. M., de Souza D., de Castilhos J., Rossi R. C., Machado I. C. K., et al. Natamycin and nisin to improve shelf life and minimize benzene generation in lemon soft drinks. *Food Science and Technology*. 2019;39(2):274-279. <https://doi.org/10.1590/FST.13217>.

54. Balandin S. V., Sheremeteva E. V., Ovchinnikova T. V. Pediocin-like antimicrobial peptides of bacteria. *Biokhimiya = Biochemistry*. 2019;84(5):616-633. (In Russian). <https://doi.org/10.1134/S0320972519050026>.

55. Ceruso M., Liu Y., Gunther N. W., Pepe T., Anastasio A., Qi P. X., et al. Anti-listerial activity of thermophilin 110 and pediocin in fermented milk and whey. *Food Control*. 2021;125:107941. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.107941>.

56. Santiago-Silva P., Soares N. F. F., Nóbrega J. E., Junior M. A. W., Barbosa K. B. F., Volp A. C. P., et al. Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA® 2351) on preservation of sliced ham. *Food Control*. 2009;20(1):85-89. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2008.02.006>.

57. Cabo M. L., Torres B., Herrera J. J. R., Bernárdez M., Pastoriza L. Application of nisin and pediocin against resistance and germination of bacillus spores in sous vide products. *Journal of Food Protection*. 2009;72(3):515-523. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.3.515>.

58. Díez L., Rojo-Bezares B., Zarazaga M., Rodríguez J. M., Torres C., Ruiz-Larrea F. Antimicrobial activity of pediocin PA-1 against *Oenococcus oeni* and other wine bacteria. *Food Microbiology*. 2012;31(2):167-172. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2012.03.006>.

59. Kaur G., Singh T. P., Malik R. K., Bhardwaj A., De S. Antibacterial efficacy of nisin, pediocin 34 and enterocin FH99 against *L. monocytogenes*, *E. faecium* and *E. faecalis* and bacteriocin cross resistance and antibiotic susceptibility of their bacteriocin resistant variants. *Journal of Food Science and Technology*. 2014;51(2):233-244. <https://doi.org/10.1007/S13197-011-0500-3>.

60. Molinos A. C., Abriouel H., Ben Omar N., Lucas R., Valdivia E., Gálvez A. Inactivation of *Listeria monocytogenes* in raw fruits by Enterocin AS-48. *Journal of Food Protection*. 2008;71(12):2460-2467.

<https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.12.2460>.

61. Grande M. J., Lucas R., Valdivia E., Abriouel H., Maqueda M., Ben Omar N., et al. Stability of Enterocin AS-48 in fruit and vegetable juices. *Journal of Food Protection*. 2005;68(10):2085-2094. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.10.2085>.

62. Grande M. J., Lucas R., Abriouel H., Ben Omar N., Maqueda M., Martínez-Bueno M., et al. Control of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit juices by enterocin AS-48. *International Journal of Food Microbiology*. 2005;104(3):289-297. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2005.03.010>.

63. Kareem A. R., Razavi S. H. Plantaricin bacteriocins: as safe alternative antimicrobial peptides in food preservation – a review. *Journal of Food Safety*. 2020;40(1). <https://doi.org/10.1111/JFS.12735>.

64. Wu S., Zhang H., Zhou H., Jin J., Xie Y. Synergistic effect of plantaricin BM-1 combined with physicochemical treatments on the control of *Listeria monocytogenes* in cooked ham. *Journal of Food Protection*. 2017;80(6):976-981. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-434>.

65. Zakharova I. N., Berezhnaya I. V., Sugyan N. G., Sannikova T. N., Kuchina A. E., Sazanov Yu. O. What do we know today about *Lactobacillus reuteri*? *Meditsinskii sovet = Medical Council*. 2018;(2):163-169. (In Russian). <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-2-163-169>.

66. Langa S., Martín-Cabrejas I., Montiel R., Peirotén A., Arques J. L., Medina M. Protective effect of reuterin-producing *Lactobacillus reuteri* against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in semi-hard cheese. *Food Control*. 2018;84:284-289. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2017.08.004>.

67. Martín-Cabrejas I., Langa S., Gaya P., Rodríguez E., Landete J. M., Medina M., et al. Optimization of reuterin production in cheese by *Lactobacillus reuteri*. *Journal of Food Science and Technology*. 2017;54(5):1346-1349. <https://doi.org/10.1007/S13197-017-2563-2>.

68. Gómez-Torres N., Avila M., Delgado D., Garde S. Effect of reuterin-producing *Lactobacillus reuteri* coupled with glycerol on the volatile fraction, odour and aroma of semi-hard ewe milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*. 2016;232:103-110. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2016.05.031>.

69. Montiel R., Martín-Cabrejas I., Langa S., El Aouad N., Arques J. L., Reyes F., et al. Antimicrobial activity of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* on *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon. *Food Microbiology*. 2014;44:1-5. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2014.05.006>.

70. Vimont A., Fernandez B., Ahmed G., Fortin H.-P., Fliss I. Quantitative antifungal activity of reuterin against food isolates of yeasts and moulds and its potential application in yogurt. *International Journal of Food Microbiology*. 2019;289:182-188. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2018.09.005>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Д. Р. Червоткина,
студент,
Самарский государственный технический
университет,
443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская,
244, Российская Федерация,
dcher02@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3577-560X>

А. В. Борисова,
к.т.н., доцент, доцент кафедры технологии
и организации общественного питания,
Самарский государственный технический
университет,
443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская,
244, Российская Федерация,
anna_borisova_63@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0833-987X>

Вклад авторов

Д. Р. Червоткина – поиск литературы;
составление чернового варианта статьи.
А. В. Борисова – планирование статьи; общее
руководство работой.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 27.05.2022.
Одобрена после рецензирования 08.06.2022.
Принята к публикации 15.06.2022.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Darya R. Chervotkina,
Student,
Samara State Technical University,
244, Molodogvardeiskaya St., 443100, Samara,
Russian Federation,
dcher02@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3577-560X>

Anna V. Borisova,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Associate Professor,
Department of Technology and Organization
of Public Catering,
Samara State Technical University,
244, Molodogvardeiskaya St., 443100, Samara,
Russian Federation,
anna_borisova_63@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0833-987X>

Contribution of the authors

Darya R. Chervotkina – literature search; drafting
of the article.
Anna V. Borisova – article planning; general work
management.

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.*

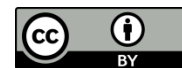
Information about the article

*The article was submitted 27.05.2022.
Approved after reviewing 08.06.2022.
Accepted for publication 15.06.2022.*

Научная статья

УДК 581.192.2:581.522.4

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-268-278>



Влияние высокой инфекционной нагрузки бактериального возбудителя кольцевой гнили картофеля на изменение уровней пероксида водорода и цАМФ в трансгенных растениях картофеля *in vitro* с повышенным содержанием эндогенного пероксида водорода

Лидия Арнольдовна Ломоватская*, Надежда Владимировна Филинова*,**,
Анатолий Сидорович Романенко*

*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,

г. Иркутск, Российская Федерация

**Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН,

г. Иркутск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Ломоватская Лидия Арнольдовна, LidaL@sifibr.irk.ru

Аннотация. Цель исследования заключалась в изучении влияния различной по интенсивности инфекционной нагрузки возбудителя кольцевой гнили картофеля (*Clavibacter michiganensis* sp. *sepedonicus*) на содержание пероксида водорода и цАМФ в растениях картофеля *in vitro* 3-х трансгенных линий сорта Скарб: линия L17.2 – растения, трансформированные нативным геном глюкозооксидазы *gox* из высокоактивного грибного штамма *Penicillium funiculosum* 46.1, линия M7.3 – растения, трансформированные модифицированным геном *gox-mod*, и линия Pb14.10 – растения, трансформированные вектором без целевого гена. К исследованию привлекали также нетрансгенные растения того же сорта (среднеустойчивый к *Cms*), Луговской (устойчивый к *Cms*) и Лукьяновский (восприимчивый к *Cms*). При инфицировании *Cms* ($0,2 \times 10^8$ кл/мл) динамика уровня цАМФ и H_2O_2 свидетельствовала о сбалансированном системном сигнале «корень–стебель». Тип *Cms* (2×10^8 кл/мл) вызывал системное увеличение концентрации H_2O_2 в органах почти всех вариантов растений, но системное увеличение уровня цАМФ возникало только у сорта Луговской. У всех трансгенных линий уровень цАМФ оставался на уровне контроля, что сопровождалось как локальными, так и обширными некрозами. Вероятно, у растений трансгенных линий картофеля изменение качества ответных защитных реакций (обширные некрозы наряду с локальными) связано со слишком высоким базовым уровнем эндогенного пероксида водорода и дисбалансом в уровне цАМФ. Тем не менее введение гена *gox* в растения картофеля повышает их устойчивость к инфицированию высоким типом *Cms*.

Ключевые слова: картофель *in vitro*, *gox* ген – ген глюкозооксидазы, пероксид водорода, цАМФ, *Clavibacter michiganensis* sp. *sepedonicus*

Благодарности. Авторы выражают благодарность доктору биологических наук О. Ю. Урбанович и доктору биологических наук К. З. Гамбургу за предоставленные растения трансгенных линий картофеля.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания по проекту №0277-2021-0004 (государственная регистрация №121031300011-7) на оборудовании ЦКП «Биоаналитика» и с использованием коллекций ЦКП «Биоресурсный центр» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск).

Для цитирования: Ломоватская Л. А., Филинова Н. В., Романенко А. С. Влияние высокой инфекционной нагрузки бактериального возбудителя кольцевой гнили картофеля на изменение уровней пероксида водорода и цАМФ в трансгенных растениях картофеля *in vitro* с повышенным содержанием эндогенного пероксида водорода // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 268–278. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-268-278>.

Influence of the high infectious load of the causal agent of bacterial ring rot of potatoes on variations in hydrogen peroxide and cAMP levels in transgenic potato plants *in vitro* with increased contents of endogenous hydrogen peroxide

Lidia A. Lomovatskaya*, Nadezhda V. Filinova*,**, Anatoly S. Romanenko*

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

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

Corresponding author: Lidia A. Lomovatskaya, LidaL@sifibr.irk.ru

Abstract. Effects of the infectious load of the causal agent *Clavibacter michiganensis* sps. *Sepedonicus* (Cms) of ring rot of potatoes on hydrogen peroxide and cAMP levels in potato plants *in vitro* were studied on three transgenic lines of the Scarb cultivar: line L17.2 – plants transformed with the native gene of glucose oxidase *gox* from the highly active fungal strain *Penicillium funiculosum* 46.1; line M7.3 – plants transformed with the modified gene *gox-mod*; and line Pb14.10 – plants transformed with a vector without a target gene. In addition, non-transgenic plants of the same cultivar (medium resistant against Cms), Lugovskaya (resistant against Cms) and Lukyanovsky (susceptible to Cms) were examined. In the plants infected with Cms (0.2×10^8 cells/ml), the dynamics of cAMP and H_2O_2 indicated a balanced system signal “root–stem”. The Cms titre (2×10^8 cells/ml) caused a systemic increase in the concentration of H_2O_2 in the organs of almost all plant cultivars; however, a systemic increase in the level of cAMP occurred only in the Lugovskaya cultivar. In all the studied transgenic lines, cAMP levels remained at the control level, accompanied by both local and extensive necrosis. In transgenic potato lines, the observed decrease in protective responses (both local and extensive necrosis) is likely to be associated with an extremely high baseline level of endogenous hydrogen peroxide and an imbalance in cAMP levels. The introduction of the *gox* gene into potato plants was found to increase their resistance against high Cms titres.

Keywords: potatoes *in vitro*, *gox* gene – glucose oxidase gene, hydrogen peroxide, cAMP, *Clavibacter michiganensis* sps. *sepedonicus*

Acknowledgements. The authors are grateful to O. Yu. Urbanovich, Dr. Sci. (Biology) and K. Z. Hamburg, Dr. Sci. (Biology) for providing plants of transgenic potato lines.

Funding. The work was carried out within the framework of the state assignment under project no. 0277-2021-0004 (state registration no. 121031300011-7) using the equipment of the Bioanalytics Center and using the collections of the Bioresource Center of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Irkutsk).

For citation: Lomovatskaya L. A., Filinova N. V., Romanenko A. S. Influence of the high infectious load of the causal agent of bacterial ring rot of potatoes on variations in hydrogen peroxide and cAMP levels in transgenic potato plants *in vitro* with increased contents of endogenous hydrogen peroxide. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):268-278. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-268-278>.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из важнейших направлений исследований в физиологии растений является создание сортов сельскохозяйственных культур, сочетающих высокий потенциал продуктивности и вкусовых качеств с устойчивостью к болезням и вредителям. В целях повышения защитных свойств и создания устойчивых форм растений эффективным подходом, в дополнение к традиционным методам селекции, является генетическая инженерия. На сегодняшний день трансгенные расте-

ния широко используются в качестве модельных систем для решения различных задач [1, 2].

Известно, что возрастание уровня пероксида водорода в растительных тканях способствует повышению устойчивости к разнообразным биотическим и абиотическим стрессорам [3]. Искусственно такого эффекта можно добиться путем введения в геном растений гена глюкозооксидазы (*gox*) из грибов [4]. В результате в трансгенных растениях происходит реакция окисления β -D-глюкозы до β -D-глюконо- δ -лактона и сопря-

женное восстановление молекулярного кислорода до перекиси водорода. В литературе описаны виды растений: картофель, рис, капуста и табак, которые в результате такого трансгенеза приобрели повышенную устойчивость к специфическим грибковым и бактериальным патогенам [3, 5, 6].

Пероксид водорода в настоящее время рассматривается как «двойной агент», который может инициировать как окислительный стресс в растительных клетках, так и выступать в качестве сигнальной молекулы, вовлеченной в регуляцию экспрессии генов [7, 8]. Считается, что возрастание уровня пероксида водорода в клетках растений при биотических стрессах свидетельствует о неспецифической защитной реакции [9]. Очевидно, что защитный ответ при патогенных атаках регулируется не единственным сигнальным каскадом, а с помощью сложной сети, включающей различные сигнальные молекулы, способные взаимодействовать между собой [10]. Одним из таких вторичных мессенджеров является цАМФ [11]. Проведенные ранее исследования показали, что эту сигнальную молекулу можно рассматривать как один из маркеров устойчивости растений [12, 13].

Качество и интенсивность защитных реакций растений могут меняться в зависимости от уровня инфекционной нагрузки [14]. Этот процесс напрямую зависит от эффективности функционирования сигнальных систем растений и, в частности, от концентраций их вторичных мессенджеров: избыточный уровень сигнальных молекул может привести клетку к летальному исходу. Поэтому цель данной работы заключалась в исследовании изменения уровня эндогенных пероксида водорода и цАМФ в растениях трансгенных линий картофеля, трансформированных геном *gox*, при инфицировании различными титрами возбудителя кольцевой гнили картофеля *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Cms).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали растения картофеля *in vitro* (*Solanum tuberosum* L.) сортов Скарб, Луговской и Лукьяновский, а также растения картофеля *in vitro* 3-х трансгенных линий сорта Скарб, полученные в ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»: линия L17.2 – растения, трансформированные нативным геном глюкозооксидазы *gox*, линия M7.3 – растения, трансформированные модифицированным геном *gox-mod*, и линия Pb14.10 – растения, трансформированные вектором без целевого гена. Нативный ген *gox* был клонирован из высокоактивного грибного штамма *Penicillium funiculosum* 46.1. На основе плазмиды pBI121 нативный ген *gox*, слитый в рамке считывания с лидерной последовательностью гена экстенсина

моркови, находится под контролем конститутивного CaMV 35S промотора. Модифицированный ген *gox-mod* представляет собой ген *gox* с замененными кодонами на синонимичные кодоны растений *Solanum tuberosum*, что по данным белорусских коллег ведет к увеличению концентрации эндогенного пероксида водорода в среднем на 23% по сравнению с трансгенными растениями, которые экспрессируют нативный ген *gox* [4].

Растения картофеля выращивали на агаризованной среде Мурасиге–Скуга¹ с добавлением 20 г/л сахарозы (ООО «АО Реахим», Россия), 1,0 мг/л тиамин, 0,5 мг/л пиридоксин, 0,1 мг/л индолил-3-масляной кислоты и 0,02 мг/л феруловой кислоты (Sigma, США), через 2 недели переносили на жидкую среду того же состава и инокулировали планктонной культурой Cms, штамм 6889. Бактерии культивировали в течение 3-х суток в колбах на среде, содержащей 10 г/л дрожжевого экстракта, 15 г/л глюкозы и 5 г/л CaCO₃, pH=7,0 при температуре 26 °C в темноте. Титр бактерий определяли при 655 нм на планшетном спектрофотометре Immunochem-2100 (High Technology Inc., США).

В работе использовали 2 титра бактерий: 2х10⁸ и 0,2х10⁸ кл/мл. Начиная со дня заражения и через каждые 48 ч фиксировали морфометрические показатели – прирост и количество листьев, а также симптомы заболевания: локальные и обширные некрозы, хлорозы. Степень развития некрозов выражали как долю их площади от общей площади листьев, рассчитанную в среднем на 1 растение. Некрозы считали локальными, если они имели площадь 0,5–1 мм².

На 10-й день после заражения определяли концентрацию эндогенных H₂O₂ и цАМФ в корнях и верхушке стеблей. Контролем служили неинокулированные растения.

Определение содержания перекиси водорода проводили по методу с использованием хлорида титана [15]. Уровень цАМФ устанавливали методом иммуноферментного анализа [13]. Концентрацию вещества в пробе определяли по калибровочным кривым, построенным по H₂O₂ и цАМФ соответственно. Результат получали в молях/л и далее его рассчитывали на г сырого веса растительного образца.

Эксперименты проводили в 3-кратной биологической повторности, в каждом варианте анализировали по 10 растений. Определение уровня H₂O₂ и цАМФ осуществлялось в 4-кратной аналитической повторности. Результаты экспериментов обработаны статистически с помощью программы SigmaPlot 12.3. На графиках данные представлены в процентах к контролю со стандартной ошибкой.

¹Бутенко Р. Г., Хромова Л. М., Седнина Г. Г. Методические указания по получению вариантных клеточных линий и растений у разных сортов картофеля. М.: ВАСХНИЛ, 1984. 28 с.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенные исследования показали, что степень инфекционной нагрузки по-разному отразилась на интенсивности роста растений сортов и трансгенных линий картофеля *in vitro*. Титр *Cms* $0,2 \times 10^8$ клеток/мл в наибольшей степени ингибировал рост растений сортов Скарб и Лукьяновский и менее значительно повлиял на скорость роста растений, несущих пустой вектор и мутантные линии L17.2 и M7.3. Высокий титр *Cms* 2×10^8 клеток/мл оказал более сильный тормозящий эффект на рост растений линии Pb14.10, сорт Скарб и сорт Лукьяновский (рис. 1).

Изменения в динамике роста сопровождались появлением симптомов заболевания, проявляющихся на 5–6 день коинкубации с *Cms*. Под воздействием невысокой инфекционной нагрузки ($0,2 \times 10^8$ кл/мл) у растений сорта Луговской и линии Pb14.10 появлялись локальные некрозы на листьях (табл. 1). При этом у растений всех сортов и линий наблюдались хлорозы и усыхание листьев.

При инфицировании *Cms* с высоким титром (2×10^8 кл/мл) у растений картофеля *in vitro* появлялись обширные некрозы: больше всего их наблюдалось у растений линий M7.3 и L17.2, и только у растений сорта Луговской они полностью отсутствовали. При этом возрастало количество локальных некрозов у линий Pb14.10, M7.3 и сорта Луговской (см. табл. 1).

Как ни странно, наиболее высокий уровень эндогенного пероксида водорода был выявлен в корнях и стеблях растений картофеля сорта Луговской. Трансформированные растения отличались тем, что содержание H_2O_2 в стеблях в десятки раз превышало его концентрацию в корнях, чего не наблюдалось у растений всех 3-х сортов картофеля. При этом растения сорта Скарб и всех трансгенных линий отличались весьма низким по сравнению с растениями других сортов содержанием эндогенного цАМФ (табл. 2).

Рис. 1. Влияние инфицирования *Cms* на скорость роста растений картофеля *in vitro*: 1 – титр *Cms* $0,2 \times 10^8$; 2 – титр *Cms* 2×10^8

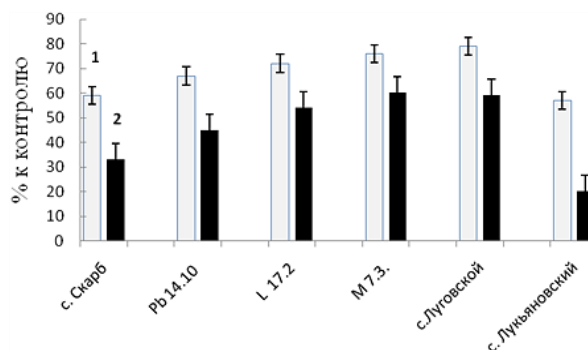


Рис. 1. Влияние инфицирования *Cms* на скорость роста растений картофеля *in vitro*: 1 – титр *Cms* $0,2 \times 10^8$; 2 – титр *Cms* 2×10^8

Fig. 1. Influence of *Cms* infection on the growth rate of potato plants *in vitro*: 1 – titer *Cms* $0,2 \times 10^8$; 2 – titer *Cms* 2×10^8

Инфицирование существенно повлияло на эти показатели. На 10-е сутки коинкубации растений картофеля с патогеном с низким титром уровень пероксида водорода в корнях и стеблях растений сорта Скарб составлял 150 и 180% к контролю соответственно (рис. 2).

Таблица 1. Обширные и локальные некрозы* на листьях картофеля *in vitro*, инфицированных *C. michiganensis* sps. *sepedonicus*

Table 1. Extensive and localized necrosis* on *in vitro* potato leaves infected with *C. michiganensis* sps. *sepedonicus*

Сорта и линии картофеля	Некрозы	
	Обширные, %	Локальные**, %
<i>Титр Cms 0,2x10⁸ клеток/мл</i>		
Сорт Скарб	0	0
Линия Pb14.10 (сорт Скарб, трансформированный пустым вектором)	0	0,3±0,1
Линия L17.2 (сорт Скарб, трансформированный геном <i>gox</i>)	0	0
Линия M7.3 (сорт Скарб, трансформированный модифицированным геном <i>gox-m</i>)	0	0
Сорт Лукьяновский (восприимчивый к <i>Cms</i>)	0	0
Сорт Луговской (устойчивый к <i>Cms</i>)	0	0,8±0,1
<i>Титр Cms 2x10⁸ клеток/мл</i>		
Сорт Скарб	4,8±0,3	0
Линия Pb 14.10 (сорт Скарб, трансформированный пустым вектором)	5,6±0,4	2,9±0,2
Линия L17.2 (сорт Скарб, трансформированный геном <i>gox</i>)	8,9±0,7	0
Линия M7.3 (сорт Скарб, трансформированный модифицированным геном <i>gox-m</i>)	14,5±1,3	2,7±0,2
Сорт Лукьяновский (восприимчивый к <i>Cms</i>)	1,3±0,1	0
Сорт Луговской (устойчивый к <i>Cms</i>)	0	1,0±0,1

*– степень развития некрозов выражена как доля их площади от общей площади листьев, рассчитанная в среднем на 1 растение; **– локальные некрозы имеют площадь 0,5–1 мм².

Таблица 2. Концентрация H_2O_2 и цАМФ в исходных растениях картофеля *in vitro*

Table 2. Concentration of H_2O_2 and cAMP in initial potato plants *in vitro*

Сорта и линии картофеля	H_2O_2 , нмоль/г сырого веса		цАМФ, нмоль/г сырого веса	
	корень	стебель	корень	стебель
Сорт Скарб (среднеустойчивый к <i>Cms</i>)	38,5±2,9	49,5±3,8	1,3±0,1	3,0±0,3
Линия Pb14.10 (сорт Скарб, трансформированный пустым вектором)	58,3±5,1	82,0±7,9	0,1±0,001	2,0±0,2
Линия L 17.2 (сорт Скарб, трансформированный геном <i>gox</i>)	3,8±0,3	147,5±13,7	0,7±0,07	2,8±0,2
Линия M 7.3 (сорт Скарб, трансформированный модифицированным геном <i>gox-mod</i>)	8,5±0,8	364±34,3	1,8±0,2	1,1±0,1
Сорт Лукьяновский (восприимчивый к <i>Cms</i>)	107±9,7	160±15,3	450±44,0	270±26,5
Сорт Луговской (устойчивый к <i>Cms</i>)	127±11,8	330±32,9	178±16,2	98±8,7

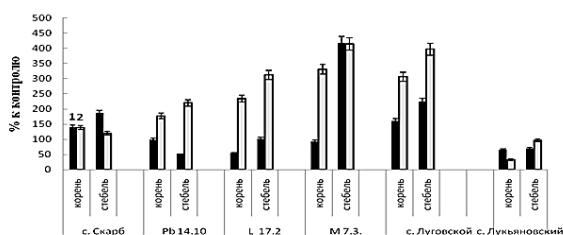


Рис. 2. Влияние инфицирования *Cms* ($0,2 \times 10^8$) на концентрацию H_2O_2 и цАМФ в растениях картофеля *in vitro*: 1 – H_2O_2 ; 2 – цАМФ

Fig. 2. Influence of infection with *Cms* ($0,2 \times 10^8$) on the concentration of H_2O_2 and cAMP in potato plants *in vitro*: 1 – H_2O_2 ; 2 – cAMP

Все исследованные сорта и линии картофеля исходно различались по содержанию пероксида водорода и цАМФ (см. табл. 2).

Содержание пероксида водорода у растений линии Pb14.10 осталось на уровне 100% в корнях, в стеблях упало до 50% от контроля, а у линии L17.2 в корнях уменьшилось до 50% от контроля при неизменном уровне 100% в стеблях. При этом у растений линии M7.3 в стеблях концентрация H_2O_2 возросла до 400%, в корнях оставаясь на уровне контроля (100%). У растений сорта Луговской наблюдалось вполне равномерное повышение уровня H_2O_2 (корни – 150%, стебли – 200%), тогда как у сорта Лукьяновский происходило падение ниже контроля – до 50 и 70% соответственно (рис. 3). Эндогенный цАМФ в растениях всех вариантов, за исключением сорта Лукьяновский, превышал контроль и в листьях, и в стеблях – в наибольшей степени это происходило у линий L17.2 и M7.3 и сорта Луговской (см. рис. 2).

Коинкубация растений картофеля с более высоким титром *Cms* (2×10^8 кл/мл) вызвала значительные изменения в концентрациях эндогенных H_2O_2 и цАМФ (см. рис. 3). На 10-е сутки концентрация пероксида водорода была ниже контроля только в корнях и стебле растений сорта Скарб и линии L17.2; наиболее высокий ее уровень наблюдался в корне растений сорта Лукьяновский. В этих же условиях наиболее высокий уровень цАМФ детектировался в стебле расте-

ний сорта Луговской, у трансформированных растений был близок к контролю, а у растений сорта Лукьяновский был значительно ниже контроля (см. рис. 3).

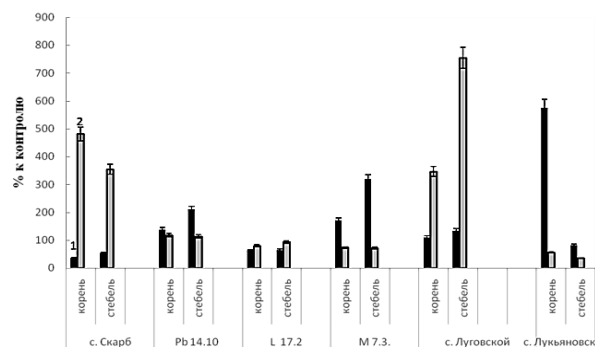


Рис. 3. Влияние инфицирования *Cms* (2×10^8) на концентрацию H_2O_2 и цАМФ в растениях картофеля *in vitro*: 1 – H_2O_2 ; 2 – цАМФ

Fig. 3. Influence of *Cms* (2×10^8) infection on the concentration of H_2O_2 and cAMP in potato plants *in vitro*: 1 – H_2O_2 ; 2 – cAMP

Трансгенные растения широко используются в качестве модельных объектов не только для изучения структуры и функций генов, но и для решения ряда прикладных задач, в частности для повышения устойчивости растений к биотическим факторам [1, 3]. Ранее было показано, что повышение уровня H_2O_2 в органах растений картофеля *in vitro*, трансформированных геном глюкозооксидазы *gox*, приводило к повышению их устойчивости к грибной инфекции, фитофторе [4]. В то же время эффективность этой генетической модификации не показана при бактериальных патогенезах.

Кольцевая гниль – весьма распространенное и вредоносное заболевание картофеля. У вегетирующих растений возбудитель вызывает симптомы, схожие с вирусной и грибной инфекциями (подавление роста, wilt, мельчание листьев, хлорозы). Ранее в экспериментах на растениях картофеля *in vitro* было показано, что повышенная инфекционная нагрузка вызывает хлорозы на листьях растений как восприимчиво-

го, так и устойчивого сортов картофеля, поэтому, по нашему мнению, такие симптомы не следует связывать со степенью устойчивости сорта [14]. Однако наряду с этим инфицирование индуцировало новые, несвойственные этому заболеванию симптомы в виде обширных и локальных некрозов, причем у растений картофеля *in vitro* устойчивого сорта в основном присутствовали локальные некрозы, тогда как у восприимчивого – обширные [14]. В литературе нет точных указаний о том, какую инфекционную нагрузку *Cms* в модельных экспериментах следует считать высокой. Вероятно, это определяется визуально по количеству и качеству появляющихся симптомов заболевания.

Известно, что эндогенный пероксид водорода в низких концентрациях может выполнять функции сигнальной молекулы, активируя различные сигнальные каскады, приводящие к модуляции активности генов, и регулируя активность ионных каналов [7]. При этом изменение пула H_2O_2 в растительной клетке может приводить к смене программы взаимодействия растений с микроорганизмами. Показано, что инфицирование люцерны *Sinorhizobium meliloti* (азотфиксирующий симбионт) индуцирует более интенсивный окислительный взрыв, чем инфицирование *Pseudomonas syringae* (фитопатоген). При этом высокий пул H_2O_2 в цитоплазме клеток растений люцерны блокирует индукцию PR-генов (pathogenesis-related), и растительный метаболизм перестраивается в соответствии с программой азотфиксирующего симбиоза [16]. Более значительное повышение уровня внутриклеточного H_2O_2 , нехарактерное для сигнальных молекул, вызывает в клетке окислительный стресс и приводит или к адаптации, или к летальному исходу, в зависимости от величины пула этой молекулы [7]. Длительная инкубация с более низким титром *Cms* ($0,2 \times 10^8$) в основном вызывала типичные симптомы болезни у растений всех вариантов: хлорозы и усыхание листьев. Следует заметить, что по количеству хлорозов сорт Луговской (устойчивый) мало отличался от сорта Скарб (среднеустойчивый). Однако, в отличие от сорта Скарб, у растений сорта Луговской наблюдались и локальные некрозы, что свидетельствует о развитии защитных реакций. Аналогичные локальные некрозы появлялись и у линии Pb14.10, хотя эти растения не несут целевой ген. В этом случае, вероятно, причиной их появления следует считать стресс, испытываемый растениями в результате генетической трансформации. Более высокий, чем у растений сорта Скарб, уровень пероксида водорода в органах растений этой линии также свидетельствует об этом (см. табл. 2). Напротив, еще более высокий пул эндогенного уровня пероксида водорода у растений линии M7.3 не привел к появлению некрозов, что может показаться противоречием вышесказанному.

Однако поскольку H_2O_2 является сигнальной молекулой, важное значение имеет изменение его концентрации при инфицировании: у растений линии Pb14.10 это индуцировало активацию защитных механизмов [17, 18], а у растений линии M7.3 стимулировало адаптационные процессы, подтверждением чему является и незначительное снижение скорости роста этих растений.

Более высокая инфекционная нагрузка *Cms* 2×10^8 кл/мл приводила к появлению большего числа нетипичных симптомов заболевания, а именно локальных некрозов у растений сорта Луговской (устойчивый), а также у линий Pb14.10 и у M7.3 и обширных некрозов у всех испытанных сортов и линий, кроме сорта Луговской, причем у линии M7.3 с наиболее высоким уровнем эндогенного пероксида водорода их было больше всего (см. табл. 1). Считается, что локальные некрозы являются фенотипическим проявлением реакции сверхчувствительности (СВЧ), характерной для устойчивых сортов растений [19]. Несколько неожиданным представляется наличие локальных некрозов у растений линии Pb14.10, по площади сопоставимых с растениями линии M7.3. Очевидно, что причин этому несколько, в их числе факт генетической трансформации, что уже обсуждалось выше, и более высокий титр патогенных бактерий. У растений линии M7.3 с наиболее высоким эндогенным уровнем пероксида водорода это привело к появлению, с одной стороны, обширных некрозов, как у среднеустойчивого сорта Скарб, но, с другой стороны, локальных некрозов, являющихся показателем индуцированных защитных ответов. Вероятно, активация защитных механизмов оказалась вполне эффективной, поскольку скорость роста таких растений хотя и снижалась, но в меньшей степени, и была сопоставима с таковой у растений сорта Луговской (см. рис. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, представляется, что в модельной системе картофель *in vitro* – повышенный титр *Cms* необходимо учитывать не хлорозы, появляющиеся у растений всех сортов картофеля, а локальные и обширные некрозы на листьях, которые являются своеобразными индикаторами наличия/отсутствия защитных реакций у растений.

Известно, что индукция защитных реакций растений, в частности апоптоз и СВЧ, является энергозатратным процессом [18] и может снижать скорость роста инфицированных растений. Этот показатель при высоком титре *Cms* снижался у всех опытных растений (15–30% по сравнению с контролем), однако у трансгенных линий L17.2 и M7.3, а также у растений сорта Луговской в наименьшей степени, что свидетельствует о достаточной надежности механизмов устойчивости данных растений.

Все сигнальные системы растений взаимосвязаны, и изменение концентрации одних сигнальных молекул может оказывать эффект на другие вторичные мессенджеры. Литературные [11, 20] и наши собственные данные [21] указывают на то, что изменение уровня эндогенного пероксида водорода и цАМФ в растениях также взаимосвязано. Совокупность наблюдаемых симптомов у растений трансгенных линий картофеля указывает, скорее всего, на изменение качества ответных защитных реакций (обширные некрозы наряду с локальными), которые связаны со слишком высоким базовым уровнем эндогенного пероксида водорода и вызванным этим дисбалансом в уровне цАМФ. По некоторым данным, предварительная обработка дибутирил-цАМФ (жирорастворимый цАМФ, способный проникать в клетку) усиливала продукцию активных форм кислорода в клетках фасоли, которые ранее были обработаны элиситором из *Colletotrichum lindemuthianum* [19], а модуляция уровня цАМФ в клетках корней проростков гороха приводила к изменению внутриклеточного содержания пероксида водорода [21].

Инфицирование *Cms* с более низким титром вызывало повышение уровня цАМФ как в корне, так и в листьях опытных растений картофеля. Динамика этого процесса совпадала с изменением концентраций пероксида водорода в тех же органах растений и свидетельствовала не только о развитии защитных реакций у растений трансгенных линий и сорта Луговской, но и о сбалансированном системном сигнале, поступающем из корня в стебель [22]. Ранее было показано, что добавление экзополисахаридов *Cms* к корням растений картофеля устойчивого сорта Луговской вызывает системное повышение уровня цАМФ в верхушке стебля, чего не наблюдается у растений восприимчивого сорта Лукьяновский. Такой феномен связан с качественными и количественными особенностями рецепторов к экзополисахаридам (ЭПС) *Cms* в стенках и плазмалемме клеток растений картофеля различных сортов [23]. У растений восприимчивого сорта связывание ЭПС *Cms* с рецепторами приводило к ингибированию активности трансмембранной аденилатциклазы, что влекло за собой задержку в развитии системного сигнала и менее интенсивное повышение эндогенного уровня цАМФ. У растений устойчивого сорта кратковременное воздействие ЭПС *Cms* индуцировало сильную активацию этого фермента и полноценный системный ответ [12].

При инфицировании высоким титром *Cms* системное увеличение концентрации H_2O_2 по-прежнему наблюдалось в органах почти всех вариантов растений, однако распределение уровня цАМФ по органам существенно отличалось: весьма интенсивный системный ответ возникал только у растений сорта Луговской, тогда

как у растений сорта Скарб и Лукьяновский наблюдалось ингибирование системного ответа, что совпадало с отсутствием у них локальных некрозов, а у всех трансгенных линий уровень цАМФ оставался практически на уровне контроля, при этом на листьях наблюдались как локальные, так и обширные некрозы. Таким образом, степень развития и качество защитных реакций у растений картофеля связаны с изменением, в том числе уровня эндогенного цАМФ. По литературным данным, основной сигнальной молекулой, индуцирующей реакцию СВЧ, является эндогенный пероксид водорода [19]. Однако показано, что ингибирование трансмембранной аденилатциклазы, а значит, и понижение концентрации цАМФ, блокирует реакцию СВЧ в *Arabidopsis thaliana* [11]. По другим сведениям, сайленсинг (замолкание) рекомбинантной аденилатциклазы NbAC у растений *Nicotiana benthamiana* приводит к уменьшению количества локальных некрозов после воздействия табкоцина [24].

Известно, что СВЧ является продуктом взаимодействия PR-белков (pathogen resistant protein) с соответствующими эффекторными белками фитопатогенов [25]. *Cms* относится к грамположительным фитопатогенам, у которых, как считается, отсутствуют эффекторные молекулы. Однако показано, что экзометаболический комплекс данного возбудителя содержит белковые молекулы, способные вызывать реакцию СВЧ у растений табака и устойчивых сортов картофеля, присущую эффектор-запускаемому иммунитету. К ним относятся экзогенные протеазы, которые предположительно могут разрушать паттерн-распознающие рецепторы (PRR, pattern recognition receptors), томиназы и β -десатуразы [26].

Многочисленные литературные данные указывают на то, что защитные ответы растений к патогенам регулируются не единственным сигнальным каскадом, а сложной сетью сигнальных систем [10, 20]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что одним из возможных путей активации системного индуцированного иммунитета у растений картофеля, приводящим к развитию реакции СВЧ, может быть первоначальная специфическая активация компонентов аденилатциклазной сигнальной системы через лиганд-рецепторный механизм. Повышение уровня эндогенного цАМФ способно активировать нуклеотид-зависимые кальциевые каналы [27], а увеличение уровня внутриклеточного кальция может влиять на активность НАДФН-оксидазы и супероксиддисмутазы [28], тем самым регулируя уровень эндогенного пероксида водорода.

Полученные результаты, помимо описанного возможного механизма активации эффектор-индуцированного иммунитета (ETI), позволяют сделать вывод о целесообразности практического применения трансгенных растений такого типа: как

правило, в природе инфекционная нагрузка *Sms* на растения картофеля не приводит к обширным и локальным некрозам на листьях, однако сезонные ухудшения условий роста из-за слишком высокого уровня осадков могут стимулировать размножение

данного патогена и повышать инфекционную нагрузку на растения картофеля. Внедрение в практику овощеводства таких трансгенных линий картофеля может существенно снизить потери от бактериозов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кочетов А. В., Шумный В. К. Трансгенные растения как генетические модели для изучения функций генов растений // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т. 20. N 4. С. 475–481. <https://doi.org/10.18699/VJ16.179>.
2. Mengarelli D. A., Tewes L. R., Balazadeh S., Zanor M. I. FITNESS acts as a negative regulator of immunity and influences the plant reproductive output after *Pseudomonas syringae* infection // *Frontiers Plant Science*. 2021. Vol. 12. Article 606791. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.606791>.
3. Wu G., Shortt B. J., Lawrence E. B., Levine E. B., Fitzsimmons K. C., Shah D. M. Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H₂O₂-generating glucose oxidase in transgenic potato plants // *Plant Cell*. 1995. Vol. 7, no. 9. P. 1357–1368. <https://doi.org/10.1105/tpc.7.9.1357>.
4. Савчин Д. В., Панюш А. С., Картель Н. А. Молекулярно-генетический анализ трансгенных растений картофеля с геном *gox Penicillium funiculosum* // Труды Белорусского государственного университета. 2011. Т. 6. N 2. С. 116.
5. Keller H., Pamboukdjian N., Ponchet M., Poupet A., Delon R., Verrier J.-L., et al. Pathogen-induced elicitor production in transgenic tobacco generates a hypersensitive response and nonspecific disease resistance // *Plant Cell*. 1999. Vol. 11, no. 2. P. 223–225. <https://doi.org/10.1105/tpc.11.2.223>.
6. Lee Y. H., Yoon I. S., Suh S. C., Kim H. I. Enhanced disease resistance in transgenic cabbage and tobacco expressing a glucose oxidase gene from *Aspergillus niger* // *Plant Cell Reports*. 2002. Vol. 20, no. 12. P. 857–863. <https://doi.org/10.1007/s00299-001-0416-x>.
7. Ткачук В. А., Тюрин-Кузьмин П. А., Белосов В. В., Воротников А. В. Пероксид водорода как новый вторичный посредник // Биологические мембраны. 2012. Т. 29. N 1-2. С. 21–37.
8. Креславский В. Д., Лось Д. А., Аллахвердиев С. И., Кузнецов Вл. В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. 2012. Т. 59. N 2. С. 163.
9. Шакирова Ф. М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.
10. Ma Y., Zhao Y., Walker R., Berkowitz G. Molecular steps in the immune signaling pathway evoked by plant elicitor peptides: Ca²⁺-dependent protein kinases, nitric oxide, and reactive oxygen species are downstream from the early Ca²⁺ signal // *Plant Physiology*. 2013. Vol. 163, no. 3. P. 1459–1471. <https://doi.org/10.1104/pp.113.226068>.
11. Ma W., Qi Z., Smigel A., Walker R. K., Verma R., Berkowitz G. A. Ca²⁺, cAMP, and transduction of non-self perception during plant immune responses // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009. Vol. 106. N 49. P. 20995–21000. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905831106>.
12. Ломоватская Л. А., Романенко А. С., Филинова Н. В. Аденилатциклазы растений: влияние биотического стрессора на кинетические параметры трансмембранной и «растворимой» форм аденилатциклазы // Биологические мембраны. 2014. Т. 31. N 2. С. 129–136. <https://doi.org/10.7868/S0233475514010071>.
13. Ломоватская Л. А., Кузакова О. В., Симанова А. А., Соколова Л. Г., Романенко А. С. Характер изменения уровня цАМФ у растений как возможный критерий устойчивости культур к загрязнению почв фторидами // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2015. Т. 14. N 3. С. 54–60.
14. Романенко А. С., Ломоватская Л. А., Граскова И. А. Некрозы как необычные симптомы кольцевой гнили картофеля // Физиология растений. 2002. Т. 49. N 5. С. 773–778.
15. Попов В. Н., Антипина А. В., Астахова Н. В. Изменения ультраструктуры хлоропластов табака в процессе защиты от окислительного стресса при гипотермии // Физиология растений. 2016. Т. 63. N 3. С. 319–326. <https://doi.org/10.7868/S0015330316030118>.
16. Peleg-Grossman S., Melamed-Book N., Levine A. ROS production during symbiotic infection suppresses pathogenesis-related gene expression // *Plant Signaling & Behavior*. 2012. Vol. 7, no. 3. P. 409–415. <https://doi.org/10.4161/psb.19217>.
17. Захарченко Н. С., Бурьянов Я. И., Лебедева А. А., Пиголева С. В., Ветошкина В. Д., Локтюшов Е. В. [и др.]. Физиологические особенности трансгенных растений рапса, экспрессирующих ген антимикробного пептида цекропина P1 // Физиология растений. 2013. Т. 60. N 3. С. 424–433. <https://doi.org/10.7868/S0015330313030160>.
18. Enikeev A. G., Kopytina T. V., Semenova L. A., Natyaganova A. V., Gamanetz L. V., Volkova O. D. Agrobacterial transformation as complex biotical stressing factor // *Journal Stress Physiology & Biochemistry*. 2008. Vol. 4, no. 1. P. 11–19.
19. Ванюшин Б. Ф. Апоптоз у растений // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 3–38.
20. Ломоватская Л. А., Кузакова О. В., Гончарова А. М., Романенко А. С. цАМФ участвует в регуляции уровня пероксида водорода в корне проростков гороха при биотическом стрессе //

Физиология растений. 2020. Т. 67. N 3. С. 270–277. <https://doi.org/10.1134/S0015330320020104>.

21. Bindschedler L. V., Minibayeva F., Gardner S. L., Gerrish C., Davies D. R., Bolwell G. P. Early signaling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured French bean cells involve cAMP and Ca^{2+} // *New Phytologist*. 2001. Vol. 151, no. 1. P. 185–194. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00170.x>.

22. Huber A. E., Bauerle T. L. Long-distance plant signaling pathways in response to multiple stressors: the gap in knowledge // *Journal of Experimental Botany*. 2016. Vol. 67, no. 7. P. 2063–2079. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw099>.

23. Romanenko A. S., Lomovatskaya L. A., Shafikova T. N., Borovskii G. B., Krivolapova N. V. Potato cell plasma membrane receptors to ring rot pathogen extracellular polysaccharides // *Journal of Phytopathology*. 2003. Vol. 151, no. 1. P. 1–6. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2003.00667.x>.

24. Ito M., Takahashi H., Sawasaki T., Ohnishi K., Hikichi Y., Kiba A. Novel type of adenyl cyclase participates in tabtoxinine- β -lactam-induced cell death and occurrence of wildfire disease in *Nicotiana benthamiana* // *Plant Signaling & Behavior*. 2014. Vol. 9, no. 1. <https://doi.org/10.4161/psb.27420>.

25. Яруллина Л. Г., Касимова Р. И., Бурханова Г. Ф., Муратова М. В., Черепанова Е. А. АФК в регуляции активности PR-белков при индуцированной устойчивости растений // Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений. Роль активных форм кислорода в жизни растений: материалы II Международного симпозиума и международной научной школы (г. Уфа, 26 июня – 01 июля 2017 г.). Уфа: Первая типография, 2017. С. 288–292.

26. Омеличкина Ю. В., Бояркина С. В., Шафикова Т. Н. Реакции эффектор-активируемого иммунитета в культурах клеток картофеля и табака при действии фитопатогена *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* // Физиология растений. 2017. Т. 64. N 3. С. 204–212. <https://doi.org/10.7868/S0015330317020099>.

27. S'wieżawska-Boniecka B., Duszyn M., Mateusz Kwiatkowski M., Szmidt-Jaworska A., Jaworski K. Cross talk between cyclic nucleotides and calcium signaling pathways in plants—achievements and prospects // *Frontiers Plant Science*. 2021. Vol. 12. Article number 643560.

28. Бараненко В. В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. 2006. Т. 48. N 6. С. 465–474.

REFERENCES

1. Kochetov A. V., Shumny V. K. Transgenic plants as genetic models for studying functions of plant genes. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(4):475–481. (In Russian). <https://doi.org/10.18699/VJ16.179>.

2. Mengarelli D. A., Tewes L. R., Balazadeh S., Zanol M. I. FITNESS acts as a negative regulator of immunity and influences the plant reproductive output after *Pseudomonas syringae* infection. *Frontiers Plant Science*. 2021;12. Article 606791. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.606791>.

3. Wu G., Shortt B. J., Lawrence E. B., Levine E. B., Fitzsimmons K. C., Shah D. M. Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H_2O_2 -generating glucose oxidase in transgenic potato plants. *Plant Cell*. 1995;7(9):1357–1368. <https://doi.org/10.1105/tpc.7.9.1357>.

4. Savchin D. V., Panyush A. S., Kartel' N. A. Molecular genetic analysis of transgenic potato plants with the *gox* gene of *Penicillium funiculosum*. *Trudy Belorusskogo Gosudarstvennogo Universiteta*. 2011;6(2):116.

5. Keller H., Pamboukdjian N., Ponchet M., Poupet A., Delon R., Verrier J.-L., et al. Pathogen-induced elicitor production in transgenic tobacco generates a hypersensitive response and nonspecific disease resistance. *Plant Cell*. 1999;11(2):223–225. <https://doi.org/10.1105/tpc.11.2.223>.

6. Lee Y. H., Yoon I. S., Suh S. C., Kim H. I. Enhanced disease resistance in transgenic cabbage and tobacco expressing a glucose oxidase gene from *Aspergillus niger*. *Plant Cell Reports*. 2002;

20(12):857–863. <https://doi.org/10.1007/s00299-001-0416-x>.

7. Tkachuk V. A., Tyurin-Kuzmin P. A., Belousov V. V., Vorotnikov A. V. Hydrogen peroxide as a new second messenger. *Biologicheskie membrany* = *Biological Membranes*. 2012;29(1-2):21–37. (In Russian).

8. Kreslavski V. D., Allakhverdiev S. I., Los D. A., Kuznetsov V. V. Signaling role of reactive oxygen species in plants under stress. *Fiziologiya rastenii* = *Russian Journal of Plant Physiology*. 2012;59(2):163. (In Russian).

9. Shakirova F. M. Nonspecific frequency of diseases to stress diseases and its regulation. Ufa: Gilem; 2001. 160 p. (In Russian).

10. Ma Y., Zhao Y., Walker R., Berkowitz G. Molecular steps in the immune signaling pathway evoked by plant elicitor peptides: Ca^{2+} -dependent protein kinases, nitric oxide, and reactive oxygen species are downstream from the early Ca^{2+} signal. *Plant Physiology*. 2013;163(3):1459–1471. <https://doi.org/10.1104/pp.113.226068>.

11. Ma W., Qi Z., Smigel A., Walker R. K., Verma R., Berkowitz G. A. Ca^{2+} , cAMP, and transduction of non-self perception during plant immune responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(49):20995–21000. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905831106>.

12. Lomovatskaya L. A., Romanenko A. S., Filinova N. V. Plant adenylate cyclase: influence of a biotic stressor on the kinetic parameters of transmembrane and “soluble” forms of adenylate cyclase.

Biologicheskie membrany = Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. 2014;31(2):129-136. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0233475514010071>.

13. Lomovatskaya L. A., Kuzakova O. V., Simakova A. A., Sokolova L. G., Romanenko A. S. Character of cAMP level change in plants as a probable criterion of cultivars resistance to soil pollution by fluorides. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology.* (In Russian). 2015;14(3):54-60.

14. Romanenko A. S., Lomovatskaya L. A., Graskova I. A. Necrosis as uncommon symptoms of potato ring rot. *Fiziologiya rastenii = Russian Journal of Plant Physiology.* 2002;49(5):773-778. (In Russian).

15. Popov V. N., Antipina O. V., Astakhova N. V. Changes in chloroplast ultrastructure of tobacco plants in the course of protection from oxidative stress under hypothermia. *Fiziologiya rastenii = Russian Journal of Plant Physiology.* 2016;63(3):319-326. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0015330316030118>.

16. Peleg-Grossman S., Melamed-Book N., Levine A. ROS production during symbiotic infection suppresses pathogenesis-related gene expression. *Plant Signaling & Behavior.* 2012;7(3):409-415. <https://doi.org/10.4161/psb.19217>.

17. Zakharchenko N. S., Buryanov Y. I., Lebdeva A. A., Pigoleva S. V., Vetoshkina D. V., Cherpunova M. A., et al. Physiological features of rape-seed plants expressing the gene for an antimicrobial peptide cecropin P1. *Fiziologiya rastenii = Russian Journal of Plant Physiology.* 2013;60(3):424-433. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0015330313030160>.

18. Enikeev A. G., Kopytina T. V., Semenova L. A., Ntyaganova A. V., Gamanetz L. V., Volkova O. D. Agrobacterial transformation as complex biotical stressing factor. *Journal Stress Physiology & Biochemistry.* 2008;4(1):11-19.

19. Vanyushin B. F. Apoptosis in plants. *Uspekhi biologicheskoi khimii.* 2001;41:3-38. (In Russian).

20. Lomovatskaya L. A., Kuzakova O. V., Goncharova A. M., Romanenko A. S. Implication of cAMP in regulation of hydrogen peroxide level in pea seedling roots under biotic stress. *Fiziologiya rastenii = Russian Journal of Plant Physiology.* 2020;67(3):270-277. (In Russian). <https://doi.org/10.1134/S0015330320020104>.

21. Bindschedler L. V., Minibayeva F., Gardner S. L., Gerrish C., Davies D. R., Bolwell G. P. Early signal-

ling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured French bean cells involve cAMP and Ca²⁺. *New Phytologist.* 2001;151(1):185-194. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00170.x>.

22. Huber A. E., Bauerle T. L. Long-distance plant signaling pathways in response to multiple stressors: the gap in knowledge. *Journal of Experimental Botany.* 2016;67(7):2063-2079. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw099>.

23. Romanenko A. S., Lomovatskaya L. A., Shafikova T. N., Borovskii G. B., Krivolapova N. V. Potato cell plasma membrane receptors to ring rot pathogen extracellular polysaccharides. *Journal of Phytopathology.* 2003;151(1):1-6. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2003.00667.x>.

24. Ito M., Takahashi H., Sawasaki T., Ohnishi K., Hikichi Y., Kiba A. Novel type of adenyl cyclase participates in tabtoxinine-β-lactam-induced cell death and occurrence of wildfire disease in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Signaling & Behavior.* 2014;9(1). <https://doi.org/10.4161/psb.27420>.

25. Yarullina L. G., Kasimova R. I., Burkhanova G. F., Muratova M. V., Cherepanova E. A. ROS in the regulation of PR protein activity in induced plant resistance. In: *Molekulyarnye aspekty redoks-metabolizma rastenii. Rol' aktivnykh form kisloroda v zhizni rastenii: materialy II Mezhdunarodnogo simpoziuma i mezhdunarodnoi nauchnoi shkoly = Molecular aspects of plant redox metabolism. The Role of Reactive Oxygen Species in Plant Life: Proceedings of the II International Symposium and the International Scientific School.* Ufa, June 26 – July 01, 2017. Ufa: Pervaya tipografiya; 2017, p. 288-292. (In Russian).

26. Omelichkina Y. V., Boyarkina S. V., Shafikova T. N. Effector-activated immune responses in potato and tobacco cell cultures caused by phytopathogen *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*. *Fiziologiya rastenii = Russian Journal of Plant Physiology.* 2017;64(3):204-212. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0015330317020099>.

27. S'wieszawska-Boniecka B., Duszyn M., Mateusz Kwiatkowski M., Szmidt-Jaworska A., Jaworski K. Cross talk between cyclic nucleotides and calcium signaling pathways in plants—achievements and prospects. *Frontiers Plant Science.* 2021. Vol. 12. Article number 643560.

28. Baranenko V. V. Superoxide dismutase in plant cells. *Tsitologiya = Cell and Tissue Biology.* 2006;48(6):465-474. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Л. А. Ломоватская,
д.б.н., главный научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Lidia A. Lomovatskaya,
Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry, SB RAS,
132, Lermontov St., 664033, Irkutsk,
Russian Federation,

LidaL@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1879-5150>

Н. В. Филинова,
к.б.н., научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация;
Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского
СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
Filinova@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7647-9271>

А. С. Романенко,
д.б.н., главный научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
Rom@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6418-6244>

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 18.06.2021.
Одобрена после рецензирования 10.09.2021.
Принята к публикации 30.09.2021.*

LidaL@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1879-5150>

Nadezhda V. Filinova,
Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry, SB RAS,
132, Lermontov St., 664033, Irkutsk,
Russian Federation;
A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry,
SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
Filinova@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7647-9271>

Anatoly S. Romanenko,
Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry, SB RAS,
132, Lermontov St., 664033, Irkutsk,
Russian Federation,
Rom@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6418-6244>

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 18.06.2021.
Approved after reviewing 10.09.2021.
Accepted for publication 30.09.2021.*

Научная статья

УДК 544.2/544.7. 612.396.114:663:542

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-279-290>



Макромолекулярный состав инулина различного происхождения в концентрированном растворе

Ашурбой Илхомбойевич Ашуров*, Замира Умаралиевна Шерова*,
Абубакр Саидкулович Насриддинов*, Сураё Рахматжоновна Усманова*,
Хуршед Икром Икромии**, Зайниддин Камарович Мухидинов*

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

**Таджикский технологический университет, г. Душанбе, Республика Таджикистан

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

Аннотация. В данной работе представлены исследования молекулярно-массового распределения инулина разного происхождения с целью дальнейшего изучения механизма их самоорганизации в концентрированном растворе. Посредством доступного метода турбидиметрического титрования на основе интегральных и дифференциальных кривых молекулярно-массового распределения рассматривались следующие образцы инулина: коммерческого из топинамбура (А), экспериментального из топинамбура (В) и экспериментального из цикория (С). Обнаружено, что у образцов инулина А и В присутствуют 3 макромолекулярные фракции (изоформы), которые в отдельности имеют узкое молекулярно-массовое распределение. С увеличением концентрации инулина в растворе происходит самоорганизация макромолекул, что приводит к более мутному раствору в точке максимума и появлению новых изоформ. С увеличением концентрации полимера в инулине А наблюдается рост агрегатов для изоформы 3 и 5, в инулине В, наоборот, происходит растворение агрегатов и превращение изоформ из высокой в низкие молекулярные массы. В образце инулина С все 4 изоформы инулина выделяются отчетливо. По результатам исследования взаимодействия макромолекул в концентрированном растворе можно сделать вывод, что метод турбидиметрического титрования вполне может дополнить дорогостоящие методы определения молекулярно-массового распределения полимеров: высокоэффективную эксклюзионную жидкостную хроматографию, ультрацентрифугирование, светорассеивание и другие современные методы. Исследование свойств уникальных по структуре инулинов может значительно расширить спектр их применения.

Ключевые слова: инулин, изоформы, турбидиметрическое титрование, молекулярно-массовое распределение

Для цитирования: Ашуров А. И., Шерова З. У., Насриддинов А. С., Усманова С. Р., Икромии Х. И., Мухидинов З. К. Макромолекулярный состав инулина различного происхождения в концентрированном растворе // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 279–290. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-279-290>.

Macromolecular composition of inulins of various origin in concentrated solution

Ashurboy I. Ashurov*, Zamira U. Sherova*, Abubakr S. Nasriddinov*,
Surayov R. Usmanova*, Khurshed I. Ikromi**, Zainiddin K. Muhidinov*

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

**Technological University of Tajikistan, Dushanbe, Republic of Tajikistan

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

Abstract. A research study into the molecular weight distribution of inulins of various origin was conducted to elucidate the mechanism of their self-organization in concentrated solutions. Using the conventional turbidimetric titration method based on integral and differential molecular weight distribution curves, the following inulin samples were examined: commercial girasol (A), experimental girasol (B) and experimental chicory (C). Inulin A and B samples were found to include three macromolecular fractions (isoforms), each exhibiting a narrow molecular weight distribution. An increase in inulin concentration in the solution leads to self-organization of macromolecules, resulting in a more turbid solution at the point of maximum and the appearance of new isoforms. An increase in polymer concentration in inulin A leads to an increase in the aggregates of isoforms 3 and 5. Conversely, in inulin B, aggregates dissolve making isoforms convert from high- to low molecular weights. In inulin C, all four inulin isoforms are clearly represented. An analysis of the interaction of macromolecules in a concentrated solution confirmed the applicability of turbidimetric titration for determining the molecular weight distribution of polymers, along with such costly procedures, as high-performance size exclusion liquid chromatography, ultracentrifugation and light scattering. Research into the properties of unique inulins may significantly expand the range of their practical application.

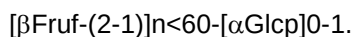
Keywords: inulin, isoforms, turbidimetric titration, molecular weight distribution

For citation: Ashurov A. I., Sherova Z. U., Nasriddinov A. S., Usmanova S. R., Ikromi Kh. I., Muhidinov Z. K. Macromolecular composition of inulins of various origin in concentrated solution. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):279-290. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-279-290>.

ВВЕДЕНИЕ

Известно о профилактических свойствах инулинсодержащего сырья для больных диабетом, такое сырье способно повысить иммунозащитные свойства организма человека [1–4]. Создание пищевых продуктов на основе инулинсодержащего растительного сырья позволит обеспечить население функциональным питанием диабетического характера.

Инулин – это природный полисахарид с уникальными физико-химическими свойствами, которые позволяют использовать его в пищевой и фармацевтической промышленности. Известно, что инулин представляет собой линейный полидисперсный фруктан, состоящий из молекул фруктозы, связанных β (2→1)-связями с остатками D-глюкозы в конце цепи¹ [5], что образуют смеси полисахаридов различной степени полимеризации (СП) – от 15 до примерно 60 [5]:



Полисахариды, содержащие фуранозильные

звенья, подвергаются кислотному катализируемому гидролизу намного легче, чем молекулы, содержащие пиранозильные звенья. С биологической точки зрения инулин является запасным полисахаридом, и его макромолекулы формируются на различных стадиях синтеза и, возможно, распада макромолекул в нативном виде. Другими факторами, связанными с изменением молекулярной массы инулина, являются его источник, условия выращивания, условия сбора и время хранения после сбора растений [4, 6].

Наибольшее содержание инулина обнаруживается в корнях таких растений семейства Asteraceae, как *Arctium* sp. (лопух), *Cichorium* sp. (цикорий), *Taraxacum* sp. (одуванчик), *Smilanthus* sp. (якон), *Inula* sp. (девясил) и др. В промышленных масштабах инулин получают из цикория, топинамбура и агавы [3]. Содержание инулина в цикории и топинамбуре достигает до 20–30%, в корнях одуванчика, пастернаке, овсяном корне, клубнях георгина, луке-порее – до 15%, репчатом луке – 2–6%, спарже – 10–15%, девясиле – 9–12%, и др. [3, 4, 7].

¹Meyer D., Blaauhuoed J. P. Inulin. In: Handbook of hydrocolloids. Phillips G. O., Williams P. A. (eds.). Boca Raton, CRC Press, 2009. P. 829–849.

Инулин находит широкое применение в качестве биологически активной добавки к пище как пребиотик. Потребление инулина с пищей обеспечивает создание оптимальных условий для роста и развития нормальной микрофлоры кишечника, повышенную устойчивость пищеварительной системы к бактериальным и вирусным инфекциям [3, 8–10]. Цикорийевый инулин в количестве 10–12 г в сутки улучшает стул у людей, страдающих запорами, авторы объясняют этот эффект влиянием на кишечную микрофлору [10]. Источники инулина в последнее время вызывают все больший интерес, поскольку они являются возобновляемым сырьем для производства фруктозного сиропа, одноклеточного белка, олигосахаридов и других пребиотических продуктов.

Корень цикория (*Cichorium*) в основном состоит из инулина. Инулин-пребиотик способствует росту полезных кишечных бактерий, регулирует концентрацию сахара в крови, особенно у людей с диабетом, пищевые волокна цикория могут помочь облегчить запор и увеличить частоту стула [1–3, 7].

Технология экстракции инулина из корней цикория аналогична экстракции его из корнеклубней топинамбура [11] и сахарозы из сахарной свеклы. Классическая экстракция инулина осуществляется из цикория путем обработки горячей водой. Эта процедура обычно требует длительного времени экстракции (1,5–2 ч). Первый этап очистки применяется к экстракционному соку путем известковой обработки с помощью $\text{Ca}(\text{OH})_2$ при высоком значении pH. Сырой сок дополнительно очищается с использованием катионных и анионных ионообменных смол для деминерализации и активированного угля для обесцвечивания. Затем сок пропускают через фильтр 0,2 мкм для стерилизации перед выпариванием и сушат [11–13].

В природе существует несколько типов инулина, которые различаются по степени полимеризации и молекулярной массе в зависимости от источника, времени сбора и условий обработки¹ [5, 6, 14].

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 [14–16]. Теоретические исследования показывают, что допустимы многие формы инулина. На практике было обнаружено, что как α -, так и β -формы являются нестабильными конформациями в воде, так как вскоре превращаются в новую третью форму (γ), которая была в значительной степени нерастворима при температуре тела. Это свойство допускает ряд сильных биологических эффектов [13] у макромолекулы инулина. Четвертая изоформа инулина –

δ -форма [15], которая еще более активна, теперь идентифицирована. Все эти изоформы растворимы в концентрациях 10–15 масс.% при температуре ниже 75 °C, что позволяет легко очищать их для клинического использования с минимальной степенью гидролиза. Структурные последствия существования таких изоформ представляют значительный интерес [15, 17]. В воде инулин претерпевает обратное превращение из более растворимой в менее растворимую форму наподобие ретроградного крахмала [18].

Большое разнообразие применений, которыми обладают фруктаны, тесно связано с их структурным и конформационным разнообразием. Фруктаны с высоким значением DP характерны для артишока (DP от 32 до 42) [9]. Фруктаны с короткой цепью (DP<10) часто называют фруктоолигосахаридами (ФОС), тогда как полимеры с длинной цепью (DP>10) обычно именуется инулином [8].

Для определения конкретного коммерческого применения определенного фруктана необходимо глубокое понимание его структуры, размера и конформации. Например, ФОС низкой степени полимеризации могут использоваться в качестве некалорийных подсластителей, но в качестве загустителей больше подходят высокоразветвленные фруктаны с высокой молекулярной массой. Синтез, химические превращения, а также разрушение макромолекулы могут быть эффективно оценены по изменению их молярной массы [19].

Исследование свойств этих уникальных по структуре инулинов может значительно расширить спектр их применения. В литературе данные по молекулярно-массовому распределению (ММР) инулинов немногочисленные [14, 20]. В связи с этим представляют интерес исследования ММР инулинов разного происхождения из местного сырья с целью дальнейшего изучения механизма их самоорганизации в разбавленном и концентрированном растворах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для исследования использовали три образца инулина: инулин А из топинамбура (Chongqing Joywin Natural Products Co Ltd., Китай), инулин В, полученный из корнеклубней топинамбура сорта Сарват, выращенного в Республике Таджикистан по методике [12], и инулин С, извлеченный водной экстракцией по классической методике [11] из корней цикория, произрастающего в г. Душанбе, Республика Таджикистан.

Предварительно растворитель (дистиллированную воду) и осадитель (этанол) очищали пропусканием через тонкопористую мембрану (0,2 мкм, PVDF, Millipore Corp., США).

В 1-м эксперименте в 0,5 г каждого инулина добавляли по 50 мл воды и перемешивали до полного растворения. Во 2-м эксперименте в 0,75 г каждого инулина добавляли по 50 мл воды

и также перемешивали до полного растворения.

Затем растворы центрифугировали при 6000 об/мин. После удаления механических примесей и осадка концентрации растворов составили 0,99% для инулина А; 0,95% – для инулина В 1 и 2-го эксперимента; 1,47, 1,43 и 1,45% для инулинов А, В, и С соответственно 2-го эксперимента. В кювету турбидиметра добавляли по 30 мл чистого раствора инулина, постепенно добавляли осадитель (95%-й спирт) и измеряли мутность в нефелометрических единицах (NTU).

Турбидиметрическое титрование проводили на лабораторном турбидиметре 2100 AN IS (НАСН, США) при температуре $20 \pm 0,3$ °С. Сначала осуществляли предварительное грубое титрование: 30 мл раствора инулина с концентрацией 0,96% помещали на магнитную мешалку Variomag (Thermo Scientific, США) и при перемешивании титровали раствором 96%-го спирта до появления еле заметного помутнения. Замеряли объем осадителя, израсходованного на грубое титрование.

Далее проводили точное титрование. Для этого в стаканчик наливали исходный раствор инулина, соответствующий приблизительно объему измерительной ячейки, ставили на магнитную мешалку и при непрерывном перемешивании добавляли определенное количество осадителя – 96%-й этанол. После каждой порции осадителя переливали содержимое стаканчика в стандартный герметичный сосуд, который помещали в измерительную ячейку турбидиметра, и определяли мутность в NTU. Отсчеты производили при добавлении осадителя до тех пор, пока мутность раствора не перестала изменяться. Обработка полученных данных проводилась по методике, описанной в работе [21].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В табл. 1 в качестве примера приведены данные турбидиметрического титрования растворов инулина и расчет параметров для построения интегральных и дифференциальных кривых молекулярно-массового распределения образцов инулина.

Как видно из рис. 1, кривая зависимости мутности раствора инулина от объемной доли осадителя (интегральная кривая турбидиметрического титрования) имеет пологую форму, что указывает на широкое ММР макромолекул инулина А. В то же время у интегральной кривой турбидиметрического титрования образцов как инулина А, так и инулина В (рис. 2) наблюдается 2 максимума, что указывает на бимодальное и широкое ММР макромолекул образцов инулина из топинамбура.

Таблица 1. Результаты турбидиметрического титрования раствора инулина А, C=0,99%

Table 1. Results of turbidimetric titration of inulin solution A, C=0.99%

V, мл	$Y=V/V_0-V$	ΔY	1-Y	T.NTU	$T_1=T-T_0$	$T_2=T_1/1-Y$	ΔT_2	$\Delta T_2/\Delta Y$
1	0,032		0,968	2,25	0,9	0,88		
2	0,063	0,030	0,938	2,05	0,7	0,69	-0,19	-6,117
5	0,143	0,080	0,857	1,65	0,3	0,29	-0,40	-4,999
7	0,189	0,046	0,811	1,76	0,4	0,44	0,15	3,288
9	0,231	0,042	0,769	1,45	0,1	0,07	-0,38	-9,115
11	0,268	0,038	0,732	1,50	0,1	0,14	0,07	1,910
13	0,302	0,034	0,698	1,60	0,2	0,29	0,15	4,408
14	0,318	0,016	0,682	1,82	0,4	0,62	0,33	20,770
15	0,333	0,031	0,667	1,67	0,3	0,41	0,12	3,816
17	0,362	0,028	0,638	1,48	0,1	0,13	-0,28	-9,858
19	0,388	0,026	0,612	1,62	0,2	0,36	0,23	8,982
24	0,444	0,057	0,556	2,20	0,8	1,44	1,08	19,063
26	0,464	0,020	0,536	2,90	1,5	2,80	1,36	68,544
28	0,483	0,018	0,517	2,44	1,0	2,01	-0,79	-42,729
30	0,500	0,017	0,500	2,47	1,1	2,14	0,13	7,501
35	0,538	0,038	0,462	2,67	1,3	2,75	0,61	15,903
40	0,571	0,033	0,429	3,08	1,7	3,92	1,17	35,439
45	0,600	0,029	0,400	4,40	3,0	7,50	3,58	125,300

Примечание. V – объем добавленного осадителя; T – мутность раствора полимера; T_0 – мутность прозрачного раствора полимера, равная 1,55 NTU; V_0 – начальный объем раствора полимера, равный 35,23 мл; y – объемная доля осадителя; T_1 – мутность, обусловленная выделенным полимером; T_2 – мутность с поправкой на разбавление раствора.

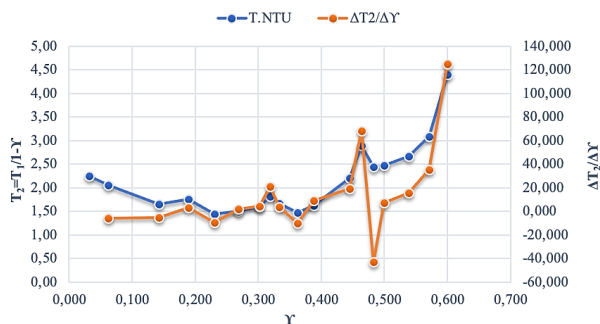


Рис. 1. Интегральная (T_2) и дифференциальная ($\Delta T_2/\Delta Y$) кривые турбидиметрического титрования раствора инулина А (концентрация инулина 0,99%)

Fig. 1. Integral (T_2) and differential ($\Delta T_2/\Delta Y$) curves of turbidimetric titration of inulin A solution (inulin concentration 0.99%)

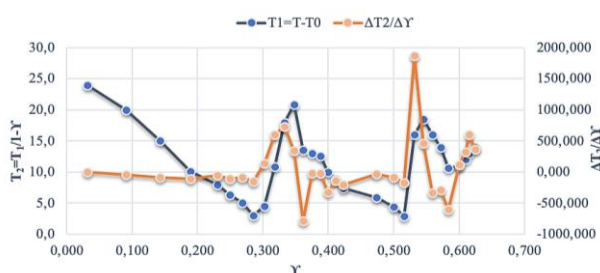


Рис. 2. Интегральная (T_2) и дифференциальная ($\Delta T_2/\Delta Y$) кривые турбидиметрического титрования раствора инулина В (концентрация инулина 0,95%)

Fig. 2. Integral (T_2) and differential ($\Delta T_2/\Delta Y$) curves of turbidimetric titration of inulin B solution (inulin concentration 0.95%)

По дифференциальным кривым турбидиметрического титрования образцов инулина А (см. рис. 1) и В (см. рис. 2) можно выявить, что у 2-х образцов инулина присутствуют 3 макромолекулярных фракции (изоформы), которые в отдельности имеют узкое ММР.

Поскольку в обоих образцах инулина наблюдались небольшие пики в профиле кривых дифференциального турбидиметрического титрования (далее – кривые ММР), было принято решение увеличить концентрацию инулина в исходном растворе.

Из профиля кривых ММР инулинов, представленных на рис. 3 и 4, четко видно 4 пика, указывающих на образование 4-х молекулярных изоформ макромолекулы инулина с увеличением его концентрации.

На основании анализа кривых ММР можно предположить, что первый небольшой пик происходит при объемной доле осадителя 0,15–0,20, во всех образцах инулин относится к высокомолекулярной фракции полисахарида и, скорее всего, принадлежит к пектину.

На рис. 5 представлены результаты турбидиметрического титрования раствора инулина С при повышенной концентрации (1,45%). Этот образец получен из цикория посредством водной

экстракции по классической методике. В данном образце проявляются только 2 пика в области низкомолекулярных фракций инулина. При этом последняя фракция показала очень высокое значение мутности, на порядок превышающее показатель мутности инулинов А и В.

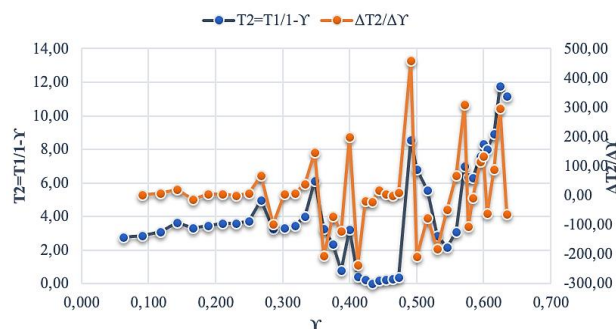


Рис. 3. Интегральная (T_2) и дифференциальная ($\Delta T_2/\Delta Y$) кривые турбидиметрического титрования раствора инулина А (концентрация инулина 1,47%)

Fig. 3. Integral (T_2) and differential ($\Delta T_2/\Delta Y$) curves of turbidimetric titration of inulin A solution (inulin concentration 1.47%)

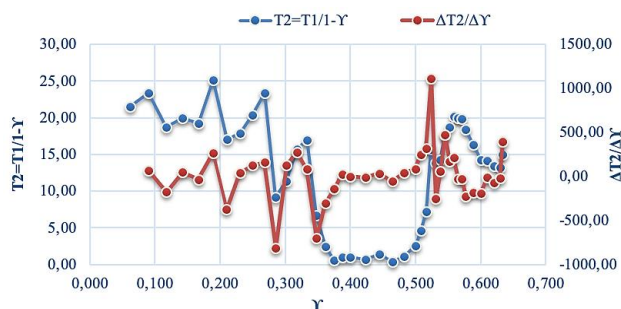


Рис. 4. Интегральная (T_2) и дифференциальная ($\Delta T_2/\Delta Y$) кривые турбидиметрического титрования раствора инулина В (концентрация инулина 1,43%)

Fig. 4. Integral (T_2) and differential ($\Delta T_2/\Delta Y$) curves of turbidimetric titration of inulin B solution (inulin concentration 1.43%)

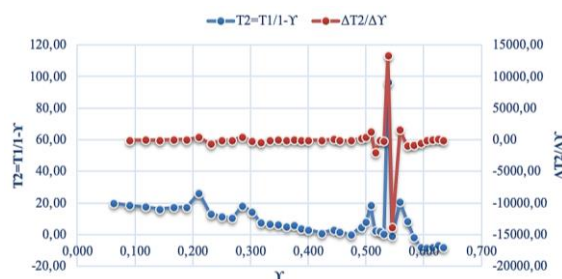


Рис. 5. Интегральная (T_2) и дифференциальная ($\Delta T_2/\Delta Y$) кривые турбидиметрического титрования раствора инулина С (концентрация инулина 1,45%)

Fig. 5. Integral (T_2) and differential ($\Delta T_2/\Delta Y$) curves of turbidimetric titration of inulin C solution (inulin concentration 1.45%)

Для более точной оценки изменения мутности в зависимости от объемной доли осадителя мы привели значения остальных максимумов (кроме начального пика) на кривых турбидиметрического титрования инулина А и В при 2-х изученных концентрациях (табл. 2–4).

Как и ожидалось, в корреляции с увеличением концентрации происходит самоорганизация макромолекул, что приводит к более мутному раствору в точке максимума (см. рис. 3, табл. 2) и появлению новых изоформ. Кроме того, было обнаружено, что полученные агрегаты более коллоидные (по значению $\Delta T_2/\Delta Y$) при более высокой начальной концентрации раствора, что также влияет на конечную морфологию макромолекулы.

Однако из анализа значений параметров в зависимости от объемной доли осадителя для инулина В наблюдается иная картина. С увеличением концентрации происходит уменьшение мутности вблизи максимумов (см. пик 3 и 5), значение T_2 заметно уменьшается для пиков 3 и 5 (20,9–17,3 NTU и 34,0–16,5 NTU соответственно). Это говорит о том, что если с увеличением концентрации полимера в инулине А происходит рост агрегатов для изоформ (пиков) 3 и 5, то в инулине В этот процесс осуществляется в обратном направлении, т.е. растворение агрегатов

и превращение изоформ с высокой молярной массой в таковых с низкими молекулярными массами.

Как видно из значения параметров мутности (см. табл. 4), в образце инулина С все 4 изоформы инулина четко выделяются, особенно превышает значение параметров мутности последняя низкомолекулярная фракция инулина – для инулина А в 40 и инулина В в 10 раз.

Изоформы инулина составляют возрастающую серию в последовательности β – α – γ – δ , в которой более низкие изоформы превращаются в более высокие при определенных температурах, и все высшие изоформы могут быть возвращены в более низкие путем полного растворения и перекристаллизации. В данном случае последовательность изоформ (β – α – γ – δ) соответствует максимумам 2–5 в обратном порядке (т.е. 5–4–3–2) в кривые ММР изученных образцов инулина.

Фруктаны смешанной структуры с высокой степенью разветвленности обеспечивают высокую растворимость в водной среде и не осаждаются при низких температурах в воде, в отличие от растворов инулина, которые нестабильны и выпадают в осадок [22].

Таблица 2. Значения параметров турбидиметрического титрования основных пиков инулина А, взятых из интегральных и дифференциальных кривых при 2-х концентрациях (в %)

Table 2. Turbidimetric titration parameters of the main peaks of inulin A taken from the integral and differential curves at 2 concentrations (in %)

Параметры ТДТ	Пик 2		Пик 3		Пик 4		Пик 5	
	0,99	1,47	0,99	1,47	0,99	1,47	0,99	1,47
γ	0,33	0,348	–	0,40	0,46	0,49	–	0,57
T_2	2,80	6,13	–	3,23	2,80	8,56	–	6,48
$\Delta T_2/\Delta Y$	20,8	147,0	–	200,0	68,5	459,0	–	308,0

Таблица 3. Значения параметров турбидиметрического титрования основных пиков инулина В, взятых из интегральных и дифференциальных кривых при 2-х концентрациях (в %)

Table 3. Turbidimetric titration parameters of the main peaks of inulin B taken from integral and differential curves at two concentrations (in %)

Параметры ТДТ	Пик 2		Пик 3		Пик 4		Пик 5	
	0,95	1,43	0,95	1,43	0,95	1,43	0,95	1,43
γ	–	0,27	0,35	0,38	–	–	0,53	0,52
T_2	–	23,3	20,9	17,3	–	–	34,0	16,5
$\Delta T_2/\Delta Y$	–	162	726,0	275,0	–	–	1865,0	1108,0

Таблица 4. Значения параметров турбидиметрического титрования основных пиков инулина С, взятых из интегральных и дифференциальных кривых при 2-х концентрациях (в %)

Table 4. Turbidimetric titration parameters of the main peaks of inulin C taken from the integral and differential curves at 2 concentrations (in %)

Параметры ТДТ	Пик 2	Пик 3	Пик 4	Пик 5
γ	0,22	0,28	0,51	0,54
T_2	26,4	19,4	18,5	96,2
$\Delta T_2/\Delta Y$	414,0	449,0	2020	13280,0

Таким образом, новые структуры образуются за счет обратимого связывания посредством водородных связей спиртовых групп, а не ковалентными связями, и более высокие изоформы имеют более высокое среднее значение молярной массы [23].

В предыдущей работе [20] были исследованы гидродинамические свойства и молекулярные массы 2-х образцов инулина топинамбура (полученные сравнительными методами: флэш-экстракционным методом (ФМ) при высокой температуре за короткое и более длительное время при традиционном методе (ТМ) в нейтральной среде) в разбавленном растворе.

Из результатов анализа ММР методом высокоэффективной эксклюзионной жидкостной хроматографии (ВЭЭЖХ) был сделан вывод о самоагрегирующих свойствах этого биополимера [20]. Как показали профили кривых ВЭЭЖХ образца инулина В, в очень разбавленном растворе (0,002%) присутствуют 2 изоформы: низкомолекулярный инулин и высокомолекулярный агрегат, представляющие собой изоформы γ и δ . При их разделении на УФ-мембране в растворе ретентата формировались, скорее всего, и другие изоформы (α и β), причем образовывалось большое количество высокоагрегированных нерастворимых в воде микрогелей. В то время как инулин, полученный ТМ способом, показал себя как макромолекула с одной изоформой, но с высокой степенью полидисперсности.

Существуют большие различия в молекулярных конформациях инулина для самых коротких олигомеров с СП ниже 9 и выше 20. Олигомеры с СП меньше 9 имеют организованные, хотя и менее четко определенные конформации. Олигомеры инулина с СП 9 и выше образуют регулярную спиральную структуру в виде 5 и 6-кратной спирали. Спиральные структуры каждой цепи могут объединяться в ряд изоформ, природа которых зависит от кинетики и термодинамики образования [14].

В работе [24] показана четкая разница между распределением молекулярных размеров 2-х фракций, полученных пропусканием раствора инулина через ультрафильтрационную мембрану. Среднечисловая (M_n) и средневесовая (M_w) молекулярные массы фракции пермеата составляли 3000 и 3221 Да соответственно. Эти значения для раствора ретентата были равны $M_n=4255$, $M_w=4629$. Средние значения СП составляли 18,4 и 26,1 соответственно для 1 и 2-й фракций.

В последнее время повышенное внимание ученых уделяется вопросам самоорганизации полисахаридов и белков [25, 26]. Эти системы нашли применение для разделения и удаления токсинов и бактерий, для распознавания опухолевых клеток и доставки инсулина, чувствительного к глюкозе [27].

Свойства самоорганизации натуральных и синтетических полимеров стремительно развиваются. Однако природные полимеры, полученные из нативных или модифицированных полисахаридов, такие как целлюлоза, хитозан, глюканы, камеди, пектины и крахмал, привлекают особое внимание в качестве сырья при производстве самоорганизующихся полимерных композиционных (СОПК) материалов, имеющих несколько форм: пленки, гидрогели, мицеллы и наночастицы [25–28]. Простота управления архитектурой СОПК материалов, а также их высокая доступность, низкая стоимость и экологичность были основными положительными моментами их использования для различных приложений. Тем не менее, с учетом их изобилия в природе углеводы остаются незамеченными молекулами в материаловедении, а их исключительные структурные свойства все еще не используются в полной мере.

Инулин, как и другие полисахариды, также богат гидроксильными группами, которые способны принимать участие в супрамолекулярных взаимодействиях, в частности через водородные связи. 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 [14, 24]. Поэтому мы исследовали инулин из различных источников в качестве полимера с промежуточной степенью полимеризации и лучшей растворимостью в воде.

Авторами [24] было 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 геометрию¹ [24].

Таким образом, инулин, неразветвленный олигосахарид с молекулярной массой от 1200 до 120 000 Да (СП 2–60 и выше), был исследован на предмет его склонности к самоорганизации в разбавленном и концентрированном растворах путем определения его ММР методами ВЭЭЖХ [20] и турбидиметрического титрования. 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 3-мерные сети образуют агрегированные коллоидные частицы инулина [5].

ВЫВОДЫ

На основе интегральных и дифференциальных кривых ММР образцов инулина (коммерческого из топинамбура (А) и двух экспериментальных – из топинамбура (В) и из цикория (С)) обнаружено, что у образцов инулина А и В присутствуют 3 макромолекулярные фракции (изоформы), которые в отдельности имеют узкое ММР. Показано, что с увеличением концентрации инулина в растворе происходит самоорганизация макромолекул, что приводит к более мутному раствору в точке максимума и появлению новых изоформ. С увеличением концентрации полимера в инулине А наблюдается рост агрегатов для изоформы 3 и 5, в инулине В, наоборот, происходит растворение агрегатов и превращение изоформ из высокой в низкие молекулярные массы. В образце инулина С все 4 изоформы инулина выделяются отчетливо.

Таким образом, данное исследование подтверждает имеющиеся в литературе гипотезы о поведении инулина в растворе с увеличением его концентрации, а именно возможность формировать агрегаты различного молекулярного веса, причем показано, что с ростом концентрации инулина в растворе могут образовываться микрогели. Анализ приведенных данных показы-

вает, что действительно существует золотая середина в структурной организации олигосахаридов. Фракции меньшего размера инулина образуют четко определенные супрамолекулярные сборки, в то время как большие фракции собираются в аморфные агрегаты – микрогели. Эти данные будут полезными при разработке и получении материалов в области нанотехнологий и материаловедения. Дальнейшие исследования по разработке композиционных материалов и наночастиц на основе инулина могут быть использованы в качестве новой системы доставки лекарств или других представляющих интерес молекул. Мы надеемся, что эта работа послужит концептуальной ступенькой на пути к превращению полисахаридов в важный класс структурированных материалов для применения в био- и нанотехнологии.

Кроме того, полученные данные показывают, что при исследовании взаимодействия макромолекул в концентрированном растворе метод турбидиметрического титрования вполне может дополнить такие дорогостоящие методы определения ММР полимеров, как ВЭЖХ, ультрацентрифугирование, светорассеивание и другие современные методы.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Wan X., Guo H., Liang Y., Zhou C., Liu Z., Li K., et al. The physiological functions and pharmaceutical applications of inulin: a review // *Carbohydrate Polymers*. 2020. Vol. 246. P. 116589. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116589>.
2. Afinjuomo F., Abdella S., Youssef S. H., Song Y., Garg S. Inulin and its application in drug delivery // *Pharmaceuticals*. 2021. Vol. 14. P. 855. <https://doi.org/10.3390/ph14090855>.
3. Сербасева Э. Р., Якупова А. Б., Марасумова Ю. Р., Фархутдинова К. А., Ахметова Г. Р., Кулуев Б. Р. Инулин: природные источники, особенности метаболизма в растениях и практическое применение // *Биомика*. 2020. Т. 12. N. 1. С. 57–79. <https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmc.2020-5>.
4. Carlson J. L., Erickson J. M., Lloyd B. B., Slavin J. L. Health effects and sources of prebiotic dietary fiber // *Current Developments in Nutrition*. 2018. Vol. 2, no. 3. P. 1–8. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzy005/>.
5. BeMiller J. N. Inulin and konjac glucomannan. In: *Carbohydrate chemistry for food scientists*. Woodhead, 2019. P. 253–259. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812069-9.00010-8>.
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. Saeed M., Abd El-Hack M. E., Alagawany M., Arain M. A., Arif M., Mirza M. A., et al. Chicory (*Cichorium intybus*) herb: chemical composition, pharmacology, nutritional and healthily applications // *International Journal of Pharmacology*. 2017. Vol. 13, no. 4. P. 351–360. <https://doi.org/10.3923/ijp.2017.351.360>.
8. Dobrange E., Peshev D., Loedolff B., Van den Ende W. Fructans as immunomodulatory and antiviral agents: the case of *Echinacea* // *Biomolecules*. 2019. Vol. 9, no. 10. P. 615. <https://doi.org/10.3390/biom.9100615>.
9. Zeaiter Z., Regonesi M. E., Cavini S., Labra M., Sello G., Di Gennaro P. Extraction and characterization of inulin-type fructans from artichoke wastes and their effect on the growth of intestinal bacteria associated with health // *BioMed Research International*. 2019. Article ID 1083952. <https://doi.org/10.1155/2019/1083952>.
10. Watson A. W., Houghton D., Avery P. J., Stewart C., Vaughan E. E., Meyer P. D., et al. Changes in stool frequency following chicory inulin consumption, and effects on stool consistency, quality of life and composition of gut microbiota // *Food Hydrocolloid*. 2019. Vol. 96. P. 688–698. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.06.006>.
11. Franck A. Technological functionality of inulin and oligofructose // *British Journal of Nutrition*. 2002. Vol. 87. P. 287–291. <https://doi.org/10.1079/BJNBJN/2002550>.
12. Ашуров А. И., Джонмуродов А. С., Мухидинов З. К., Усманова С. Р., Партоев К. Интенсификация процесса получения полисахаридов из корнеклубней топинамбура // *Вестник Таджик-*

ского национального университета. Серия естественных наук. 2019. N 3. С. 208–214.

13. Gerschenson L. N., Rojas A. M., Fissore E. N. Fructose, oligofructans, and inulin. Chapter 3. In: Nutraceutical and functional food components. Galanakis Ch. M. (ed.). Waltham, MA, Elsevier Inc., 2017. P. 39–101.

14. 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.

15. Ronkart S. N., Deroanne C., Paquot M., Fougnes C., Blecker C. S. Impact of the crystallisation pathway of inulin on its mono-hydrate to hemi-hydrate thermal transition // Food Chemistry. 2010. Vol. 119, no. 1. P. 317–322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.035>.

16. Silva D. G., Cooper P. D., Petrovsky N. Inulin-derived adjuvants efficiently promote both Th1 and Th2 immune responses // Immunology and Cell Biology. 2004. Vol. 82, no. 6. P. 611–616. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1711.2004.01290.x>.

17. Dan A., Ghosh S., Moulik S. P. Physico-chemical studies on the biopolymer inulin: a critical evaluation of its self-aggregation, aggregate-morphology, interaction with water, and thermal stability // Biopolymers. 2009. Vol. 91, no. 9. P. 687–699. <https://doi.org/10.1002/bip.21199>.

18. Cooper P. D., Carter M. Anti-complementary action of polymorphic “solubility forms” of particulate inulin // Molecular Immunology. 1986. Vol. 23, no. 8. P. 895–901. [https://doi.org/10.1016/0161-5890\(86\)90075-1](https://doi.org/10.1016/0161-5890(86)90075-1).

19. Shimizu N., Abea A. Characterization of fructans by size-exclusion chromatography: a review. In: Agricultural research updates. Vol. 29. Gorawala P., Mandhatri S. (eds.). Nova Science Publishers Inc., 2020. P. 210–236.

20. 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>.

21. Штанчаев А. Ш., Насриддинов А. С., Тешаев Х. И., Мухидинов З. К., Халиков Д. Х. Турбидиметрическое титрование зеина кукурузной муки // Доклады Академии наук Республики Таджикистан. 2007. Т. 50. N 9–10. С. 748–752.

22. Praznik W., Loppert R., Huber A. Analysis and molecular composition of fructans from different plant sources. In: Recent advances in fructooligosaccharides research. Shiomi N., Benkeblia N., Onodera S. (eds.). Kerala, Research Signpost, 2007. P. 93–117.

23. Evans M., Gallagher J. A., Ratcliffe I., Williams P. A. Determination of the degree of polymerisation of fructans from ryegrass and chicory using MALDI-TOF mass spectrometry and gel permeation chromatography coupled to multiangle laser light scattering // Food Hydrocolloids. 2016. Vol. 53. P. 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.015>.

24. Arnon Z. A., Grabarics M., Kreiser T., Raveh A., Pagel K., Gazit E. Inulin nanostructures: the sweet-spot of carbohydrate self-assembly // BioRxiv. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.07.13.451276>.

25. Gao C., Chen G. Exploring and controlling the polymorphism in supramolecular assemblies of carbohydrates and proteins // Accounts of Chemical Research. 2020. Vol. 53, no. 4. P. 740–751. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00552>.

26. Ma Z., Zhu X. X. Copolymers containing carbohydrates and other biomolecules: design, synthesis and applications // Journal of Materials Chemistry B. 2019. Vol. 7, no. 9. P. 1361–1378. <https://doi.org/10.1039/C8TB03162B>.

27. Valencia G. A., Zare E. N., Makvandi P., Gutiérrez T. J. Self-assembled carbohydrate polymers for food applications: a review // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2019. Vol. 18, no. 6. P. 2009–2024. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12499>.

28. Gim S., Zhu Y., Seeberger P. H., Delbianco M. Carbohydrate-based nanomaterials for biomedical applications // WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology. 2019. Vol. 11, no. 5. P. 1558. <https://doi.org/10.1002/wnan.1558>.

REFERENCES

1. Wan X., Guo H., Liang Y., Zhou C., Liu Z., Li K., et al. The physiological functions and pharmaceutical applications of inulin: a review. *Carbohydrate Polymers*. 2020;246:116589. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116589>.

2. Afinjuomo F., Abdella S., Youssef S. H., Song Y., Garg S. Inulin and its application in drug delivery. *Pharmaceuticals*. 2021;14:855. <https://doi.org/10.3390/ph14090855>.

3. Serbaeva E. R., Yakupova A. B., Magasumova Yu. R., Farkhutdinova K. A., Akhmetova G. R., Kuluev B. R. Inulin: natural sources, features of metabolism in plants and practical application. *Biomika = Biomics*. 2020;12(1):57–79. (In Russian). <https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2020-5>.

4. Carlson J. L., Erickson J. M., Lloyd B. B., Slavin J. L. Health effects and sources of prebiotic dietary fiber. *Current Developments in Nutrition*. 2018;2(3):1–8. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzy005/>.

5. BeMiller J. N. Inulin and konjac glucomannan. In: *Carbohydrate chemistry for food scientists*. Woodhead; 2019, p. 253–259. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812069-9.00010-8>.

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. Saeed M., Abd El-Hack M. E., Alagawany M., Arain M. A., Arif M., Mirza M. A., et al. Chicory (*Cichorium intybus*) herb: chemical composition, pharmacology, nutritional and healthily applications. *International Journal of Pharmacology*. 2017;13(4):351-360. <https://doi.org/10.3923/ijp.2017.351.360>.
8. Dobrange E., Peshev D., Loedolff B., Van den Ende W. Fructans as immunomodulatory and antiviral agents: the case of *Echinacea*. *Biomolecules*. 2019;9(10):615. <https://doi.org/10.3390/biom.9100615>.
9. Zeaiter Z., Regonesi M. E., Cavini S., Labra M., Sello G., Di Gennaro P. Extraction and characterization of inulin-type fructans from artichoke wastes and their effect on the growth of intestinal bacteria associated with health. *BioMed Research International*. 2019. Article ID 1083952. <https://doi.org/10.1155/2019/1083952>.
10. Watson A. W., Houghton D., Avery P. J., Stewart C., Vaughan E. E., Meyer P. D., et al. Changes in stool frequency following chicory inulin consumption, and effects on stool consistency, quality of life and composition of gut microbiota. *Food Hydrocolloid*. 2019;96:688-698. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.06.006>.
11. Franck A. Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*. 2002;87:287-291. <https://doi.org/10.1079/BJNBJN/2002550>.
12. Ashurov A. I., Dzhonmuradov A. S., Mukhidinov Z. K., Usmanova S. R., Partoev K. P. The intensification of the process for the polysaccharides extraction from jerusalem artichoke. *Vestnik Tadzhi-skogo natsional'nogo universiteta. Seriya estestvennykh nauk = Bulletin of the Tajik National University. Series of Natural Sciences*. 2019;(3):208-214.
13. Gerschenson L. N., Rojas A. M., Fissore E. N. Fructose, oligofructans, and inulin. Chapter 3. In: *Nutraceutical and functional food components*. Galanakis Ch. M. (ed.). Waltham, MA, Elsevier Inc.; 2017, p. 39–101.
14. 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.
15. Ronkart S. N., Deroanne C., Paquot M., Fougnyes C., Blecker C. S. Impact of the crystallisation pathway of inulin on its mono-hydrate to hemi-hydrate thermal transition. *Food Chemistry*. 2010;119(1):317-322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.035>.
16. Silva D. G., Cooper P. D., Petrovsky N. Inulin-derived adjuvants efficiently promote both Th1 and Th2 immune responses. *Immunology and Cell Biology*. 2004;82(6):611-616. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1711.2004.01290.x>.
17. Dan A., Ghosh S., Moulik S. P. Physico-chemical studies on the biopolymer inulin: a critical evaluation of its self-aggregation, aggregate-morphology, interaction with water, and thermal stability. *Biopolymers*. 2009;91(9):687-699. <https://doi.org/10.1002/bip.21199>.
18. Cooper P. D., Carter M. Anti-complementary action of polymorphic “solubility forms” of particulate inulin. *Molecular Immunology*. 1986;23(8):895-901. [https://doi.org/10.1016/0161-5890\(86\)90075-1](https://doi.org/10.1016/0161-5890(86)90075-1).
19. Shimizu N., Abea A. Characterization of fructans by size-exclusion chromatography: a review. In: *Agricultural research updates*. Vol. 29. Gorawala P., Mandhatri S. (eds.). Nova Science Publishers Inc.; 2020, p. 210-236.
20. Nasriddinov A. S., Ashurov A. I., Kholov S. 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>.
21. Shtanchaev A. Sh., Nasriddinov A. S., Tshaev Kh. I., Muhidinov Z. K., Khalikov D. Kh. Turbidimetric titration of corn zein. *Doklady Akademii nauk Respubliki Tadjikistan*. 2007;50(9-10):748-752.
22. Praznik W., Loppert R., Huber A. Analysis and molecular composition of fructans from different plant sources. In: *Recent advances in fructooligosaccharides research*. Shiomi N., Benkeblia N., Onodera S. (eds.). Kerala, Research Signpost; 2007, p. 93-117.
23. Evans M., Gallagher J. A., Ratcliffe I., Williams P. A. Determination of the degree of polymerisation of fructans from ryegrass and chicory using MALDI-TOF mass spectrometry and gel permeation chromatography coupled to multiangle laser light scattering. *Food Hydrocolloids*. 2016;53:155-162. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.015>.
24. Arnon Z. A., Grabarics M., Kreiser T., Raveh A., Pagel K., Gazit E. Inulin nanostructures: the sweet-spot of carbohydrate self-assembly. *BioRxiv*. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.07.13.451276>.
25. Gao C., Chen G. Exploring and controlling the polymorphism in supramolecular assemblies of carbohydrates and proteins. *Accounts of Chemical Research*. 2020;53(4):740-751. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00552>.
26. Ma Z., Zhu X. X. Copolymers containing carbohydrates and other biomolecules: design, synthesis and applications. *Journal of Materials Chemistry B*. 2019;7(9):1361-1378. <https://doi.org/10.1039/C8TB03162B>.
27. Valencia G. A., Zare E. N., Makvandi P., Gutiérrez T. J. Self-assembled carbohydrate polymers for food applications: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019;18(6):2009-2024. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12499>.
28. Gim S., Zhu Y., Seeberger P. H., Delbianco M. Carbohydrate-based nanomaterials for biomedical applications. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 2019;11(5):1558. <https://doi.org/10.1002/wnan.1558>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

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

З. У. Шерова,
докторант лаборатории химии
высокомолекулярных соединений,
Институт химии им. В. И. Никитина
Национальной Академии наук Республики
Таджикистан,
734065, г. Душанбе, ул. Айна, 299/2,
Республика Таджикистан,
sh.zamira_95@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0387-6297>

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

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. Айна, 299/2,
Республика Таджикистан,
surayo.usmanova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-4254-7699>

Х. И. Икромӣ,
к.х.н., ведущий научный сотрудник,
Таджикский технологический университет,
734061, г. Душанбе, ул. Н. Карабоева, 63/6,
Республика Таджикистан,
x_teshaev@yahoo.com
<https://orcid.org/0000-0001-8845-1778>

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,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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>

Zamira U. Sherova,
Doctoral Student,
Laboratory of Chemistry of Biopolymers,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry,
National Academy of Sciences of Tajikistan,
299/2, Aini St., 734063, Dushanbe, Tajikistan,
sh.zamira_95@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0387-6297>

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>

Surayo 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>

Khurshed I. Ikromi,
Cand. Sci. (Chemistry), Leading Researcher,
Technological University of Tajikistan,
63/6, Karabaev St., 734061, Dushanbe,
Tajikistan,
x_teshaev@yahoo.com
<https://orcid.org/0000-0001-8845-1778>

Zainiddin K. Muhidinov,
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

734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
zainy@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0023-2229>

<https://orcid.org/0000-0002-0023-2229>

Вклад авторов

А. И. Ашуров – проведение экспериментов;
обработка полученных данных.
З. У. Шерова – проведение экспериментов;
обработка полученных данных.
А. С. Насриддинов – научное руководство;
обработка полученных данных.
С. Р. Усманова – концепция исследования;
доработка текста.
Х. И. Икромӣ – концепция исследования.
З. К. Мухидинов – научное руководство;
концепция исследования; развитие
методологии; итоговые выводы.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 13.01.2022.
Одобрена после рецензирования 16.05.2022.
Принята к публикации 30.05.2022.*

Contribution of the authors

Ashurboi I. Ashurov – methodology, investigation;
data interpretation.
Zamira U. Sherova – methodology, investigation;
data interpretation.
Abubakr S. Nasriddinov – supervision;
investigation; data interpretation.
Surayo R. Usmanova – formal analysis,
text writing and editing.
Khurshed I. Ikromi – formal analysis
and investigation.
Zainiddin K. Muhidinov – supervision,
conceptualization, methodology; text writing,
reviewing and editing.

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 13.01.2022.
Approved after reviewing 16.05.2022.
Accepted for publication 30.05.2022.*

Научная статья

УДК 547.1:543.42

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-291-298>



Синтез и изучение гидролитической и термоокислительной стабильности *п*-(*N*- β -*D*-маннопиранозил)аминобензойной кислоты

Игорь Сергеевич Черепанов, Артур Алексеевич Белков

Удмуртский государственный университет,

г. Ижевск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Черепанов Игорь Сергеевич, cherchem@mail.ru

Аннотация. Выполнен синтез продукта конденсации *п*-аминобензойной кислоты с *D*-маннозой, являющегося по данным колебательной спектроскопии *N*-маннопиранозиламином с β -конфигурацией аномерного центра. Изучена реакционная способность синтезированного продукта в процессах кислотного гидролиза и термоокисления в свободно-азрируемой среде. Исследование гидролитической стабильности показывает, что устойчивая в условиях синтеза в этанольных средах *п*-(*N*- β -*D*-маннопиранозил)аминобензойная кислота постепенно гидролизуеться при нагревании (50 °C) в кислых водных растворах, что подтверждено данными ИК-Фурье спектроскопии и тонкослойной хроматографии. Термоокисление синтезированного продукта показывает достаточную устойчивость при нагревании до 30–50 °C, увеличение температуры до 70 °C ускоряет деструкцию, что проявляется в усилении интенсивности полосы 1690 см⁻¹ (ν O=C-C=N) в спектрах вторых производных термостатированных образцов. Предполагается, что при этом происходит прямое окисление *N*-гликозиламина, вероятно, в ациклической форме енаминола. Дополнительно была изучена природа побочных продуктов *N*-гликозилирования: данные электронной и колебательной спектроскопии указывают на образование меланоидинов – окрашенных продуктов глубокой деструкции, для которых прогнозируется рострегулирующая и другие виды биологической активности. Предполагается, что основные структурные фрагменты меланоидинов формируются в растворах посредством взаимодействия енаминольных форм с α -дикарбонильными производными. Полученные нами ранее экспериментальные данные также указывают на проявление биологической активности меланоидинами ариламино-карбонильных реакций, в связи с чем представляется возможным объединение технологии получения функциональных продуктов разных стадий сахараминных взаимодействий на базе единого синтеза. Перспективность последней определяется доступностью реагентов, мягкими условиями синтеза и разделения продуктов, а также их экологичностью.

Ключевые слова: *п*-аминобензойная кислота, *D*-манноза, конденсация, гидролиз, окисление, спектроскопия, меланоидины

Для цитирования: Черепанов И. С., Белков А. А. Синтез и изучение гидролитической и термоокислительной стабильности *п*-(*N*- β -*D*-маннопиранозил)аминобензойной кислоты // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 291–298. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-291-298>.

Synthesis and study of the hydrolytic and thermo-oxidative stability of *p*-(*N*- β -*D*-mannopyranosyl)aminobenzoic acid

Igor S. Cherepanov, Artur A. Belkov

Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation

Corresponding author: Igor S. Cherepanov, cherchem@mail.ru

Abstract. The performed condensation of *p*-aminobenzoic acid with *D*-mannose produced *N*-mannopyranosylamine with β configuration at the anomeric centre, which was confirmed by vibrational spectroscopy. The reactivity of the synthesized product in the processes of acid hydrolysis and thermal oxidation in a freely aerated medium was studied. A hydrolytic stability study showed *p*-(*N*- β -*D*-mannopyranosyl)-aminobenzoic acid, which is stable in ethanolic media, to gradually hydrolyse upon heating (50 °C) in acidic aqueous solutions, as confirmed by FTIR spectroscopy and thin-layer chromatography. Upon thermal oxidation, the synthesized product shows sufficient stability when heated up to 30–50 °C. However, a further increase in temperature to 70 °C accelerates destruction, which is manifested in an increase in the band intensity of 1690 cm⁻¹ (ν O=C–C=N) in the spectra of the second derivatives of thermostated samples. This process is assumed to involve direct oxidation of *N*-glycosylamine, most likely in the acyclic form of enaminol. Additionally, the nature of *N*-glycosylation by-products was studied by electron and oscillatory spectroscopy. These studies indicated the formation of melanoids – coloured products of deep destruction, which might exhibit growth-regulating and other types of biological activity. The main structural fragments of melanoids are assumed to be formed in solutions through the interaction of enaminol forms with α -dicarbonyl derivatives. Our experimental data obtained earlier also indicate the biological activity of melanoids in arylamino-carbonyl reactions, thereby allowing the technology of obtaining functional products of different stages of sugar-amine interactions to be combined within a single synthesis operation. The feasibility of this approach is determined by the availability of reagents, mild synthesis and product separation conditions, as well as by their environmental friendliness.

Keywords: *p*-aminobenzoic acid, *D*-mannose, condensation, hydrolysis, oxidation, spectroscopy, melanoids

For citation: Cherepanov I. S., Belkov A. A. Synthesis and study of the hydrolytic and thermo-oxidative stability of *p*-(*N*- β -*D*-mannopyranosyl)aminobenzoic acid. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):291-298. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-291-298>.

ВВЕДЕНИЕ

Потенциальные возможности реакций *N*-гликозилирования ароматических аминов углеводами в органическом синтезе обусловлены простотой и доступностью методик непосредственно получения и выделения достаточно стабильных целевых продуктов [1–3]. В большинстве случаев последние образуются при непосредственном взаимодействии исходных реагентов в мягких условиях, что позволяет относить их к разряду «зеленых» синтезов [4]: ограничениями в подобных системах может быть природа ариламинов, многие из которых токсичны.

Одним из потенциально интересных реагентов *N*-гликозилирования является *p*-аминобензойная кислота (*p*-АБК) – важное биологически активное соединение (витамин В₁₀), проявляющее широкий спектр биоактивности [5], участвующее в процессах метаболизма. Особое место среди производных *p*-АБК занимают ее достаточно стабильные *N*-гликозиламины: описаны такие области их практического применения, как способность к самосборке супрамолекулярных жидких кристаллов за счет специфических межмолекуляр-

ных взаимодействий активных заместителей [1], проявление антимикробной, антивирусной и иммуностимулирующей активности [2, 6].

Интересными представляются методики [7] для разделения моносахаридов и их селективного окисления с использованием *N*-гликозилариламинов в качестве промежуточных продуктов. Основным ограничением последних является применение достаточно токсичного *p*-нитроанилина, выбор которого, вероятно, обусловлен его относительно низкой основностью: *N*-гликозиламины более нестабильны в растворах, чем основные амины и аминокислоты, и при добавлении кислот претерпевают перегруппировку Амандори, давая дезоксиаминокетозы [8].

Следует отметить, что большинство работ посвящено изучению проблем синтеза, строения и биоактивности продуктов конденсации *p*-АБК с *D*-галактозой и *D*-глюкозой [1, 2], тогда как другие углеводы не менее интересны как в плане образования биологически активных производных, так и в качестве промежуточных продуктов многостадийных синтезов. В частности, еще один диастереомер глюкозы – *D*-манноза – ме-

нее распространен, при этом не менее интересен как потенциальный предшественник практически значимых продуктов, обладающих антиоксидантной и антимутагенной активностью [9]. Кроме того, большинство работ ориентировано на изучение структурных особенностей продуктов гликозилирования [1, 10] либо их биоактивности [2, 3], тогда как их реакционная способность в отношении различных видов распада, которые могут существенно влиять на проявление различных видов активности [11, 12], практически мало изучена [9], в связи с чем целью настоящей работы являлось изучение синтеза и термоокислительной и гидролитической стабильности продукта конденсации *п*-АБК и *D*-маннозы (*п*-(*N*- β -*D*-маннопиранозил)аминобензойной кислоты).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Методика синтеза: в 20 мл 96%-го этанола (Merck, Германия) вносили по 0,002 моль *п*-аминобензойной кислоты и *D*-маннозы, после чего добавляли 0,1 мл ледяной уксусной кислоты и нагревали смесь в колбе с обратным холодильником на водяной бане в течение 1 ч при температуре 70 °С. После окончания синтеза удаляли избыток этанола и высушивали твердый продукт в эксикаторе, дважды промывали спиртово-эфирной (1:1) смесью и повторно высушивали.

п-(*N*- β -*D*-маннопиранозил)аминобензойная кислота (МABК) представляет собой твердое вещество серого цвета, растворимое в воде и умеренно растворимое в этаноле, $T_{пл}$ 164,6 °С, выход 73%, элементный анализ: С, % 52,44; Н, % 5,32; N, % 4,45 (найденно); С, % 52,17; Н, % 5,69; N, % 4,68 (вычислено). ИК-Фурье спектр, cm^{-1} [3, 4, 9, 10]: 3500–3200 ($\nu_{NH} + \nu_{OH}$), 3050 ($\nu_{CH_{Ar}}$), 2930–2850 (ν_{CH}), 2800–2500 ($\nu_{OH \cdots O=C}$), 1920 (ν_{Ar-N}), 1675 ($\nu_{C=O}$), 1606, 1527, 1495 ($\nu_{C=C_{Ar}} + \delta_{NH} + N$ -гликозид), 1427 (δ_{CH}), 1317, 1282 ($\nu_{C-N} + \nu_{ring}$), 1178, 1147, 1120 ($\delta_{COC} + \delta_{CO} + \nu_{CON}$), 1100–1010 ($\delta_{ring} + \delta_{CON} +$ гликозид), 883 (δ_{C_1-H} гликозид), 844 ($\nu_{CH_{Ar}}$), 650 (ν_{C_1-N} гликозид).

ИК-Фурье спектры твердых продуктов снимали на ИК-Фурье спектрометре ФСМ-2201 (ООО «ИНФРАСПЕК», Россия) в таблетках KBr (1:250) в интервале волновых чисел 4000–400 cm^{-1} с разрешением 4 cm^{-1} , полученные спектры обрабатывали в программе FSpec 4.0.3.9. Спектры вторых производных получены в результате численного дифференцирования с использованием сглаживания полиномом 4-го порядка в окнах до 15 точек, анализ и отнесение проводили по экстремумам выше нулевой линии. ИК-Фурье спектры отражения спиртово-эфирных вытяжек снимали с использованием приставки МНПВО-36 (ООО «ИНФРАСПЕК», Россия) в интервале волновых чисел 650–4000 cm^{-1} , их электронные спектры регистрировали на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «СПЕКТР», Россия) в кварцевых кюветах (1 см) в диапазоне длин волн 200–600 нм с шагом 5 нм. Элементный анализ твердых продуктов

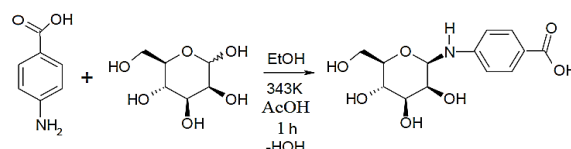
осуществляли на анализаторе Vario MICRO Cube (Elemental Analyzer GmbH., Германия).

Гидролиз синтезированного продукта проводили нагреванием 0,1 г препарата в 20 мл воды в колбе с обратным холодильником с добавлением 0,1 мл ледяной уксусной кислоты при 50 °С в течение 1 ч. После удаления растворителя твердую фазу исследовали спектроскопически (KBr, 1:250). Дополнительно контроль за ходом гидролиза осуществляли методом тонкослойной хроматографии (Silufol, Cavalier, Чехия; элюентная система бутанол–этанол–вода 5:2:1) по исчезновению пятен *N*-гликозида ($R_f = 0,62$) и появлению пятен *п*-аминобензойной кислоты ($R_f = 0,89$).

Устойчивость МABК к термоокислительному стрессу изучали в KBr-матрице по ранее предложенной методике [9]: 1 мг синтезированного продукта смешивали с 150 мг предварительно прокаленного KBr, измельчали и прессовали на ручном прессе в таблетки диаметром 10 мм. Спектры регистрировали непосредственно перед испытаниями (25 °С) и после термоокислительного стресса, который моделировали нагреванием таблетированных образцов при 30, 50 и 70 °С в течение 1 ч в свободно-аэрируемой атмосфере в сушильном шкафу. Признаком начала окислительной термодеструкции считали появление ИК-полос поглощения в области 1690–1700 cm^{-1} .

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Синтез целевого продукта протекает в соответствии с общей схемой:



Данные ИК-Фурье спектроскопии подтверждают строение выделенного продукта как *N*-маннопиранозиламина: несколько отдельных полос в спектральных областях 1100–1000 и 1180–1120 cm^{-1} указывают на циклическую пиранозную форму гликозидного кольца. В «аномерной» области регистрируется сигнал при 883 cm^{-1} , относимый к деформационным колебаниям C_1-H -связи гликозидного фрагмента, что в совокупности с сигналом 771 cm^{-1} подтверждает β -конфигурацию аномерного центра [3, 10]. Данные элементного анализа указывают на достаточную чистоту целевого продукта.

Следующим этапом исследования являлось изучение кислотного гидролиза МABК, что позволило оценить возможность реверсии *N*-гликозиламина, например, после окисления C_6-OH -фрагмента в процессах синтеза уроновых кислот [7], т. е. применения $-NH-Ar$ в качестве защитной группы. Исследование проводили комбинацией методов ИК-Фурье спектроскопии и ТСХ. Тради-

ционно применяемая ранее поляриметрия не дает надежных результатов, поскольку изменение удельного вращения может быть связано не только с гидролизом N-гликозидов. Сравнение спектров N-гликозиламина со спектрами гидролизованного вещества после удаления растворителя показывает, что общий профиль сигналов мало изменяется (рис. 1).

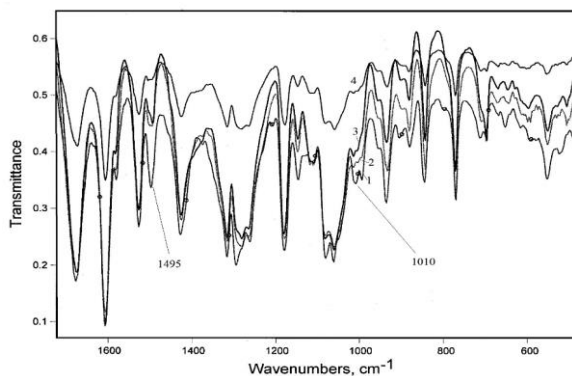


Рис. 1. ИК-Фурье спектры *п*-(N-β-D-маннопиранозил)аминобензойной кислоты (1) и продуктов ее кислотного гидролиза в течение 20 мин (2), 40 мин (3), 60 мин (4) (50 °C)

Fig. 1. IR Fourier transform spectra of MABA (1) and its acidic hydrolysis products during 20 min (2), 40 min (3), 60 min (4) (50 °C)

Тем не менее можно отметить закономерное уменьшение интенсивности полосы 1010 см⁻¹, относимой к колебаниям N-гликозидного фрагмента [10], а также полосы 1495 и 650 см⁻¹, вклад в которые вносят колебания аномерного центра C₁-N, что свидетельствует о гидролитическом расщеплении N-гликозида. Сформулированный вывод подтверждается данными тонкослойной хроматографии: в системе, гидролизованной в течение 60 мин, пятна N-гликозида (*R_f* = 0,62) практически не проявляются. Следует дополнительно отметить тот факт, что N-гликозиламины гидролизуются значительно легче O-гликозидов, традиционно применяемых для защиты C₁-ОН в процессах функционализации углеводов, что, вероятно, связано с легкостью передачи электронной плотности от атома азота с переходом в ациклическую форму основания Шиффа [13].

Ряд методик модифицирования углеводных фрагментов предполагает проведение процессов в гетерогенных системах твердое-газ, а также необходимость увеличения температуры в зоне реакции [7]. Поскольку известным фактом является неустойчивость углеводов и их производных в подобных условиях, следующим этапом исследования стало изучение стабильности МАБК в условиях термоокислительного стресса. Спектры термостатированных при разных температурах в течение 1 ч систем представлены на рис. 2.

В спектре нетермостатированной МАБК (1) полос поглощения продуктов окислительной де-

струкции не наблюдается, тогда как для уже термостатированных образцов регистрируются слабые полосы около 1690 см⁻¹ (C=O-группы продуктов деградации [9]). Более отчетливо данный вывод (сигнал 1693 см⁻¹) подтверждается анализом спектров вторых производных (рис. 3).

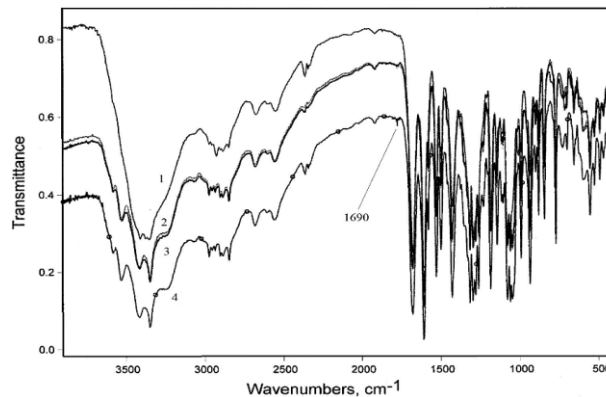


Рис. 2. ИК-Фурье спектры *п*-(N-β-D-маннопиранозил)аминобензойной кислоты (1) и продуктов ее термоокислительной деградации при 30 °C (2), 50 °C (3), 70 °C (4) (1 ч)

Fig. 2. IR Fourier transform spectra of MABA (1) and its thermooxidative destruction products, thermostatted at 30 °C (2), 50 °C (3), 70 °C (4) (1 h)

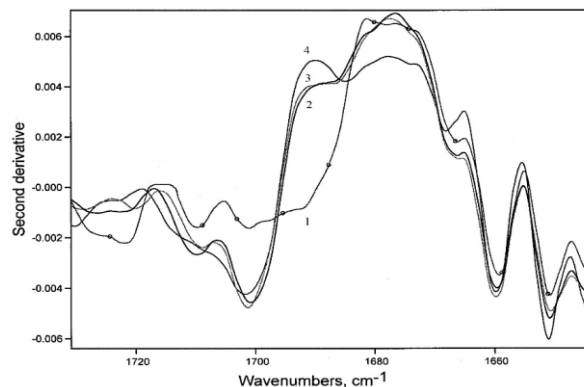


Рис. 3. Вторые производные ИК-Фурье спектров *п*-(N-β-D-маннопиранозил)аминобензойной кислоты (1) и продуктов ее термоокислительной деградации при 30 °C (2), 50 °C (3), 70 °C (4)

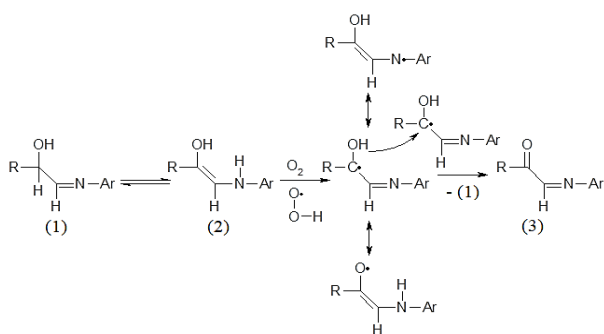
Fig. 3. IR Fourier transform spectra second derivative of MABA (1) and its thermooxidative destruction products, thermostatted at 30 °C (2), 50 °C (3), 70 °C (4)

При переходе от температурного режима 30 к 50 °C интенсивность полосы возрастает незначительно, тогда как при нагревании до 70 °C рост более значительный. Кроме того, максимум основной полосы νC=O карбоксильной группы для термостатированных образцов несколько смещается в низкочастотную область.

Характер протекающих при этом процессов, вероятно, отличен от описанного ранее для производных более основного *п*-аминоацетанилида, претерпевающих при термодеструкции перегруппировку Амадори [9]. Не происходит в дан-

ном случае и прямого окисления $-\text{CH}_2\text{OH}$ -фрагмента с образованием N-гликозида маннуроновой кислоты, поскольку поглощение $\text{C}=\text{O}$ карбоксильных групп уруновых кислот регистрируется в интервале $1720\text{--}1740\text{ см}^{-1}$ [14]. Регистрируемая в спектрах полоса около 1690 см^{-1} должна отвечать колебаниям фрагментов структурно промежуточных между $\text{C}=\text{C}$ и $\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$ и, вероятно, оксоиминным $\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{N}$ сопряженным фрагментам.

На основании проведенного анализа более вероятным в данных условиях можно считать прямое окисление N-гликозиламина [15], протекающее по радикальному механизму. В реакции, скорее всего, участвует ациклическая форма [15], для которой характерно равновесие имин (1) – енаминол (2) [16], окисление которого дает стабилизированный сопряжением радикал [17] и далее оксоимин (3) ($\text{R}-\text{C}_4$ -остаток углеводной цепи) [17, 18]:



Известной особенностью реакций образования N-гликозиламинов является наличие ряда побочных процессов, в частности неферментативное окрашивание (меланоидинообразование) [9, 12]; окрашенные в желтый цвет продукты данного процесса извлекаются при промывке твердой фазы спиртово-эфирной смесью. Электронный и ИК-Фурье спектры отражения спиртово-эфирной вытяжки, содержащей побочно образующиеся вещества, представлены на рис. 4.

Электронный спектр показывает непрерывное поглощение в области $420\text{--}480\text{ нм}$, свойственное высокомолекулярным меланоидинам, ИК-Фурье спектр содержит широкую полосу в карбонильной области с максимумом при 1658 см^{-1} ($\nu\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$) и плечами 1645 ($\nu\text{C}=\text{N}$) и 1700 ($\nu\text{C}=\text{O}$) см^{-1} , а также пик малой интенсивности при 1605 ($\nu\text{C}=\text{C}$) см^{-1} . Таким образом, описанные сигналы традиционно относят к валентным колебаниям $\text{C}=\text{X}$ в различном структурном окружении [9, 12] с преобладанием сопряженных карбонильных фрагментов. Механизм их образования в реакционной системе N-гликозилирования может быть представлен аналогично описанному выше: дальнейшее развитие процессов сводится к гидролизу оксоимина (3) до α -дикарбонильного производного (4) и его взаимодействию с енаминой формой (2) [18, 19]:

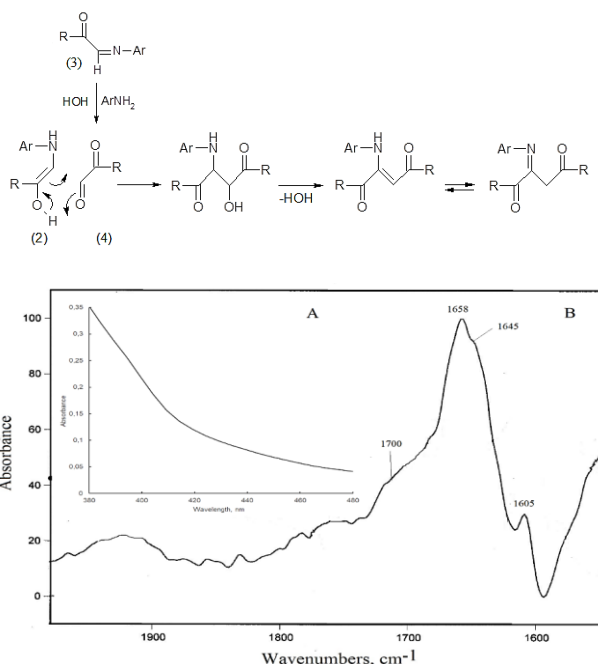


Рис. 4. Электронный (А) и ИК-Фурье спектры отражения (В) побочных продуктов N-гликозилирования

Fig. 4. UV-Vis (A) and IR Fourier transform reflection (B) spectra of N-glycosylation side products

В конечном итоге образуются сложные полимерные составы с описанной выше функционализацией [18, 20]. Являясь побочными продуктами синтеза, продукты поздних стадий аминокарбонильных реакций (реакции Майяра) также находят практическое применение, в частности проявляют рострегулирующие свойства [18]. На основании результатов корреляционного анализа [21] и полученных ранее экспериментальных данных [18] можно прогнозировать биоактивность побочных продуктов N-гликозилирования в отношении ростовых процессов сельскохозяйственных культур, что будет детально изучено в дальнейшем. Исходя из полученных данных, можно предположить принципиальную возможность объединения технологии получения целевых продуктов разных стадий сахар-аминных реакций в рамках одного синтеза.

ВЫВОДЫ

Выполнен синтез продукта конденсации L -аминобензойной кислоты с D -маннозой, являющегося по данным колебательной спектроскопии N-маннопиранозиламином с β -конфигурацией аномерного центра. Изучена реакционная способность синтезированного продукта в процессах кислотного гидролиза и термоокисления в свободно-азерируемой среде.

Исследование гидролитической стабильности показывает, что устойчивая в условиях синтеза в этанольных средах L -(N- β -D-маннопиранозил)-аминобензойная кислота постепенно гидролизует-

ся при нагревании (50 °C) в кислых водных растворах, что подтверждено данными ИК-Фурье спектроскопии и тонкослойной хроматографии.

Термоокисление синтезированного продукта показывает достаточную устойчивость при нагревании до 30–50 °C; увеличение температуры до 70 °C ускоряет деструкцию, что проявляется в усилении интенсивности полосы 1690 см⁻¹ ($\nu_{\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{N}}$) в спектрах вторых производных термостатированных образцов. Предполагается, что при этом происходит прямое окисление N-гликозиламина, вероятно, в ациклической форме енаминола.

Дополнительно изучена природа побочных продуктов N-гликозилирования: данные электронной и колебательной спектроскопии указывают на образование меланоидинов – окрашенных продуктов глубокой деструкции, для которых

прогнозируется рострегулирующая и другие виды биоактивности. Предполагается, что основные структурные фрагменты меланоидинов формируются в растворах посредством взаимодействия енаминольных форм с α -дикарбонильными производными.

Полученные нами ранее экспериментальные данные также указывают на проявление биологической активности меланоидинами ариламинокарбонильных реакций, в связи с чем представляется возможным объединение технологии получения функциональных продуктов разных стадий сахар-аминных взаимодействий на базе единого синтеза. Перспективность последней определяется доступностью реагентов, мягкими условиями синтеза и разделения продуктов, а также их экологичностью.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Volkova T. G., Talanova I. O. Possibility of hydrogen bonding between molecules of pentyl ester of *p*-(N- α -D-glucopyranoside)aminobenzoic acid // *Liquid Crystals and their Application*. 2016. Vol. 16, no. 2. P. 46–51. <https://doi.org/10.18083/LCAppl.2016.2.46>.
2. Джаманбаев Ж. А., Абдурашитова Ю. А., Сарымзакова Р. К., Эралиева М. Г. Синтез углеводных производных *L*-аминобензойной кислоты // *Успехи современного естествознания*. 2019. N 3. С. 127–133.
3. Kulakov I. V. Synthesis of new N-amino-glycosides based on halo substituted *p*-phenylenediamines and *p*-aminophenols // *Chemistry of Natural Compounds*. 2009. Vol. 45, no. 4. P. 522–524. <https://doi.org/10.1007/s10600-009-9392-0/>.
4. Magdalinova N. A., Volkova T. G., Klyuev M. V., Gruzdev M. S. Propanal hydroamination with *p*-aminobenzoic acid // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2010. Vol. 46, no. 5. P. 634–636. <https://doi.org/10.1134/S1070428010050052>.
5. Кириллова Л. Л., Назарова Г. Н., Иванова Е. П. *p*-Аминобензойная кислота стимулирует всхожесть семян, рост растений, фотосинтез и ассимиляцию азота у амаранта (*Amaranthus* L.) // *Сельскохозяйственная биология*. 2016. Т. 51. N 5. С. 688–695. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2016.5.688eng>.
6. Kratky M., Konecna K., Janousek J., Brablikova M., Jand'ourek O., Trejtnar F., et al. 4-Aminobenzoic acid derivatives: converting folate precursor to antimicrobial and cytotoxic agents // *Biomolecules*. 2020. Vol. 10, no. 1. P. 9. <https://doi.org/10.3390/biom.10010009>.
7. Bilik V., Tihlarik K., Kratky Z. Conversion of N-(4-nitrophenyl)glycosylamines of aldoses to aldohexuronic acids by nitrogen dioxide // *Bulletin of the academy of sciences of the USSR. Division of chemical sciences*. 1982. Vol. 36, no. 6. P. 831–835.
8. Van Outersterp R., Moons S., Engelke U., Bentlage H., Peters T., Rooij A., et al. Amadori rearrangement products as potential biomarkers for inborn errors of amino-acid metabolism // *Communication Biology*. 2021. Vol. 4, no. 1. P. 367. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01909-5>.
9. Черепанов И. С. Термодеструкция продукта конденсации *D*-маннозы с *L*-аминоацетанилидом в системах без растворителя // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 4. С. 581–589. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-581-589>.
10. Kublashvili R. N-glucosides of aminobenzoic acids and aminophenols // *Chemistry of Natural Compounds*. 2003. Vol. 39, no. 6. P. 586–588. [https://doi.org/0009-3130/03/3906-0586\\$25.00](https://doi.org/0009-3130/03/3906-0586$25.00).
11. Sangwan R., Khaman A., Mandal P. An overview of chemical N-functionalization of sugars and formation of N-glycosides // *European Journal of Organic Chemistry*. 2020. Vol. 37. P. 5949–5977. <https://doi.org/10.1002/ejoc.20200813>.
12. Li T.-X., Ji L.-B., Jiang Z.-R., Geng Z.-Z., Shentu H.-Q., Liu M.-Ch., et al. Caramel products of glucose with water during heating processes and their bioactivities // *International Journal of Food Properties*. 2020;23(1):978-985. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1770778>.
13. Na Y., Shen H., Byers L. N-phenylglucosylamine hydrolysis; a mechanistic probe of β -glucosidase // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 39, no. 3. P. 111–113. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2011.02.003>.
14. Follain N., Montanari S., Jeacomine I., Gambarelli S., Vifnon M. Coupling of amines with polyglucuronic acids: evidence for amide bonds formation // *Carbohydrate Polymers*. 2008. Vol. 74, no. 3. P. 333–343. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.02.016>.
15. Yim H.-S., Kang S.-O., Hah Y.-C., Boon Chock P., Yim M. B. Free radical generated during the glycation reaction of amino acids by methylgly-

oxal // Journal of Biological Chemistry. 1995. Vol. 270, no. 47. P. 28228–28233.

16. Kalmykov P. A., Klyuev M. V., Khodov I. A., Klochov V. V. Theoretical and experimental study of imine-enamine tautomerism of condensation products of propanal with 4-aminobenzoic acid in ethanol // Russian Chemical Bulletin. 2017. Vol. 66, no. 1. P. 70–75.

17. Mossine V., Linetsky M., Glinsky G., Ortwerth B., Feather M. Superoxide free radical generation by Amadori compounds: the role of acyclic forms and metal ions // Chemical Research in Toxicology. 1999. Vol. 12, no. 3. P. 230–236. <https://doi.org/10.1021/tx980209e>.

18. Cherepanov I. S. Growth regulating activity of *p*-aminobenzoic acid–*D*-glucose system melanoidins // AIP Conference Proceedings. 2022. Vol. 2390. P. 030009. <https://doi.org/10.1063/5.0068900>.

19. Moshin G., Schmitt F.-J., Kanzler C., Epping J.,

Flemig S., Hornemann A. Structural characterization of melanoidins formed from *D*-glucose and *L*-alanine at different temperatures applied FTIR, NMR, EPR and MALDI-ToF-MS // Food Chemistry. 2018. Vol. 245, no. 3. P. 761–767. <https://doi.org/10.1016/j.foochem.2017.11.115>.

20. Shi N., Liu Q., Ju R., He X., Zhang Y., Tang S., et al. Condensation of α -carbonyl aldehydes lead to the formation of solid humins during the hydrothermal degradation of carbohydrates // ACS Omega. 2019. Vol. 4. P. 7330–7343. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00508>.

21. Aguiar N. O., Novotny E. H., Oliveira A. L., Rumjanek V. M., Olivares F. L., Canellas L. P. Prediction of humic acid bioactivity using spectroscopy and multivariate analysis // Journal of Geochemical Exploration. 2013. Vol. 129, no. 1. P. 95–102. <https://doi.org/10.106/j.gexplo.2012.10.005>.

REFERENCES

1. Volkova T. G., Talanova I. O. Possibility of hydrogen bonding between molecules of pentyl ester of *p*-(*N*- α -*D*-glucopyranoside)aminobenzoic acid. *Liquid Crystals and their Application*. 2016;16(2):46–51. <https://doi.org/10.18083/LCAppl.2016.2.46>.

2. Dzhamanbaev Zh. A., Abdourashitova U. A., Sarymzakova R. K., Eralieva M. G. The synthesis of carbohydrate derivatives of para-aminobenzoic acid. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = Advances in current natural sciences*. 2019;(3):127–133. (In Russian).

3. Kulakov I. V. Synthesis of new *N*-amino-glycosides based on halo substituted *p*-phenylenediamines and *p*-aminophenols. *Chemistry of Natural Compounds*. 2009;45(4):522–524. <https://doi.org/10.1007/s10600-009-9392-0>.

4. Magdalinova N. A., Volkova T. G., Klyuev M. V., Gruzdev M. S. Propanal hydroamination with *p*-aminobenzoic acid. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2010;46(5):634–636. <https://doi.org/10.1134/S1070428010050052>.

5. Kirillova L. L., Nazarova G. N., Ivanova E. P. para-Aminobenzoic acid stimulates seed germination, plant growth, development, photosynthesis and nitrogen assimilation in the Amaranth (*Amaranthus* L.). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*. 2016;51(5):688–695. (In Russian). <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2016.5.688eng>.

6. Kratky M., Konecna K., Janousek J., Brablikova M., Jand'ourek O., Trejtnar F., et al. 4-Aminobenzoic acid derivatives: converting folate precursor to antimicrobial and cytotoxic agents. *Biomolecules*. 2020;10(1):9. <https://doi.org/10.3390/biom.10010009>.

7. Bilik V., Tihlarik K., Kratky Z. Conversion of *N*-(4-nitrophenyl)glycosylamines of aldoses to aldohexuronic acids by nitrogen dioxide. *Bulletin of the academy of sciences of the USSR. Division of chemical sciences*. 1982;36(6):831–835.

8. Van Outersterp R., Moons S., Engelke U.,

Bentlage H., Peters T., Rooij A., et al. Amadori rearrangement products as potential biomarkers for inborn errors of amino-acid metabolism. *Communication Biology*. 2021;4(1):367. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01909-5>.

9. Cherepanov I. S. Thermal destruction of *d*-mannose condensation products using *p*-aminoacetanilide in solvent-free systems. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020;10(4):581–589. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-581-589>.

10. Kublashvili R. *N*-glucosides of aminobenzoic acids and aminophenols. *Chemistry of Natural Compounds*. 2003;39(6):586–588. <https://doi.org/10.1007/s10600-003-9392-0>.

11. Sangwan R., Khaman A., Mandal P. An overview of chemical *N*-functionalization of sugars and formation of *N*-glycosides. *European Journal of Organic Chemistry*. 2020;37:5949–5977. <https://doi.org/10.1002/efoc.20200813>.

12. Li T.-X., Ji L.-B., Jiang Z.-R., Geng Z.-Z., Shentu H.-Q., Liu M.-Ch., et al. Caramel products of glucose with water during heating processes and their bioactivities. *International Journal of Food Properties*. 2020;23(1):978–985. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1770778>.

13. Na Y., Shen H., Byers L. *N*-phenylglucosylamine hydrolysis; a mechanistic probe of β -glucosidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2011;39(3):111–113. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2011.02.003>.

14. Follain N., Montanari S., Jeacomine I., Gambarelli S., Vifnon M. Coupling of amines with polyglucuronic acids: evidence for amide bonds formation. *Carbohydrate Polymers*. 2008;74(3):333–343. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.02.016>.

15. Yim H.-S., Kang S.-O., Hah Y.-C., Boon Chock P., Yim M. B. Free radical generated during the glycation reaction of amino acids by methylgly-

oxal. *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270 (47):28228-28233.

16. Kalmykov P. A., Klyuev M. V., Khodov I. A., Klochkov V. V. Theoretical and experimental study of imine-enamine tautomerism of condensation products of propanal with 4-aminobenzoic acid in ethanol. *Russian Chemical Bulletin*. 2017;66(1):70-75.

17. Mossine V., Linetsky M., Glinsky G., Ortwerth B., Feather M. Superoxide free radical generation by Amadori compounds: the role of acyclic forms and metal ions. *Chemical Research in Toxicology*. 1999;12(3):230-236. <https://doi.org/10.1021/tx980209e>.

18. Cherepanov I. S. Growth regulating activity of *p*-aminobenzoic acid–*D*-glucose system melanoidins. *AIP Conference Proceedings*. 2022;2390: 030009. <https://doi.org/10.1063/5.0068900>.

19. Moshin G., Schmitt F.-J., Kanzler C., Epping J., Flemig S., Hornemann A. Structural characterization of melanoidins formed from *D*-glucose and *L*-alanine at different temperatures applied FTIR, NMR, EPR and MALDI-ToF-MS. *Food Chemistry*. 2018;245(3): 761-767. <https://doi.org/10.1016/j.foochem.2017.11.115>.

20. Shi N., Liu Q., Ju R., He X., Zhang Y., Tang S., et al. Condensation of α -carbonyl aldehydes lead to the formation of solid humins during the hydrothermal degradation of carbohydrates // *ACS Omega*. 2019;4: 7330-7343. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00508>.

21. Aguiar N. O., Novotny E. H., Oliveira A. L., Rumjanek V. M., Olivares F. L., Canellas L. P. Prediction of humic acid bioactivity using spectroscopy and multivariate analysis. *Journal of Geochemical Exploration*. 2013;129(1):95-102. <https://doi.org/10.1061/j.gexplo.2012.10.005>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

И. С. Черепанов,

к.х.н., доцент,
Удмуртский государственный университет,
426034, г. Ижевск, ул. Университетская, 1,
Российская Федерация,
cherchem@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0880-5474>

А. А. Белков,

студент,
Удмуртский государственный университет,
426034, г. Ижевск, ул. Университетская, 1,
Российская Федерация,
cherchem@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5467-8552>

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 13.05.2022.
Одобрена после рецензирования 27.05.2022.
Принята к публикации 30.05.2022.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Igor S. Cherepanov,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Udmurt State University,
1, Universitetskaya St., Izhevsk, 426034,
Russian Federation,
cherchem@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0880-5474>

Artur A. Belkov,

Student,
Udmurt State University,
1, Universitetskaya St., Izhevsk, 426034,
Russian Federation,
cherchem@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5467-8552>

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 13.05.2022.
Approved after reviewing 27.05.2022.
Accepted for publication 30.05.2022.

Научная статья

УДК 579.22

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-299-309>



Влияние низких концентраций кофеина и колхицина на рост и биопленкообразование микроорганизмов

Людмила Алексеевна Максимова, Юлия Александровна Маркова,
Анна Леонидовна Турская, Виктор Александрович Быбин

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,
г. Иркутск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Максимова Людмила Алексеевна, VendyS@yandex.ru

Аннотация. Изучено действие алкалоидов кофеина и колхицина в низких концентрациях на рост и биопленкообразование ризосферных микроорганизмов – грамположительного *Rhodococcus qingshengii* и грамотрицательного *Rhizobium radiobacter*. Алкалоиды растений эффективно защищают их от поедания животными различными таксонами, а также от грибных и бактериальных инфекций. Алкалоиды являются частью сложной, эволюционно сложившейся системы растительно-микробных взаимодействий, и их присутствие в среде в низких концентрациях естественно. Одним из решающих факторов распространения микроорганизмов является биопленкообразование. Алкалоиды добавляли в бактериальную суспензию во временные промежутки, соответствующие разным фазам формирования биопленок. Для определения уровня биопленкообразования бактериальные клетки окрашивали кристаллическим фиолетовым. По уровню оптической плотности бактериальной суспензии оценивали степень воздействия алкалоидов на ее рост и биопленкообразование. Впервые выявлен факт влияния кофеина и колхицина в концентрациях 10^{-5} г/л на рост и биопленкообразование микроорганизмов. Алкалоиды не влияли на рост суспензии грамположительного *Rhodococcus qingshengii*, но эффективно подавляли суспензию грамотрицательного *Rhizobium radiobacter*. *Rhodococcus qingshengii* проявлял большую чувствительность к алкалоидам на стадии формирования биопленки, а *Rhizobium radiobacter* – на стадии «зрелых» биопленок. Действие алкалоидов могло выражаться как в подавлении, так и в усилении роста биопленок. Предполагается, что наиболее вероятен механизм действия растительных алкалоидов на уровне сигнальных систем и чувства кворума бактерий, что позволяет даже при значительном снижении количества алкалоидов в условиях перманентного антагонизма с постоянно разрушающими их фитопатогенами сохранять защитную функцию.

Ключевые слова: колхицин, кофеин, биопленки, *Rhodococcus qingshengii*, *Rhizobium radiobacter*

Благодарности. Исследование проведено с использованием коллекции микроорганизмов ЦКП «Биоресурсный центр» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск).

Финансирование. Работа выполнена в рамках проекта Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН № 121031300011-7.

Для цитирования: Максимова Л. А., Маркова Ю. А., Турская А. Л., Быбин В. А. Влияние низких концентраций кофеина и колхицина на рост и биопленкообразование микроорганизмов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 299–309. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-299-309>.

Effect of low concentrations of caffeine and colchicine on microbial growth and biofilm formation

Lyudmila A. Maksimova, Julia A. Markova,
Anna L. Turskaya, Viktor A. Bybin

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

Corresponding author: Lyudmila A. Maksimova, VendyS@yandex.ru

Abstract. A study into the effect of low concentrations of caffeine and colchicine alkaloids on the growth and biofilm formation of rhizospheric microorganisms – Gram-positive *Rhodococcus qingshengii* and Gram-negative *Rhizobium radiobacter* – is presented. Alkaloids present in plants effectively protect them from being eaten by animals of various taxa, as well as from fungal and bacterial infections. Forming part of a complex, evolutionary system of plant-microbial interactions, they occur naturally in the medium at low concentrations. One of the decisive factors in the spread of microorganisms is the formation of biofilms. In the study, alkaloids were added to the bacterial suspension at time intervals corresponding to distinct phases of biofilm formation. In order to determine the level of biofilm formation, bacterial cells were stained with crystal violet. The optical density of the suspension was used to assess the effect of alkaloids on bacterial growth and biofilm formation. The effect of caffeine and colchicine in concentrations of 10^{-5} g/L on the growth and biofilm formation of microorganisms is revealed for the first time. Although alkaloids did not affect the growth of the suspension of Gram-positive *Rhodococcus qingshengii*, they effectively suppressed the suspension of Gram-negative *Rhizobium radiobacter*. While *Rhodococcus qingshengii* showed greater sensitivity to alkaloids at the stage of biofilm formation, *Rhizobium radiobacter* was more sensitive at the stage of "mature" biofilms. The effect of alkaloids could be expressed both in terms of suppression and enhancement of biofilm growth. It can be assumed that the mechanism of action of plant alkaloids at the level of signaling systems and bacterial quorum sensing allows the protective function to be maintained even with a significant decrease in the number of alkaloids under conditions of permanent antagonism in which they are constantly being destroyed by phytopathogens.

Keywords: colchicine, caffeine, biofilms, *Rhodococcus qingshengii*, *Rhizobium radiobacter*

Acknowledgements. The study was carried out using the collection of microorganisms of the Central Collective Use Center "Bioresource Center" of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (Irkutsk).

Funding. The work was carried out within the framework of the project of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS no. 121031300011-7.

For citation: Maksimova L. A., Markova J. A., Turskaya A. L., Bybin V. A. Effect of low concentrations of caffeine and colchicine on microbial growth and biofilm formation. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):299-309. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-299-309>.

ВВЕДЕНИЕ

Алкалоиды растений – обширная группа соединений вторичного метаболизма, функция которых в организме растений, как предполагается, заключается в аллелопатическом действии против других видов растений [1], защите от поражения животными различных таксонов, а также от грибных и бактериальных инфекций [2]. Антимикробное действие присуще многим растительным алкалоидам, и механизм его активно изучается. Обращение к соединениям природного происхождения продолжает оставаться актуальным в свете решения проблемы преодоления высокорезистентных форм патогенных микроорганизмов, существующих в виде биопленок [3–5]. Несмотря на многочисленные исследования, механизм антимикробного действия алкалоидов тем не менее остается не вполне ясным.

Концентрации алкалоидов для экспериментального воздействия на микроорганизмы часто находятся в пределах 2–10 г/л [6, 7]. Между тем вызывает интерес потенциал алкалоидов в диапазоне субингибирующих концентраций (т.е. значительно ниже минимальной ингибирующей концентрации (МИК)) в перспективе снижения побочного токсического действия. Так, например, кофеин эффективно подавляет рост биопленкообразования *Pseudomonas aeruginosa* в концентрации 40 мг/л (МИК 200 мг/л). Влияние алкалоида авторы связывают с воздействием его на чувство кворума микроорганизма [8]. Берберин (МИК 125 и 17,75 мг/л) эффективно действует на микроорганизмы в концентрации 5–10 мг/л и 10^{-3} г/л [9, 10]. Томатидин подавлял рост *Staphylococcus aureus* в концентрации 8 мг/л [11].

В представленной работе анализируются результаты серии наблюдений за действием алкалоидов кофеина и колхицина в низких концентрациях на рост и биопленкообразование микроорганизмов. Целью исследования являлась оценка возможности воздействия кофеина и колхицина в концентрациях 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} г/л на рост и биопленкообразование *Rhodococcus qingshengii* и *Rhizobium radiobacter*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводили на бактериях: грамположительный *Rhodococcus qingshengii*, штамм 108, выделенный из ризосферы пырея, и грамотрицательный *Rhizobium radiobacter*, штамм B₀542 из коллекции Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (СИФИБР СО РАН). В качестве среды для культивирования использовали забуференный физиологический раствор (0,6%-й раствор NaCl в 0,01 М фосфатном буфере, pH=7,0) с глюкозой (5 г/л), на основе которого также делались растворы алкалоидов. Матричная бактериальная суспензия выращивалась в колбе в 50 мл буферного раствора при покачивании (60 об/мин), в темноте, 3-е суток при температуре 26 °С. Суспензию разводили буферным раствором до 0,1–0,2 оптической плотности ($\lambda=595$ нм), раскапывали в 96-луночные планшеты и инкубировали при 38 °С, в зависимости от эксперимента 3 или 8 суток. Алкалоиды – кофеин и колхицин – использовали в концентрациях 0,00001; 0,0001; 0,001 г/л. Алкалоиды добавляли сразу (*ab initio*) в 1, 2, 3 или 6-й день культивирования. Оптическую плотность бактериальной суспензии в лунках измеряли на планшетном фотометре iMark™ Microplate Reader (BioRad, США) при $\lambda=595$ нм. Для определения уровня биопленкообразования сорбировавшиеся в лун-

ках 96-луночного планшета бактериальные клетки окрашивали кристаллическим фиолетовым. Через 45 мин инкубации краситель сливали и в лунки планшета вносили 96%-й этанол. Интенсивность окраски кристаллического фиолетового в этаноле определяли при λ , равной 595 или 490 нм. Эксперименты включали 6–10 аналитических и 2–3 биологических повторности. Вариабельность данных оценивали параметрическими статистиками (среднее значение и стандартное отклонение) и непараметрическими (медиана, 25 и 75% квартили, минимаксные значения); достоверность отличий оценивали по критериям Стьюдента и Манна–Уитни ($p<0,05$) соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При культивировании бактериальных суспензий совместно с алкалоидами наличие кофеина и колхицина в среде в концентрации 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} г/л не оказывало существенного воздействия на *Rhodococcus qingshengii*, однако подавляло рост *Rhizobium radiobacter* (рис. 1). Обращает на себя внимание толерантность представителя грамположительных микроорганизмов и чувствительность грамотрицательного вида. В последнем случае примечательно сходство графиков, описывающих эффект разных концентраций, несмотря на порядковые различия.

Влияние на биопленкообразование – одна из важнейших характеристик антибактериальных соединений. Согласно современным представлениям, бактериальная биопленка является сложноорганизованной структурой, претерпевающей циклические изменения состояний (адгезия к субстрату, формирование, созревание, дисперсия) [12]. Одним из условий эффективности антимикробного агента может оказаться

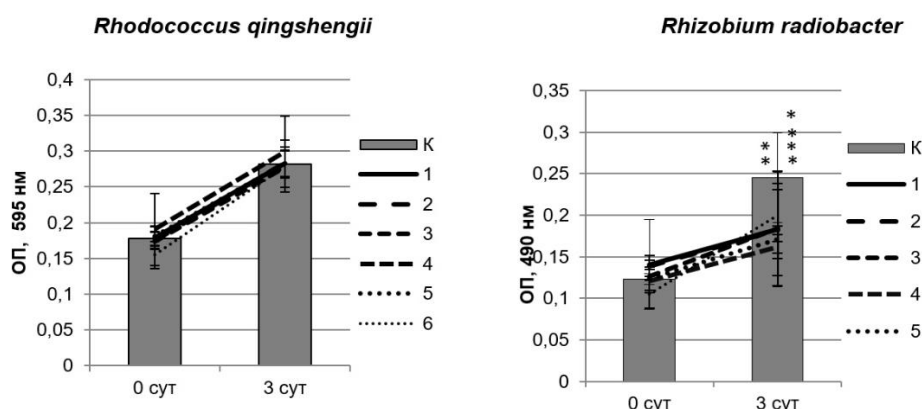


Рис. 1. Влияние кофеина и колхицина на рост бактериальной суспензии.

K – контроль; 1, 2, 3 – концентрации кофеина соответственно 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} г/л; 4, 5, 6 – концентрации колхицина соответственно 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} г/л; по оси ординат: ОП – оптическая плотность. Данные представлены в виде $M \pm SD$. * – достоверные отличия от контроля ($p<0,05$)

Fig. 1. Effect of caffeine and colchicine on growth of bacterial suspension.

Y-axis: optical density, nm; X-axis: time of cultivation, days. K – control; 1, 2, 3 – concentration of caffeine; 4, 5, 6 – concentration of colchicine: respectively 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} g/l. Alkaloids were added *ab initio*. Data are presented as $M \pm SD$, * – statistical differences from control, Student test ($p<0,05$)

тактика его применения, направленная на попадание в уязвимую фазу развития бактериального сообщества. Проводилось поэтапное внесение алкалоидов в разные временные точки (*ab initio*, через 1 и 2 суток), предположительно соответствующие разным стадиям развития биопленки исследуемых микроорганизмов (рис. 2). Влияние алкалоидов на процесс биопленкообразования различалось у грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов. Планктонные клетки *Rhodococcus qingshengii* реагировали на появление в среде колхицина *ab initio* значительным увеличением количества биопленки, причем максимальное ее количество наблюдалось именно при минимальной концентрации алкалоида 10^{-5} г/л. Однако если колхицин был добавлен

в среду через сутки, когда бактерии уже активно формировали биопленку, его присутствие привело в дальнейшем к умеренно выраженному снижению ее количества. Заметим, что наибольшим это воздействие было также для самых низких концентраций – 10^{-4} и 10^{-5} г/л. Дальнейшее созревание биопленки привело к возникновению ее восприимчивости к кофеину во всех 3-х экспериментальных концентрациях. У *Rhizobium radiobacter* добавленный *ab initio* колхицин оказывал умеренно выраженное подавление биопленкообразования во многом схожее с действием на бактериальную суспензию. В дальнейшем, по мере созревания биопленки, оба алкалоида вызвали незначительную стимуляцию ее роста.

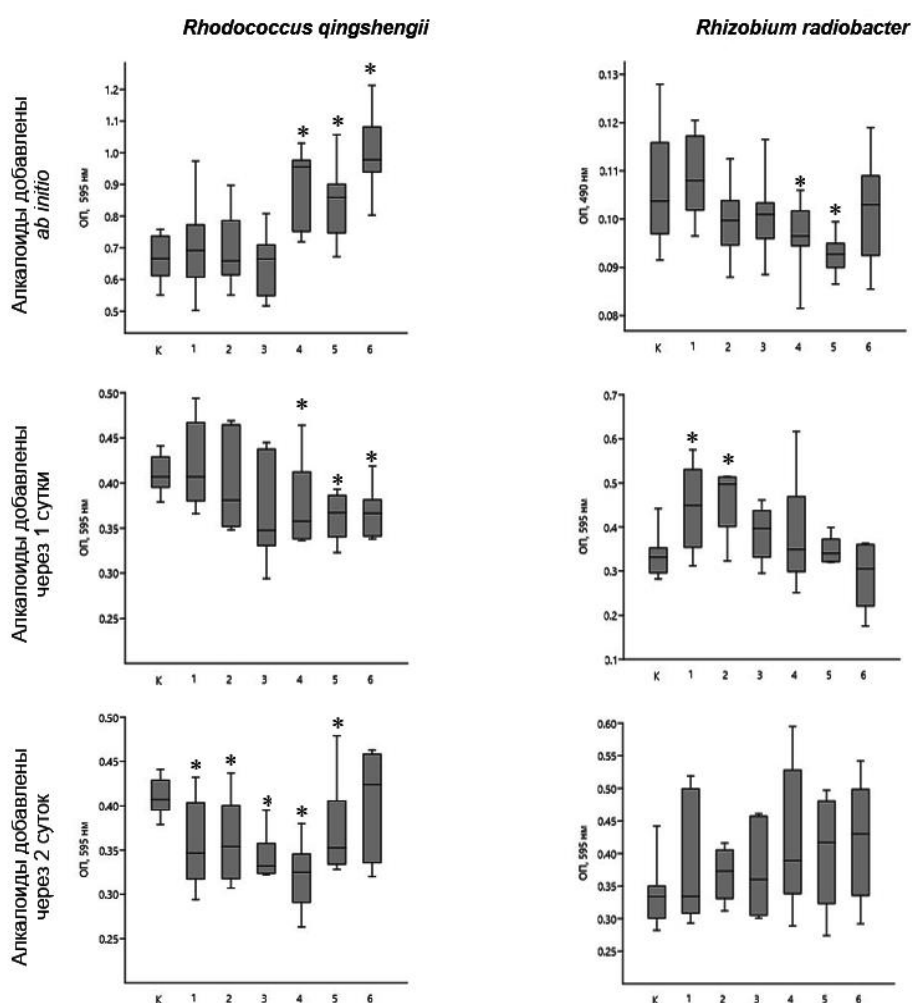


Рис. 2. Влияние кофеина и колхицина на формирование «молодых» биопленок.
 К – контроль; 1, 2, 3 – концентрации кофеина соответственно 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} г/л;
 4, 5, 6 – концентрации колхицина соответственно 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} г/л.

Измерение плотности биопленок проводили на 3-и сутки.

ОП – оптическая плотность; * – достоверные отличия от контроля по U-критерию Манна–Уитни ($p < 0,05$)

Fig. 2. Effect of caffeine and colchicine on «immature» biofilm formation.

Y-axis: optical density, nm; X-axis: K – control; 1, 2, 3 – concentration of caffeine respectively 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} g/l; 4, 5, 6 – concentration of colchicine respectively 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} g/l.

Biofilms were assayed on 3 day.

Data are presented as «box and whisker» diagram (Me, 25–75 Q, max and min);

* – statistical differences from control Mann–Whitney U-test ($p < 0.05$)

Большой интерес представляет потенциальная способность антимикробных соединений к разрушению уже сформированных биопленок. Сравнивалось воздействие кофеина и колхицина на «зрелые» биопленки (3 и 6 сутки) (рис. 3). Биопленки грамположительного *Rhodococcus qingshengii* оказались более устойчивы к присутствию алкалоидов. Даже если алкалоиды препятствовали формированию биопленки или стимулировали ее рост, как было зафиксировано на 3-и сутки (см. рис. 2), их действие было временным, и плотность биопленок на 8-е сутки приближалась к уровню контроля (см. рис. 3). Биопленки *Rhizobium radiobacter* очевидно оказались более чувствительными к действию обоих алкалоидов (см. рис. 3). Следует отметить способность алкалоидов вызывать диаметрально противоположную реакцию бактериальных клеток – как снижать, так и увеличивать степень биопленкообразования.

Таким образом, колхицин и кофеин в малых концентрациях (10^{-3} , 10^{-4} и 10^{-5} г/л) способны эффективно воздействовать как на грамположительные (*Rhodococcus qingshengii*), так и на грамотрицательные микроорганизмы (*Rhizobium radiobacter*). Алкалоиды могут ингибировать рост клеточных суспензий, вызывать как подавление, так и стимуляцию биопленкообразования, а также индуцировать частичную разрушение сформированной биопленки. Оба изучаемых вида являются ризосферными, т.е. обитают в почве в зоне

роста корней и, следовательно, включены в сложную сеть межвидовых растительно-микробных взаимодействий. Контакт с вторичными метаболитами растений является постоянно действующим фактором и, очевидно, основой для возникновения механизмов, обеспечивающих их нейтрализацию микроорганизмами. Известно, что *Rhodococcus* обладает мощной ферментативной системой (в частности кофеин-оксидазой [13]) и способен к полному расщеплению кофеина с использованием алкалоида как источника углерода, азота и энергетического ресурса [14]. Это во многом объясняет устойчивость его клеток к кофеину. Нет сведений о деградации родококком колхицина, однако сообщается о факте биотрансформации колхицина дикими почвенными штаммами *Bacillus megaterium*, где ключевым преобразующим фактором является монооксигеназная система [6]. Поскольку *Rhodococcus* обладает монооксигеназной активностью [15], есть основание предполагать, что этот микроорганизм также может успешно преобразовывать колхицин до нетоксичных производных. Немаловажным фактором в устойчивости суспензии клеток *Rhodococcus* к действию алкалоидов (см. рис. 1), возможно, явился мощный слой пептидогликана клеточной стенки, этим грамположительные микроорганизмы принципиально отличаются от грамотрицательных.

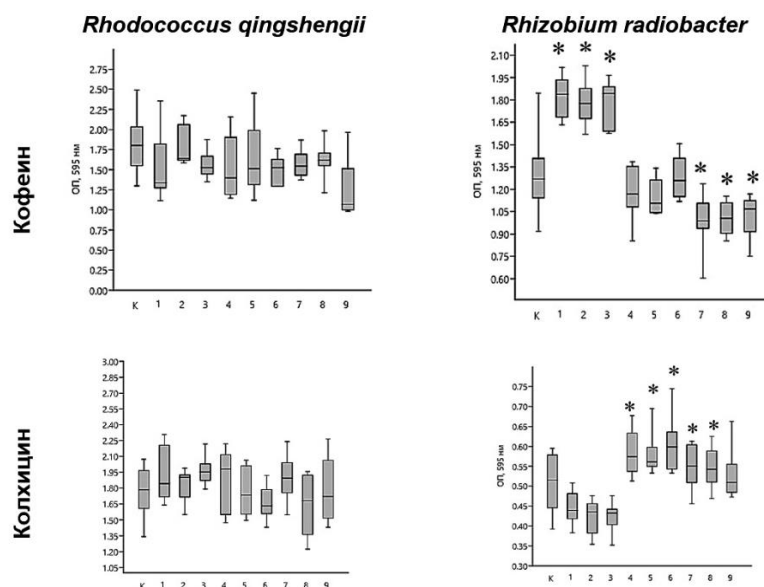


Рис. 3. Влияние алкалоидов на разрушение «зрелых» биопленок.

К – контроль; 1, 2, 3 – алкалоид добавили сразу в концентрациях 10^{-3} , 10^{-4} и 10^{-5} г/л соответственно; 4, 5, 6 – алкалоид добавили через 3-е суток в тех же концентрациях; 7, 8, 9 – через 6 суток.

Измерение плотности биопленок проводили на 8-е сутки. ОП – оптическая плотность;

* – достоверные отличия от контроля по U-критерию Манна–Уитни ($p < 0,05$)

Fig. 3. Effect of alkaloids on destruction of «mature» biofilms.

Y-axis: optical density; X-axis: K – control; 1, 2, 3 – alkaloids were added *ab initio* respectively 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} g/l; 4, 5, 6 – alkaloids were added at the same concentration respectively at 3 day; 7, 8, 9 – alkaloids were added at the same concentration respectively at 6 day. Biofilms were assayed on 8 day.

Data are presented as «box and whisker» diagram (Me, 25–75 Q, max and min);

* – statistical differences from control Mann–Whitney U-test ($p < 0,05$)

Т. Robinson [16] объяснял мощный физиологический эффект малых молекул в малых концентрациях их способностью получать доступ к основополагающим биохимическим процессам, как то: репликация ДНК, трансляция РНК и синтез белка; пассивный и активный трансмембранный транспорт; регуляция активности ферментов; способность изменять конформационную структуру макромолекул; блокировка сайтов связывания рецепторов для химических трансммиттеров. Действительно, позднее было выяснено, что алкалоиды могут напрямую воздействовать на бактериальную ДНК и мембрану [6], а могут играть роль соединения-синергиста, которое облегчает доступ прямого агента-деструктора (например, антибиотика) к бактериальной клетке [2, 4, 17–19]. Известно, что кофеин ингибирует рост ряда микроорганизмов путем подавления синтеза ДНК и РНК [20]. Колхицин широко известен как соединение, ингибирующее сборку микротрубочек, а также препятствующее транспорту коллагена во внеклеточное пространство. Антибактериальное действие колхицина связывают с действием на тубулиноподобный белок FtsZ, необходимый для деления клетки, а также с разрушением матрикса биопленки, в состав которой входят амилоидные структуры [21–24]. Кроме того, колхицин оказывает существенное влияние на внутриклеточный метаболизм бактерий [7].

Наблюдаемое подавление роста суспензии *Rhizobium radiobacter* (см. рис. 1) может происходить вследствие естественного снижения метаболизма бактериальных клеток как защитной физиологической реакции на неблагоприятное воздействие, в том числе в ответ на появление в среде токсиканта. Следует отметить, что реакция бактериальных суспензий *Rhizobium radiobacter*, несмотря на различия концентраций алкалоидов в них на порядки, была практически одинаковой. Подобным образом описывается взаимодействие лигандов с высокой степенью сродства с соответствующими рецепторами, когда для насыщения участков связывания достаточно минимальной концентрации и дозозависимый физиологический ответ в дальнейшем отсутствует. Известно, что алкалоиды взаимодействуют с мембраной животных клеток именно по лиганд-рецепторному принципу [25]. Бактерии, в свою очередь, тоже обладают сложной совокупностью сигнальных систем, основанной на рецепторных взаимодействиях с молекулярными факторами внешней среды [26], в том числе показана возможность присутствия соответствующих алкалоидоподобных рецепторов на бактериальной мембране. Так, был синтезирован гибридный белок-рецептор к кофеину [27].

Кофеин по своей структуре сходен с аденозином и блокирует аденозиновые рецепторы у животных [14, 28]. Метаболизм аденозина тесно связан с энергетическими процессами клетки

(синтез и распад АТФ, АДФ, АМФ), а также с сигнальными системами, связанными с активацией аденозиновых рецепторов [29], в том числе и у одноклеточных эукариот [30]. В то же время цАМФ рассматривается как межклеточный информационный посредник в популяции микроорганизмов [31, 32]. Мы предполагаем, что кофеин может вмешиваться в работу аденилатциклазной системы микроорганизмов, встраиваться в различные метаболические процессы, нарушать их скоординированность и таким образом опосредованно оказывать влияние на их рост.

G. Batoni и др. [33], изучая действие антимикробных соединений, обозначили ключевые моменты антимикробной активности: противодействие первичной адгезии; уничтожение авангарда микробных клеток-колонизаторов; блокирование чувства кворума. Выявлено, что именно на ранних этапах формирования биопленки происходит высвобождение экзоДНК, которая является одним из ключевых факторов не только генного трансфера, но и первичной адгезии [12] и которая, как уже упоминалось [20], может являться мишенью для действия кофеина. Кофеин – один из ингибиторов биопленкообразования грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [34], он блокирует эффлюкс-каналы *Staphylococcus aureus* [35] и подавляет чувство кворума [36]. Обнаружено действие кофеина на биопленкообразование *Pseudomonas aeruginosa* путем взаимодействия с молекулами чувства кворума – белками сворминг-подвижности LasR и LasI [8]. У *Staphylococcus aureus* пептидная молекула чувства кворума связывается с рецептором AgrC, который является гистидинкиназой [37], составляющей двухкомпонентной сигнальной системы. Таким образом, процесс биопленкообразования может быть непосредственно связан с функционированием трансмембранных сигнальных систем.

Алкалоид пиперин ингибирует биопленкообразование *Streptococcus mutans* путем подавления рецепторов и молекул, участвующих в чувстве кворума [38]. В настоящее время утверждение о том, что биопленкообразование находится под контролем чувства кворума, не вызывает сомнений. Более того, выдвигается предположение, что весь спектр вторичных метаболитов (флавоноиды, фенолы, фенольные кислоты, сапонины, танины, хиноны, терпеноиды, в том числе алкалоиды, и др.), известный как действующие вещества лекарственных растений, преимущественно противодействует патогенным микроорганизмам именно на уровне систем чувства кворума [39]. По всей видимости, алкалоиды обладают широким функциональным спектром: как прямым воздействием на клетки микроорганизмов, ведущим к подавлению метаболизма, так и молекулярным «читерством» [37] – имитацией конформационных структур молекул-трансммиттеров на уровне сигнальных систем и

вмешательством в межклеточную коммуникацию бактерий на уровне чувства кворума. В последнем случае мишенью растительных метаболитов является синтез сигнальных молекул, их модификация и деградация [40].

В биологии широко распространено явление вырожденности – перекрывание структурных и функциональных элементов, благодаря чему обеспечивается робастность, или функциональная устойчивость, системы в случае возникновения ошибок [41]. Алкалоиды в минимальных концентрациях продолжают функционировать в качестве защитных соединений в условиях антагонизма с постоянно разрушающими их фитопатогенами. Даже при значительном снижении количества их действие не прекращается, а переходит на другой уровень растительно-микробных взаимодействий и остается не менее эффективным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Такие алкалоиды, как кофеин и колхицин, в низких концентрациях (10^{-3} – 10^{-5} г/л) способны эффективно воздействовать на рост и биопленкообразование грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов (на примере *Rhodococcus qingshengii* и *Rhizobium radiobacter*). Грамотрицательный *Rhizobium radiobacter* чувствительнее к действию алкалоидов в сравнении с грамположительным *Rhodococcus qingshengii*, который реагирует на их наличие только на самых ранних стадиях биопленкообразования. Вероятнее всего, механизм защитного действия алкалоидов в низких концентрациях основан на вмешательстве в сигнальные системы и чувство кворума бактерий.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Seigler D. S. Basic pathways for the origin of allelopathic compounds. In: Allelopathy: a physiological process with ecological implications; Reigosa M. J., Pedrol N., González L. (eds.). Netherlands: Springer, 2006. P. 11–63.
2. Wink M. Modes of action of alkaloids. In: Alkaloids: biochemistry, ecology and medicinal applications; Roberts M. F., Wink M. (eds.). New York: Plenum Press, 1998. P. 301–326. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2905-4_12.
3. Lei Q., Liu H., Peng Y., Xiao P. *In silico* target fishing and pharmacological profiling for the isoquinoline alkaloids of *Macleaya cordata* (Bo Luo Hu) // Chinese Medicine. 2015. Vol. 10, no. 37. <https://doi.org/10.1186/s13020-015-0067-4>.
4. Tikku A. R. Antimicrobial compounds and they role in plant defence. In: Molecular aspects of plant-pathogen interaction; Singh A., Singh I. K. (eds.). Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2018. P. 283–307. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-7371-7>.
5. Lahiri D., Dash S., Dutta R., Nag M. Elucidating the effect of anti-biofilm activity of bioactive compounds extracted from plants // Journal of Biosciences. 2019. Vol. 44. Article number 52. <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9868-4>.
6. Ponzzone C., Berlanda D., Donzelli F., Acquati V., Ciulla R., Negrini A., et al. Biotransformation of colchicinoids into their corresponding 3-o-glucosyl derivatives by selected strains of *Bacillus megaterium* // Molecular Biotechnology. 2014. Vol. 56, no. 7. P. 653–659. <https://doi.org/10.1007/s12033-014-9741-5>.
7. Dubey K. K., Jawed A., Haque Sh. Structural and metabolic correlation for *Bacillus megaterium* ACBT03 in response to colchicine biotransformation // Microbiology. 2011. Vol. 80, no. 6. P. 758–767. <https://doi.org/10.1134/S0026261711060099>.
8. Chakraborty P., Dastidar D. G., Paul P., Dutta S., Basu D., Sharma S. R., et al. Inhibition of biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* by caffeine: a potential approach for sustainable management of biofilm // Archives of Microbiology. 2020. Vol. 202, no. 3. P. 623–635. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01775-0>.
9. Zorić N., Kosalec I., Tomić S., Bobnjarić I., Jug M., Vlajnić T., et al. Membrane of *Candida albicans* as a target of berberine // BMC Complementary and Alternative Medicine. 2017. Vol. 17. Article number 268. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1773-5>.
10. Kokkrua S., Ismail S. I., Mazlan N., Dethoup T. Efficacy of berberine in controlling foliar rice diseases // European Journal of Plant Pathology. 2020. Vol. 156, no. 1. P. 147–158. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01871-3>.
11. Boulanger S., Mitchell G., Bouarab K., Marsault É., Cantin A., Frost E. H., et al. Bactericidal effect of tomatidine-tobramycin combination against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is enhanced by interspecific small-molecule interactions // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2015. Vol. 59, no. 12. P. 7458–7464. <https://doi.org/10.1128/AAC.01711-15>.
12. Saxena P., Joshi Y., Rawat K., Bisht R. Biofilms: architecture, resistance, quorum sensing and control mechanisms // Indian Journal of Microbiology. 2019. Vol. 59, no. 1. P. 3–12. <https://doi.org/10.1007/s12088-018-0757-6>.
13. Dash S. S., Gummadi S. N. Catabolic pathways and biotechnological applications of microbial caffeine degradation // Biotechnology Letters. 2006. Vol. 28, no. 24. P. 1993–2002. <https://doi.org/10.1007/s10529-006-9196-2>.
14. Korekar G., Kumar A., Ugale Ch. Occurrence, fate, persistence and remediation of caffeine: a review // Environmental Science and Pollution Research. 2020. Vol. 27, no. 28. P. 34715–34733. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06998-8>.
15. Sträuber H., Müller R. H., Babel W. Evidence of Cytochrome P450-catalyzed cleavage of the ether bond of phenoxybutyrate herbicides in *Rhodococcus qingshengii* K2-3 // Biodegradation.

2003. Vol. 14, no. 1. P. 41–50. <https://doi.org/10.1023/A:1023550209155>.

16. Robinson T. Biochemical effects of alkaloids. In: The biochemistry of alkaloids. Molecular biology biochemistry and biophysics; Robinson T. (ed.). Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1981. Vol. 3. P. 182–210. https://doi.org/10.1007/978-3-642-61830-7_15.

17. Wang Y., Kong L., Liu L., Odah K. A., Liu Sh., Jiang X., et al. Antibacterial mode of fibrauretin and synergistic effect with kanamycin against multi-drug resistant *Escherichia coli* // Biotechnology Letters. 2019. Vol. 41. P. 1023–1031. <https://doi.org/10.1007/s10529-019-02697-z>.

18. Banerjee S. K., Chatterjee S. N. Radiomimetic property of furazolidone and caffeine enhancement of its lethal action on the vibrios // Chemico-Biological Interactions. 1981. Vol. 37, no. 3. P. 321–335. [https://doi.org/10.1016/0009-2797\(81\)90118-6](https://doi.org/10.1016/0009-2797(81)90118-6).

19. Khameneh B., Iranshahy M., Soheili V., Bazzaz B. S. F. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint // Antimicrobial Resistance and Infection Control. 2019. Vol. 8. Article number 118. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0559-6>.

20. Sledz W., Los E., Paczek A., Rischka J., Motyka A., Zoladowska S., et al. Antibacterial activity of caffeine against plant pathogenic bacteria // Acta Biochimica Polonica. 2015. Vol. 62, no. 3. P. 605–612. https://doi.org/10.18388/abp.2015_1092.

21. Bhowmik S., Khanna Sh., Srivastava K., Hasanain M., Sarkar J., Verma S., et al. An efficient combinatorial synthesis of allocolchicine analogues via a triple cascade reaction and their evaluation as inhibitors of insulin aggregation // ChemMedChem. 2013. Vol. 8, no. 11. P. 1767–1772. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201300302>.

22. Evans M. L., Chapman M. R. Curli biogenesis: order out of disorder // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research. 2014. Vol. 1843, no. 8. P. 1551–1558. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.09.010>.

23. Erskine E., MacPhee C. E., Stanley-Wall N. R. Functional amyloid and other protein fibers in the biofilm matrix // Journal of Molecular Biology. 2018. Vol. 430, no. 20. P. 3642–3656. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.07.026>.

24. Boberek J. M., Stach J., Good L. Genetic evidence for inhibition of bacterial division protein FtsZ by berberine // PLoS ONE. 2010. Vol. 5, no. 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013745>.

25. Chu M., Ding R., Chu Z., Zhang M., Liu X., Xie Sh., et al. Role of berberine in anti-bacterial as a high-affinity LPS antagonist binding to TLR4/MD-2 receptor // BMC Complementary and Alternative Medicine. 2014. Vol. 14. Article number 89. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-89>.

26. Jung K., Fabiani F., Hoyer E., Lassak J. Bacterial transmembrane signalling systems and their engineering for biosensing // Open Biology. 2018. Vol. 8, no. 4. <https://doi.org/10.1098/rsob.180023>.

27. Chang H. J., Mayonove P., Zavala A., De Visch A., Minard P., Cohen-Gonsaud M., et al. A modular receptor platform to expand the sensing repertoire of bacteria // ACS Synthetic Biology. 2018. Vol. 7, no. 1. P. 166–175. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.7b00266>.

28. Müller C. E., Baqi Y., Namasivayam V. Agonists and antagonists for purinergic receptors. In: Purinergic signaling. Methods in molecular biology; Pelegrín P. (ed.). Humana, New York: Springer Nature, 2020. Vol. 2041. P. 45–64. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9717-6_3.

29. Boison D. Regulation of extracellular adenosine. In: The adenosine receptors; Borea P. A., Varani K., Gessi S., Merighi S., Vincenzi F. (eds.). Cham: Humana Press, 2018. Vol. 34. P. 13–32. https://doi.org/10.1007/978-3-319-90808-3_2.

30. Shpakov A. O., Derkach K. V., Uspenskaya Z. I., Pertseva M. N. Regulation by cyclic adenosine monophosphate of functional activity of the adenylyl cyclase system in the infusorian *Dileptus anser* // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2010. Vol. 46. P. 145–152. <https://doi.org/10.1134/S002209301002002X>.

31. Gersch D., Strunk Ch. Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate as “first messenger” in *Streptomyces hygroscopicus* – bimodal regulation of germination and growth // Current Microbiology. 1980. Vol. 4, no. 5. P. 271–275. <https://doi.org/10.1007/bf02602830>.

32. Gomelsky M. cAMP, c-di-GMP, c-di-AMP and now cGMP: bacteria use them all! // Molecular Microbiology. 2011. Vol. 79, no. 3. P. 562–565. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07514.x>.

33. Batoni G., Maisetta G., Brancatisano F. L., Esin S., Campa M. Use of antimicrobial peptides against microbial biofilms: advantages and limits // Current Medicinal Chemistry. 2011. Vol. 18, no. 2. P. 256–279. <https://doi.org/10.2174/092986711794088399>.

34. Lele O. H., Maniar J. A., Chakravorty R. L., Vaidya Sh. P., Chowdhary A. Sh. Assessment of biological activities of caffeine // International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2016. Vol. 5, no. 5. P. 45–53. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.505.005>.

35. Saber N., Kandala N. J. The inhibitory effect of fluphenazine decanoate and caffeine on *Staphylococcus aureus* efflux pumps // Current Research in Microbiology and Biotechnology. 2018. Vol. 6, no. 2. P. 1530–1535.

36. Norizan S. N. M., Yin W.-F., Chan K.-G. Caffeine as a potential quorum sensing inhibitor // Sensors. 2013. Vol. 13, no. 4. P. 5117–5129. <https://doi.org/10.3390/s130405117>.

37. Abisado R. G., Benomar S., Klaus J. R., Dandekar A. A., Chandler J. R. Bacterial quorum sensing and microbial community interactions // mBio. 2018. Vol. 9, no. 3. <https://doi.org/10.1128/mBio.02331-17>.

38. Dwivedi D., Singh V. Effects of the natural

compounds embelin and piperine on the biofilm-producing property of *Streptococcus mutans* // Journal of Traditional and Complementary Medicine. 2016. Vol. 6, no. 1. P. 57–61. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.11.025>.

39. Paluch E., Rewak-Soroczyńska J., Jędrusik I., Mazurkiewicz E., Jermakow K. Prevention of biofilm formation by quorum quenching // Applied Microbiology and Biotechnology. 2020. Vol. 104. P. 1871–1881. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10349-w>.

40. Bacha K., Tariku Y., Gebreyesus F., Zerihun Sh.,

Mohammed A., Weiland-Bräuer N., et al. Antimicrobial and anti-quorum sensing activities of selected medicinal plants of Ethiopia: implication for development of potent antimicrobial agents // BMC Microbiology. 2016. Vol. 16. Article number 139. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0765-9>.

41. Whitacre J. M. Degeneracy: a link between evolvability, robustness and complexity in biological systems // Theoretical Biology and Medical Modelling. 2010. Vol. 7, no. 6. <https://doi.org/10.1186/1742-4682-7-6>.

REFERENCES

1. Seigler D. S. Basic pathways for the origin of allelopathic compounds. In: *Allelopathy: a physiological process with ecological implications*; Reigosa M. J., Pedrol N., González L. (eds.). Netherlands: Springer; 2006, p. 11-63.

2. Wink M. Modes of action of alkaloids. In: *Alkaloids: biochemistry, ecology and medicinal applications*; Roberts M. F., Wink M. (eds.). New York: Plenum Press; 1998, p. 301-326. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2905-4_12.

3. Lei Q., Liu H., Peng Y., Xiao P. *In silico* target fishing and pharmacological profiling for the isoquinoline alkaloids of *Macleaya cordata* (Bo Luo Hui). *Chinese Medicine*. 2015;10(37). <https://doi.org/10.1186/s13020-015-0067-4>.

4. Tiku A. R. Antimicrobial compounds and they role in plant defence. In: *Molecular aspects of plant-pathogen interaction*; Singh A., Singh I. K. (eds.). Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd.; 2018, p. 283-307. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-7371-7>.

5. Lahiri D., Dash S., Dutta R., Nag M. Elucidating the effect of anti-biofilm activity of bioactive compounds extracted from plants. *Journal of Biosciences*. 2019;44. Article number 52. <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9868-4>.

6. Ponzzone C., Berlanda D., Donzelli F., Acquati V., Ciulla R., Negrini A., et al. Biotransformation of colchicinoids into their corresponding 3-o-glucosyl derivatives by selected strains of *Bacillus megaterium*. *Molecular Biotechnology*. 2014;56(7):653-659. <https://doi.org/10.1007/s12033-014-9741-5>.

7. Dubey K. K., Jawed A., Haque Sh. Structural and metabolic correlation for *Bacillus megaterium* ACBT03 in response to colchicine biotransformation. *Microbiology*. 2011;80(6):758-767. <https://doi.org/10.1134/S0026261711060099>.

8. Chakraborty P., Dastidar D. G., Paul P., Dutta S., Basu D., Sharma S. R., et al. Inhibition of biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* by caffeine: a potential approach for sustainable management of biofilm. *Archives of Microbiology*. 2020;202(3):623-635. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01775-0>.

9. Zorić N., Kosalec I., Tomić S., Bobnjarić I., Jug M., Vlajinić T., et al. Membrane of *Candida albicans* as a target of berberine. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017;17. Article number

268. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1773-5>.

10. Kokkrua S., Ismail S. I., Mazlan N., Dethoup T. Efficacy of berberine in controlling foliar rice diseases. *European Journal of Plant Pathology*. 2020; 156(1):147-158. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01871-3>.

11. Boulanger S., Mitchell G., Bouarab K., Marsault É., Cantin A., Frost E. H., et al. Bactericidal effect of tomatidine-tobramycin combination against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is enhanced by interspecific small-molecule interactions. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2015;59(12):7458-7464. <https://doi.org/10.1128/AAC.01711-15>.

12. Saxena P., Joshi Y., Rawat K., Bisht R. Biofilms: architecture, resistance, quorum sensing and control mechanisms. *Indian Journal of Microbiology*. 2019;59(1):3-12. <https://doi.org/10.1007/s12088-018-0757-6>.

13. Dash S. S., Gummadi S. N. Catabolic pathways and biotechnological applications of microbial caffeine degradation. *Biotechnology Letters*. 2006; 28(24):1993-2002. <https://doi.org/10.1007/s10529-006-9196-2>.

14. Korekar G., Kumar A., Ugale Ch. Occurrence, fate, persistence and remediation of caffeine: a review. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020;27(28):34715-34733. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06998-8>.

15. Sträuber H., Müller R. H., Babel W. Evidence of Cytochrome P450-catalyzed cleavage of the ether bond of phenoxybutyrate herbicides in *Rhodococcus Qingshengii* K2-3. *Biodegradation*. 2003;14(1):41-50. <https://doi.org/10.1023/A:1023550209155>.

16. Robinson T. Biochemical effects of alkaloids. In: *The biochemistry of alkaloids. Molecular biology biochemistry and biophysics*; Robinson T. (ed.). Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 1981, vol. 3, p. 182-210. https://doi.org/10.1007/978-3-642-61830-7_15.

17. Wang Y., Kong L., Liu L., Odah K. A., Liu Sh., Jiang X., et al. Antibacterial mode of fibrauretin and synergistic effect with kanamycin against multi-drug resistant *Escherichia coli*. *Biotechnology Letters*. 2019; 41:1023-1031. <https://doi.org/10.1007/s10529-019-02697-z>.

18. Banerjee S. K., Chatterjee S. N. Radiomimetic property of furazolidone and caffeine enhancement of its lethal action on the vibrios. *Che-*

- mico-Biological Interactions*. 1981;37(3):321-335. [https://doi.org/10.1016/0009-2797\(81\)90118-6](https://doi.org/10.1016/0009-2797(81)90118-6).
19. Khameneh B., Iranshahy M., Soheili V., Bazzaz B. S. F. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2019;8. Article number 118. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0559-6>.
20. Sledz W., Los E., Paczek A., Rischka J., Motyka A., Zoledowska S., et al. Antibacterial activity of caffeine against plant pathogenic bacteria. *Acta Biochimica Polonica*. 2015;62(3):605-612. https://doi.org/10.18388/abp.2015_1092.
21. Bhowmik S., Khanna Sh., Srivastava K., Hasanain M., Sarkar J., Verma S., et al. An efficient combinatorial synthesis of allocolchicine analogues via a triple cascade reaction and their evaluation as inhibitors of insulin aggregation. *ChemMedChem*. 2013;8(11):1767-1772. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201300302>.
22. Evans M. L., Chapman M. R. Curli biogenesis: order out of disorder. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. 2014;1843(8):1551-1558. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.09.010>.
23. Erskine E., MacPhee C. E., Stanley-Wall N. R. Functional amyloid and other protein fibers in the biofilm matrix. *Journal of Molecular Biology*. 2018;430(20):3642-3656. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.07.026>.
24. Boberek J. M., Stach J., Good L. Genetic evidence for inhibition of bacterial division protein FtsZ by berberine. *PLoS ONE*. 2010;5(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013745>.
25. Chu M., Ding R., Chu Z., Zhang M., Liu X., Xie Sh., et al. Role of berberine in anti-bacterial as a high-affinity LPS antagonist binding to TLR4/MD-2 receptor. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2014;14. Article number 89. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-89>.
26. Jung K., Fabiani F., Hoyer E., Lassak J. Bacterial transmembrane signalling systems and their engineering for biosensing. *Open Biology*. 2018;8(4). <https://doi.org/10.1098/rsob.180023>.
27. Chang H. J., Mayonove P., Zavala A., De Visch A., Minard P., Cohen-Gonsaud M., et al. A modular receptor platform to expand the sensing repertoire of bacteria. *ACS Synthetic Biology*. 2018;7(1):166-175. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.7b00266>.
28. Müller C. E., Baqi Y., Namasivayam V. Agonists and antagonists for purinergic receptors. In: *Purinergic signaling. Methods in molecular biology*; Pelegrín P. (ed.). Humana, New York: Springer Nature; 2020, vol. 2041, p. 45-64. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9717-6_3.
29. Boison D. Regulation of extracellular adenosine. In: *The adenosine receptors*; Borea P. A., Varani K., Gessi S., Merighi S., Vincenzi F. (eds.). Cham: Humana Press; 2018, vol. 34, p. 13-32. https://doi.org/10.1007/978-3-319-90808-3_2.
30. Shpakov A. O., Derkach K. V., Uspenskaya Z. I., Pertseva M. N. Regulation by cyclic adenosine monophosphate of functional activity of the adenyl cyclase system in the infusorian *Dileptus anser*. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2010;46:145-152. <https://doi.org/10.1134/S002209301002002X>.
31. Gersch D., Strunk Ch. Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate as "first messenger" in *Streptomyces hygroscopicus* – bimodal regulation of germination and growth. *Current Microbiology*. 1980;4(5):271-275. <https://doi.org/10.1007/bf02602830>.
32. Gomelsky M. cAMP, c-di-GMP, c-di-AMP and now cGMP: bacteria use them all! *Molecular Microbiology*. 2011;79(3):562-565. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07514.x>.
33. Batoni G., Maisetta G., Brancatisano F. L., Esin S., Campa M. Use of antimicrobial peptides against microbial biofilms: advantages and limits. *Current Medicinal Chemistry*. 2011;18(2):256-279. <https://doi.org/10.2174/092986711794088399>.
34. Lele O. H., Maniar J. A., Chakravorty R. L., Vaidya Sh. P., Chowdharyet A. Sh. Assessment of biological activities of caffeine. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2016;5(5):45-53. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.505.005>.
35. Saber N., Kandala N. J. The inhibitory effect of fluphenazine decanoate and caffeine on *Staphylococcus aureus* efflux pumps. *Current Research in Microbiology and Biotechnology*. 2018;6(2):1530-1535.
36. Norizan S. N. M., Yin W.-F., Chan K.-G. Caffeine as a potential quorum sensing inhibitor. *Sensors*. 2013;13(4):5117-5129. <https://doi.org/10.3390/s130405117>.
37. Abisado R. G., Benomar S., Klaus J. R., Dandekar A. A., Chandler J. R. Bacterial quorum sensing and microbial community interactions. *mBio*. 2018;9(3). <https://doi.org/10.1128/mBio.02331-17>.
38. Dwivedi D., Singh V. Effects of the natural compounds embelin and piperine on the biofilm-producing property of *Streptococcus mutans*. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2016;6(1):57-61. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.11.025>.
39. Paluch E., Rewak-Soroczyńska J., Jędrusik I., Mazurkiewicz E., Jermakow K. Prevention of biofilm formation by quorum quenching. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020;104:1871-1881. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10349-w>.
40. Bacha K., Tariku Y., Gebreyesus F., Zerihun Sh., Mohammed A., Weiland-Bräuer N., et al. Antimicrobial and anti-quorum sensing activities of selected medicinal plants of Ethiopia: implication for development of potent antimicrobial agents. *BMC Microbiology*. 2016;16. Article number 139. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0765-9>.
41. Whitacre J. M. Degeneracy: a link between evolvability, robustness and complexity in biological systems. *Theoretical Biology and Medical Modelling*. 2010;7(6). <https://doi.org/10.1186/1742-4682-7-6>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Л. А. Максимова,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
VendyS@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6133-0981>

Ю. А. Маркова,

д.б.н., заведующая лабораторией,
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
juliam06@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7767-4204>

А. Л. Турская,

к.б.н., научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
turskaya-anna@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5717-6766>

В. А. Быбин,

к.б.н., ведущий инженер,
Сибирский институт физиологии и биохимии
растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
godolin@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3825-9945>

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 20.04.2011.
Одобрена после рецензирования 25.06.2021.
Принята к публикации 30.06.2021.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Lyudmila A. Maksimova,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
VendyS@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6133-0981>

Julia A. Markova,

Dr. Sci. (Biology), Head of the Laboratory,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
juliam06@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7767-4204>

Anna L. Turskaya,

Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
turskaya-anna@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5717-6766>

Victor A. Bybin,

Cand. Sci. (Biology), Leading Engineer,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
godolin@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3825-9945>

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 20.04.2011.
Approved after reviewing 25.06.2021.
Accepted for publication 30.06.2021.*

Научная статья

УДК 579.6:631.46

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-310-320>



Влияние нового гуминового препарата на ремедиацию нефтезагрязненной почвы

Наталья Викторовна Фомичева, Юлия Дмитриевна Смирнова,
Галина Юрьевна Рабинович

ФИЦ «Почвенный институт им. В. В. Докучаева»,

г. Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Фомичева Наталья Викторовна, nvfomi@mail.ru

Аннотация. Во Всероссийском научно-исследовательском институте мелиорированных земель (филиале ФИЦ «Почвенный институт им. В. В. Докучаева») разработан гуминовый препарат БоГум, полученный щелочной экстракцией гуминосодержащего сырья. Цель работы – изучение влияния гуминового препарата БоГум на ремедиацию нефтезагрязненной дерново-подзолистой почвы. В модельном эксперименте по ремедиации почвы, искусственно загрязненной нефтью в количестве 5%, БоГум применяли в 3-х дозах: как стимулятор аборигенной микрофлоры (300 л/га), как удобрение (3000 л/га), как сорбент (30000 л/га). Установлено, что БоГум эффективнее в качестве стимулятора аборигенной микрофлоры, максимум которой наблюдался спустя месяц после внесения препарата, а степень деструкции нефти за два месяца эксперимента составила 40,1%. Определено, что при применении БоГум в качестве сорбента гуминовые вещества препарата на протяжении всего эксперимента являлись более доступным источником питания для почвенной микрофлоры, нефтяные углеводороды вследствие сорбции были малодоступны для микроорганизмов, в итоге деструкция нефти была наименьшей. Максимальную степень деструкции (44,9%) обеспечило совместное применение микробного препарата МикроБак (разработка Института биохимии и физиологии микроорганизмов РАН) и гуминового препарата БоГум в дозировке 300 л/га. Препараты проявили синергетический эффект, что отразилось на активном развитии как углеводородокисляющих микроорганизмов, так и аборигенной микрофлоры. Процентное содержание углеводородокисляющих микроорганизмов от общей численности гетеротрофов во всех вариантах опыта было максимальным через две недели, далее снижалось с разной интенсивностью. Рассчитанные уравнения множественной регрессии позволили оценить влияние исследуемых физиологических групп микроорганизмов на степень деструкции.

Ключевые слова: нефть, гуминовый препарат, микробный препарат, степень деструкции, углеводородокисляющие микроорганизмы, аборигенная микрофлора

Для цитирования: Фомичева Н. В., Смирнова Ю. Д., Рабинович Г. Ю. Влияние нового гуминового препарата на ремедиацию нефтезагрязненной почвы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 310–320. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-310-320>.

Influence of new humic preparation on remediation of oil-contaminated soil

Natalia V. Fomicheva, Yulia D. Smirnova,
Galina Yu. Rabinovich

FRC V. V. Dokuchaev Soil Science Institute,
Moscow, Russian Federation

Corresponding author: Natalia V. Fomicheva, nvfomi@mail.ru

Abstract. A humic preparation obtained through alkaline extraction of humic-containing raw materials at the All-Russian Research Institute of Reclaimed Lands (branch of the V. V. Dokuchaev Soil Science Institute) is presented. The aim of the work is to study the effect of the humic preparation – named BoGum – on the remediation of oil-contaminated podzols. In a model experiment for soil remediation, artificially contaminated with oil in an amount of 5%, BoGum was used in 3 doses: as a stimulant of aboriginal microflora (300 l/ha), as a fertiliser (3000 l/ha), and as a sorbent (30000 l/ha). BoGum was found to be more effective as a stimulant of aboriginal microflora, whose maximum was observed one month following application, while the degree of destruction of oil over the two months of the experiment was 40.1%. Over the course of the experiment, it was determined that humic substances of the preparation were a more affordable source of nutrition for the soil microflora when BoGum was used as a sorbent; the breakdown of oil was the lowest when petroleum hydrocarbons were inaccessible to microorganisms due to sorption. The maximum degree of breakdown (44.9%) occurred with the combined use of the microbial preparation MicroBak (development of the Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms of the Russian Academy of Sciences) and the humic preparation BoGum at a dosage of 300 l/ha. The preparation demonstrated a synergistic effect, which affected the active development of both hydrocarbon-oxidising microorganisms and aboriginal microflora. The percentage of the hydrocarbon-oxidising microorganisms from the total number of heterotrophs in all experimental variants was maximum in two weeks; this was reduced at different intensities. Calculated multiple regression equations were used to estimate the physiological influence of the groups of microorganisms on the degree of degradation being investigated.

Keywords: oil, humic preparation, microbial preparation, the degree of degradation, hydrocarbon-oxidising microorganisms, aboriginal microflora

For citation: Fomicheva N. V., Smirnova Yu. D., Rabinovich G. Yu. Influence of new humic preparation on remediation of oil-contaminated soil. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):310-320. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-310-320>.

ВВЕДЕНИЕ

Среди антропогенных факторов по степени вредного влияния на экосистемы одно из главных мест занимают нефть и нефтепродукты. Существуют различные способы ликвидации и рекультивации нефтяных загрязнений [1, 2]. При этом ни один из известных методов не позволяет полностью решить проблему очистки нефтезагрязненной почвы. Актуальным остается создание новых и совершенствование существующих способов очистки почв и рекультивации почвенного покрова, в том числе поиск предназначенных для этого новых реагентов и препаратов [3].

В России и за рубежом для ремедиации нефтезагрязненных почв применяют гуминовые препараты, разработка, освоение и широкое использование которых считаются важнейшим элементом успешного решения проблемы детоксикации и восстановления плодородия нефтезагрязненных почв [4, 5].

Так, ряд ученых [6] для ремедиации искус-

ственно загрязненной нефтью почвы (концентрация нефти 15 г/кг) использовали гуминовые кислоты, полученные механохимическим способом из низинного торфа. Растворы гуминовых кислот вносили в почву на 3 и 5-е сутки культивирования из расчета 2 мл раствора гуминовых кислот в концентрации 5 г/л на 100 г почвы. За 30 суток проведения эксперимента содержание экстрагируемых битумоидов снизилось до 40% масс. Исследователи отмечают, что почвенная микрофлора, стимулированная гуминовыми препаратами, обладала повышенной деструктивной нефтеокисляющей активностью, о чем свидетельствовали показатели биodeградации углеводородов.

В модельном опыте на черноземе обыкновенном со средним содержанием гумуса 3,6% в качестве вещества, включающего нефтепродукты, использовали масло моторное марки Mobil 1, а в качестве источников гуминовых веществ – гуминовый препарат Гумат-80 (ООО «АгроТех ГУМАТ», Россия). Через месяц после внесения

гуматов с концентрацией 0,7 г/л степень извлечения нефтепродуктов составила 65% [7].

В практике ремедиации нефтезагрязненных почв известен также гуминовый препарат Гумиком (ООО «Эмульсионные технологии», Россия), выделенный из бурого угля [8], гуминовый препарат Питэр Пит (ООО «Peter Peat», Россия) [9] и др. [10]. Кроме этого, встречаются оригинальные технологии ремедиации, в которых, например, препараты на основе гуминовых веществ различного происхождения применяются в качестве промывочных агентов нефтезагрязненных почв [11]; для стимуляции биохимического окисления нефтяного загрязнения в почве используются гуминовые кислоты торфа в комплексе со светокорректирующими пленочными покрытиями [12]; на основе гуминовых веществ разработаны и используются твердые сорбенты [13].

Во Всероссийском научно-исследовательском институте мелиорированных земель (филиале ФИЦ «Почвенный институт им. В. В. Докучаева») разработан гуминовый препарат (рабочее название БоГум). Апробация БоГум в полевых условиях при выращивании различных сельскохозяйственных культур свидетельствовала об его эффективности в результате комплексного влияния на почву и растения за счет проявления стимулирующей (активизирующей) функции [14, 15].

Благоприятный состав БоГум, а также полученный ранее положительный опыт его применения позволили сделать предположение о перспективности использования гуминового препарата для очистки почв от нефтезагрязнений.

Цель работы – изучение влияния гуминового препарата БоГум на ремедиацию нефтезагрязненной дерново-подзолистой почвы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Гуминовый препарат БоГум получен путем щелочной экстракции отхода производства жидкофазного биопрепарата для роста и развития растений и представляет собой жидкость темнокоричневого цвета без неприятного запаха [16]. Основной характеристикой БоГум, используемого в данной работе, является содержание гуминовых кислот – $13,0 \pm 0,2$ г/л, сухого остатка – $29,5 \pm 0,3$ г/л, общее микробное число – $(1,8 \pm 0,4) \times 10^7$ КОЕ/мл, pH $8,13 \pm 0,05$, кроме этого, в препарате содержатся макро- и микроэлементы.

Для изучения эффективности использования БоГум в процессе ремедиации нефтезагрязненной почвы был заложен модельный эксперимент в лабораторных условиях. С этой целью в пластиковые контейнеры помещали высушенную, просеянную дерново-подзолистую легкосуглинистую почву, которую затем увлажняли до 70% от предельно-полевой влагоемкости и далее проводили искусственное загрязнение почвы нефтью из расчета 50 г/кг почвы (5% нефтезагрязнений). В опыте использовали нефть Западно-Сибирского месторождения плотностью 0,860 г/см³. Спустя 3-е суток в контейнеры вносили гуминовый препарат БоГум, через неделю было проведено повторное его внесение.

В целом доза вносимого рабочего раствора препарата зависит от различных факторов: количества нефтепродуктов в почве, плотности почвы и глубины залегания корневого слоя растений или глубины пахотного горизонта и др. [5]. Анализ научной литературы позволил определить 3 различные дозы применения препарата. Известно [17], что гуминовые вещества, вносимые в нефтезагрязненные почвы в диапазоне минимальных концентраций от 0,1 до 0,8 г/л, способны обеспечивать стимулирующий эффект для аборигенной микрофлоры, в диапазоне от 1 до 9 г/л – способны оказывать удобрительный эффект в целом, а в диапазоне концентраций от 10 до 60 г/л – выступать в качестве сорбентов. В гуминовом препарате БоГум содержание гуминовых кислот $13 \pm 0,2$ г/л, что позволило использовать его как сорбент, а при соответствующем разбавлении и как удобрение, и как стимулятор аборигенной микрофлоры (табл. 1).

В качестве препарата сравнения использовали лиофильно высушенный микробиологический препарат МикроБак, разработанный в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина и любезно предоставленный доктором биологических наук А. Е. Филоновым. Препарат МикроБак предназначен для биоремедиации почв с содержанием нефти до 15% и представляет собой консорциум бактерий родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas*. По рекомендациям производителей МикроБак вносили по фону азофоски (0,15 г/кг почвы) из расчета конечного содержания штаммов-нефтедеструкторов 10^5 КОЕ/1 г почвы.

Таблица 1. Концентрации и дозы внесения гуминового препарата БоГум

Table 1. Concentrations and doses of applied humic preparation BoHum

Концентрация гуминовых веществ, г/л	Действие гуминового препарата	Концентрация гуминовых кислот в рабочем растворе БоГум, г/л	Разбавление БоГум	Доза внесения БоГум, л/га
0,1–0,8	Стимулятор аборигенной микрофлоры	0,13	1:100	300
1–9	Удобрение	1,3	1:10	3000
10–60	Сорбент	13	–	30000

В научной литературе отмечено [9, 10, 18], что совместное использование специализированных микробных препаратов с гуминовыми препаратами способствует более эффективной биодegradации нефтяного загрязнения почвенной и водной среды. В связи с этим в схеме модельного эксперимента были предусмотрены два варианта совместного использования МикроБак и БоГум.

Схема модельного опыта:

- вариант 1 – почва без нефти (контроль 1);
- вариант 2 – почва + нефть (контроль 2);
- вариант 3 – почва + нефть + МикроБак + азофоска;
- вариант 4 – почва + нефть + БоГум 300 л/га;
- вариант 5 – почва + нефть + БоГум 3000 л/га;
- вариант 6 – почва + нефть + БоГум 30000 л/га;
- вариант 7 – почва + нефть + МикроБак + БоГум 300 л/га;
- вариант 8 – почва + нефть + МикроБак + БоГум 3000 л/га.

Модельный эксперимент был заложен дважды в 3-кратной повторности на 2 месяца с поддержанием оптимального водно-воздушного режима.

Пробы почвы отбирали методом конверта из каждого контейнера, тщательно перемешивали и получали усредненную пробу для каждой повторности соответствующего варианта. Анализ усредненных проб проводили спустя 2 недели от начала эксперимента, спустя месяц и в конце эксперимента – спустя 2 месяца.

Наиболее важным и информативным показателем является остаточное количество нефти в почве, которое определяли флуориметрическим методом на приборе Флюорат-02-2М (ООО «Люмэкс», Россия) [19].

Уровень деградации нефти (X) оценивали как относительное уменьшение содержания нефти в присутствии конкретного препарата (C) по сравнению с первоначальной концентрацией нефти в почве до внесения препаратов (C_0):

$$X = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100\%.$$

Численность почвенных микроорганизмов определяли методом предельных разведений с посевом суспензии на твердые элективные питательные среды¹ на примере 4-х физиологических групп микроорганизмов, участвующих в создании почвенного плодородия и в процессах очистки почв от нефтяных загрязнений: гетеротрофных – на мясопептонном агаре; использующих минеральный азот – на крахмало-аммиачном агаре; микромицетов – на сусло-агаре; углеводородокисляющих – на питательной среде Придхэм–

Готтлиба², где в качестве единственного источника углерода и энергии использовали нефть в количестве 1%.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel и STATGRAPHICS Centurion XVI.II. При обработке полученных данных использовали элементы вариационной статистики: среднеарифметические значения и доверительный интервал конкретного значения (объем выборки $n=6$). Статистическую значимость отличий анализировали с использованием t -критерия Стьюдента ($p < 0,05$). Для каждого варианта опыта были выведены уравнения множественной регрессии, где в качестве зависимой переменной (y) рассматривалась степень деструкции нефти, а в качестве независимых ($x_1...x_4$) – численность исследуемых физиологических групп микроорганизмов (гетеротрофных, углеводородокисляющих, использующих минеральный азот и микромицетов), $n=6$. По величине коэффициентов регрессии ($b_1...b_4$) судили об уровне влияния конкретной группы микроорганизмов на степень деструкции нефти: чем выше коэффициент, тем сильнее влияние.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При попадании нефти в почву практически сразу начинается процесс ее деградации, преимущественно за счет абиотических физико-химических процессов, например, вымывания, испарения и др. В модельном эксперименте основным абиотическим фактором являлось испарение легких фракций нефти, величину которого можно оценить по варианту «почва + нефть».

Интенсивность деградации нефти зависит от типа почвы, ее состояния, в частности от уровня обеспеченности элементами питания, количества почвенной микрофлоры, в том числе от наличия углеводородокисляющей микрофлоры [20, 21]. В начале модельного эксперимента исходная численность аборигенной микрофлоры была достаточно высока: гетеротрофов – $5,5 \times 10^6$ КОЕ/г почвы, использующих минеральный азот – $2,3 \times 10^6$ КОЕ/г, микромицетов – $2,0 \times 10^4$ КОЕ/г, а углеводородокисляющих – $1,4 \times 10^5$ КОЕ/г почвы, и до окончания эксперимента существенно не изменялась, что можно оценить по контролю 1 (табл. 2).

Многие авторы отмечают [6, 12, 22–24], что в первые сутки после попадания нефти в почву наблюдается снижение численности почвенных микроорганизмов, обусловленное токсическим влиянием поллютанта. Далее наступает

¹Методы почвенной микробиологии и биохимии: учеб. пособие / под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.

²Сэги Й. Методы почвенной микробиологии / пер. с венг. И. Ф. Куренного; под ред. Г. С. Муромцева. М.: Колос, 1983. 296 с.

Таблица 2. Количество почвенных микроорганизмов через 2 недели от начала эксперимента

Table 2. Number of soil microorganisms two weeks after the start of the experiment

Вариант опыта	Численность микроорганизмов			
	гетеротрофных, ×10 ⁶ КОЕ/г почвы	окисляющих углеводороды, ×10 ⁶ КОЕ/г почвы	использующих минеральный азот, ×10 ⁶ КОЕ/г почвы	микробиотетов, ×10 ⁴ КОЕ/г почвы
Почва без нефти (контроль 1)	5,6±0,2 ^a	0,1±0,01 ^a	2,6±0,2 ^a	2,1±0,1 ^a
Почва + нефть (контроль 2)	6,4±0,2 ^{ab}	3,3±0,1 ^b	15,6±0,7 ^b	2,8±0,2 ^{bc}
Почва + нефть+ МикроБак + азофоска	21,2±0,9 ^d	15,6±0,2 ^f	40,8±1,2 ^e	3,1±0,2 ^c
Почва + нефть+ БоГум 300 л/га	8,1±0,2 ^{ab}	6,0±0,4 ^c	28,2±1,7 ^c	7,9±0,2 ^{ef}
Почва + нефть+ БоГум 3000 л/га	11,7±0,7 ^c	9,1±0,5 ^d	37,9±1,3 ^{de}	7,7±0,2 ^{de}
Почва + нефть+ БоГум 30000 л/га	28,2±1,4 ^e	12,9±0,6 ^e	71,1±2,4 ^g	15,7±0,4 ^g
Почва + нефть + МикроБак + БоГум 300 л/га	33,1±1,2 ^f	18,1±1,2 ^g	61,6±2,1 ^f	8,5±0,3 ^f
Почва + нефть+ МикроБак + БоГум 3000 л/га	8,7±0,5 ^b	2,8±0,4 ^b	20,0±1,9 ^b	2,1±0,2 ^a

Примечание. Представлены среднеарифметические значения численности микроорганизмов с доверительным интервалом (n=6); в каждом столбце разными буквами обозначены статистически значимые различия (p<0,05).

адаптационный период, позволяющий микроорганизмам приспособиться к условиям токсичного воздействия компонентов нефти. В результате происходит перестройка микробоценоза почвы, и преимущество получают микроорганизмы, способные усваивать углеводороды нефти.

Спустя 2 недели от начала эксперимента во всех вариантах с внесением нефти отмечалось увеличение численности исследуемых микроорганизмов по сравнению с контролем 1 (см. табл. 2). При анализе полученных данных выявлен ряд закономерностей:

1) внесение нефти в количестве 5% оказывало стимулирующее влияние на аборигенную микрофлору (вариант 2), что отмечают также другие исследователи [20, 24, 25];

2) чем выше доза вносимого гуминового препарата БоГум, тем активнее отклик почвенной микрофлоры. Это доказывает, что гуминовые вещества препарата обладают высокой физиологической активностью, стимулируют рост и активность микрофлоры почв [6, 12, 26, 27];

3) препарат МикроБак способствовал активному развитию гетеротрофных, в том числе углеводородокисляющих микроорганизмов, а также микроорганизмов, использующих минеральный азот, по сравнению с вариантом 2 (без применения препаратов) их численность возросла в 3,3; 4,7 и 2,6 раз соответственно. Однако совместное использование МикроБак и БоГум в дозировке 300 л/га способствовало увеличению всех определяемых физиологических групп микроорганизмов еще в 1,2–1,5 раза. Очевидно, что гуминовые вещества в используемой концентрации и микроорганизмы-нефтедеструкторы препарата МикроБак проявили синергетический эффект – усилили действие друг друга, что отразилось на активном развитии не только углеводородокисляющих микроорганизмов, но и абори-

генной микрофлоры;

4) совместное применение МикроБак и БоГум в дозе 3000 л/га оказало прямо противоположное влияние на изучаемые группы микроорганизмов, нежели меньшая дозировка БоГум с тем же микробным препаратом. Применение по отдельности гуминового препарата в качестве удобрения (вариант 5) и препарата МикроБак по фону азофоски (вариант 3) оказывало стимулирующее влияние на почвенную микрофлору. При совместном их использовании, по-видимому, консорциум бактерий родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas*, входящий в состав МикроБак, и гуминовые вещества препарата БоГум в указанной концентрации проявили антагонизм – ослабили действие друг друга, и, как результат, численность почвенной микрофлоры в этом варианте оказалась практически на уровне контроля, в котором происходили процессы абиотической убыли нефти.

Скорость и полнота утилизации нефтепродуктов в почве во многом зависит от численности и видового состава микрофлоры, а также от ее углеводородокисляющей активности [21]. Спустя 2 недели от начала эксперимента максимальная степень деструкции нефти наблюдалась в варианте совместного применения МикроБак и БоГум в минимальной дозировке (табл. 3), что согласуется с данными микробиологического анализа (см. табл. 2). В то же время при применении БоГум в качестве сорбента выявлен самый низкий уровень деструкции нефти по сравнению со всеми опытными вариантами. Забегая вперед, необходимо отметить, что при применении наибольшей дозировки гуминового препарата БоГум на протяжении всего модельного эксперимента наблюдалась максимальная численность микроорганизмов, использующих минеральные формы азота и микробиотетов, значи-

тельное количество гетеротрофных микроорганизмов, а к окончанию модельного эксперимента получена самая низкая степень разрушения нефти в почве. Если бы не активное развитие аборигенной микрофлоры, низкую биodeградацию нефтяных углеводов в присутствии высоких доз гуминовых веществ можно было бы объяснить возрастанием их токсичности [13]. Однако в нашем случае большое количество гуминовых веществ, внесенных в почву с препаратом БоГум, по-видимому, являлось наиболее доступным субстратом для почвенной микрофлоры, поскольку известно, что гуминовые вещества могут служить источником питания для микроорганизмов в первую очередь за счет периферических фрагментов [28]. Одновременно с этим вследствие сорбции нефтяных углеводов гуминовыми веществами могла наблюдаться их малая доступность для микроорганизмов [13].

Можно было ожидать, что внесение специализированного микробного препарата МикроБак в нефтезагрязненную почву будет способствовать наибольшему уровню разрушения нефти. Тем не менее через 2 недели от начала эксперимента в соответствующем варианте данный показатель был не самым высоким (см. табл. 3). Это обстоятельство, скорее всего, связано с конкуренцией внесенных бактерий с аборигенной микрофлорой за питательные вещества, что не позволило штаммам-нефтедеструкторам проявить свою активность в полной мере [20, 29].

Спустя еще 2 недели от начала модельного эксперимента (всего один месяц) во всех опытных вариантах с внесением гуминового препарата наблюдался максимум численности гетеротрофов, микроорганизмов, использующих минеральный азот, и микромицетов. Особенно выделялся вариант с применением БоГум в качестве стимулятора аборигенной микрофлоры: содержание вышеперечисленных микроорганизмов за 2 недели увеличилось в 2,3; 1,5 и 1,3 раза соответственно. Усиление роста почвенной микрофлоры спустя 30 дней в результате искусственного нефтезагрязнения отмечено и в других научных исследованиях с применением гуминовых

препаратов [6, 12, 30]. Несмотря на это, деградация нефти продолжалась с меньшей интенсивностью (см. табл. 3), что, скорее всего, обусловлено уменьшением количества легких биодоступных углеводов и преобладанием в составе загрязнителя трудноразлагаемых ароматических соединений [22, 30].

Численность углеводородокисляющих микроорганизмов также снижалась, причем в каждом варианте с разной интенсивностью. В табл. 4 представлены данные по процентному содержанию углеводородокисляющих микроорганизмов от общей численности гетеротрофов. Из табл. 4 видно, что через 2 недели в вариантах 3–5 преобладали углеводородокисляющие микроорганизмы, а в варианте совместного применения МикроБак и БоГум в дозировке 300 л/га доля указанных микроорганизмов была чуть больше половины от общей численности гетеротрофов. Принимая во внимание их количественное содержание (см. табл. 2), отметим, что данный факт лишь подтверждает синергетический эффект микробного и гуминового препаратов. Важно, что в середине и в конце эксперимента доля углеводородокисляющих микроорганизмов в этом варианте и при применении МикроБак по фону азотоса была наибольшей, что косвенно может свидетельствовать о более эффективной деградации нефти.

Анализируя степень разрушения нефти в почве в конце эксперимента, заметим, что максимальный уровень разложения нефтяных углеводов отмечен в варианте совместного применения МикроБак и БоГум в дозировке 300 л/га – 44,9% (см. табл. 3). Кроме этого, определено, что по мере увеличения дозы применяемого гуминового препарата степень разрушения нефти снижается на статистически значимую величину.

Для каждого варианта модельного эксперимента было рассчитано линейное уравнение множественной регрессии, которое учитывает влияние всех исследуемых микроорганизмов ($x_1...x_4$, $n=6$) на степень разрушения нефти (y) и по коэффициентам регрессии ($b_1...b_4$) которого составлена табл. 5.

Таблица 3. Степень разрушения нефти

Table 3. Oil destruction degree

Вариант	Степень разрушения нефти, %		
	Через 2 недели	Через 1 месяц	Через 2 месяца
Почва без нефти (контроль 1)	–	–	–
Почва + нефть (контроль 2)	6,9±0,2 ^a	14,1±0,5 ^a	15,9±0,4 ^a
Почва + нефть + МикроБак + азотоса	24,1±0,2 ^d	35,8±0,6 ^e	40,3±0,6 ^e
Почва + нефть + БоГум 300 л/га	23,2±1,1 ^{cd}	35,0±0,6 ^{de}	40,1±0,6 ^{de}
Почва + нефть + БоГум 3000 л/га	25,4±0,4 ^d	33,2±1,4 ^{cd}	37,9±1,2 ^c
Почва + нефть + БоГум 30000 л/га	19,3±0,5 ^b	28,6±0,6 ^b	32,8±0,8 ^b
Почва + нефть + МикроБак + БоГум 300 л/га	28,9±1,3 ^e	39,9±0,9 ^f	44,9±0,8 ^f
Почва + нефть + МикроБак + БоГум 3000 л/га	21,7±0,6 ^c	29,1±0,6 ^b	33,1±0,3 ^b

Примечание. Представлены среднестатистические значения степени разрушения нефти с доверительным интервалом ($n=6$); в каждом столбце разными буквами обозначены статистически значимые различия ($p<0,05$).

Таблица 4. Процентное содержание углеводородоокисляющих микроорганизмов от общей численности гетеротрофов

Table 4. Percentage of hydrocarbon-oxidizing microorganisms of the total number of heterotrophs

Вариант	Процент углеводородоокисляющих микроорганизмов от гетеротрофных, %		
	Через 2 недели	Через 1 месяц	Через 2 месяца
Почва без нефти (контроль 1)	2,5	2,3	2,2
Почва + нефть (контроль 2)	51,6	5,7	5,2
Почва + нефть + МикроБак + азофоска	73,6	11,7	9,1
Почва + нефть + БоГум 300 л/га	74,1	6,3	6,2
Почва + нефть + БоГум 3000 л/га	77,8	8,8	7,2
Почва + нефть + БоГум 30000 л/га	45,7	3,9	2,2
Почва + нефть + МикроБак + БоГум 300 л/га	54,7	12,6	8,1
Почва + нефть + МикроБак + БоГум 3000 л/га	32,2	6,6	6,3

Примечание. Процент углеводородоокисляющих микроорганизмов от гетеротрофных посчитан по среднеарифметическим значениям численности микроорганизмов.

Таблица 5. Уровень влияния определенных микроорганизмов на степень деструкции нефти в почве

Table 5. Influence of certain microorganisms on the degree of oil degradation in the soil

Вариант опыта	Степень влияния микроорганизмов на деструкцию нефти			
	гетеротрофных	углеводородоокисляющих	использующих минеральный азот	микромикетов
Почва + нефть	+++	++++	+	++
Почва + нефть + МикроБак + азофоска	+	+++	++	++++
Почва + нефть + БоГум 300 л/га	+	++++	+++	++
Почва + нефть + БоГум 3000 л/га	+	+++	++	++++
Почва + нефть + БоГум 30000 л/га	+++	++++	++	+
Почва + нефть + МикроБак + БоГум 300 л/га	++	++++	+	+++
Почва + нефть + МикроБак + БоГум 3000 л/га	++	++++	+	+++

Примечание. +++++ – максимальное влияние, + – минимальное влияние.

При рассмотрении уровня влияния конкретных физиологических групп микроорганизмов необходимо отметить, что на степень деструкции нефти в каждом варианте в первую очередь влияют либо углеводородоокисляющие микроорганизмы, либо микромикеты, несмотря на их меньшую численность. Известно [24, 31], что при нефтяном загрязнении почвы снижается видовое разнообразие грибов, начинают доминировать наиболее устойчивые виды, способные к трансформации нефти.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При изучении влияния нового гуминового препарата БоГум на ремедиацию нефтезагрязненной почвы установлено, что наиболее эффективную деструкцию нефти (40,1%) вызвало применение БоГум в качестве стимулятора аборигенной микрофлоры, численность которой была максимальна через месяц после внесения препарата. К окончанию модельного эксперимента метаболическая активность почвенной микрофлоры обеспечила биodeградацию нефти, сопоставимую с вариантом применения микроб-

ного препарата МикроБак.

При применении БоГум в качестве сорбента гуминовые вещества препарата использовались почвенной микрофлорой в качестве более доступного источника питания, нефтяные углеводороды вследствие сорбции были малодоступны для микроорганизмов, в результате чего степень деструкции нефти по итогам модельного эксперимента наименьшая.

Максимальную деградацию нефтяных углеводородов (44,9%) обеспечило совместное применение микробного препарата МикроБак и гуминового препарата БоГум в дозировке 300 л/га. В этом случае препараты проявили синергетический эффект, что усилило развитие как углеводородоокисляющих микроорганизмов, так и аборигенной микрофлоры в почве и, как результат, привело к наиболее эффективной деструкции нефти.

Статистическая обработка экспериментальных данных позволила установить доминирование углеводородоокисляющих микроорганизмов и микромикетов в процессах биodeградации нефти.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Баландин Д. А., Пыткин А. Н., Тарасов Н. М. Комплексное применение биотехнологий в достижении устойчивого развития сельских территорий региона: монография. Екатеринбург: Институт экономики Уральского отделения Российской академии наук, 2014. 166 с.
2. Ахмадиев М. В. Применение аборигенных штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов при биоремедиации нефтезагрязненных почв и грунтов // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Прикладная экология. Урбанистика. 2014. N 2. С. 119–130.
3. Цивадзе А. Ю., Фридман А. Я., Туманян Б. П., Новиков А. К., Полякова И. Я., Сударкин А. П. Перспективные препараты для ускоренной биоремедиации нефтезагрязненных почв // Химия и технология топлив и масел. 2020. N 4. С. 53–56.
4. Чердакова А. С., Гальченко С. В. Анализ перспектив применения гуминовых препаратов для восстановления нефтезагрязненных почв // Актуальные проблемы экологии и природопользования: сборник научных трудов XXI Международной научно-практической конференции (г. Москва, апрель–сентябрь 2020 г.). М.: РУДН, 2020. С. 234–240.
5. Кулагин А. А., Ганеев И. Г., Сухова С. В., Зиганшин З. У. О безопасности использования технологий рекультивации нефтезагрязненных, нарушенных и деградированных земель с применением гуминовых препаратов // Известия Уфимского научного центра РАН. 2015. N 4-1. С. 83–85.
6. Иванов А. А., Юдина Н. В., Мальцева Е. В., Матис Е. Я., Сваровская Л. И. Стимуляция активности микроорганизмов нефтезагрязненных почв гуминовыми препаратами // Почвоведение. 2010. N 2. С. 229–234.
7. Мирошниченко Ю. С., Мясоедова Т. Н., Прошина М. А. Оценка детоксицирующей способности гуминовых веществ в нефтезагрязненных почвах // Экология промышленного производства. 2016. N 2. С. 57–61.
8. Вайсман Я. И., Глушанкова И. С., Рудакова Л. В., Куми В. В., Токарев И. П. Разработка технологии ремедиации нефтезагрязненных почв и грунтов с использованием гуминового препарата «ГУМИКОМ» // Нефтяное хозяйство. 2013. N 10. С. 128–131.
9. Степанов А. А., Госсе Д. Д., Панина М. А. Применение гуминового препарата «Питэр Пит» для детоксикации и рекультивации нефтезагрязненной почвы // Проблемы агрохимии и экологии. 2018. N 1. С. 55–57.
10. Салем К. М., Перминова И. В., Гречищева Н. Ю., Мурыгина В. П., Мещеряков С. В. Биорекультивация нефтезагрязненных почв гуминовыми препаратами // Экология и промышленность России. 2003. N 4. С. 19–21.
11. Гречищева Н. Ю., Фехретдинова Д. Р., Мурыгина В. П., Гайдамака С. Н. Оценка эффективности использования гуминовых веществ в качестве промывочных агентов нефтезагрязненных почв // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2019. N 6. С. 22–26. [https://doi.org/10.33285/2411-7013-2019-6\(291\)-22-26](https://doi.org/10.33285/2411-7013-2019-6(291)-22-26).
12. Филатов Д. А., Иванов А. А., Сваровская Л. И., Юдина Н. В. Влияние светокорректирующей пленки и гуминовых кислот на биохимическое окисление нефти в почве // Агрохимия. 2011. N 10. С. 76–82.
13. Гречищева Н. Ю., Перминова И. В., Мещеряков С. В. Перспективность применения гуминовых веществ в технологиях очистки нефтезагрязненных почв // Экология и промышленность России. 2016. Т. 20. N 1. С. 30–36. <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2016-1-30-36>.
14. Фомичева Н. В., Рабинович Г. Ю., Смирнова Ю. Д. Влияние технологических приемов применения гуминового биопрепарата на продуктивность яровой пшеницы // Достижения науки и техники АПК. 2020. Т. 34. N 9. С. 53–58. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-10910>.
15. Рабинович Г. Ю., Фомичева Н. В., Смирнова Ю. Д. Эффективность жидкофазных биосредств при возделывании моркови на торфяных почвах // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук. 2021. Т. 59. N 3. С. 319–329. <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2021-59-3-319-329>.
16. Пат. № 2691693, Российская Федерация, C05F3/00, C05F11/02, C05G3/00. Способ получения жидкого гуминового удобрения / Н. В. Фомичева, Г. Ю. Рабинович; заявитель и патентообладатель Всероссийский научно-исследовательский институт мелиорированных земель. Заявл. 26.11.2018; опубл. 17.06.2019. Бюл. № 17.
17. Каримова В. Т., Дмитриева Е. Д., Нечаева И. А. Влияние гуминовых веществ торфов Тульской области на рост микроорганизмов деструкторов нефти *Rhodococcus Erythropolis S67* и *Rhodococcus Erythropolis X5* // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2017. Вып. 2. С. 60–68.
18. Чердакова А. С., Гальченко С. В., Сипатая Р. А. Влияние гуминовых препаратов на процессы биоремедиации нефтезагрязненных водных сред // Новые технологии в учебном процессе и производстве: материалы XIX Международной научно-технической конференции (г. Рязань, 14–16 апреля 2021 г.). Рязань, 2021. С. 221–222.
19. Другов Ю. С., Родин А. А. Анализ загрязненной почвы и опасных отходов. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2007. 424 с.
20. Курочкина Г. Н., Шкидченко А. Н., Амелин А. А. Влияние нового биопрепарата на ремедиацию нефтезагрязненной серой лесной почвы // Почвоведение. 2004. N 10. С. 1241–1249.
21. Овсянникова В. С., Филатов Д. А., Алтунина Л. К., Сваровская Л. И. Биодеструкция углеводородов высоковязкой нефти почвенными

микроорганизмами // Химия в интересах устойчивого развития. 2014. Т. 22. N 5. С. 489–495.

22. Нечаева И. А., Филонов А. Е., Ахметов Л. И., Пунтус И. Ф., Боронин А. М. Стимуляция микробной деструкции нефти в почве путем внесения бактериальной ассоциации и минерального удобрения в лабораторных и полевых условиях // Биотехнология. 2009. N 1. С. 64–70.

23. Ветрова А. А., Забелин В. А., Иванова А. А., Адаменко Л. А., Делеган Я. А., Петриков К. В. Биодegradация нефти консорциумом штаммов-нефтедеструкторов в лабораторных модельных системах // Юг России: экология, развитие. 2018. Т. 13. N 1. С. 184–198. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2018-1-184-198>.

24. Руденко Е. Ю. Исследование влияния нефти на биологическую активность черноземной почвы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 4. С. 719–727. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-719-727>.

25. Евдокимова Г. А. Почвенная микробиота как фактор устойчивости почв к загрязнению // Теоретическая и прикладная экология. 2014. N 2. С. 17–24.

26. Иванов А. А., Юдина Н. В., Мальцева Е. В., Матис Е. Я. Исследование биостимулирующих и детоксицирующих свойств гуминовых кислот

различного происхождения в условиях нефтезагрязненной почвы // Химия растительного сырья. 2007. N 1. С. 99–103.

27. Якименко О. С., Терехова В. А. Гуминовые препараты и оценка их биологической активности для целей сертификации // Почвоведение. 2011. N 11. С. 1334–1343.

28. Тихонов В. В., Якушев А. В., Загородняя Ю. А., Бызов Б. А., Демин В. В. Действие гуминовых кислот на рост бактерий // Почвоведение. 2010. N 3. С. 333–341.

29. Плешакова Е. В. Интродукция нефтеокисляющих микроорганизмов в загрязненную почву: проблемы и перспективы // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2011. Т. 11. N 2. С. 102–111.

30. Коршунова Т. Ю., Четвериков С. П., Логин О. Н. Перспективы использования консорциума углеводородокисляющих микроорганизмов для очистки нефтезагрязненной почвы Крайнего Севера // Теоретическая и прикладная экология. 2016. N 1. С. 88–94.

31. Домрачева Л. И., Ашихмина Т. Я., Елькина Т. С., Гайфутдинова А. Р. Микробная деградация промышленных отходов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2014. N 2. С. 6–16.

REFERENCES

1. Balandin D. A., Pytkin A. N., Tarasov N. M. *Integrated application of biotechnologies in achieving sustainable development of rural areas of the region: monograph*. Ekaterinburg: Institut ekonomiki Ural'skogo otdeleniya Rossiiskoi akademii nauk; 2014. 166 p. (In Russian).

2. Akhmadiev M. V. Using of aboriginal hydrocarbons-oxidizing microorganisms in the bioremediation of contaminated soil and ground. *Vestnik Permskogo natsional'nogo issledovatel'skogo politekhnicheskogo universiteta. Prikladnaya ekologiya. Urbanistika = Bulletin of Perm National Research Polytechnic University. Applied Ecology. Urban Development*. 2014;(2): 119-130. (In Russian).

3. Tsivadze A. Y., Fridman A. Y., Novikov A. K., Polyakova I. Y., Tumanyan B. P., Sudarkin A. P. Prospective preparations for accelerated bioremediation of oil-contaminated soils. *Khimiya i tekhnologiya topliv i masel = Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 2020;(4):53-56. (In Russian).

4. Cherdakova A. S., Galchenko S. V. Analysis of prospects for the use of humic drugs for restoration of oil-contaminated soils. In: *Aktual'nye problemy ekologii i prirodopol'zovaniya: sbornik nauchnykh trudov XXI Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Actual problems of ecology and nature management: a collection of scientific papers of the XXI International Scientific and Practical Conference*. April-September 2020, Moscow. Moscow: RUDN; 2020, p. 234-240. (In Russian).

5. Kulagin A. A., Ganeev I. G., Sukhova S. V., Ziganshin Z. U. Safety technology use reclamation contaminated, violations and degraded lands using humic substances. *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN = Proceedings of the RAS Ufa Scientific Centre*. 2015;(4-1):83-85. (In Russian).

6. Ivanov A. A., Yudina N. V., Matis E. Y., Mal'tseva E. V., Svarovskaya L. I. Stimulation of the activity of microorganisms by humin preparations in oil-polluted soils. *Pochvovedenie = Eurasian Soil Science*. 2010;(2):229-234. (In Russian).

7. Miroshnichenko Y. S., Myasoedova T. N., Proshina M. A. Estimation of detoxification ability of humic substances in oil contaminated soils. *Ekologiya promyshlennogo proizvodstva = Industrial Ecology*. 2016;(2):57-61. (In Russian).

8. Vaysman Ya. I., Glushankova I. S., Rudakova L. V., Kumi V. V., Tokarev I. P. Development of technology remediation soil contaminated by oil using GUMIKOM. *Neftyanoe khozyaistvo = Oil Industry*. 2013;(10):128-131. (In Russian).

9. Stepanov A. A., Gosse D. D., Panina M. A. Application of humin preparation "Peter Peat" for detoxication and reconstruction of oil-polluted soil. *Problemy agrokhimii i ekologii = Agrochemistry and ecology problems*. 2018;(1):55-57. (In Russian).

10. Salem K. M., Perminova I. V., Grechishcheva N. Yu., Mouryguina V. P., Meshcheryakov S. V. Biorevegetation of oily soils by humic preparations. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii = Ecology and Industry of Russia*. 2003;(4):19-21. (In Russian).

11. Grechishcheva N. Yu., Fekhetdinova D. R., Murygina V. P., Gaydamaka S. N. Evaluation of the effectiveness of humic substances use as washing agents of oil-contaminated soils. *Zashchita okruzhayushchei sredy v neftegazovom komplekse = Environmental protection in oil and gas complex*. 2019;(6):22-26. (In Russian). [https://doi.org/10.33285/2411-7013-2019-6\(291\)-22-26](https://doi.org/10.33285/2411-7013-2019-6(291)-22-26).
12. Filatov D. A., Ivanov A. A., Svarovskaya L. I., Yudina N. V. Effect of light-corrective film and humic acids on the biochemical oxidation of petroleum in the soil. *Agrokimiya = Eurasian Soil Science*. 2011;(10):76-82. (In Russian).
13. Gretschischeva N. Yu., Perminova I. V., Mescheryakov S. V. Humic compounds in treatment of oil contaminated environments. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii = Ecology and Industry of Russia*. 2016;20(1):30-36. (In Russian). <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2016-1-30-36>.
14. Fomicheva N. V., Rabinovich G. Yu., Smirnova Yu. D. Influence of technological methods of application of the humic preparation on the productivity of spring wheat. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK = Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex*. 2020;34(9):53-58. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-10910>.
15. Rabinovich G. Yu., Fomicheva N. V., Smirnova Yu. D. Efficiency of liquid-phase biological preparations when cultivating carrots on peat soils. *Vestsi natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya agrarnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Agrarian Series*. 2021;59(3):319-329. (In Russian). <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2021-59-3-319-329>.
16. Fomicheva N. V., Rabinovich G. Yu. *Method of producing liquid humic fertilizer*. Patent RF, no. 2691693; 2019. (In Russian).
17. Karimova V. T., Dmitrieva E. D., Nechaeva I. A. The effect of humic substances from different origin peats of the tula region on the growth of microbial degraders of oil *Rhodococcus Erythropolis* S67 and *Rhodococcus Erythropolis* X5. *Izvestiya Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennye nauki = Proceedings of the Tula State University. Natural Sciences*. 2017;(2):60-68. (In Russian).
18. Cherdakova A. S., Gal'chenko S. V., Sitpataya R. A. Influence of humic preparations on the processes of bioremediation of oil-contaminated aquatic environments. In: *Novye tekhnologii v uchebnom protsesse i proizvodstve: materialy XIX Mezhdunarodnoi nauchno-tekhnicheskoi konferentsii = New Technologies in the Educational Process and Production: Materials of the XIX International Scientific and Technical Conference*. 14-16 April 2021, Ryazan. Ryazan; 2021, p. 221-222. (In Russian).
19. Drugov Yu. S., Rodin A. A. *Analysis of contaminated soil and hazardous waste*. Moscow: Biom. Laboratoriya znaniy; 2007. 424 p. (In Russian).
20. Kurochkina G. N., Amelin A. A., Shkidchenko A. N. The effect of a new biopreparation on the remediation of oil-contaminated gray forest soil. *Pochvovedenie = Eurasian Soil Science*. 2004;(10):1241-1249. (In Russian).
21. Ovsyannikova V. S., Filatov D. A., Altunina L. K., Svarovskaya L. I. Biodestruction of hydrocarbons of highly viscous petroleum with soil microorganisms. *Khimiya v interesakh ustoichivogo razvitiya = Chemistry for Sustainable Development*. 2014;22(5):489-495. (In Russian).
22. Nechaeva I. A., Filonov A. E., Akhmetov L. I., Puntus I. F., Boronin A. M. Stimulation of microbial destruction of oil by introduction of bacterial association and mineral fertilizer in soil under laboratory and field conditions. *Biotehnologiya = Biotechnology in Russia*. 2009;(1):64-70. (In Russian).
23. Vetrova A. A., Zabelin V. A., Ivanova A. A., Adamenko L. A., Delegan Y. A., Petrikov K. V. Oil biodegradation by consortium of oil degrading microorganisms in laboratory model systems. *Yug Rossii: ekologiya, razvitiye = South of Russia: ecology, development*. 2018;13(1):184-198. (In Russian). <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2018-1-184-198>.
24. Rudenko E. Yu. Effects of crude oil on the biological activity of chernozem soils. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotehnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020;10(4):719-727. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-719-727>.
25. Evdokimova G. A. Soil microbiota as a factor of soil resistance to contamination. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya = Theoretical and Applied Ecology*. 2014;(2):17-24. (In Russian).
26. Ivanov A. A., Yudina N. V., Mal'tseva E. V., Matis E. Ya. Study of biostimulating and detoxifying properties of humic acids of various origins in oil-contaminated soil. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2007;(1):99-103. (In Russian).
27. Yakimenko O. S., Terekhova V. A. Humic preparations and the assessment of their biological activity for certification purposes. *Pochvovedenie = Eurasian Soil Science*. 2011;(11):1334-1343. (In Russian).
28. Tikhonov V. V., Yakushev A. V., Zavgorodnyaya Y. A., Byzov B. A., Demin V. V. Effects of humic acids on the growth of bacteria. *Pochvovedenie = Eurasian Soil Science*. 2010;(3):333-341. (In Russian).
29. Pleshakova E. V. Introduction of oil-oxidizing microorganisms into contaminated soil: the problems and perspectives. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya = Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*. 2011;11(2):102-111. (In Russian).
30. Korshunova T. Yu., Chetverikov S. P., Loginov O. N. Prospects of using a consortium of hydrocarbon oxidizing microorganisms for cleaning oil polluted soil of the extreme north. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya = Theoretical and Applied*

Ecology. 2016;(1):88-94. (In Russian).

31. Domracheva L. I., Ashikhmina T. Ya., El'kina T. S., Gayfutdinova A. R. Microbial degradation of indus-

trial waste (review). *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya = Theoretical and Applied Ecology*. 2014; (2):6-16. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Н. В. Фомичева,

к.б.н., ведущий научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский
институт мелиорированных земель,
филиал ФИЦ «Почвенный институт
им. В. В. Докучаева»,
170530, Тверская обл., Калининский р-н,
п. Эммаусс, 27, Российская Федерация,
nvfomi@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2272-7767>

Ю. Д. Смирнова,

к.б.н., заместитель директора по науке,
Всероссийский научно-исследовательский
институт мелиорированных земель,
филиал ФИЦ «Почвенный институт
им. В. В. Докучаева»,
170530, Тверская обл., Калининский р-н,
п. Эммаусс, 27, Российская Федерация,
ulayad@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2435-2089>

Г. Ю. Рабинович,

д.б.н., профессор, главный научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский
институт мелиорированных земель,
филиал ФИЦ «Почвенный институт
им. В. В. Докучаева»,
170530, Тверская обл., Калининский р-н,
п. Эммаусс, 27, Российская Федерация,
2016vniimz-noo@list.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5060-6241>

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 12.04.2022.
Одобрена после рецензирования 11.05.2022.
Принята к публикации 30.05.2022.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Natalia V. Fomicheva,

Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher,
VNIIMZ FRC V. V. Dokuchaev Soil Science
Institute,
27, Emmauss Village, Kalininsky District, 170530,
Tver Region, Russian Federation,
nvfomi@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2272-7767>

Yulia D. Smirnova,

Cand. Sci. (Biology), Deputy Director
for Science,
VNIIMZ FRC V. V. Dokuchaev Soil Science
Institute,
27, Emmauss Village, Kalininsky District, 170530,
Tver Region, Russian Federation,
ulayad@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2435-2089>

Galina Yu. Rabinovich,

Dr. Sci. (Biology), Professor,
Chief Researcher,
VNIIMZ FRC V. V. Dokuchaev Soil Science
Institute,
27, Emmauss Village, Kalininsky District, 170530,
Tver Region, Russian Federation,
2016vniimz-noo@list.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5060-6241>

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 12.04.2022.
Approved after reviewing 11.05.2022.
Accepted for publication 30.05.2022.

Научная статья

УДК 641.5

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-321-329>



Исследование антиоксидантных показателей ягод красной смородины сортов, районированных в Свердловской области

Ольга Викторовна Чугунова*, Антон Владимирович Вяткин*,
Владислав Михайлович Тиунов*, Елена Михайловна Чеботок**

*Уральский государственный экономический университет,

г. Екатеринбург, Российская Федерация

**Свердловская селекционная станция садоводства – структурное подразделение

Уральского федерального аграрного научно-исследовательского центра УрО РАН,

г. Екатеринбург, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Вяткин Антон Владимирович, 3dognight2009@mail.ru

Аннотация. В статье представлены результаты исследования 9 сортов ягод красной смородины, районированных в Свердловской области. В результате исследований антиоксидантных показателей наибольшие значения (ммоль/дм³экв) продемонстрировал сорт Эпсилон – $13,772 \pm 0,275$, сорт Ильинка – $12,826 \pm 0,257$, а также сорт Лучезарная – $11,933 \pm 0,239$. Наименьшее значение исследуемого показателя отмечается у сорта позднего срока созревания Дзета – $6,428 \pm 0,129$ ммоль/дм³экв. При этом наибольшее содержание флавоноидов наблюдается в таких сортах ягод красной смородины (мг/100 г съедобной части, сорт), как Эпсилон – $50,3 \pm 0,9$; Бета – $44,2 \pm 0,9$; Огни Урала – $45,7 \pm 0,9$ и Дзета – $17,3 \pm 0,3$, а наименьшее значение у сорта Лучезарная – $16,1 \pm 0,3$; наибольшее содержание антоцианов свойственно таким сортам ягод красной смородины, как (мг цианидин-3-гликозида/100 г съедобной части) Капиталина – $29,1 \pm 0,6$; Ильинка – $38,1 \pm 0,7$ и Лучезарная – $41,2 \pm 0,8$, а наименьшее значение характерно для сорта среднего срока созревания Алая Зорька – $11,9 \pm 0,2$. Наибольшее содержание фенольных веществ (мг галловой кислоты/100 г съедобной части) наблюдается у таких сортов, как Капиталина – $212,9 \pm 4,3$, Ильинка – $235,1 \pm 4,7$ и Лучезарная – $168,3 \pm 3,3$, а наименьшее значение у сорта Бета – $114,1 \pm 2,3$. Кроме того, были исследованы следующие потребительские характеристики ягод: содержание общих и редуцирующих сахаров, а также кислотность. Полученные данные позволят более корректно рассчитывать пищевую ценность рационов и обоснованно выбирать тот или иной сорт при диетической коррекции рациона с целью повышения общей антиоксидантной активности.

Ключевые слова: плодово-ягодное сырье, антиоксидантная активность, пищевые системы, переработка и хранение

Для цитирования: Чугунова О. В., Вяткин А. В., Тиунов В. М., Чеботок Е. М. Исследование антиоксидантных показателей ягод красной смородины сортов, районированных в Свердловской области // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 321–329. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-321-329>.

Antioxidant indices of red currant cultivars grown in the Sverdlovsk Oblast

Olga V. Chugunova*, Anton V. Vyatkin*,
Vladislav M. Tiunov*, Elena M. Chebotok**

*Ural State Economic University, Ekaterinburg, Russian Federation

**Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russian Federation

Corresponding author: Anton V. Vyatkin, 3dognight2009@mail.ru

Abstract. In this work, nine varieties of red currant cultivars, recognized for use in the Sverdlovsk Oblast, were studied. According to the conducted analysis, the Epsilon cultivar demonstrated the highest antioxidant indicators (mmol/dm³eq) of 13.772 ± 0.275 . For comparison, the Ilyinka and Luchezarnaya cultivars showed the values of 12.826 ± 0.257 and 11.933 ± 0.239 , respectively. The late ripening cultivar Zeta showed the lowest antioxidant value of 6.428 ± 0.129 mmol/dm³eq. At the same time, the highest content of flavonoids was characteristic of such red currant cultivars (mg/100 g of edible part, variety) as Epsilon – 50.3 ± 0.9 , Beta – 44.2 ± 0.9 , Ogni Urala – 45.7 ± 0.9 and Zeta – 17.3 ± 0.3 , while the Lychezarnaya cultivar showed the lowest value of 16.1 ± 0.3 . In terms of anthocyanins, the highest values (mg of cyanidin-3-glycoside/100 g of edible part) were observed in the Kapitalina, Ilyinka and Lychezarnaya cultivars, equalling 29.1 ± 0.6 , 38.1 ± 0.7 and 41.2 ± 0.8 , respectively. The average ripening cultivar Alaya Zorka showed the lowest anthocyanin value of 11.9 ± 0.2 . The Kapitalina, Ilyinka and Luchezarnaya cultivars demonstrated the highest amounts of phenolic substances (mg of gallic acid/100 g of edible part) of 212.9 ± 4.3 , 235.1 ± 4.7 and 168.3 ± 3.3 , respectively. In terms of this indicator, the Beta cultivar showed the lowest value of 114.1 ± 2.3 . The consumer characteristics of the cultivars were studied, including their acidity, as well as the content of total and reducing sugars. The obtained results can be used when selecting dietary supplements based on red currant berries and determining the nutritional value of diets in order to increase their overall antioxidant activity.

Keywords: fruit and berry raw materials, antioxidant activity, food systems, processing and storage

For citation: Chugunova O. V., Vyatkin A. V., Tiunov V. M., Chebotok E. M. Antioxidant indices of red currant cultivars grown in the Sverdlovsk Oblast. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):321-329. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-321-329>.

ВВЕДЕНИЕ

Наблюдаемый сегодня отечественными и зарубежными специалистами [1–3] дефицит важнейших биологически активных веществ, усугубляемый тяжелыми условиями экологической обстановки в Свердловской области, обуславливает необходимость изменения культуры питания населения, а именно увеличение в рационе доли потребления плодов, ягод, а также продуктов их переработки, являющихся ценным источником многих биологически активных компонентов пищевых систем, таких как витамины, антиоксиданты, макро- и микроэлементы [4, 5]. Ввиду чего особую значимость приобретает снижение негативного воздействия агрессивных факторов окружающей среды, а также поддержание и сохранение здоровья населения, связанное с разработкой и внедрением в производство пищевых систем профилактического действия, обладающих широким спектром биологически активных веществ [6, 7].

Для обеспечения полноценного питания населения, связанного с производством и ис-

пользованием природных эссенциальных микронутриентов плодово-ягодного сырья, необходимо развитие садоводства – одной из наиболее значимых и перспективных отраслей агропромышленного комплекса Российской Федерации, а также рациональное использование и переработка плодов и ягод с целью максимального сохранения содержащихся в них различных полезных веществ. Кроме того, необходимо рациональное использование региональных природно-сырьевых ресурсов, способствующее расширению спектра источников природных биологически активных соединений, а также ассортимента продуктов питания с повышенной функциональной ценностью.

Важно отметить тот факт, что отечественными и зарубежными учеными постоянно проводятся исследования по выведению новых сортов красной смородины, изучению их пищевой ценности и пригодности к переработке, несмотря на то, что для промышленного сбора и переработки, а также реализации в торговой сети используются сортосмеси, а не отдельные помологиче-

ские сорта, что не позволяет полностью реализовывать потенциал данной культуры для производства плодово-ягодной продукции, напитков и кондитерских изделий. Перспективность использования красной смородины обуславливается такими факторами, как обильная ежегодная урожайность, нетребовательность в уходе, а также пищевая и физиологическая ценность, связанная с высоким содержанием биологически активных веществ различной природы, среди которых особо можно выделить макро- и микроэлементы (содержание мг/100 г: Na – 19,2±0,6; K – 316±43; Ca – 41,9±1,9; Mg – 25,4±0,8; Fe – 0,74±0,05; Cu – 0,07±0,01) [1], пищевые волокна (содержание, мг/100 г: нерастворимые – 2,02±0,08; растворимые – 1,47±0,08) [1] и витамины (витамин С, мг/100 г съедобной части – 34,89±3,71; витамин В₁, мг/100 г съедобной части – 0,030±0,003; витамин В₂, мг/100 г съедобной части – 0,030±0,003; витамин Е, мг ТЭ/100 г съедобной части – 1,9±0,2) [4, 8].

Целью работы является исследование общей антиоксидантной активности 9 районированных в Свердловской области сортов красной смородины, исследование содержания отдельных веществ антиоксидантов, а также изучение таких потребительских характеристик, как содержание сахаров и кислотность.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследуемые ягоды красной смородины (лат. *Ribes rubrum*) 9 сортов, районированных в Свердловской области, урожая 2021 года представлены структурным подразделением Уральского федерального аграрного научно-исследовательского центра УрО РАН (УрФАНИЦ УрО РАН) Свердловской селекционной станцией садоводства. Описание данных сортов красной смородины представлено в таблице, включая массу плодов, значения плодоношения, дегуста-

ционную оценку и сроки созревания.

В работе использовались стандартные и общепринятые методы исследования:

- отбор проб проводили по ГОСТ 31339-2006;
- определение массовой доли сухих веществ – по ГОСТ 28561-90;
- определение массовой доли редуцирующих сахаров – по ГОСТ 8756.13-87;
- определение кислотности – по ГОСТ 6687.4-86.

При всем многообразии доступных методик определения суммарного значения антиоксидантной активности большая часть из них не стандартизирована, а результаты измерений, полученные с помощью разных методик, не являются коррелирующимися между собой [9–12]. При этом использование полученных значений суммарной антиоксидантной активности с помощью какой-либо одной методики для сопоставления и ранжирования относительной ценности однотипных продуктов является оправданным, так как в данном случае значения антиоксидантной активности выступают в роли показателя качества продукции. Общая антиоксидантная активность исследуемых ягод красной смородины осуществлялась методом инверсионной потенциометрии, в основе которой лежит химическое взаимодействие антиоксидантов с медиаторной системой $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$, которое приводило к изменению ее окислительно-восстановительного потенциала. Метод инверсионной потенциометрии удобен в исполнении, не требует значительных временных и финансовых затрат на необходимое оборудование [3].

В качестве средств измерения использовался многофункциональный потенциометрический анализатор МПА-1 (НПВП «Ива», Россия). Рабочим электродом служил платиновый планарный электрод (НПВП «Ива», Россия), электрод сравнения – стандартный хлорсеребряный.

Описание исследуемых сортов красной смородины разных сроков созревания

Description of the studied red currant varieties of different ripening periods

Наименование сорта	Масса плода, г	Плодоношение, кг/куст		Дегустационная оценка, балл	Срок созревания
		min	max		
Бета	0,9–1,8	3,6	8,4	4,8	Ранний
Йота	0,8–1,7	4,2	7,0	5,0	Ранний
Капиталина	0,9–1,5	4,0	4,7	4,9	Ранний
Эпсилон	0,8–1,3	3,7	4,4	4,9	Среднеранний
Алая зорька	0,6–1,0	1,8	5,0	4,5	Средний
Ильинка	0,8–1,6	3,4	5,0	5,0	Средний
Огни Урала	0,5–1,0	3,7	6,4	4,5	Средний
Лучезарная	0,6–1,4	3,5	9,0	4,8	Среднепоздний
Дзета	0,7–1,1	3,3	4,5	4,8	Поздний

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По результатам проведенных исследований (рис. 1) наибольшие значения антиоксидантной активности имеют следующие сорта, ммоль/дм³ экв: ранних и среднеранних сроков созревания – сорт Эпсилон (13,772±0,275); средних сроков со-

зревания – сорт Ильинка (12,826±0,257); среднепоздних и поздних сроков созревания – сорт Лучезарная (11,933±0,239); наименьшее значение исследуемого показателя наблюдается у сорта позднего срока созревания Дзета (6,428±0,129).

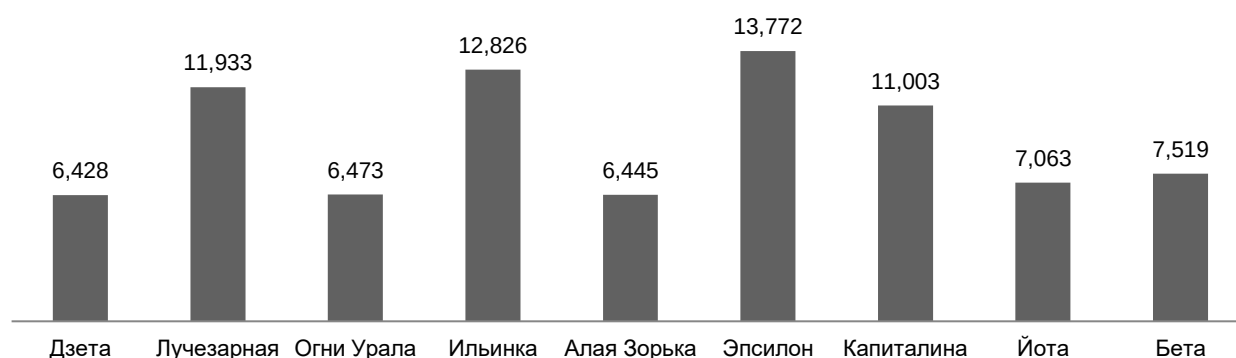


Рис. 1. Результаты исследования антиоксидантной активности у ягод красной смородины сортов, районированных в Свердловской области, ммоль/дм³экв

Fig. 1. Antioxidant activity in red currant berries of varieties released in Sverdlovsk region, mmol/dm³eq

Полученные значения наглядно демонстрируют, что содержание антиоксидантов в исследуемых сортах красной смородины является значительным и составляет от 20,1 до 43,0% от рекомендуемой суточной нормы потребления в пересчете на аскорбиновую кислоту (значения АОА аскорбиновой кислоты – $32,024 \pm 0,350$ ммоль-экв/дм³). Наиболее перспективными можно назвать такие сорта, как Эпсилон, Ильинка и Лучезарная. Значительное содержание антиоксидантов в ягодах красной смородины подтверждается проведенными исследованиями как отечественных [8], так и зарубежных [13, 14] авторов.

Согласно полученным данным (рис. 2), наибольшее содержание флавоноидов наблюдается в следующих сортах ягод красной смородины, мг/100 г съедобной части: ранних и среднеранних сроков созревания – сорт Эпсилон ($50,3 \pm 0,9$) и Бета ($44,2 \pm 0,9$); средних сроков созревания – сорт Огни Урала ($45,7 \pm 0,9$); среднепоздних и поздних сроков созревания – сорт

Дзета ($17,3 \pm 0,3$); наименьшее значение характерно для сорта среднепозднего срока созревания Лучезарная ($16,1 \pm 0,3$). Полученные данные о содержании флавоноидов в ягодах красной смородины подтверждаются проведенными исследованиями отечественных [4] и зарубежных [15, 16] авторов.

На основании полученных данных (рис. 3) можно сделать вывод о том, что наибольшее содержание фенольных веществ свойственно сортам ягод красной смородины (мг галловой кислоты/100 г съедобной части) ранних и среднеранних сроков созревания – сорт Капиталина ($212,9 \pm 4,3$); средних сроков созревания – сорт Ильинка ($235,1 \pm 4,7$); среднепоздних и поздних сроков созревания – сорт Лучезарная ($168,3 \pm 3,3$); наименьшее значение имеет сорт среднего срока созревания Бета ($114,1 \pm 2,3$). Полученные сведения о содержании фенольных веществ в ягодах красной смородины подкрепляются исследованиями отечественных [4] и зарубежных [17, 18] ученых.

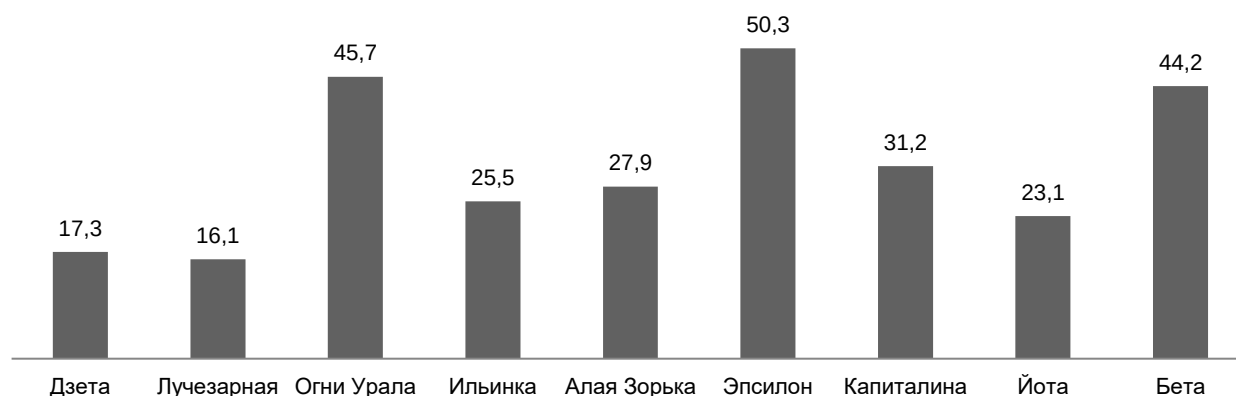


Рис. 2. Результаты исследования содержания флавоноидов у ягод красной смородины сортов, районированных в Свердловской области, мг/100 г съедобной части

Fig. 2. Flavonoid content in red currant varieties released in Sverdlovsk region, mg/100 g of the edible part



Рис. 3. Результаты исследования содержания фенолов у ягод красной смородины сортов, районированных в Свердловской области, мг галловой кислоты/100 г съедобной части

Fig. 3. Phenols content in red currant varieties released in Sverdlovsk region, mg of gallic acid/100 g of edible part

По результатам исследований (рис. 4) наибольшее содержание антоцианов наблюдается в следующих сортах ягод красной смородины, мг цианидин-3-гликозида/100 г съедобной части: ранних и среднеранних сроков созревания – сорт Капиталина (29,1±0,6); средних сроков созревания – сорт Ильинка (38,1±0,7); среднепоздних и поздних сроков созревания – сорт Лучезарная (41,2±0,8); наименьшее значение характерно для сорта среднего срока созревания Алая Зорька (11,9±0,2). Полученные данные о содержании антоцианов в ягодах красной смородины находят подтверждение в работах отечественных [4, 8] и зарубежных [19] исследователей.

Исходя из результатов исследований содержания общих сахаров (рис. 5) в ягодах красной смородины, можно утверждать, что наибольшее количество присуще сортам ранних и среднеранних сроков созревания – сорт Бета и Эпсилон (15,81%); средних сроков созревания – сорт Ильинка (14,59%); среднепоздних и поздних сроков созревания – сорт Дзета (11,55%); наименьшее значение исследуемого показателя наблю-

дается у сорта Алая Зорька (9,73%). При этом наибольшее содержание редуцирующих сахаров продемонстрировали следующие сорта, %: ранних и среднеранних сроков созревания – сорт Бета (11,84); средних сроков созревания – сорт Ильинка (12,48); среднепоздних и поздних сроков созревания – сорт Лучезарная (6,08); наименьшее значение исследуемого показателя у сорта Дзета (5,76).

Полученные значения наглядно демонстрируют, что содержание редуцирующих и общих сахаров в исследуемых сортах ягод красной смородины различается в зависимости от сорта. Наибольшим содержанием общих и редуцирующих сахаров можно охарактеризовать такие сорта красной смородины, как Бета, Капиталина и Эпсилон, которые целесообразно использовать для приготовления кондитерских блюд и изделий. Наименьшим содержанием характеризуются сорта Дзета, Лучезарная, и особенно выделяется сорт Алая Зорька, что обуславливает возможность их потребления при диетологической коррекции рациона здоровых и больных людей.

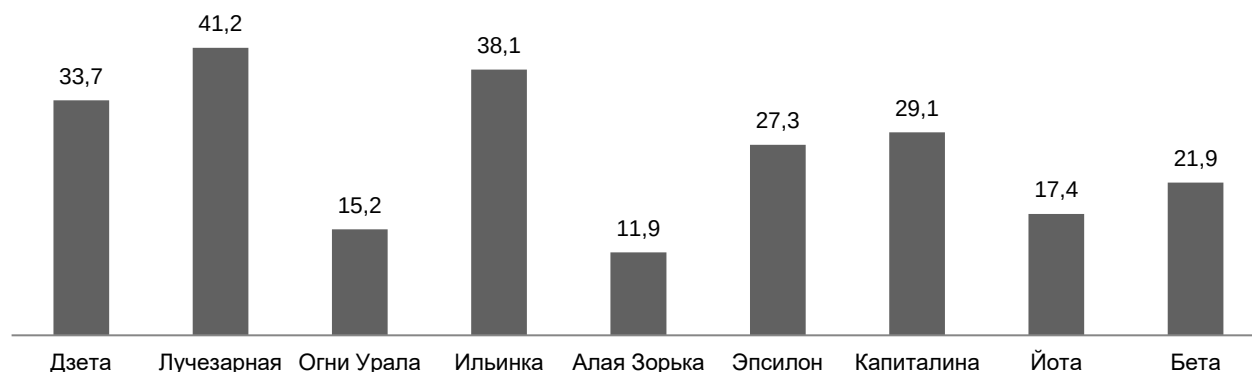


Рис. 4. Результаты исследования содержания антоцианов у ягод красной смородины сортов, районированных в Свердловской области, мг цианидин-3-гликозида/100 г съедобной части

Fig. 4. Anthocyanins content in red currant varieties released in Sverdlovsk region, mg cyanidin-3-glycoside/100 g of edible part



Рис. 5. Результаты исследования содержания сахаров у ягод красной смородины сортов, районированных в Свердловской области, %

Fig. 5. Sugar content in red currant varieties released in Sverdlovsk region, %

Кроме того, были проведены исследования показателей кислотности. Так, согласно результатам исследования (рис. 6), наибольшая кислотность по срокам созревания характерна для ранних и среднеранних сроков созревания – сорт Бета (31,75 °Т);

средних сроков созревания – сорт Алая Зорька (29,25 °Т); среднепоздних и поздних сроков созревания – сорт Дзета (31,25 °Т); наименьшее значение исследуемого показателя наблюдается у сорта Ильинка (25,00 °Т).

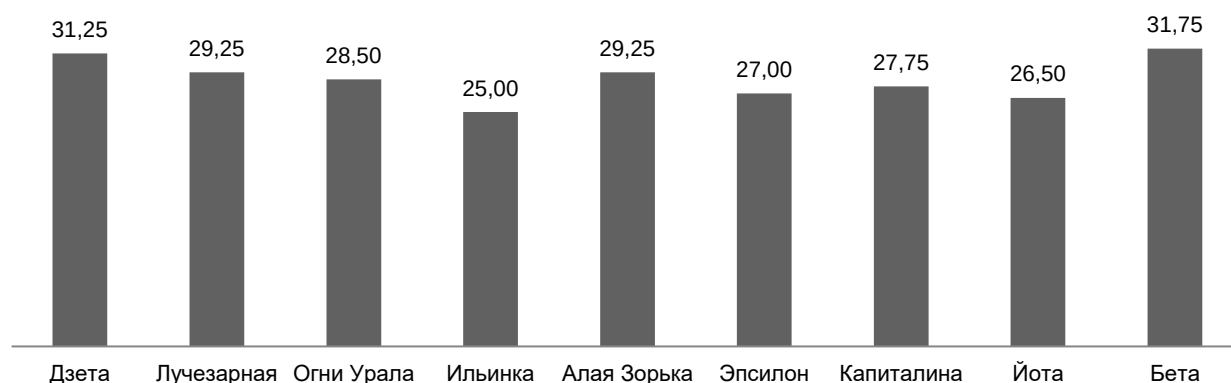


Рис. 6. Результаты исследования кислотности у ягод красной смородины сортов, районированных в Свердловской области, °Т

Fig. 6. Acidity in red currant berries of varieties released in Sverdlovsk region, °Т

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования предоставленных структурным подразделением УрФАНИЦ УрО РАН Свердловской селекционной станцией садоводства 9 сортов ягод красной смородины разных сроков созревания, районированных в Свердловской области, получены новые данные по общей антиоксидантной активности ягод, по содержанию флавоноидов, фенолов и антоцианов, а также значению кислотности и содержанию редуцирующих и общих сахаров. Полученные сведения позволяют более корректно рассчитывать пищевую ценность рационов и обоснованно выбирать тот или иной сорт при диетиче-

ской коррекции рациона с целью повышения общей антиоксидантной активности.

По совокупности определенных показателей среди лидирующих сортов красной смородины можно выделить сорта Эпсилон, Ильинка и Лучезарная, что составляет от 20,1 до 43,0% от рекомендуемой суточной нормы потребления в пересчете на аскорбиновую кислоту (значения АОА аскорбиновой кислоты – $32,024 \pm 0,350$ ммоль-экв/дм³) и обеспечивает возможность использовать ягоды красной смородины в качестве компонента антиоксиданта в составе пищевых систем, направленных на снижение негативного воздействия окислительного стресса на организм человека.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Акимов М. Ю., Макаров В. Н., Жбанова Е. В. Роль плодов и ягод в обеспечении человека жизненно важными биологически активными веществами // Достижения науки и техники АПК. 2019. Т. 33. N 2. С. 56–60. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2019-10214>.
2. Горбунова Н. В., Евтеев А. В., Банникова А. В., Решетник Е. И. Перспективы использования продуктов комплексной переработки растениеводства в качестве источников получения антиоксидантов // Дальневосточный аграрный вестник. 2017. N 2. С. 120–126.
3. Pуганен А., Каллио Н. Р., Schaich К. М., Suomela J.-P., Yang В. Red/green currant and sea buckthorn berry press residues as potential sources of antioxidants for food use // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2018. Vol. 66, no. 13. P. 3426–3434. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00177>.
4. Акимов М. Ю., Бессонов В. В., Коденцова В. М., Эллер К. И., Вржесинская О. А., Бекетова Н. А. [и др.]. Биологическая ценность плодов и ягод российского производства // Вопросы питания. 2020. Т. 89. N 4. С. 220–232. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10055>.
5. Почицкая И. М., Комарова Н. В., Коваленко Е. И. Исследование антиоксидантной активности и минерального состава ягодного сырья // Пищевая промышленность: наука и технологии. 2017. N 1. С. 68–75.
6. Чугунова О. В., Заворохина Н. В., Вяткин А. В. Исследование антиоксидантной активности и ее изменения при хранении плодово-ягодного сырья Свердловской области // Аграрный вестник Урала. 2019. N 11. С. 59–64. https://doi.org/10.32417/article_5всв861у8у0053.57240026.
7. Яшин А. Я., Веденин А. Н., Яшин Я. И., Немзер Б. В. Ягоды: химический состав, антиоксидантная активность. Влияние потребления ягод на здоровье человека // Аналитика. 2019. Т. 9. N 3. С. 222–231.
8. Макарова Н. В., Дмитриева А. Н., Мусифуллина Э. В., Стрюкова А. Д., Соболев Г. И., Антипенко М. И. [и др.]. Ягоды – исходное сырье с антиоксидантными свойствами // Пищевая промышленность. 2013. N 4. С. 25–27.
9. Вяткин А. В., Пастушкова Е. В., Феофилактова О. В. Обзор методов определения общей антиоксидантной активности // Современная наука и инновации. 2018. N 1. С. 58–66.
10. Галсанова И. Ц. Методы определения антиоксидантной активности // Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук: Всероссийская студенческая научно-практическая конференция с международным участием (г. Иркутск, 17–21 мая 2021 г.). Иркутск: ИГМУ, 2021. С. 133–136.
11. Тарасов А. В., Чугунова О. В., Стожко Н. Ю. Потенциометрическая сенсорная система на основе модифицированных толстопленочных электродов для определения антиоксидантной активности напитков // Индустрия питания. 2020. Т. 5. N 3. С. 85–96. <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2020-5-3-10>.
12. Тринеева О. В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. N 4. С. 180–197.
13. Jara-Palacios M. J., Santisteban A., Gordillo B., Hernanz D., Heredia F. J., Escudero-Gilete M. L. Comparative study of red berry pomaces (blueberry, red raspberry, red currant and blackberry) as source of antioxidants and pigments // European Food Research and Technology. 2019. Vol. 245. P. 1–9. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3135-z>.
14. Orsavová J., Hlaváčová I., Mlček J., Snopek L., Mišurcová L. Contribution of phenolic compounds, ascorbic acid and vitamin E to antioxidant activity of currant (*Ribes* L.) and gooseberry (*Ribes uva-crispa* L.) fruits // Food Chemistry. 2019. Vol. 284. P. 323–333. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.072>.
15. Ersoy N., Kupe M., Gundogdu M., İlhan G., Ercisli S. Phytochemical and antioxidant diversity in fruits of currant (*Ribes* spp.) // Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 2018. Vol. 46, no. 2. P. 381–387. <https://doi.org/10.15835/nbha46211103>.
16. Laczkó-Zöld E., Komlósi A., Ülkei T., Fogarasi E., Croitoru M., Fülöp I., et al. Extractability of polyphenols from black currant, red currant and gooseberry and their antioxidant activity // Acta Biologica Hungarica. 2018. Vol. 69. N 2. P. 156–169. <https://doi.org/10.1556/018.69.2018.2.5>.
17. Cömert E. D., Mogol B. A., Gökmen V. Relationship between color and antioxidant capacity of fruits and vegetables // Current Research in Food Science. 2020. Vol. 2. P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2019.11.001>.
18. Pantelidis G. E., Vasilakakis M., Manganaris G. A., Diamantidis Gr. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries // Food Chemistry. 2007. Vol. 102, no. 3. P. 777–783. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.021>.
19. Zorzi M., Gai F., Medana C., Aigotti R., Morrello S., Peiretti P. G. Bioactive compounds and antioxidant capacity of small berries // Foods. 2020. Vol. 9, no. 5. P. 623–625. <https://doi.org/10.3390/foods9050623>.

REFERENCES

1. Akimov M. Yu., Makarov V. N., Zhanova E. V. Role of fruits and berries in providing human with vital biologically active substances. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK = Achievements of Science and*

- Technology in Agro-Industrial Complex*. 2019; 33(2):56-60. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2019-10214>.
2. Gorbunova N. V., Evteev A. V., Bannikova A. V., Reshetnik E. I. Prospects of using complex processing products of crop production as sources of obtaining antioxidants. *Dal'nevostochnyi Agarnyi Vestnik*. 2017;(2):120-126. (In Russian).
3. Pуганен А., Каллио Н. П., Шайх К. М., Суомела Ю.-П., Янг В. Red/green currant and sea buckthorn berry press residues as potential sources of antioxidants for food use. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018;66(13):3426-3434. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00177>.
4. Akimov M. Yu., Bessonov V. V., Kodentsova V. M., Eller K. I., Vrzhesinskaya O. A., Beketova N. A., et al. Biological value of fruits and berries of Russian production. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2020;89(4):220-232. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10055>.
5. Pochitskaja I. M., Komarova N. V., Kovalenko E. I. Study of antioxidant activity and mineral composition of berry raw material. *Food Industry: Science and Technology*. 2017;(1):68-75. (In Russian).
6. Chugunova O. V., Zavorokhina N. V., Vyatkin A. V. The research of antioxidant activity and its changes during storage of fruit and berry raw materials of the Sverdlovsk region. *Agrarnyi vestnik Urala = Agrarian Bulletin of the Urals*. 2019;11:59-64. https://doi.org/10.32417/article_5всв861y8y0053.57240026.
7. Yashin A. Ya., Vedenin A. N., Yashin Ya. I., Nemzer B. V. Berries: chemical composition, antioxidant activity. The impact of berry consumption on human health. *Analitika = Analytics*. 2019;9(3):222-231. (In Russian).
8. Makarova N. V., Dmitrieva A. N., Musifullina E. V., Stryukova A. D., Sobolev G. I., Antipenko M. I., et al. Berries – raw materials with antioxidant properties. *Pishchevaya promyshlennost' = Food Industry*. 2013;(4):25-27. (In Russian).
9. Vyatkin A. V., Pastushkova E. V., Feofilaktova O. V. The review of methods for antioxidant activity determination. *Sovremennaya nauka i innovatsii*. 2018;(1):58-66. (In Russian).
10. Galsanova I. Ts. Methods for determining antioxidant activity. In: *Aktual'nye voprosy farmatsevticheskikh i estestvennykh nauk: Vserossiiskaya studentcheskaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya s mezhdunarodnym uchastiem = Topical issues of pharmaceutical and natural sciences: All-Russian student scientific and practical conference with international participation*. Irkutsk, May 17–21, 2021. Irkutsk: Irkutskii Gosudarstvennyi Meditsinskii Universitet; 2021, p. 133-136. (In Russian).
11. Tarasov A. V., Chugunova O. V., Stozhko N. Yu. Potentiometric sensor system based on modified thick-film electrodes for determining the antioxidant activity of beverages. *Industriya pitaniya = Food Industry*. 2020;5(3):85-96. <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2020-5-3-10>. (In Russian).
12. Trineeva O. V. Methods of determination of antioxidant activity of plant and synthetic origins in pharmacy (review). *Razrabotka i registratsiya lekarnykh sredstv = Drug Development & Registration*. 2017;(4):180-197. (In Russian).
13. Jara-Palacios M. J., Santisteban A., Gordillo B., Hernanz D., Heredia F. J., Escudero-Gilete M. L. Comparative study of red berry pomaces (blueberry, red raspberry, red currant and blackberry) as source of antioxidants and pigments. *European Food Research and Technology*. 2019;245:1-9. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3135-z>.
14. Orsavová J., Hlaváčová I., Mlček J., Snopek L., Mišurcová L. Contribution of phenolic compounds, ascorbic acid and vitamin E to antioxidant activity of currant (*Ribes L.*) and gooseberry (*Ribes uva-crispa L.*) fruits. *Food Chemistry*. 2019;284:323-333. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.072>.
15. Ersoy N., Kupe M., Gundogdu M., İlhan G., Ercişli S. Phytochemical and antioxidant diversity in fruits of currant (*Ribes spp.*). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2018;46(2):381-387. <https://doi.org/10.15835/nbha46211103>.
16. Laczkó-Zöld E., Komlósi A., Ülkei T., Fogarasi E., Croitoru M., Fülöp I., et al. Extractability of polyphenols from black currant, red currant and gooseberry and their antioxidant activity. *Acta Biologica Hungarica*. 2018;69(2):156-169. <https://doi.org/10.1556/018.69.2018.2.5>.
17. Cömert E. D., Mogol B. A., Gökmen V. Relationship between color and antioxidant capacity of fruits and vegetables. *Current Research in Food Science*. 2020;2:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2019.11.001>.
18. Pantelidis G. E., Vasilakakis M., Manganaris G. A., Diamantidis Gr. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*. 2007;102(3):777-783. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.021>.
19. Zorzi M., Gai F., Medana C., Aigotti R., Morrello S., Peiretti P. G. Bioactive compounds and antioxidant capacity of small berries. *Foods*. 2020; 9(5):623-625. <https://doi.org/10.3390/foods9050623>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

О. В. Чугунова,
д.т.н., профессор, заведующая кафедрой
технологии питания,
Уральский государственный экономический
университет,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Olga V. Chugunova,
Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Head of the Department of Nutrition Technology,
Ural State University of Economics,
62/45, 8 Marta/Narodnoi Voli St., 620144,

620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45, Российская Федерация,
chugun.ova@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7039-4047>

А. В. Вяткин,

к.т.н., ассистент,
Уральский государственный экономический университет,
620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45, Российская Федерация,
3dognight2009@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0214-2398>

В. М. Тиунов,

к.т.н., старший преподаватель,
Уральский государственный экономический университет,
620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45, Российская Федерация,
vladislav.tiunoff@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7741-3503>

Е. М. Чеботок,

к.с.-х.н., ученый секретарь, старший научный сотрудник,
Свердловская селекционная станция садоводства – структурное подразделение Уральского федерального аграрного научно-исследовательского центра УрО РАН,
620076, г. Екатеринбург, ул. Щербакова, 147, Российская Федерация,
sadovodstvo@list.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5942-6178>

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 14.04.2022.
Одобрена после рецензирования 01.06.2022.
Принята к публикации 15.06.2022.

Yekaterinburg, Russian Federation,
chugun.ova@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7039-4047>

Anton V. Vyatkin

Cand. Sci. (Engineering), Assistant,
Department of Tourism Business and Hospitality,
Ural State University of Economics,
62/45, 8 Marta/Narodnoi Voli St., 620144,
Yekaterinburg, Russian Federation,
3dognight2009@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0214-2398>

Vladislav M. Tiunov,

Cand. Sci. (Engineering), Senior Lecturer,
Department of Nutrition Technology,
Ural State University of Economics,
62/45, 8 Marta/Narodnoi Voli St., 620144,
Yekaterinburg, Russian Federation,
vladislav.tiunoff@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7741-3503>

Elena M. Chebotok,

Cand. Sci. (Agriculture), Scientific Secretary,
Senior Researcher,
Sverdlovsk Selection Station of Horticulture,
Ural Federal Agricultural Research Center,
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
147, Shcherbakov St., 620076, Yekaterinburg,
Russian Federation,
sadovodstvo@list.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5942-6178>

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 14.04.2022.
Approved after reviewing 01.06.2022.
Accepted for publication 15.06.2022.

Научная статья

УДК 665.753.4+665.127.6+665.7.038

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-330-338>



Оценка влияния продукта этерификации жирных кислот талловых масел на свойства дизельного топлива

Александр Сергеевич Говорин, Николай Петрович Коновалов,
Николай Дмитриевич Губанов, Ольга Владилиновна Рыбарчук,
Николай Александрович Ищук

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

Автор, ответственный за переписку: Говорин Александр Сергеевич, govorin.aleksandr@yandex.ru

Аннотация. Постоянное ужесточение экологических требований к дизельному топливу привело к тому, что из его состава методом гидроочистки стали удалять соединения серы. Это повлекло за собой значительное ухудшение противоизносных свойств дизельного топлива. Для восполнения смазывающей способности в дизельное топливо добавляют кислородсодержащие соединения: карбоновые кислоты, амиды карбоновых кислот, сложные эфиры, полиамины и другие органические соединения. Концентрация присадки зависит от ее природы и составляет от 0,015 до 1,0% масс. Помимо противоизносных присадок, в дизельное топливо добавляют цетаноповышающие, депрессорно-диспергирующие и другие присадки, корректирующие свойства топлива. Предложен метод получения продукта этерификации, который может быть использован для улучшения свойств дизельного топлива. Было установлено, что при температуре 110–115 °С, длительно-сти процесса 120–240 мин, при использовании 3–5% масс. ионообменных смол на жирные кислоты получается продукт этерификации, содержащий до 65% сложных эфиров жирных кислот. Исследовано влияние содержания добавки на смазывающие свойства дизельного топлива. При добавлении от 0,5% масс. такой показатель, как скорректированный диаметр пятна износа, снижается с 615 до 420 мкм, а при добавлении 1,5% – до 230 мкм. Установлено, что добавление продукта этерификации в дизельное топливо приводит к увеличению цетанового числа исходного топлива. При добавлении 6,0% масс. разрабатываемого продукта этерификации цетановое число топлива увеличивается до 51,6 от исходных 43,0 ед. При этом продукт этерификации может быть использован в качестве компонента для приготовления смеси биодизельного топлива В6–В20, согласно ГОСТ 33131-2014.

Ключевые слова: жирные кислоты таллового масла, этерификация, н-бутанол, ионообменные смолы, дизельное топливо

Для цитирования: Говорин А. С., Коновалов Н. П., Губанов Н. Д., Рыбарчук О. В., Ищук Н. А. Оценка влияния продукта этерификации жирных кислот талловых масел на свойства дизельного топлива // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 330-338. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-330-338>.

Evaluation of the effect of the fatty acid esterification product of tall oils on the properties of diesel fuel

Aleksandr S. Govorin, Nikolai P. Konovalov, Nikolai D. Gubanov,
Olga V. Rybarchuk, Nikolai A. Ishchuk

Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

Corresponding author: Aleksandr S. Govorin, govorin.aleksandr@yandex.ru

Abstract. In conformity with a constant tightening of environmental requirements, sulfur compounds are removed from the composition of diesel fuel using the hydrotreating method. However, this has led to a significant deterioration in the anti-wear properties of diesel fuel. To restore the lubricity, oxygen-containing compounds are added to diesel fuel, including carboxylic acids and their amide derivatives, as well as esters, polyamines and other organic compounds. The recommended concentration of the additive, which ranges from 0.015 to 1.0 wt %, is dependent on its specific properties. In addition to anti-wear additives, cetane-enhancing, depressant-dispersing and other additives are added to diesel fuel to correct the properties of the fuel. A method for producing an esterification product for improving the properties of diesel fuel is described. It is shown that an esterification product containing up to 65% fatty acid esters can be obtained at a temperature of 110–115 °C and a process duration of 120–240 minutes when using 3–5 wt % ion-exchange resins for fatty acids. The effect of the additive content on the lubricating properties of diesel fuel is investigated. When 0.5 wt % or more is added, the corrected wear spot diameter is reduced from 615 to 420 μm ; when 1.5 wt % is added, it is further reduced to 230 μm . The addition of esterification product to the diesel fuel is shown to result in an increase in the cetane number of initial fuel. When adding 6.0 wt % of the esterification product under development, the cetane number of the fuel is increased from the original 43.0 units to 51.6. In this case, the esterification product can be used as a component for preparing a mixture of biodiesel fuel B6-B20, according to GOST 33131-2014.

Keywords: tall oil fatty acids, esterification, *n*-butanol, ion-exchange resins, diesel fuel

For citation: Govorin A. S., Konovalov N. P., Gubanov N. D., Rybarchuk O. V., Ishchuk N. A. Evaluation of the effect of the fatty acid esterification product of tall oils on the properties of diesel fuel. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):330-338. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-330-338>.

ВВЕДЕНИЕ

В Российской Федерации допускается выпуск дизельного топлива (ДТ) стандарта ЕВРО 3-х экологических классов, в зависимости от содержания серы: К3 – 350 мг/кг; К4 – не более 50 мг/кг; К5 – не более 10 мг/кг. Соединения серы из ДТ удаляют методом гидроочистки [1–3]. Это привело к понижению противоизносных свойств ДТ, так как соединения серы в структуре ДТ выполняют функцию естественного смазывающего элемента, а их удаление сильно сокращает срок службы топливных насосов высокого давления. Поэтому для глубокоочищенных ДТ, допущенных к производству на территории Российской Федерации, разработан метод определения смазывающей способности ДТ на аппарате с высокочастотным возвратно-поступательным движением шарика (HFRR), по которому диаметр пятна износа должен быть не более 460 μm^2 . Решением проблемы снижения противоизносных свойств стало добавление веществ на основе жирных кислот и их производных, которые повышают смазывающую способность [4–6]. Также в производстве ДТ

используются цетаноповышающие, депрессорно-диспергирующие и др. добавки [7, 8]. Таким образом, ДТ представляет собой смесь различных веществ, наличие и концентрация которых зависит от условий эксплуатации, ввиду чего актуальными стали исследования в области совместимости присадок к топливам [9–13]. Помимо этого, остро стоит вопрос импортозамещения противоизносных и др. присадок к ДТ. Так, в 2016 году доля импорта противоизносных присадок к ДТ составила 60%, а к реактивным топливам – 100% [14–17]. Поэтому актуальной является разработка отечественных способов получения присадок к ДТ, относящихся к экологическим классам К4, К5.

В качестве сырья были использованы жирные кислоты талловых масел (ЖКТМ) целлюлозно-бумажного комбината, которые являются побочным продуктом сульфатной варки целлюлозы. Авторами ранее были проведены исследования сырья и продуктов этерификации (ПЭ), результаты которых представлены в статье [18].

Цель данной работы – оценка влияния ПЭ

¹ГОСТ ISO 12156-1-2012. Топливо дизельное. Определение смазывающей способности на аппарате HFRR. Ч. 1. Метод испытаний. М.: Стандартинформ, 2013. 20 с.

жирных кислот талловых масел на свойства ДТ классов К4, К5 стандарта ЕВРО и перспективы использования ПЭ в качестве компонента для приготовления биодизельного топлива В6–В20, согласно ГОСТ 33131-2014.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез продукта осуществлялся путем проведения реакции этерификации ЖКТМ бутиловым спиртом. Было установлено, что ЖКТМ имеют узкий диапазон кипения (99% выкипает при температуре от 366 до 376 °С) при широком спектре соединений в своем составе. Методом газовой хромато-масс-спектрометрии было определено, что в составе ЖКТМ преобладает линолевая кислота, поэтому расчеты соотношения сырья и реагента, массы катализатора для процесса и др. расчеты велись по линолевой кислоте [18]. Тип катализа – гетеролитический. В качестве катализатора были использованы ионообменные смолы (H⁺-формы) марок Amberlite 15WET (DuPont de Nemours Inc., США), Lewatit K2629 (LANXESS Deutschland GmbH, Германия) и TOKEM-100 (ООО ПО «ТОКЕМ», Россия) [19, 20].

Amberlite 15WET (форма H⁺) – сильноокислая сульфокислотная макропористая полимерная смола на основе сшитых сополимеров стирола и дивинилбензола, обладает непрерывной открытой пористой структурой и физической, термической (до 120 °С) и химической стабильностью. Также отличается большой устойчивостью к окислителям, таким как хлор, кислород и хроматы.

Amberlite 15WET (рис. 1, а) имеет оптимальный баланс площади поверхности, кислотной емкости, активности и диаметра пор, что делает Amberlite 15WET предпочтительным катализатором для реакций этерификации и гидратации. Данная ионообменная смола имеет оптимизированное распределение пор по размерам, поэтому она является отличным катализатором, когда ожидается загрязнение в случае взаимодействия с такими тяжелыми соединениями, как ЖКТМ.

Lewatit K2629 (форма H⁺) представляет собой сильноокислотную макропористую смолу на полимерной основе со сферической формой гранул, содержащую группу сульфокислоты. Подходит в качестве гетерогенного катализатора в органической среде. Матрица ионообменной смолы – сшитый полистирол (рис. 1, б).

В целом Lewatit K2629 и Amberlite 15WET обладают внешним подобием, а также похожими характеристиками, в том числе температурными свойствами эксплуатации до 120 °С.

ТОКЕМ-100 (форма H⁺) – высокеемкий сильноокислотный катионит улучшенного гранулометрического состава. Обладает высокой химической стабильностью и механической прочностью. Матрица – стирол-дивинилбензолная. Функциональная группа – сульфогруппа (рис. 1, в).

Для смещения равновесия в сторону продукта реакции необходимо сохранять избыток спирта в зоне реакции и постоянно отводить побочный продукт реакции – воду.

Процесс этерификации проводили следующим образом. В трехгорлую круглодонную колбу объемом 500 мл помещали 3–5% масс. катализатора по отношению к массе ЖКТМ, а затем добавляли 200 мл ЖКТМ и 75 мл бутилового спирта. Спирт в мольном избытке. Процесс проходил при температуре 110–115 °С в течение 120–240 мин. Конденсат собирали в накопительной части насадки, воду удаляли через сливной кран. Процесс осуществляли до полного прекращения выделения воды.

Полученный ПЭ проанализирован с использованием следующих методик: ГОСТ 3900 «Нефть и нефтепродукты. Методы определения плотности»; ГОСТ 32139-2019 «Нефть и нефтепродукты. Определение содержания серы методом энергодисперсионной рентгенофлуоресцентной спектрометрии»; ГОСТ 32508-2013 «Топлива дизельные. Определение цетанового числа» и ГОСТ ISO 12156-2012 «Топливо дизельное. Определение смазывающей способности на аппарате HFRR».

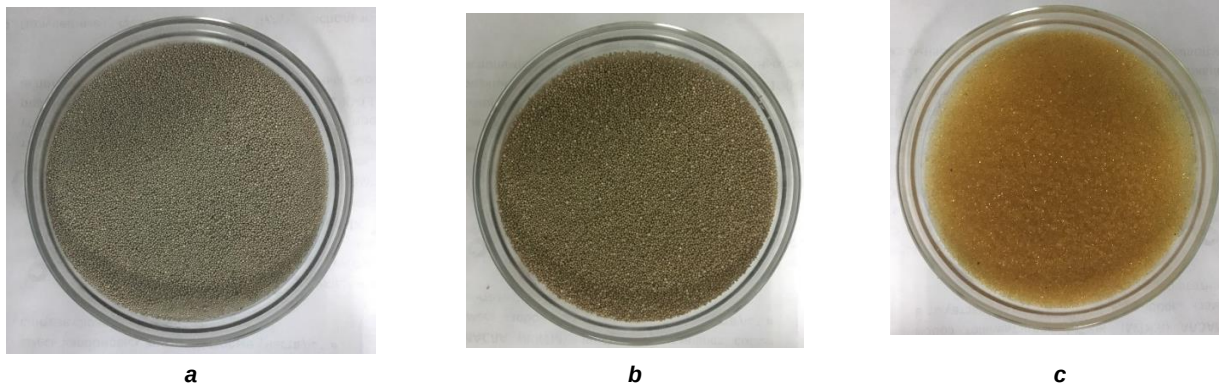


Рис. 1. Внешний вид ионообменных смол, используемых в качестве катализатора:
а – Amberlite 15WET; б – Lewatit K2629; в – TOKEM-100

Fig. 1. Appearance of ion exchange resins described as a catalyst:
а – Amberlite 15WET; б – Lewatit K2629; в – TOKEM-100

Также в данной работе была использована базовая основа ДТ (гидроочищенное топливо без присадок), произведенного на АО «Ангарская нефтехимическая компания». ДТ было проанализировано с применением следующих методик (помимо указанных выше): ГОСТ ISO 20884-2016 «Нефтепродукты жидкие. Определение содержания серы в автомобильных топливах. Метод рентгенофлуоресцентной спектроскопии с дисперсией по длине волны»; ГОСТ Р ISO 3675-2007 «Нефть сырая и нефтепродукты жидкие. Лабораторный метод определения плотности с использованием ареометра»; ГОСТ 33-2016 «Нефть и нефтепродукты. Прозрачные и непрозрачные жидкости. Определение кинематической и динамической вязкости»; ГОСТ 2177-99 «Нефтепродукты. Методы определения фракционного состава».

Полученные результаты представлены ниже.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На рис. 2 показано сравнение изменения кислотного числа ПЭ за один цикл реакции при использовании в качестве катализатора ионообменных смол (Amberlite 15WET, Lewatit K2629 и TOKEM-100), серной кислоты и сульфогля.

Так, показатель «кислотное число» можно считать косвенным показателем эффективности ионообменных смол как катализатора при превращении карбоновых кислот в сложные эфиры. При использовании ионообменных смол за один цикл реакции исходное кислотное число ЖКТМ снижается с 163,7 до 0,05 мг КОН/г в ПЭ, а для той же реакции, но с применением в качестве катализатора серной кислоты или сульфогля необходимы дополнительные реакционные циклы. Кислотные числа ПЭ, полученного с использованием в качестве катализатора серной кисло-

ты и сульфогля, в контексте данного исследования приведены для демонстрации эффективности использования ионообменных смол.

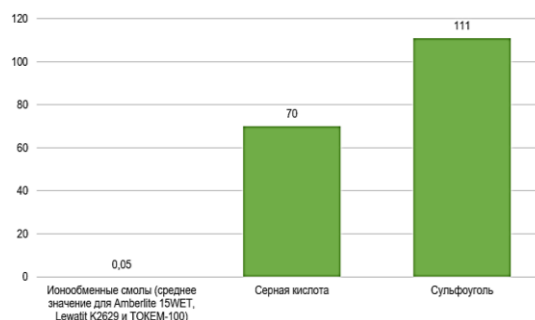


Рис. 2. Изменение показателя кислотного числа в зависимости от используемого катализатора

Fig. 2. Change in the acid number index depending on the catalyst used

Был проведен ИК-спектральный анализ ЖКТМ целлюлозно-бумажного производства смешанного типа (лиственных и хвойных пород деревьев, рис. 3, кривая а) и ЖКТМ только хвойных пород деревьев (рис. 3, кривая b), а также ПЭ ЖКТМ с н-бутанолом (рис. 3, кривая с) [21].

Наблюдается существенное изменение в спектрах ПЭ в интервале от 1800 до 1000 см^{-1} , что наглядно продемонстрировано ниже (см. рис. 3).

Об образованных сложных эфирах в ПЭ можно судить по пику 1738 см^{-1} , который был вызван валентным колебанием $\text{C}=\text{O}$ группы сложных эфиров. Две полосы в диапазоне 1300–1050 см^{-1} являются следствием асимметричных и симметричных валентных колебаний эфирной группы ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$) соответственно.

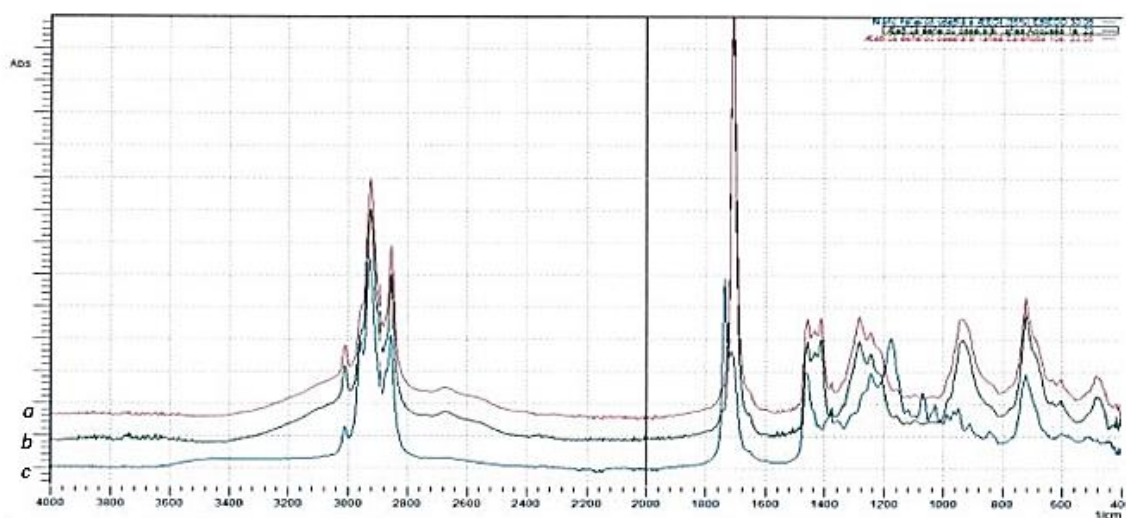


Рис. 3. ИК-спектр жирных кислот талловых масел смешанного типа (а), хвойных пород деревьев (b), продукта этерификации жирных кислот талловых масел (с)

Fig. 3. IR spectrum of fatty acids of tall oils of mixed type (a), coniferous trees (b), fatty acid esterification product of tall oils (c)

Для оценки влияния ПЭ на свойства ДТ было использовано ДТ ЕВРО – зимнее, класса 2, экологического класса К5 по ГОСТ 32511-2013, произведенное в АО «Ангарская нефтехимическая компания», свойства данного ДТ представлены в табл. 1.

Были приготовлены 7 образцов смеси базового

ДТ с добавлением ПЭ. Результаты представлены в табл. 2.

Введение добавки в ДТ происходило следующим образом. В лабораторный стакан объемом 600 мл помещалось ДТ и предварительно нагревалось до 40 °С. Добавка вводилась в необходимых массовых % по отношению к ДТ.

Таблица 1. Показатели качества дизельного топлива АО «Ангарская нефтехимическая компания»

Table 1. Indicators of diesel fuel quality produced by "Angarsk Petrochemical Company"

Наименование показателя	Единица измерения	Норма по нормативной документации	Фактическое значение	Нормативная документация на методы испытаний
Смазывающая способность	мкм	не более 460	615	ГОСТ 12156-2012
Массовая доля серы	мг/кг	не более 10,0	5,2	ГОСТ 20884-2016
Плотность при 15 °С	кг/м³	800,0–840,0	825,6	ГОСТ 3675-2007
Предельная температура фильтруемости	°С	не выше -32	-33	ГОСТ 22254-92
Кинематическая вязкость при 40 °С	мм²/с	1,400–4,000	1,836	ГОСТ 33-2016
Фракционный состав: до 180 °С перегоняется	% об.	не более 10	10	ГОСТ 2177-99 (метод А)
Фракционный состав: до 360 °С перегоняется	% об.	не менее 95	98	ГОСТ 2177-99 (метод А)
Фракционный состав: 95% об. перегоняется при температуре	°С	не выше 360	295	ГОСТ 2177-99 (метод А)

Таблица 2. Оценка общего влияния продукта этерификации на свойства дизельного топлива

Table 2. Evaluation of the esterification product effect on the properties of diesel fuel

№ п/п	Наименование пробы	Плотность при 20 °С, кг/м³	Содержание серы, ppm/%	Цетановое число, ед.	Смазывающая способность (скорректированный диаметр пятна износа при 60 °С)
	Методики испытаний	ГОСТ 3900	ГОСТ 32139	ГОСТ 32508	ГОСТ ISO 12156-2012
1	дизельное топливо 100%	822	1/0.0001	43,1	615
2	дизельное топливо + 0,5% масс. продукт этерификации	823	1/0.0001	44,2	420
3	дизельное топливо + 1,5% масс. продукт этерификации	823	7/0.0007	46,1	230
4	дизельное топливо + 3,0% масс. продукт этерификации	823	8/0.0008	45,5	178
5	дизельное топливо + 6,0% масс. продукт этерификации	824	10/0.0010	51,7	–
6	дизельное топливо + 10,0% масс. продукт этерификации	825	13/0.0013	60,2	–
7	дизельное топливо + 20,0% масс. продукт этерификации	829	14/0.0014	61,4	–
8	дизельное топливо + 50,0% масс. продукт этерификации	837	45/0.0045	64,1	–
9	продукт этерификации 100%	878	73/0.0073	–	220

Зависимость противоизносных свойств ДТ от содержания ПЭ приведена на рис. 4. Как видно из представленных данных, необходимая смазывающая способность достигается при добавлении 0,5% масс. ПЭ. При добавлении 3% смазывающая способность ДТ ниже максимально допустимой примерно в 2,5 раза, при этом ПЭ имеет значение смазывающей способности, равное 220 мкм. Это объясняется погрешностью метода, которая составляет ± 61 мкм.

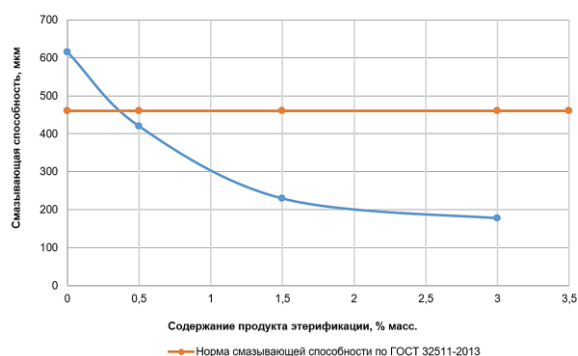


Рис. 4. Зависимость противоизносных свойств дизельного топлива от содержания добавки (продукт этерификации)

Fig. 4. Relationship between the antiwear properties of diesel fuel and the content of the additive (esterification product)

Помимо улучшения смазывающих свойств ДТ, при увеличении концентрации ПЭ наблюдается рост цетанового числа, а при достижении значения концентрации ПЭ 6,0% масс. цетановое число ДТ становится равным 51,7 ед., что соответствует нормативным значениям по ГОСТ 32511-2013 (не менее 51 ед.).

Однако при концентрации ПЭ выше 10% масс. содержание серы в ДТ увеличивается, что приводит к снижению экологического класса топлива с К5 на К4.

Образцы под номерами 5–7 табл. 2 могут быть использованы в качестве компонента для приготовления смеси биодизельного топлива в соответствии с ГОСТ 33131-2014, согласно которому допускается добавлять в ДТ от 6 до 20% базового биодизельного топлива. В качестве базового биодизельного топлива выступает ПЭ.

Полученные результаты образцов под номерами 5–7, представленных в табл. 2, сравнили с требованиями, предъявляемыми к смесям биодизельного топлива (табл. 3).

Смесь ДТ с массовой концентрацией ПЭ от 6 до 20% практически полностью соответствует требованиям ГОСТ 33131-2014. Даже при максимальной концентрации ПЭ в ДТ полученная смесь по содержанию серы будет относиться к классу S15 биодизельного топлива В6–В20 (с наименьшим показателем по содержанию серы).

Таблица 3. Смесь базового дизельного топлива с продуктом этерификации от 6 до 20% масс. в сравнении с требуемыми показателями ГОСТ 33131-2014

Table 3. Mixture of base diesel fuel with esterification product (6–12 wt.%) in comparison with standard characteristics

Наименование показателя	Класс биодизельного топлива В6–В20			Дизельное топливо + продукт этерификации
	S15	S500	S5000	
Кислотное число, мг КОН/г, не более	0,3	0,3	0,3	0,05
Вязкость при 40 °С, мм ² /с	1,9–4,1	1,9–4,1	1,9–4,1	–
Содержание серы, не более:				
– мкг/г	15			10–14
– % масс.		0,05		
– % масс.			0,50	
Цетановое число	40	40	40	51–61
Содержание базового биодизельного топлива, %	6–20	6–20	6–20	6–20
Скорректированный диаметр пятна износа при 60 °С, мкм, не более	520	520	520	178–230

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен метод этерификации ЖКТМ с н-бутанолом в присутствии ионообменных смол (H⁺-формы). Показана эффективность использования ионообменных смол для кислотной этерификации на примере 3-х типов катализатора: Amberlite 15WET, Lewatit K2629 и ТОКЕМ-100.

Определен положительный эффект добавления ПЭ в ДТ марки ДТ-3-К5. Введение 0,5% ПЭ обеспечивает регламентируемую норму смазывающей способности для гидроочищенного ДТ. При добавлении ПЭ в значении 6,0% масс. цетановое число ДТ повышается до 51,6 от ис-

ходных 43,0 ед. ПЭ может быть рекомендован в качестве добавки в ДТ для улучшения смазывающих свойств и увеличения цетанового числа топлива.

Также было проведено сравнение смеси ДТ и ПЭ с требованиями ГОСТ 33131-2014 «Смеси биодизельного топлива (В6–В20)». Из полученных сравнительных данных можно сделать вывод, что ПЭ имеет перспективы использования в качестве базового биодизеля для приготовления смеси биодизельного топлива В6–В20. Однако приведенные данные следует интерпретировать как справочные, и в настоящей статье они использованы в

качестве демонстрации возможного улучшения рецептуры производства биотоплив на основе метанола при помощи добавления компонентов на

основе бутанола, что требует дополнительных исследований в этом направлении для обоснования приведенного заключения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Спиркин В. Г., Мурашев С. В. Противоизносные свойства дизельных топлив с улучшенными экологическими характеристиками // *Химия и технология топлив и масел*. 1999. N 3. С. 29–30.

2. Митусова Т. Н. Современное состояние производства дизельных топлив. Требования к качеству // *Мир нефтепродуктов*. 2009. N 9-10. С. 6–9.

3. Махмудова Л. Ш., Ахмадова Х. Х., Хадисова Ж. Т., Абдулмежидова З. А., Пименов А. А., Красников П. Е. Производство низкосажающих дизельных топлив на российских НПЗ: состояние и перспективы // *Российский химический журнал*. 2017. Т. 61. N 2. С. 75–97.

4. Туманян Б. П., Щербаков П. Ю., Шарин Е. А., Матин М. Е., Матвеева О. А. Исследование эффективности жирных кислот растительных масел в качестве противоизносных присадок к дизельным топливам // *Химия и технология топлив и масел*. 2020. N 4. С. 3–11.

5. Короткова Н. П., Ярмолюк Б. М., Любинин И. А., Кочирко Б. Ф. Противоизносные присадки к дизельным топливам. Аналитический обзор литературы // *Вопросы химии и химической технологии*. 2013. N 3. С. 61–66.

6. Шевченко Е. Б., Суханберлиев А. И., Аббасов М. М., Данилов А. М. Жирные кислоты растительных масел как компоненты противоизносных присадок к дизельному топливу // *Журнал прикладной химии*. 2019. Т. 92. N 1. С. 133–136.

7. Данилов А. М., Паронькин В. П., Меркин А. А. О задачах по созданию отечественного ассортимента присадок для дизельных топлив // *Мир нефтепродуктов*. 2008. N 2. С. 20–22.

8. Митусова Т. Н. Современное состояние производства присадок к дизельным топливам. Требования к качеству // *Мир нефтепродуктов*. 2009. N 9-10. С. 10–16.

9. Данилов А. М. О совместимости присадок к топливам // *Химия и технология топлив и масел*. 1998. N 5. С. 14–16.

10. Данилов А. М. Разработка и применение присадок к топливам в 2006–2010 гг. // *Химия и технология топлив и масел*. 2011. N 6. С. 41–51.

11. Зиннатуллина Г. М., Алипов Д. Е., Баулин О. А., Шахова Ф. А., Мухамадеева А. И., Карпенко Е. М. [и др.]. Влияние присадок на эксплуатационные и экологические характеристики дизельных топлив // *Нефтегазовое дело*. 2014. Т. 12. N 2. С. 92–99.

12. Гришин Д. Ф. Депрессорные, противоизносные и антиокислительные присадки к гидро-

очищенным дизельным топливам с низким и ультранизким содержанием серы (обзор) // *Нефтехимия*. 2017. Т. 57. N 5. С. 489–502. <https://doi.org/10.7868/S0028242117050094>.

13. Митусова Т. Н., Калинина М. В., Сафонова Е. Е. О нежелательных побочных эффектах противоизносных присадок к дизельным топливам // *Мир нефтепродуктов*. 2010. N 5. С. 51–53.

14. Данилов А. М., Овчинников К. А., Бартко Р. А. Задачи и практические результаты импортозамещения в области присадок к топливам и смазочным маслам // *Экспозиция Нефть Газ*. 2017. Т. 54. N 1. С. 17–19.

15. Зинина Н. Д., Тимашова А. Л., Павловская М. В., Гришин Д. Ф. Противоизносная присадка к дизельному топливу с ультранизким содержанием серы // *Нефтехимия*. 2014. Т. 54. N 5. С. 399–404.

16. Дубровский Д. А., Семёнов И. А., Кузора И. Е., Старикова О. В., Артемьева Ж. Н., Дьячкова С. Г. [и др.]. Расширение ассортимента присадок к базовым топливам в АО «АНХК». Проблемы и перспективы // *Мир нефтепродуктов*. 2018. N 12. С. 6–15.

17. Бочаров А. П., Левина Л. А., Резниченко И. Д. Испытания и внедрение противоизносной присадки Байкат, разработанной ОАО «АЗКиОС» // *Мир нефтепродуктов*. 2010. N 1. С. 14–15.

18. Govorin A. S., Gubanov N. D., Konovalov N. P. Esterification of tall oil fatty acids using ion exchange resins in order to produce energy-efficient engine oil // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020. Vol. 408. P. 012074. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/408/1/012074>.

19. Кэ Пэн, Якупов Н. В., Гаеткулова Г. К., Рахимов М. Н., Давлетшин А. Р., Хамзин Ю. А. [и др.]. Получение перспективных кислородосодержащих компонентов моторных топлив // *Нефтегазовое дело*. 2019. N 3. С. 164–176.

20. Shakoор Z. M., Sukkar K. A., Baqer M. S. Reaction kinetics of acetic acid and n-butanol esterification catalyzed by Dowex 50 catalyst // *Engineering and Technology Journal*. 2011. Vol. 29, no. 10. P. 2060–2072.

21. Govorin A. S., Konovalov N. P., Gubanov N. D. Study in fatty acids of tall oils and their products of esterification by the method of IR spectrometry for analytical control of preparation of esters // *Journal of Physics: Conference Series*. 2020. Vol. 1942. P. 012018. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1942/1/012018>.

REFERENCES

1. Spirkin V. G., Murashev S. V. Antiwear properties of diesel fuels with improved environmental performance. *Khimiya i Tekhnologiya Topliv i Masel*

= *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 1999;(3):29-30. (In Russian).

2. Mitusova T. N. Modern condition of diesel fuel

production. Quality requirements. *Mir Nefteproduktov = World of Oil Products*. 2009;(9-10):6-9. (In Russian).

3. Makhmudova L. Sh., Akhmadova Kh. Kh., Khadisova Zh. T., Abdulmezhidova Z. A., Pimenov A. A., Krasnikov P. E. Production of low pour point diesel fuels at Russian refineries: state of the art and prospects. *Rossiiskii Khimicheskii Zhurnal = Russian Journal of General Chemistry*. 2017;61(2):75-97. (In Russian).

4. Tumanyan B. P., Shcherbakov P. Y., Sharin E. A., Matin M. E., Matveeva O. A. Effectiveness of vegetable-oil fatty acids as antiwear additives for diesel oils. *Khimiya i Tekhnologiya Topliv i Masel = Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 2020;(4):3-11. (In Russian).

5. Korotkova N. P., Yarmolyuk B. M., Lyubinin I. A., Kochirko B. F. Antiwear additives for diesel fuels. Analytical review of literature. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*. 2013;(3):61-66. (In Russian).

6. Shevchenko E. B., Sukhanberliev A. I., Abbasov M. M., Danilov A. M. Fatty acids of vegetable oils as components of anti-wear diesel-fuel additives. *Zhurnal Prikladnoi Khimii = Russian Journal of Applied Chemistry*. 2019;92(1):133-136. (In Russian).

7. Danilov A. M., Paron'kin V. P., Merkin A. A. On the tasks of creating a domestic range of additives for diesel fuels. *Mir Nefteproduktov = World of Oil Products*. 2008;(2):20-22. (In Russian).

8. Mitusova T. N. Modern state of production of additives to diesel fuels. Quality requirements. *Mir Nefteproduktov = World of Oil Products*. 2009;(9-10):10-16. (In Russian).

9. Danilov A. M. About compatibility of additives to fuels. *Khimiya i Tekhnologiya Topliv i Masel = Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 1998;(5):14-16. (In Russian).

10. Danilov A. M. Development and use of fuel additives during 2006-2010. *Khimiya i Tekhnologiya Topliv i Masel = Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 2011;(6):41-51. (In Russian).

11. Zinnatullina G. M., Alipov D. E., Baulin O. A., Shakhova F. A., Muhamadeeva A. I., Karpenko E. M., et al. The impact of additives on operational and ecological characteristics of diesel fuels. *Neftegazovoe Delo = Petroleum Engineering*. 2014;12(2):92-99. (In Russian).

12. Grishin D. F. Depressant, antiwear and anti-oxidant additives for hydrotreated diesel fuels with

low and ultra-low sulfur content (review). *Neftekhimiya = Petroleum Chemistry*. 2017;57(5):489-502. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0028242117050094>.

13. Mitusova T. N., Kalinina M. V., Safonova E. E. Undesirable side effects of antiwear additives for diesel fuels. *Mir Nefteproduktov = World of Oil Products*. 2010;(5):51-53. (In Russian).

14. Danilov A. M., Ovchinniko K. A., Bartko R. V. Problems and practical results of import substitution in the field of additives to fuels and lubricant oils. *Ekspozitsiya Neft' Gaz = Exposition Oil Gas*. 2017;54(1):17-19. (In Russian).

15. Zinina N. D., Timashova A. L., Pavlovskaya M. V., Grishin D. F. An antiwear additive for ultra-low-sulfur diesel fuel. *Neftekhimiya = Petroleum Chemistry*. 2014;54(5):399-404. (In Russian).

16. Dubrovskiy D. A., Semenov I. A., Kuzora I. E., Starikova O. V., Artem'eva Z. N., Dyachkova S. G., et al. Expansion of the range of additives for the base fuel of Angarsk petrochemical company. Problems and prospects. *Mir Nefteproduktov = World of Oil Products*. 2018;(12):6-15. (In Russian).

17. Bocharov A. P., Levina L. A., Reznichenko I. D. Tests and adoption of an antiwear Baikal additive, developed by AZKIOS Ltd. *Mir Nefteproduktov = World of Oil Products*. 2010;(1):14-15. (In Russian).

18. Govorin A. S., Gubanov N. D., Konovalov N. P. Esterification of tall oil fatty acids using ion exchange resins in order to produce energy-efficient engine oil. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020;408:012074. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/408/1/012074>.

19. Ke Peng, Yakupov N. V., Gayetkulova G. K., Rakhimov M. N., Davletshin A. R., Khamzin Yu. A., et al. Obtaining promising oxygen-containing components of motor fuels. *Neftegazovoe Delo = Petroleum Engineering*. 2019;(3):164-176. (In Russian).

20. Shakoor Z. M., Sukkar K. A., Baqer M. S. Reaction kinetics of acetic acid and n-butanol esterification catalyzed by Dowex 50 catalyst. *Engineering and Technology Journal*. 2011;29(10):2060-2072.

21. Govorin A. S., Konovalov N. P., Gubanov N. D. Study in fatty acids of tall oils and their products of esterification by the method of IR spectrometry for analytical control of preparation of esters. *Journal of Physics: Conference Series*. 2020;1942:012018. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1942/1/012018>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. С. Говорин,
аспирант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
govorin.aleksandr@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8541-9163>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Aleksandr S. Govorin,
Postgraduate Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
govorin.aleksandr@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8541-9163>

Н. П. Коновалов,
д.т.н., профессор,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
knp@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0001-6786-2711>

Н. Д. Губанов,
к.т.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
gubanov_nd@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0003-2738-2195>

О. В. Рыбарчук,
к.т.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
Oklim89@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3879-9706>

Н. А. Ищук,
аспирант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
nickish83@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5893-6560>

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 17.06.2021.
Одобрена после рецензирования 07.04.2022.
Принята к публикации 30.05.2022.*

Nikolai P. Konovalov,
Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
knp@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0001-6786-2711>

Nikolai D. Gubanov,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
gubanov_nd@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0003-2738-2195>

Olga V. Rybarchuk,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
Oklim89@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3879-9706>

Nikolai A. Ishchuk,
Postgraduate Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
nickish83@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5893-6560>

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.*

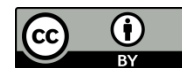
Information about the article

*The article was submitted 17.06.2021.
Approved after reviewing 07.04.2022.
Accepted for publication 30.05.2022.*

Научная статья

УДК 66.021.1:66.074.9

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-339-348>



Эффективность очистки газа от пыли в щелевом фильтре

Николай Митрофанович Самохвалов, Владимир Владимирович Виноградов

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

Автор, ответственный за переписку: Самохвалов Николай Митрофанович, snm4186@mail.ru

Аннотация. Очистка промышленных газов от пыли является одной из важнейших экологических задач по защите окружающей среды. Разнообразие технологических условий образования пыли, физико-химических свойств газа и улавливаемых частиц, повышение технических и экономических требований к процессам очистки диктует поиск новых, более совершенных и эффективных способов очистки запыленных газов и конструкций пылеулавливающих аппаратов. При очистке горячих, химически агрессивных газов или улавливании абразивной пыли применение электрофильтров, рукавных, волокнистых и зернистых фильтров часто связано с трудностями защиты аппаратов от вредных факторов либо с недостаточной эффективностью очистки. Щелевые фильтры, в силу своих конструктивных особенностей, могут быть использованы при решении таких задач. На основании теоретических представлений и экспериментальных исследований разработана инженерная методика расчета щелевых фильтров, позволяющая моделировать и проектировать щелевые фильтры с заданными показателями работы и обеспечивать высокую эффективность очистки и низкое гидравлическое сопротивление. В основу этой методики положены теоретические закономерности фильтрования с использованием основных механизмов осаждения пылевых частиц на изолированных цилиндрах применительно к стационарной стадии процесса фильтрования. Разработана программа для ЭВМ, позволяющая моделировать процесс очистки запыленных газов в щелевых фильтрах. Она дает возможность по заданной эффективности очистки и гидравлическому сопротивлению определять оптимальные параметры работы, конструктивные размеры и условия регенерации щелевых фильтров с учетом свойств пыли и газа при длительной непрерывной работе фильтра.

Ключевые слова: фильтрование, щелевой фильтр, пылеулавливание, эффективность, стационарность

Для цитирования: Самохвалов Н. М., Виноградов В. В. Эффективность очистки газа от пыли в щелевом фильтре // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 2. С. 339–348. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-339-348>.

CHEMICAL TECHNOLOGY

Original article

Efficiency of dusted gas cleaning using a slotted filter

Nikolay M. Samokhvalov, Vladimir V. Vinogradov

Irkutsk National Research Technical University,
Irkutsk, Russian Federation

Corresponding author: Nikolay M. Samokhvalov, snm4186@mail.ru

Abstract. The cleaning of industrial gases from dust is one of the most significant current environmental protection problems. The search for new, more advanced and effective ways to clean dust gases and dust collector designs is based on the diversity of technological conditions for dust formation, the physicochemical properties of gases and trapped particles, and an increase in technical and economic requirements for cleaning processes. When cleaning hot or chemically aggressive gases and capturing abrasive dust, the use of electrostatic precipitators, bag, fibrous and granular filters is often associated with difficulties in protecting the devices from harmful factors or ensuring sufficient cleaning efficiency. The design features of slotted filters

permit their use in solving such problems. An engineering method for calculating slotted filters developed on the basis of theoretical ideas and experimental studies is used to model and design slotted filters with specified performance indicators to ensure high cleaning efficiency and low hydraulic resistance. This technique is based on theoretical patterns of filtration using basic dust particle deposition mechanisms on isolated cylinders in relation to the stationary stage of the filtration process. A computer program that simulates the process of cleaning dusty gases in slotted filters has been developed. This makes it possible to determine the optimal operating parameters, design dimensions and regeneration conditions of slotted filters based on a specified cleaning efficiency and hydraulic resistance, taking into account the properties of dust and gas during prolonged continuous operation of the filter.

Keywords: filtration, slotted filter, dust collection, efficiency, stationarity

For citation: Samokhvalov N. M., Vinogradov V. V. Efficiency of dusted gas cleaning using a slotted filter. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(2):339-348. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-339-348>.

ВВЕДЕНИЕ

Для промышленной очистки запыленных газов фильтрованием используются тканевые, волокнистые, зернистые и воздушные фильтры. В них применяются различные пористые перегородки: тканевые и нетканые волокнистые материалы, зернистые слои, полужесткие и жесткие пористые перегородки, металлические сетки и перфорированные листы [1].

В отечественной и зарубежной литературе [2–6] имеются сведения об использовании щелевых фильтров, в которых фильтрующая перегородка образована круглой проволокой или перфорированной лентой. Однако эти фильтры предназначены для очистки суспензий и не приспособлены для улавливания пыли. В 2011 году запатентован щелевой фильтр для очистки газа от пыли [7], а в 2015 году – его усовершенствованная конструкция [8]. В этих фильтрах фильтрующая перегородка образована несколькими слоями гладкой проволоки, навитой на каркас в виде «беличьего колеса» или на перфорированный цилиндр с прокладками между слоями и витками проволоки. Внутри перегородки размещается регенерирующее устройство с вращающимися и одновременно перемещающимися соплами. Однако методы расчета конструктивных размеров щелевых фильтров и технологических параметров, обеспечивающих требуемую эффективность очистки, в литературе отсутствуют.

Процесс фильтрации можно разделить на две стадии – стационарную и нестационарную [9]. Стационарная является начальной стадией, в которой эффективность очистки и гидравлическое сопротивление изменяются незначительно, а накопление уловленных частиц пыли и структурные характеристики фильтрующей перегородки практически не изменяются во времени. Эта стадия плавно переходит в нестационарную, которая сопровождается значительным накоплением пыли в фильтрующем слое и непрерывным изменением структуры перегородки. В результате происходит постоянное снижение эффективности и рост гидравлического сопротивления,

что осложняет их оценку.

Исследование процесса фильтрации связано с установлением зависимости эффективности улавливания пылевых частиц и гидравлического сопротивления фильтра от гидродинамических условий, структуры перегородки и свойств пыли. Теория фильтрации разработана применительно к изолированному цилиндру или шару. Она описывает эффективность улавливания частиц за счет различных механизмов осаждения и находит применение для оценки нестационарного режима фильтрования, но с учетом поправочных коэффициентов, полученных на основе экспериментальных данных.

Основными механизмами осаждения шарообразных частиц при фильтровании являются гравитационное, инерционное, диффузионное, электрическое осаждение и зацепление (эффект касания) [10, 11]. Оценка влияния механизмов осаждения на эффективность очистки осуществляется с помощью безразмерных параметров осаждения – гравитационного G , инерционного Stk , диффузионного D , электрического K_E – и параметра касания R . Для учета несферичности частиц пыли используется коэффициент формы, который определяется соотношением:

$$\chi = \frac{\delta_3^2}{\delta^2},$$

где δ_3 – эквивалентный диаметр улавливаемой частицы; δ – размер диаметра частиц пыли.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом настоящего исследования являлся щелевой фильтр с перегородкой из нескольких слоев стальной проволоки, навитой на перфорированный цилиндрический каркас, конструкция которого представлена на рис. 1. В перегородках использовалась гладкая проволока диаметром 0,8; 1,0; 1,2 и 1,4 мм и проволока, переплетенная тонкой медной нитью размером 150 мкм. Количество слоев проволоки изменялось от 3 до 7.

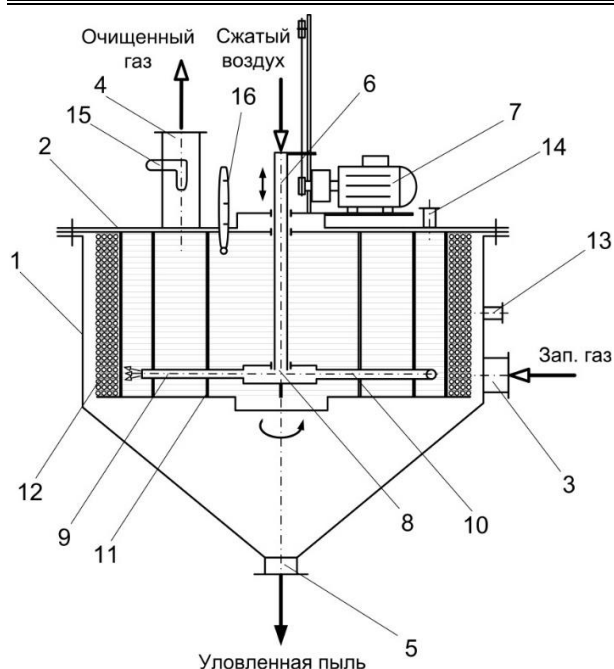


Рис. 1. Лабораторная модель щелевого фильтра:
1 – корпус; 2 – крышка; 3 – входной патрубок;
4 – выходной патрубок; 5 – патрубок для бункера
уловленной пыли; 6 – регенерирующее устройство;
7 – мотор-редуктор; 8 – газораспределительная камера;
9 – продувочное сопло; 10 – реактивное сопло;
11 – каркас фильтрующей перегородки;
12 – щелевая фильтрующая перегородка;
13, 14 – отборники для измерения давления;
15 – пробоотборник; 16 – термометр

Fig. 1. Laboratory model of slotted filter:
1 – body; 2 – cover; 3 – inlet pipe;
4 – outlet pipe; 5 – branch pipe for the trapped dust bin;
6 – regenerating device;
7 – motor-reducer; 8 – gas distribution chamber;
9 – purge nozzle; 10 – jet nozzle;
11 – frame of the filtering partition;
12 – slotted filtering partition;
13, 14 – sampling devices for measuring pressure;
15 – sampler; 16 – thermometer

Исследовалась эффективность очистки воздуха от угольной, цементной, песочной пыли и пылевидного поливинилхлорида (ПВХ). Свойства пыли представлены в табл. 1. Для характеристики пыли использовались медианный размер частиц δ_{50} , угол естественного откоса α_o , определяющий сыпучесть, истинная (кажущаяся) плотность ρ и насыпная плотность $\rho_{нп}$.

Эксперименты выполнялись при скоростях фильтрации W_o от 0,03 до 0,15 м/с. При проведении опытных испытаний измерялись следующие параметры: расход воздуха – ротаметром РС-5 (ООО «Прибор-М», Россия), температура воздуха – ртутным термометром, гидравлическое сопротивление перегородки – микроманометром ММН-240 (ОАО «Лубенский завод счетных машин», Украина), а также устанавливалась

продолжительность цикла фильтрования τ с помощью секундомера. Эффективность очистки η определялась по формуле:

$$\eta = \frac{Z_{вх} - Z_{ост}}{Z_{вх}},$$

где $Z_{вх}$ – входная запыленность потока;
 $Z_{ост}$ – остаточная запыленность потока.

Таблица 1. Основные характеристики пыли

Table 1. Main characteristics of dust

Пыль	δ_{50} , мкм	ρ , кг/м ³	$\rho_{нп}$, кг/м ³	α_o , град.
Угольная	21	1420	800	60
Угольная	55	1420	843	43
Цементная	15	2900	1662	70
Песочная	30	1550	916	50
Пылевидный поливинилхлорид	28	1463	810	55

Входная запыленность определялась из отношения навески пыли, поданной в щелевой фильтр за время фильтрования, к объему воздуха, прошедшего за это время через фильтр. Остаточная запыленность потока замерялась весовым способом с внешней фильтрацией путем отбора проб воздуха аспиратором через наконечник НИИОГАЗа и фильтровальный патрон¹.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования [12–15] показали, что процесс улавливания пыли в щелевой перегородке при постоянной скорости фильтрования является процессом с закупориванием пор. Он протекает с накоплением пыли внутри каналов фильтрующей перегородки, что приводит к уменьшению доли свободного объема и живого сечения фильтра. В результате увеличивается скорость в каналах перегородки и, следовательно, возрастает динамическое давление на уловленный пылевой слой. Из-за этого происходит непрерывное перемещение фронта пыли в глубину перегородки. Накопление пыли в каналах слоя определяется ее входной концентрацией в потоке, скоростью фильтрования, размером пылевых частиц и другими факторами. При заданных условиях фильтрования скорость этого перемещения выражается изменением глубины h проникновения фронта пыли во времени:

$$v_f = \frac{dh}{d\tau}.$$

В то же время скорость фронта пыли зависит от скорости пылегазового потока в каналах ще-

¹Биргер М. И., Вальдберг А. Ю., Мягков Б. И., Падва В. Ю., Русанов А. А., Урбах И. И. Справочник по пыле- и золоулавливанию. М.: Энергоатомиздат, 1983. 312 с.

левой перегородки W . Соотношение этих скоростей будет влиять на проскок пыли, т.е. на эффективность очистки. Обозначим это отношение через величину:

$$K_f = \frac{v_f}{W}$$

или

$$K_f = \frac{\varepsilon_o}{W_o} \frac{dh}{d\tau},$$

где ε_o – доля свободного объема щелевой перегородки.

Разделим переменные и, считая для стационарного процесса $\varepsilon_o = \text{const}$, проинтегрируем полученное уравнение по времени фильтрования от 0 до τ , а по глубине перемещения фронта пыли – от 0 до толщины фильтрующей перегородки H :

$$K_f \int_0^\tau d\tau = \frac{\varepsilon_o}{W_o} \int_0^H dh$$

или

$$K_f = \frac{\varepsilon_o H}{W_o \tau}.$$

В начальном периоде фильтрования накопление пыли происходит в каналах лобового слоя и скорость потока в них фактически зависит от живого сечения пористой перегородки ψ_o . Тогда можно заменить ε_o на ψ_o :

$$K_f = \frac{\psi_o H}{W_o \tau}.$$

Величина K_f названа фактором стационарности, так как комплекс обратный ему является критерием гомохронности, характеризующей стационарность процесса. Отношение $\psi_o H / W_o$ определяет время пребывания τ_{np} запыленного потока в фильтрующей перегородке, т.е. фактор стационарности можно выразить также временем пребывания к продолжительности цикла фильтрования $K_f = \tau_{np} / \tau$.

С использованием результатов экспериментальных исследований были построены графические зависимости η от K_f (рис. 2). На этом рисунке представлены результаты, полученные при улавливании угольной пыли в щелевом фильтре с 5-ю слоями проволоки. На нем прослеживается логарифмический характер зави-

симости $\eta = \varphi(K_f)$. Эффективность очистки зависит от диаметра проволоки d_{np} и от количества ее слоев в фильтрующей перегородке n .

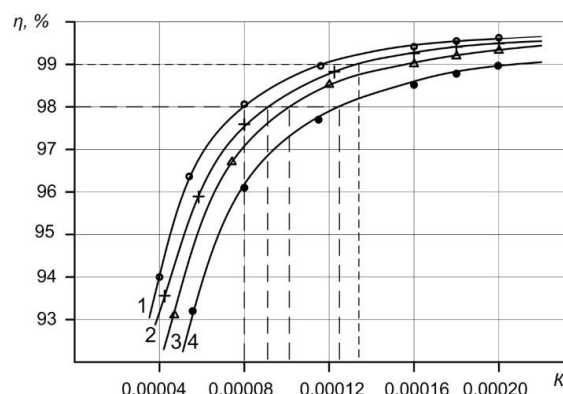


Рис. 2. Изменение эффективности очистки от фактора стационарности: 1 – $d_{np} = 1,4$ мм; 2 – $d_{np} = 1,2$ мм; 3 – $d_{np} = 1,0$ мм; 4 – $d_{np} = 0,8$ мм

Fig. 2. Cleaning efficiency versus stationarity factor: 1 – $d_{pr} = 1.4$ mm; 2 – $d_{pr} = 1.2$ mm; 3 – $d_{pr} = 1.0$ mm; 4 – $d_{pr} = 0.8$ mm

Видно, что с увеличением фактора стационарности эффективность очистки повышается и стабилизируется. При определенном значении фактора стационарности кривая эффективности переходит в линию, асимптотически приближающуюся к показателю 100% эффективности. Точку этого перехода можно принять за значение граничного фактора стационарности K_{fep} . Граничный фактор стационарности – это такое соотношение времени пребывания и продолжительности фильтрования, которое обеспечивает заданную эффективность очистки.

Область пологой линии можно считать стационарным периодом фильтрования. Она соответствует высокой и достаточно стабильной во времени эффективности очистки. В этом периоде накопление пыли в фильтрующей перегородке незначительное, проскок пыли определяется структурой щелевого слоя, свойствами пыли и параметрами процесса фильтрования [16, 17].

Для оценки эффективности очистки η в щелевом фильтре за основу принят закон улавливания частиц однородным фильтром, который определяет проскок пыли K в зависимости от показателя структуры фильтрующего слоя ξ , коэффициента захвата частиц единицей длины улавливающего элемента под действием механизмов осаждения η_Σ и описывается уравнением [10]:

$$K = \exp(-\xi \times \eta_\Sigma),$$

где $K = 1 - \eta$.

Однако это уравнение не учитывает изменений проскока пыли во времени из-за накопления ее в фильтрующем слое. На практике коэффи-

коэффициент захвата частиц η_s рассчитывается на основе экспериментальных измерений коэффициента проскока K , толщины перегородки и плотности упаковки при известном размере единичного фильтрующего элемента.

Предлагается [18, 19] эффективность очистки в щелевом фильтре рассчитывать на основе уравнения:

$$\eta = 1 - e^{-\xi \eta_s K_n}, \quad (1)$$

где η_s – эффективность захвата частиц фильтрующей перегородкой; K_n – показатель влияния фактора стационарности процесса на проскок пыли.

Показатель структуры перегородки рассчитывается по формуле:

$$\xi = \frac{0,283H(1 - \varepsilon_o)}{d_{np} \varepsilon_o}.$$

Доля свободного объема определяется как отношение объема пустот к общему объему фильтрующего слоя $V_{\phi c}$:

$$\varepsilon_o = \frac{(V_{\phi c} - V_{np})}{V_{\phi c}},$$

где V_{np} – объем, занимаемый проволокой.

Если для фильтрующего слоя используется проволока с поперечным оребрением (рифлением) или прокладками между слоями и витками проволоки, то доля свободного объема рассчитывается с учетом объема, занимаемого ребрами, выпуклостями или прокладками.

Толщина перегородки для шахматной структуры щелевого слоя рассчитывается по зависимости [16]:

$$H_{(w)} = n \times d_{np} + h_c \times (n - 1) - 0,1316 \times d_{np} \times (n - 1),$$

где h_c – ширина щели между слоями проволоки.

При использовании свободной (например, ручной) навивки фильтрующего слоя упругой гладкой проволокой (например, стальной) размер щелей составляет 50–80 мкм. При применении мягкой проволоки размер щелей, особенно между витками проволоки $h_{щ}$, может возрастать до 150 мкм и более. Для получения более точного и равномерного размера щелей предлагается использовать прокладки между слоями и витками или проволоку с поперечным оребрением (рифлением), обеспечивающим необходимый размер щелей.

Эффективность захвата частиц η_s фильтрующей перегородкой предложено определять на

основании главных действующих механизмов осаждения при пылеулавливании. Проведенная оценка параметров осаждения в щелевом фильтре для пыли с размерами частиц от 1 до 100 мкм, плотностью от 1400 до 3000 кг/м³, при скорости фильтрования в пределах от 0,05 до 0,15 м/с показала, что основными механизмами осаждения являются инерционное, гравитационное, диффузионное осаждение и зацепление. Параметр осаждения от статического электричества не определялся. Наибольшее влияние на захват частиц оказывало инерционное осаждение, наименьшее – диффузионное осаждение. При указанных условиях осаждение протекает в переходном режиме обтекания проволоки, в котором $0,2 \leq Re \leq 150$ [10].

Однако при улавливании пыли на эффективность очистки влияют и другие факторы. К ним в первую очередь относятся инерционное и центробежное осаждение при вводе запыленного потока в пылеуловитель. Их влияние зависит от конструктивных особенностей ввода потока в аппарат и скорости фильтрования. На эффективность осаждения в небольшой степени влияют электростатика, коагуляция частиц пыли и др.

Для расчета эффективности захвата частиц с учетом этих факторов и основных механизмов осаждения предложено использовать зависимость:

$$\eta_s = A \times K_s,$$

где A – поправочный коэффициент, учитывающий влияние сопутствующих факторов на эффективность улавливания пыли в зависимости от гидродинамики очищаемого потока; K_s – коэффициент захвата частиц единичным витком проволоки под действием механизмов осаждения:

$$K_s = 1 - (1 - \eta_R)(1 - \eta_D)(1 - \eta_{Stk})(1 - \eta_G),$$

где η_R , η_D , η_{Stk} , η_G – эффективность захвата частиц соответственно механизмами зацепления, диффузионного, инерционного и гравитационного осаждения, которые рассчитываются по известным методикам [10, 11].

Эффективность механизма зацепления для переходного режима обтекания улавливающего тела рекомендуется определять по формуле:

$$\eta_R = R^2 \times Re_{\chi}^{0,0625},$$

где Re_{χ} – критерий Рейнольдса при обтекании проволоки; R – параметр зацепления, который устанавливается отношением размера частицы к диаметру улавливающего тела (проволоки):

$$R = \frac{\delta}{d_{np}}.$$

Критерий Рейнольдса при обтекании проволоки определяется зависимостью:

$$Re_y = \frac{W_o d_{np} \rho_g}{\mu_g},$$

где ρ_g – плотность газа; μ_g – динамическая вязкость газа.

Расчет эффективности диффузионного осаждения осуществляется по уравнению:

$$\eta_D = \frac{3,19}{Pe^{0,5}},$$

где Pe – диффузионный критерий Пекле:

$$Pe = \frac{W_o d_{np}}{\varepsilon_o D},$$

где D – коэффициент диффузии.

Коэффициент диффузии рассчитывается как функция размера частиц:

$$D = \frac{1,38 \times 10^{-23} C \times T}{3\pi\delta\mu},$$

где C – поправка Кенингема–Милликена, учитывающая повышение подвижности частиц; T – абсолютная температура газа (К); μ – вязкость газа.

Поправка C при размере частиц от 1 до 5 мкм составляет от 1,16 до 1,009, а при размере частиц 10 мкм и более она равна 1.

Эффективность захвата частиц за счет инерционного осаждения определяется на основе критерия Стокса Stk :

$$\eta_{Stk} = \frac{Stk^3}{Stk^3 + 1,54Stk^2 + 1,76}.$$

Известно [10], что в переходной области ($0,2 < Re < 150$) обтекания изолированного цилиндра критерий Стокса определяется критерием Рейнольдса и описывается уравнением:

$$(Stk/2)^{0,5} = 1,253Re_y^{-0,0685}.$$

По аналогии с этим уравнением применительно к щелевой фильтрующей перегородке получена зависимость:

$$Stk = 2,24Re_y^{-0,0342}.$$

Поправочный коэффициент A предлагается рассчитывать как функцию от критерия Stk из эмпирической зависимости:

$$A = Stk^{2,35}.$$

Влияние механизма гравитационного осаждения на эффективность захвата учитывается через соотношение скорости осаждения пылевых частиц под действием силы тяжести и скорости газового потока в каналах фильтрующей перегородки и описывается зависимостью:

$$\eta_G = \frac{Stk}{2Fr},$$

где Fr – критерий Фруда.

Здесь используется классический критерий Стокса, который выражается уравнением:

$$Stk = \frac{W_o \delta^2 \rho}{18\mu \varepsilon_o d_{np}},$$

а критерий Фруда:

$$Fr = \frac{W_o^2}{g\delta\varepsilon_o^2},$$

где g – ускорение свободного падения.

Показатель K_n в уравнении (1) определяется зависимостью:

$$K_n = 1 - \frac{k_y}{K_f^{0,17}},$$

где k_y – коэффициент уноса пыли, который предлагается рассчитывать по эмпирической зависимости от размера пыли δ , насыпной плотности ρ_{np} и сыпучести пыли:

$$k_y = \frac{0,0056}{\delta^{0,96} \times \rho_{np} \times tg\alpha_o},$$

где α_o – угол естественного откоса пыли, который рекомендуется принимать по данным, представленным в табл. 2.

Таблица 2. Значения тангенса угла естественного откоса

Table 2. Values of the tangent of the angle of repose

δ , мкм	10	20	30	40	50	55	> 55
α_o , град.	70	60	55	50	45	43	< 40
$tg\alpha_o$	2,74	1,73	1,43	1,19	1,0	0,93	0,84

Общую эффективность очистки щелевого фильтра можно рассчитывать по медианному размеру пыли δ_{50} или через фракционные эф-

эффективности. Расчет на основе фракционных эффективностей осуществляется по формуле:

$$\eta = \frac{1}{100} \sum (\eta_{фр} \cdot \Delta R),$$

где $\eta_{фр}$ – фракционная эффективность, %; ΔR – содержание фракции пыли в газе на входе в пылеуловитель, %.

Фракционные эффективности очистки и эффективность по медианному размеру рассчитываются по одинаковой методике. Эффективность очистки, определенная с учетом фракционного состава пыли, точнее характеризует возможности пылеуловителя. При проектировании щелевого пылеуловителя основные размеры фильтра и параметры его работы устанавливаются по заданной эффективности очистки исходя из медианного диаметра пыли, а затем эффективность его работы уточняется путем расчета с учетом фракционного состава пыли. При расхождении результатов проводится необходимая корректировка параметров его работы (скорости фильтрования, продолжительности межрегенерационного цикла, условий регенерации).

Изложенная методика расчета проверена на экспериментальном щелевом фильтре при очистке различной пыли. В табл. 3 представлены некоторые сравнительные результаты опытов и расчетов при очистке воздуха от угольной и цементной пыли, дающие также представление о

возможностях щелевого фильтра. Испытания на угольной пыли проводились при температуре 25–30 °С, а цемента – при температуре 50 °С.

Исследования показали, что с увеличением диаметра проволоки и числа ее слоев в перегородке эффективность очистки повышается, но и существенно возрастает гидравлическое сопротивление. Использование прокладок между слоями и витками проволоки или оребрения приводит к заметному снижению сопротивления, однако чрезмерное увеличение $h_{щ}$ заметно ухудшает эффективность очистки.

Рассмотренная методика расчета использована для разработки математической модели процесса фильтрования щелевой перегородкой. Модель позволяет учитывать влияние на эффективность очистки фракционного и дисперсного состава пыли, структурных характеристик перегородки, механизмов осаждения, вторичного уноса пыли и фактора стационарности процесса, выявлять параметры, которые обеспечивают стабильную высокоэффективную очистку газа от пыли [20]. На их основе создана программа для ЭВМ, позволяющая производить расчет и оптимизацию основных размеров щелевого фильтра, параметров фильтрования, гидравлического сопротивления и условий регенерации фильтра. Она дает возможность проектирования промышленных установок для очистки различных запыленных газов.

Таблица 3. Сравнение опытных и расчетных данных щелевого фильтра

Table 3. Comparison of experimental and calculated data of slotted filter

$d_{пр}$, мм	n , шт.	W_o , м/с	τ , с	δ_{50} , мкм	Эффективность очистки, %			$\Delta P_{ч}$, Па
					$\eta_{оп}$	$\eta_{\delta 50}$	$\eta_{фр}$	
Угольная пыль, $h_{щ} = 80$ мкм, $h_c = 150$ мкм, перегородка с прокладками между слоями								
0,8	3	0,039	110	21	83,18	85,38	88,58	73,5
	5	0,039	200	21	95,83	95,37	96,52	247,0
	5	0,085	150	21	89,96	90,17	92,38	546,1
	4	0,048	310	21	80,27	79,89	79,11	178,2
	5	0,048	300	55	99,03	98,59	98,45	304,9
1,2	5	0,050	120	21	99,62	99,40	99,51	790,3
	6	0,060	120	21	99,15	98,77	98,98	1466,0
	6	0,100	120	55	99,82	99,85	99,76	2485,6
Угольная пыль, $h_{щ} = h_c = 150$ мкм, перегородка с винтообразной оплеткой витков проволоки медной нитью толщиной 150 мкм								
0,8	4	0,113	210	21	93,78	92,02	91,70	268,4
	4	0,113	150	55	99,20	99,54	99,48	268,4
Угольная пыль, $h_{щ} = 80$ мкм, $h_c = 150$ мкм, перегородка без оплетки								
0,8	4	0,113	200	21	69,43	67,12	—	357,4
	4	0,113	150	55	92,16	91,32	—	357,4
Цементная пыль, $h_{щ} = h_c = 150$ мкм, перегородка с винтообразной оплеткой витков проволоки медной нитью толщиной 150 мкм								
1,0	6	0,1	240	15	99,74	99,93	99,91	785,8
Цементная пыль, $h_{щ} = 80$ мкм, $h_c = 150$ мкм, перегородка без оплетки витков								
1,0	6	0,1	300	15	99,62	99,70	99,61	1335,5

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Высокоэффективная очистка запыленных газов в щелевых фильтрах возможна при использовании стационарного режима фильтрования. Такой способ фильтрования реализуется при определенном соотношении времени пребывания запыленного газа в фильтрующем слое и продолжительности межрегенерационного цикла фильтрования для заданной эффективности очистки. При этом должны строго соблюдаться оптимальные значения скорости фильтрования и продолжительности межрегенерационного цикла для принятой структуры фильтрующей перегородки.

Щелевые фильтры при оптимальных параметрах работы способны обеспечивать эффективность очистки свыше 99% при улавливании пыли с медианным размером 20 мкм и выше, плотность пыли – 1400 кг/м³ и более. Щелевая фильтрующая перегородка надежнее, чем тканевая перегородка в рукавных фильтрах, для очистки горячих, абразивных и агрессивных газов. По сравнению с зернистыми фильтрами щелевые пылеуловители более технологичны,

проще и компактнее по конструкции, имеют удобную и эффективную систему регенерации. Они могут конкурировать с циклонными аппаратами, за счет более высокой эффективности очистки меньше подвержены абразивному износу.

Исследование очистки воздуха от угольной, цементной, песочной пыли и пылевидного поливинилхлорида позволило установить влияние различных факторов на эффективность процесса. Полученные зависимости явились основой при разработке программы расчета щелевых фильтров (свидетельство № 2015617631 от 20.10.2015). Она позволяет по заданной эффективности очистки и гидравлическому сопротивлению определять оптимальные параметры работы, конструктивные размеры и условия регенерации щелевых фильтров с учетом свойств пыли и газа при длительной непрерывной работе фильтра.

Разработанная методика расчета позволяет моделировать и проектировать щелевые фильтры с заданными показателями работы и обеспечивать высокую эффективность очистки и низкое гидравлическое сопротивление.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Tien C. Principles of filtration. NY: Elsevier Publ., 2012. 360 p. <https://doi.org/10.1016/C2011-0-05332-2>.
2. Пат. № 2378494, Российская Федерация, МПК E21B43/08. Щелевой фильтр с проволочным фильтрующим элементом / Э. Ф. Соловьев, С. Е. Варламов; заявители и патентообладатели Э. Ф. Соловьев, С. Е. Варламов. Заявл. 28.04.2008; опубл. 10.01.2010. Бюл. № 1.
3. Пат. № 2445146, Российская Федерация, МПК B01D29/48. Щелевой фильтр / А. В. Яшин; заявитель и патентообладатель А. В. Яшин. Заявл. 01.10.2010; опубл. 20.03.2012. Бюл. № 8.
4. Пат. № 2456054, Российская Федерация, МПК B01D29/44, B01D29/62, E21B43/08. Регенерируемый щелевой фильтр / Ю. В. Данченко, Е. А. Закревская, А. Л. Каплан, Е. В. Пошвин, Р. Ф. Фаритов; заявитель и патентообладатель ЗАО «Новомет-Пермь». Заявл. 01.02.2011; опубл. 20.07.2012. Бюл. № 20.
5. Федоров С. В., Федорова В. Д. Принцип работы автоматического самоочищающегося фильтра со щелевыми фильтрующими элементами // Научный Лидер. 2021. N 15. С. 141–144.
6. Sutrisna P. D., Holdich R. G., Kosvintsev S. R., Cumming I. W. Rotating cylinder microfiltration of oil-in-water emulsion using novel slotted pore filter // Journal of Applied Membrane Science & Technology. 2006. Vol. 3, no. 1. P. 15–28. <https://doi.org/10.11113/amst.v3i1.36>.
7. Пат. № 104863, Российская Федерация, МПК B01D46/00. Фильтр для очистки газа от пыли / Н. М. Самохвалов; заявитель и патентообладатель Иркутский государственный технический университет. Заявл. 16.12.2010; опубл. 27.05.2011. Бюл. № 15.
8. Пат. № 156669, Российская Федерация, МПК B01D46/40. Фильтр для очистки газа от пыли / Н. М. Самохвалов, В. В. Виноградов, Ю. А. Зыкова; заявитель и патентообладатель Иркутский национальный исследовательский технический университет. Заявл. 30.03.2015; опубл. 10.11.2015. Бюл. № 31.
9. Мазус М. Г., Мальгин А. Д., Моргулис М. Л. Фильтры для улавливания промышленных пылей. М.: Машиностроение, 1985. 240 с.
10. Ужов В. Н., Вальдберг А. Ю., Мягков Б. И., Решидов И. К. Очистка промышленных газов от пыли. М.: Химия, 1981. 392 с.
11. Matteson M. J., Orr C. Filtration: principles and practices. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1987. 756 p.
12. Самохвалов Н. М., Виноградов В. В. Стационарность процесса и эффективность очистки газов от пыли в щелевом фильтре // Теоретические основы химической технологии. 2014. Т. 48. N 6. С. 690–694.
13. Самохвалов Н. М., Виноградов В. В., Зыкова Ю. А. Гидродинамика и структура потока в щелевой фильтрующей перегородке // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8. N 2. С. 93–102. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-2-93-102>.
14. Самохвалов Н. М., Виноградов В. В., Зыкова Ю. А. Влияние регенерации и стационарности процесса на эффективность очистки и потери напора в щелевом фильтре // Химическая промышленность сегодня. 2020. N 1. С. 10–18.
15. Самохвалов Н. М., Виноградов В. В., Зы-

кова Ю. А. Эффективность очистки и гидравлическое сопротивление струйно-фильтрационного пылеуловителя // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 4. С. 759–767. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-759-767>.

16. Виноградов В. В., Зыкова Ю. А., Самохвалов Н. М. Влияние структуры щелевого фильтра на гидравлическое сопротивление // Известия РАН. Механика жидкости и газа. 2015. N 4. С. 3–10.

17. Зыкова Ю. А., Самохвалов Н. М., Виноградов В. В. Эффективность регенерации щелевого фильтра // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8. N 1. С. 99–105. <http://dx.doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-1-99-105>.

18. Виноградов В. В., Самохвалов Н. М. Расчет размеров и параметров работы щелевого фильтра // Теоретические основы химической технологии. 2016. Т. 50. N 4. С. 473–479.

19. Зыкова Ю. А., Самохвалов Н. М., Виноградов В. В. Регенерация щелевой фильтрующей перегородки // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7. N 1. С. 161–167. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-1-161-167>.

20. Виноградов В. В., Зыкова Ю. А., Самохвалов Н. М. Методика расчета щелевого фильтра // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. 2015. Т. 326. N 11. С. 67–74.

REFERENCES

1. Tien C. *Principles of filtration*. NY: Elsevier Publ.; 2012. 360 p. <https://doi.org/10.1016/C2011-0-05332-2>.
2. Solov'ev E. F., Varlamov S. E. *Slotted filter with wired filtrating element*. Patent RF, no. 2378494; 2010. (In Russian).
3. Jashin A. V. *Edge filter*. Patent RF, no. 2445146; 2012. (In Russian).
4. Danchenko J. V., Zakrevskaja E. A., Kaplan A. L., Poshvin E. V., Faritov R. F. *Recoverable aperture filter*. Patent RF, no. 2456054; 2012. (In Russian).
5. Fedorov S. V., Fedorova V. D. Working principle of an automatic self-cleaning slotted filter. *Nauchnyi Lider = Scientific Leader*. 2021;(15):141-144. (In Russian).
6. Sutrisna P. D., Holdich R. G., Kosvintsev S. R., Cumming I. W. Rotating cylinder microfiltration of oil-in-water emulsion using novel slotted pore filter. *Journal of Applied Membrane Science & Technology*. 2006;3(1):15-28. <https://doi.org/10.11113/amst.v3i1.36>.
7. Samokhvalov N. M. *Filter for cleaning gas from dust*. Patent RF, no. 104863; 2011. (In Russian).
8. Samokhvalov N. M., Vinogradov V. V., Zykova Yu. A. *Filter for cleaning gas from dust*. Patent RF, no. 156669; 2015. (In Russian).
9. Mazus M. G., Mal'gin A. D., Morgulis M. L. *Industrial dust filters*. Moscow: Mashinostroenie; 1985. 240 p. (In Russian).
10. Uzhov V. N., Val'dberg A. Yu., Myagkov B. I., Reshidov I. K. *Purification of industrial gases from dust*. Moscow: Khimiya; 1981. 392 p. (In Russian).
11. Matteson M. J., Orr C. *Filtration: principles and practices*. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1987. 756 p.
12. Samokhvalov N. M., Vinogradov V. V. Stationary and efficiency of gas cleaning from dust on slotted filter. *Teoreticheskie Osnovy Khimicheskoi Tekhnologii = Theoretical Foundations of Chemical Engineering*. 2014;48(6):690-694. (In Russian).
13. Samokhvalov N. M., Vinogradov V. V., Zykova Y. A. Hydrodynamics and structure of the flow in the shield filtration partition. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2018;8(2):93-102. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-2-93-102>.
14. Samokhvalov N. M., Vinogradov V. V., Zykova Y. A. Influence of regeneration and stationarity of itie process on the efficiency of cleaning and pressure loss in the slotted fitter. *Khimicheskaya Promyshlennost' Segodnya = Chemical Industry Today*. 2020;(1):10-18. (In Russian).
15. Samokhvalov N. M., Vinogradov V. V., Zykova Yu. A. Cleaning efficiency and hydraulic resistance of the jet filter dust collector. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2019;9(4):759-767. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-4-759-767>.
16. Vinogradov V. V., Zykova Y. A., Samokhvalov N. M. Effect of the slot filter structure on the hydraulic resistance. *Izvestiya Rossijskoj Akademii Nauk. Mekhanika Zhidkosti i Gaza = Fluid Dynamics*. 2015;(4):3-10. (In Russian).
17. Zykova Y. A., Samokhvalov N. M., Vinogradov V. V. Slotted filter regeneration efficiency. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2018;8(1):99-105. (In Russian). <http://dx.doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-1-99-105>.
18. Vinogradov V. V., Samokhvalov N. M. Calculating the size and operating parameters of a slotted filter. *Teoreticheskie Osnovy Khimicheskoi Tekhnologii = Theoretical Foundations of Chemical Engineering*. 2016;50(4):473-479. (In Russian).
19. Zykova Y. A., Samokhvalov N. M., Vinogradov V. V. Regeneration slotted filter septum. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2017;7(1):161-167. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-1-161-167>.
20. Vinogradov V. V., Zykova Y. A., Samokhvalov N. M. Calculation of a slotted filter. *Izvestiya Tomskogo Politehnicheskogo Universiteta. Inzhiniring Georesursov = Bulletin of the Tomsk Polytechnic University. Geo Assets Engineering*. 2015;326(11):67-74. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Н. М. Самохвалов,

к.т.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
snm4186@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9722-0824>

В. В. Виноградов,

к.т.н., электроник,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
vvv158@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5174-7978>

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 11.01.2022.
Одобрена после рецензирования 28.02.2022.
Принята к публикации 30.05.2022.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nikolay M. Samokhvalov,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
snm4186@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9722-0824>

Vladimir V. Vinogradov,

Cand. Sci. (Engineering), Electronics Engineer,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
vvv158@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5174-7978>

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 11.01.2022.
Approved after reviewing 28.02.2022.
Accepted for publication 30.05.2022.*

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 2 (41) 2022

12+

PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
Applied chemistry and biotechnology
Volume 12 No. 2 2022

Редактор Л.М. Щепина
Перевод на английский язык: Anastasia Stocis, Е.А. Привалова,
редактор Thomas A. Beavitt

Компьютерный набор и верстка А.В. Куртовой
Ответственный за выпуск Ю.Н. Пожидаев

Дата выхода в свет 30.06.2022. Формат 60 x 90 / 8.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. л. 23.
Тираж 500 экз. Зак. 101. 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