

ISSN 1816-9775 (Print)  
ISSN 2541-8971 (Online)

# ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Новая серия

Серия: Химия. Биология. Экология

2023

Том 23

Выпуск 1



IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY  
CHEMISTRY. BIOLOGY. ECOLOGY

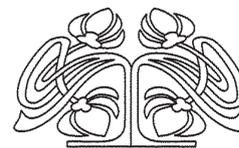


Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского»

# ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Новая серия

Серия Химия. Биология. Экология, выпуск 1



Научный журнал  
2023 Том 23

ISSN 1816-9775 (Print)

ISSN 2541-8971 (Online)

Издается с 2005 года

Продолжение «Известий Императорского Николаевского Университета» 1910–1918, «Ученых записок СГУ» 1923–1962,  
«Известий Саратовского университета. Новая серия» 2001–2004

## СОДЕРЖАНИЕ

### Научный отдел

#### Химия

**Скопцова А. А., Новичихина Н. П., Шестаков А. С., Шихалиев Х. С.**  
Получение новых замещённых имидазолоновых производных  
на основе 1-(2-оксо-2-фенилэтилиден)пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онов 4

**Мирошникова А. В., Тихомолова А. С., Василькова Н. О.,  
Егорова А. Ю.** 4-Этоксиметил-2-фенил-5(4*H*)-оксазолон  
в реакциях с различными гетероциклическими аминами 11

**Обшицер А. С., Байбурдов Т. А., Шмаков С. Л.**  
Свободно-радикальная привитая сополимеризация акриламида,  
2-акриламидо-2-метилпропансульфоната натрия и хитозана 18

**Сумина Е. Г., Кутина А. А., Углова В. З.** Тонкослойная  
хроматография некоторых статинов в водно-органических  
подвижных фазах, модифицированных буферными растворами 28

**Кулапина Е. Г., Гаспарян М. Н., Кулапина О. И., Анкина В. Д.**  
Электроаналитические свойства немодифицированных  
и модифицированных полианилином планарных сенсоров,  
чувствительных к доксициклину 39

**Маркова Е. О., Корякина Ю. П., Титова М. А., Баранова-Федорова Д. В.**  
Определение антропогенного загрязнения по физико-химическим  
характеристикам талого снега 51

**Сальменбаев С. Е., Миратова А. М., Кенжебаев Р. А.**  
Способ кислотного извлечения радионуклидов из увеличенных навесок  
почвы с использованием автоклавного разложения 62

**Борисков Д. Е., Ефремова С. Ю., Комарова Н. А.** Изучение адсорбции  
ионов кадмия из растворов на природном и модифицированных диатомитах 70

#### Биология

**Дьякова Н. А.** Изучение закономерностей накопления наиболее  
опасных экотоксикантов в дикорастущем лекарственном  
растительном сырье различных экотопов Воронежской области 77

**Симоненко А. В., Савельев Г. К., Эль-Хих Айя Нидаль, Ханадеев В. А.,  
Тучина Е. С.** Золотые нанозвезды как фотоагент при антимикробном  
воздействии инфракрасного (808 нм) лазерного излучения 86

**Саранцева Е. И., Искра Т. Д., Семячкина-Глушковская О. В.**  
Молекулярные механизмы звукового открытия гематоэнцефалического  
барьера у грызунов 94

**Галицкая А. А., Акопян А. А., Дыкман Л. А., Богатырев В. А.**  
Цветометрическая система мониторинга роста микроводоросли  
*Dunaliella salina* в лабораторных условиях 104

#### Экология

**Shilova I. V., Kashin A. S., Parkhomenko A. S., Bogoslov A. V.,  
Kritskaya T. A., Kasatkin M. Yu.** The ecological and coenotic features  
of plant communities containing *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor*  
(Colchicaceae) in the Lower Volga region

**[Шилова И. В., Кашин А. С., Пархоменко А. С., Богослов А. В.,  
Крицкая Т. А., Касаткин М. Ю.]** Эколого-ценотическая характеристика  
растительных сообществ с участием *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor*  
(Colchicaceae) в Нижнем Поволжье 110

Журнал «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия «Химия. Биология. Экология» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций.

Запись о регистрации СМИ ПИ № ФС77-76649 от 26 августа 2019 г.

Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (категория К2, специальности: 1.4.2; 1.4.3; 1.4.4; 1.5.2; 1.5.9; 1.5.12; 1.5.14; 1.5.15).

Журнал входит в Международную базу данных DOAJ

Подписной индекс издания 36013. Подписку на печатные издания можно оформить в интернет-каталоге ГК «Урал-Пресс» ([ural-press.ru](http://ural-press.ru)). Журнал выходит 4 раза в год. Цена свободная. Электронная версия находится в открытом доступе ([ichbe.sgu.ru](http://ichbe.sgu.ru))

**Директор издательства**  
Бучко Ирина Юрьевна

**Редактор**  
Митенева Елена Анатольевна

**Художник**  
Соколов Дмитрий Валерьевич

**Редактор-стилист**  
Агафонов Андрей Петрович

**Верстка**  
Ковалева Наталья Владимировна

**Технический редактор**  
Каргин Игорь Анатольевич

**Корректор**  
Малютина Елена Анатольевна

**Адрес учредителя, издателя и издательства (редакции):**  
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83  
Тел.: +7(845-2)51-29-94, 51-45-49, 52-26-89  
E-mail: [publ@sgu.ru](mailto:publ@sgu.ru), [izdat@sgu.ru](mailto:izdat@sgu.ru)

Подписано в печать 21.03.23.  
Подписано в свет 31.03.23.  
Формат 60 × 84 1/8.  
Усл. печ. л. 14,42 (15,5).  
Тираж 100 экз. Заказ 11-Т

Отпечатано в типографии  
Саратовского университета.  
**Адрес типографии:**  
410012, Саратов, Б. Казачья, 112А

© Саратовский университет, 2023



## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал публикует научные статьи по аналитической химии, органической химии, физической химии, биофизике (биологические науки), ботанике, зоологии, экологии, (по отраслям) (биологические науки), энтомологии.

Объем публикуемой статьи не должен превышать 16 страниц в формате MS Word для Windows.

Статья должна быть оформлена строго в соответствии с требованиями журнала и тщательно отредактирована.

Для публикации статьи автору необходимо представить в редакцию следующие материалы и документы:

- текст статьи в электронном виде;
- два экземпляра подписанного Лицензионного договора на право использования научного произведения.

Структура подачи материала:

- на русском языке: индекс УДК, название статьи, имена, отчества и фамилии авторов, сведения об авторах (ученая степень, должность, место работы/учебы (структурное подразделение, организация, почтовый адрес), город, страна, e-mail), аннотация, ключевые слова, текст статьи, благодарности и источники финансирования работы (если есть), список литературы;

- на английском языке: название статьи, имена (полностью), отчества и фамилии авторов, сведения об авторах (ORCID, место работы/учебы (организация, почтовый адрес организации), e-mail); аннотация, ключевые слова, благодарности и источники финансирования работы (если есть).

Требования к аннотации и библиографическому списку:

- аннотация не должна содержать сложных формул, ссылок на список литературы, по содержанию повторять название статьи, быть насыщена общими словами, не излагающими сути исследования; оптимальный объем 150–200 слов;

- в списке литературы должны быть указаны только процитированные в статье работы; ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

Образцы оформления различных источников приведены в правилах для авторов по адресу: <https://www.ichbe.sgu.ru/ru/ru/dlya-avtorov>.

Датой поступления статьи считается дата поступления ее окончательного варианта. Возвращенная на доработку статья должна быть прислана в редакцию не позднее чем через 3 месяца. Возвращение статьи на доработку не означает, что статья будет опубликована, после переработки она вновь будет рецензироваться. Материалы, отклоненные редколлегией, не возвращаются.

Адреса для переписки с редколлегией серии: [ichbe-sgu@yandex.ru](mailto:ichbe-sgu@yandex.ru); 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83, биологический факультет, ответственному секретарю журнала «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология». Website: <https://ichbe.sgu.ru>

## CONTENTS

### Scientific Part

#### Chemistry

- Skoptsova A. A., Novichikhina N. P., Shestakov A. S., Shikhaliev Kh. S.** Preparation of new substituted imidazolone derivatives based on 1-(2-oxo-2-phenylethylidene)pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-ones 4
- Miroshnikova A. V., Tikhomolova A. S., Vasilkova N. O., Egorova A. Yu.** 4-Ethoxymethylene-2-phenyl-5(4*H*)-oxazolone in reactions with various heterocyclic amines 11
- Obshitser A. S., Bayburdov T. A., Shmakov S. L.** Free-radical graft copolymerization acrylamide, 2-sodium 2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic onto chitosan 18
- Sumina E. G., Kutina A. A., Uglanova V. Z.** Thin layer chromatography of some statins in aqueous organic mobile phases modified with buffer solutions 28
- Kulapina E. G., Gasparyan M. N., Kulapina O. I., Ankina V. D.** Electroanalytic properties of unmodified and polyaniline-modified planar sensors sensitive to doxycycline 39
- Markova E. O., Koryakina Yu. P., Titova M. A., Baranova-Fedorova D. A.** Determination of atmospheric air pollution by physical and chemical characteristics of snowmelt 51
- Salmenbayev S. E., Miratova A. M., Kenzhebaev R. A.** Acid extraction of radionuclides from soil samples using autoclave decomposition 62
- Boriskov D. E., Efremova S. Yu., Komarova N. A.** Study of adsorption of cadmium ions from solutions on natural and modified diatomites 70

#### Biology

- Dyakova N. A.** Study of patterns of accumulation of the most dangerous ecotoxicants in wild medicinal plant raw materials of various ecotopes of the Voronezh region 77
- Simonenko A. V., Savelyev G. K., El-Khih Ayya Nidal, Khanadeev V. A., Tuchina E. S.** Gold nanostars as a photoagent under the antimicrobial action of infrared (808 nm) laser radiation 86
- Sarantseva E. I., Iskra T. D., Semyachkina-Glushkovskaya O. V.** Molecular mechanisms of the opening of the blood-brain barrier in rodents by means of sound 94
- Galitskaya A. A., Akopian A. A., Dykman L. A., Bogatyrev V. A.** Colormetric system for monitoring the growth of microalgae *Dunaliella salina* under laboratory conditions 104

#### Ecology

- Shilova I. V., Kashin A. S., Parkhomenko A. S., Bogoslov A. V., Kritskaya T. A., Kasatkin M. Yu.** The ecological and coenotic features of plant communities containing *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae) in the Lower Volga region 110



**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА  
«ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА. НОВАЯ СЕРИЯ. СЕРИЯ:  
ХИМИЯ. БИОЛОГИЯ. ЭКОЛОГИЯ»**

**Главный редактор**

Горячева Ирина Юрьевна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

**Заместитель главного редактора**

Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

**Ответственный секретарь**

Глинская Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент (Саратов, Россия)

**Члены редакционной коллегии:**

Аникин Василий Викторович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Берберова Надежда Титовна, доктор химических наук, профессор (Астрахань, Россия)

Богатырев Владимир Александрович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Гаркушин Иван Кириллович, доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, действительный член РАЕН (Самара, Россия)

Горбунов Олег Григорьевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Москва, Россия)

Дубатов Владимир Викторович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник

(Новосибирск, Россия)

Дыкман Лев Абрамович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Саратов, Россия)

Егорова Алевтина Юрьевна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия),

Ерошенко Галина Александровна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник (Саратов, Россия)

Захаров Владимир Михайлович, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН (Москва, Россия)

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Кулагин Алексей Юрьевич, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки Республики Башкортостан, академик РАЕН (Уфа, Россия)

Кулиш Елена Ивановна, доктор химических наук, доцент (Уфа, Россия)

Ларионова Дарья Анатольевна, кандидат химических наук (Гент, Бельгия)

Максимов Георгий Владимирович, доктор биологических наук, профессор (Москва, Россия)

Мисра Прадумна Кумар, PhD (Бхопал, Индия)

Монахова Юлия Борисовна, доктор химических наук (Аахен, Германия)

Мостовский Михаил Борисович, доктор биологических наук (Тель-Авив, Израиль; Питермаритцбург, ЮАР)

Опарин Михаил Львович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Позднякова Наталия Николаевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Саратов, Россия)

Ревин Виктор Васильевич, доктор биологических наук, профессор (Саранск, Россия)

Шиповская Анна Борисовна, доктор химических наук, доцент (Саратов, Россия)

Шихалиев Хидмет Сафарович, доктор химических наук, профессор (Воронеж, Россия)

Шляхтин Геннадий Викторович, доктор биологических наук, профессор, академик Международной

академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности, академик РАЕН, член-корреспондент РАЕ (Саратов, Россия)

Штыков Сергей Николаевич, доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, действительный член РАЕН (Саратов, Россия)

Щеголев Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия),

Юдакова Ольга Ивановна, доктор биологических наук, доцент (Саратов, Россия)

**EDITORIAL BOARD OF THE JOURNAL  
"IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY.  
CHEMISTRY. BIOLOGY. ECOLOGY"**

**Editor-in-Chief** – Irina Yu. Goryacheva (Saratov, Russia)

**Deputy Editor-in-Chief** – Svetlana A. Konnova (Saratov, Russia)

**Executive Secretary** – Elena V. Glinskaya (Saratov, Russia)

**Members of the Editorial Board:**

Vasilii V. Anikin (Saratov, Russia)

Nadezhda T. Berberova (Astrakhan, Russia)

Vladimir A. Bogatyrev (Saratov, Russia)

Ivan K. Garkushin (Samara, Russia)

Oleg G. Gorbunov (Moscow, Russia)

Vladimir V. Dubatolov (Novosibirsk, Russia)

Lev A. Dykman (Saratov, Russia)

Alevtina Yu. Egorova (Saratov, Russia)

Galina A. Eroshenko (Saratov, Russia)

Vladimir M. Zacharov (Moscow, Russia)

Alexandr S. Kashin (Saratov, Russia)

Alexey Yu. Kulagin (Ufa, Russia)

Elena I. Kulish (Ufa, Russia)

Dariya A. Lariionova (Ghent, Belgium)

Georgy V. Maksimov (Moscow, Russia)

Pradyumna Kumar Mishra (Bhopal, India)

Yuliya B. Monakhova (Aachen, Germany)

Mikhail B. Mostovski (Tel Aviv, Israel;

Pietermaritzburg, South African Republic)

Michail L. Oparin (Saratov, Russia)

Natalia N. Pozdnyakova (Saratov, Russia)

Viktor V. Revin (Saransk, Russia)

Anna B. Shipovskaya (Saratov, Russia)

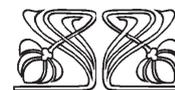
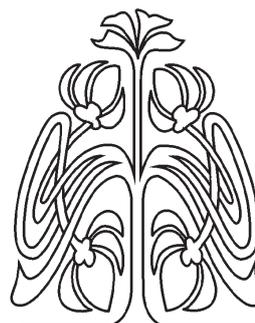
Khidmet S. Shikhaliev (Voronezh, Russia)

Gennady V. Shlyakhtin (Saratov, Russia)

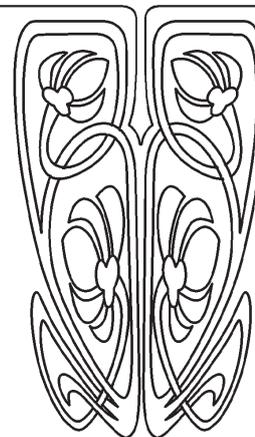
Sergey N. Shtykov (Saratov, Russia)

Sergey Ju. Shchyogolev (Saratov, Russia)

Olga I. Yudakova (Saratov, Russia)

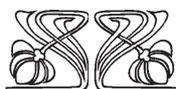
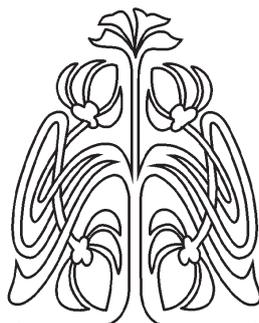


**РЕДАКЦИОННАЯ  
КОЛЛЕГИЯ**

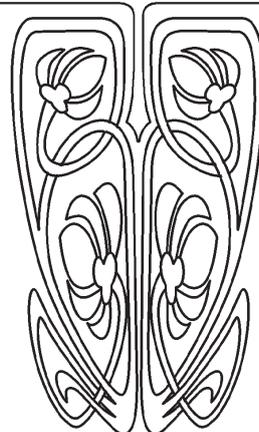




## ХИМИЯ



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 4–10  
*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 4–10  
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-4-10>  
EDN: YNWZGP

Научная статья  
УДК 547.831.3+547.832.7

### Получение новых замещённых имидазолоновых производных на основе 1-(2-оксо-2-фенилэтилиден) пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онов

А. А. Скопцова , Н. П. Новичихина, А. С. Шестаков, Х. С. Шихалиев

Воронежский государственный университет, Россия, 394018, г. Воронеж, Университетская пл., д. 1

Скопцова Анна Александровна, аспирант кафедры органической химии, [annk0611@mail.ru](mailto:annk0611@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9859-6476>

Новичихина Надежда Павловна, кандидат химических наук, научный сотрудник, преподаватель кафедры органической химии, [podaneva\\_nadya@mail.ru](mailto:podaneva_nadya@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8167-6093>

Шестаков Александр Станиславович, доктор химических наук, доцент, заведующий кафедрой высокомолекулярных соединений и коллоидной химии, [shestakov@chem.vsu.ru](mailto:shestakov@chem.vsu.ru), <https://orcid.org/0000-0002-0426-4789>

Шихалиев Хидмет Сафарович, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии, [shikh1961@yandex.ru](mailto:shikh1961@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-6576-0305>

**Аннотация.** Продемонстрирована возможность получения новых биологически активных молекул, содержащих в своей структуре привилегированный фрагмент имидазолонна, посредством катализируемого кислотой Бренстеда взаимодействия 1,3-диметилмочевины с 1-(2-оксо-2-фенилэтилиден)пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онами. Наличие активной оксоилиденовой системы в последних позволяет вводить данные соединения в реакции циклизации с различными бинуклеофильными агентами. Выбор такого *N,N*-бинуклеофила, как 1,3-диметилмочевина, позволил получить серию новых 1-(оксоимидазолил)пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онов в катализируемом пара-толуолсульфоновой кислотой процессе, проводимом при кипячении в ацетонитриле и десятикратном избытке 1,3-диметилмочевины. На основе данных ЯМР  $^1\text{H}$  спектроскопии было установлено, что 1-(оксоимидазолил)пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-оны в растворе претерпевают кето-енольную таутомерию, о чем свидетельствуют дублирование сигналов характеристических протонов и наличие сигнала протона гидроксильной группы в области 4.95 м.д. в ЯМР  $^1\text{H}$  спектрах полученных соединений. Исходя из экспериментальных данных, нами был представлен возможный механизм реакции. Предполагается, что реакция протекает через последовательное межмолекулярное присоединение 1,3-диметилмочевины к 1-фенацилиденпирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онам, внутримолекулярную циклизацию с последующим отщеплением молекулы воды.

**Ключевые слова:** пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-он, имидазол-2-он, 1,3-диметилмочевина, 1-фенацилиденпирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-он, 1-(2-оксо-2-фенилэтилиден)пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-он, кето-енольная таутомерия



**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023–2025 годы, проект № FZGU-2023-0009.

**Для цитирования:** Скопцова А. А., Новичихина Н. П., Шестаков А. С., Шихалиев Х. С. Получение новых замещённых имидазолоновых производных на основе 1-(2-оксо-2-фенилэтилиден)пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 4–10. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-4-10>, EDN: YNWZGP  
Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

## Preparation of new substituted imidazolone derivatives based on 1-(2-oxo-2-phenylethylidene)pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-ones

A. A. Skoptsova , N. P. Novichikhina, A. S. Shestakov, Kh. S. Shikhaliev

Voronezh State University, 1 Universitetskaya Sq., Voronezh 394018, Russia

Anna A. Skoptsova, [annk0611@mail.ru](mailto:annk0611@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9859-6476>

Nadezhda P. Novichikhina, [podaneva\\_nadya@mail.ru](mailto:podaneva_nadya@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8167-6093>

Alexander S. Shestakov, [shestakov@chem.vsu.ru](mailto:shestakov@chem.vsu.ru), <https://orcid.org/0000-0002-0426-4789>

Khidmet S. Shikhaliev, [shikh1961@yandex.ru](mailto:shikh1961@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-6576-0305>

**Abstract.** This work demonstrates the possibility of obtaining new biologically active molecules containing a privileged imidazolone fragment by the Brønsted acid-catalyzed reaction of 1,3-dimethylurea with 1-(2-oxo-2-phenylethylidene)pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-ones. The presence of an active oxoylidene system in ones makes it possible to introduce these compounds into cyclization reactions with various binucleophilic agents. The choice of such an *N,N*-binucleophile as 1,3-dimethylurea allowed us to obtain a number of new 1-(oxoimidazolyl)pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-ones in a process carried out at reflux in acetonitrile and a tenfold excess of 1,3-dimethylurea via *p*-toluenesulfonic acid catalysis. It has been found that 1-(oxoimidazolyl)pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-ones in solution undergo keto-enol tautomerism. This is evidenced by the duplication of characteristic proton signals and the presence of the hydroxyl group proton signal in the region of 4.95 ppm in the <sup>1</sup>H NMR spectrum of the obtained compounds. Also, based on the experimental data, we have presented a possible reaction mechanism. It is assumed that the reaction proceeds through consistent intermolecular addition of 1,3-dimethylurea to 1-phenacylidene-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-ones with intramolecular cyclization, followed by elimination of a water molecule.

**Keywords:** pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-one, imidazol-2-one, 1,3-dimethylurea, 1-phenacylidene-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-one, 1-(2-oxo-2-phenylethylidene)pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-one, keto-enol tautomerism

**Acknowledgements:** The study received financial support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of State Contract with universities regarding scientific research in 2023–2025, project No. FZGU-2023-0009.

**For citation:** Skoptsova A. A., Novichikhina N. P., Shestakov A. S., Shikhaliev Kh. S. Preparation of new substituted imidazolone derivatives based on 1-(2-oxo-2-phenylethylidene)pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-ones. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 4–10 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-4-10>, EDN: YNWZGP

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

### Введение

Среди азотсодержащих гетероциклических структур особое место отводится гидрированным производным хинолина, которые давно известны благодаря широкому спектру проявляемой ими биологической активности. В частности, в последние годы в этом плане активно исследуются функционализированные производные пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-она, среди которых уже найдены соединения, проявляющие антикоагулянтную [1–3], противораковую [4, 5], антимикотическую и антибактериальную [6] активности. Одни из производных гидрированных хинолинов – 1-(2-оксоэтилиден)пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-оны представляют собой гетерофункциональные молекулы, что делает их удобными промежуточными продуктами для осуществления дальнейшей

функционализации с целью получения новых структур, потенциально обладающих фармакологическими свойствами. В нашей предыдущей работе была проведена оценка антикоагулянтной активности 1-(2-оксо-2-(гет)арилэтилиден)пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онов и соединений, полученных на их основе [3], которая показала перспективность данного класса соединений для молекулярного дизайна на их основе новых потенциальных хитов с противотромбозным свойством.

Благодаря наличию в 1-(2-оксо-2-фенилэтилиден)пирроло[3,2,1-*ij*]хинолинонах высоко реакционно-способного оксоилиденового фрагмента, который может реагировать с различными *N,N*-бинуклеофилами, становится возможной их целенаправленная модификация с введением известных фармакофорных групп, к которым



относится и имидазол-2-он. Имидазол-2-оновая матрица содержится в структурах известных лекарственных средств, оказывающих противомикробное (фурадонин, фуразидин), гипотензивное (триметафан камзилат), миорелаксантное (дантролен) действие, а также в молекуле витамина В<sub>7</sub> [7].

Предполагается, что объединение в одной структуре фрагментов пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-она и имидазол-2-она позволит получить серию новых гетероциклических производных, обладающих высоким потенциалом в качестве биологически активных веществ. В связи с этим настоящая работа была направлена на разработку метода синтеза новых гибридных молекул посредством изучения взаимодействия 1-фенацилиденпирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онов с таким N,N-бинуклеофилом, как 1,3-диметилмочевина.

### Материалы и методы

Контроль индивидуальности полученных соединений, качественный анализ реакционных смесей в процессе реакций осуществлялся методом ТСХ на пластинах Merck TLC Silicagel 60 F254, элюент – хлороформ–этилацетат (9:1). Проявление хроматограмм – в УФ-свете. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H сняты на приборе Bruker DRX-500 на частотах 500,13 МГц при 20°C в ДМСО-d<sub>6</sub> с внутренним стандартом Me<sub>4</sub>Si. Температуры плавления определяли на приборе Stuart SMP 30. Хроматографический анализ полученных соединений осуществлен на хроматографе Agilent 1260 Infinity с масс-детектированием (времяпролетный детектор Agilent 6230 TOF LC/MS, ионизация электрораспылением).

Общая методика синтеза 1-(1,3-диметил-2-оксо-5-фенил-2,3-дигидро-1H-имидазол-4-ил)-8-R-4,4,6-триметил-4H-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1H)-онов (2a–d). К 1,5 ммоль 1-(2-оксо-2-фенилэтилиден)-4H-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-она **1** добавляли 15–20 ммоль 1,3-диметилмочевины и 0,5 ммоль пара-толуолсульфоновой кислоты. Растворяли полученную смесь в 20 мл ацетонитрила и кипятили реакционную массу с обратным холодильником 7–9 ч до обесцвечивания раствора и полного израсходования реагента **1** (контроль методом ТСХ). По завершении реакции растворитель полностью отгоняли при пониженном давлении, остаток суспендировали в воде, чтобы удалить избыток непрореагировавшей 1,3-диметилмочевины. Образованный осадок очищали пере-

кристаллизацией из смеси гексан/этилацетат (4:1), получая белый порошкообразный осадок.

*1-(1,3-диметил-2-оксо-5-фенил-2,3-дигидро-1H-имидазол-4-ил)-4,4,6-триметил-4H-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1H)-он (2a)*

Выход 0,34 г (57 %), Т. пл. 162–164°C. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д.: 1.58 (3H, с, 4-CH<sub>3</sub>); 1.61 (3H, с, 4-CH<sub>3</sub>); 1.98 (3H, с, 6-CH<sub>3</sub>); 2.61 (3H, с, N-CH<sub>3</sub>); 3.10 (3H, с, N-CH<sub>3</sub>); 4.60 (1H, с, C(1)H); 5.42 (1H, с, C=CHхин); 6.52 (1H, д, J 7.1 Гц, Наром); 6.59 (1H, т, J 7.3 Гц, Наром); 6.75 (1H, д, J 7.3 Гц, Наром); 7.50–7.57 (5H, м, Наром).

*1-(1,3-диметил-2-оксо-5-фенил-2,3-дигидро-1H-имидазол-4-ил)-4,4,6,8-тетраметил-4H-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1H)-он (2b)*

Выход 0,37 г (60 %), Т. пл. 189–191°C. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д.: 1.59 (3H, с, 4-CH<sub>3</sub>); 1.62 (3H, с, 4-CH<sub>3</sub>); 1.98 (3H, с, 6-CH<sub>3</sub>); 2.26 (3H, с, 8-CH<sub>3</sub>); 2.60 (3H, с, N-CH<sub>3</sub>); 3.10 (3H, с, N-CH<sub>3</sub>); 4.60 (1H, с, C(1)H); 5.40 (1H, с, C=CHхин); 6.88 (1H, с, Наром); 6.96 (1H, с, Наром); 7.51–7.55 (5H, м, Наром).

*1-(1,3-диметил-2-оксо-5-фенил-2,3-дигидро-1H-имидазол-4-ил)-4,4,6-триметил-8-метокси-4H-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1H)-он (2c)*

Выход 0,41 г (64%), Т. пл. 181–183°C. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д.: 1.59 (3H, с, 4-CH<sub>3</sub>); 1.62 (3H, с, 4-CH<sub>3</sub>); 1.99 (3H, с, 6-CH<sub>3</sub>); 2.61 (3H, с, N-CH<sub>3</sub>); 3.10 (3H, с, N-CH<sub>3</sub>); 3.72 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 4.60 (1H, с, C(1)H); 5.45 (1H, с, C=CHхин); 6.67 (1H, с, Наром); 6.71 (1H, с, Наром); 7.50–7.58 (5H, м, Наром).

*1-(1,3-диметил-2-оксо-5-фенил-2,3-дигидро-1H-имидазол-4-ил)-4,4,6-триметил-8-этоксипирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1H)-он (2d)*

Выход 0,41 г (62 %), Т. пл. 187–189°C. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д.: 1.27 (3H, т, J 6.6 Гц, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.58 (3H, с, 4-CH<sub>3</sub>); 1.62 (3H, с, 4-CH<sub>3</sub>); 1.98 (3H, с, 6-CH<sub>3</sub>); 2.61 (3H, с, N-CH<sub>3</sub>); 3.09 (3H, с, N-CH<sub>3</sub>); 3.96–4.00 (2H, м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4.59 (1H, с, C(1)H); 5.44 (1H, с, C=CHхин); 6.65 (1H, с, Наром); 6.70 (1H, с, Наром); 7.49–7.58 (5H, м, Наром).

### Результаты и их обсуждение

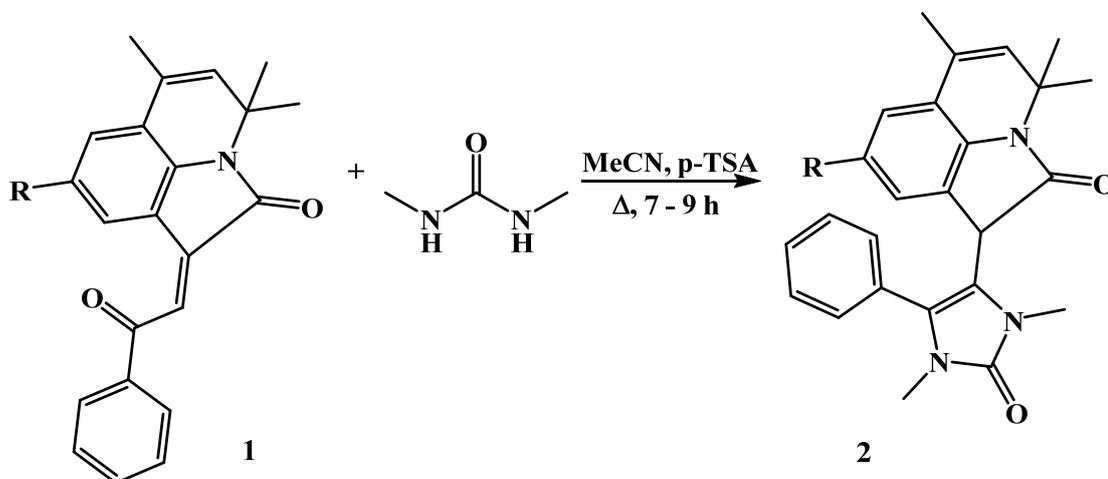
Ранее нами был разработан и описан удобный метод получения 1-(2-оксо-2-(гет)арилэтилиден)пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онов. На основе данных ВЭЖХ МС анализа, спектров ЯМР <sup>1</sup>H и двумерного спектра <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H NOESY было установлено, что полученные соединения представляют собой исключительно *E*-изомеры [3].

В продолжение исследований в данной области и с целью расширения библиотеки потен-



циально биологически активных производных пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-она нами был предложен способ получения новых 1-(1,3-диметил-

2-оксо-5-фенил-2,3-дигидро-1*H*-имидазол-4-ил)-8-*R*-4,4,6-триметил-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-онов (рис. 1).



**R= H (a); CH<sub>3</sub> (b); CH<sub>3</sub>O (c); CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O (d);**

Рис. 1. Получение 1-(1,3-диметил-2-оксо-5-фенил-2,3-дигидро-1*H*-имидазол-4-ил)-8-*R*-4,4,6-триметил-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-онов 2

Fig. 1. Synthesis of 1-(1,3-dimethyl-2-oxo-5-phenyl-2,3-dihydro-1*H*-imidazol-4-yl)-8-*R*-4,4,6-trimethyl-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-2(1*H*)-ones 2

Возможность синтеза схожих структур на примере илиденовых производных оксиндола описана в работе [8]. Авторами сообщается, что оптимальными условиями для реакции 3-(2-оксо-2-фенилэтилиден)индолин-2-она с 1,3-диметилмочевинной является кипячение реагентов в среде ацетонитрила в мольном соотношении 1:1,2 в присутствии *p*-толуолсульфокислоты (30 мол. %) на протяжении 2–3 ч.

Попытка распространить предложенные условия на пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-оновые системы показала, что полная конверсия реагентов не достигается даже при их длительном кипячении до 40–50 ч в соотношении близком к эквимолярному. Однако нами было установлено, что полное исчерпание илидена **1** с образованием имидазолпирроло[3,2,1-*ij*]хинолинона **2** происходит всего в течение 7–9 ч при добавлении десятикратного избытка 1,3-диметилмочевины.

Установлено, что взаимодействие 1-фенацилиденпирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онов **1** с 1,3-диметилмочевинной, взятых в соотношении 1:10, проводимое при кипячении в ацетонитриле с добавлением *p*-толуолсульфокислоты в качестве кислотного катализатора приводит к

формированию целевых 1-(1,3-диметил-2-оксо-5-фенил-2,3-дигидро-1*H*-имидазол-4-ил)-4,4,6-триметил-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-онов **2**, в структуре которых объединяются два вышеописанных фармакофорных фрагмента: пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-он и имидазол-2-он (см. рис. 1). Вне зависимости от выбранного исходного илидена **1**, реакция протекала гладко и способствовала образованию продуктов реакции **2** с умеренными выходами 57–64%.

Строение полученных имидазолпирролохинолинонов **2** было подтверждено с помощью ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии. Было установлено, что полученные соединения **2** в условиях снятия спектра подвергаются keto-енольной таутомерии (рис. 2), на что указывает наличие сигнала протона, соответствующего гидроксильной группе, при 4.96 м.д. Соотношение таутомерных форм было установлено по интегральной интенсивности сигналов протонов в ЯМР <sup>1</sup>H спектрах и составляло 5:1 с преобладанием keto-формы.

В разделе «Материалы и методы» описаны сигналы протонов продуктов **2**, соответствующих keto-форме. Так, спектры имидазолонов **2** содержат характеристические сигналы

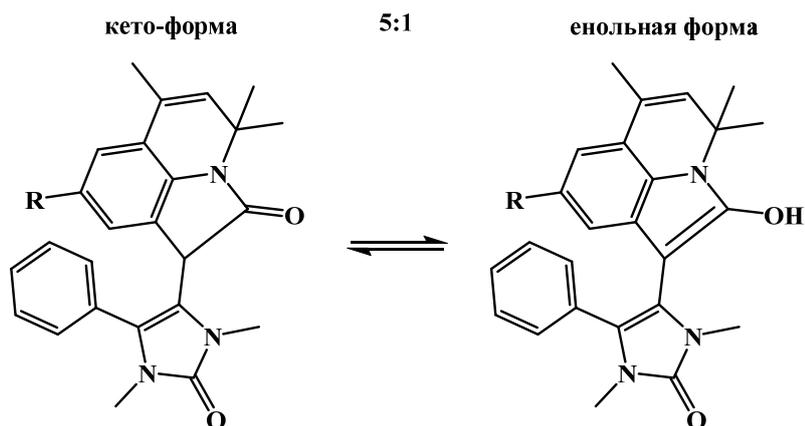


Рис. 2. Проявление кето-енольной таутомерии у 1-(1,3-диметил-2-оксо-5-фенил-2,3-дигидро-1*H*-имидазол-4-ил)-8-*R*-4,4,6-триметил-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-онов 2

Fig. 2. Keto-enol tautomerism 1-(1,3-dimethyl-2-oxo-5-phenyl-2,3-dihydro-1*H*-imidazol-4-yl)-8-*R*-4,4,6-trimethyl-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-2(1*H*)-ones 2

протонов геминальных метильных групп при C(4), которые расходятся отдельными сигналами в виде синглетов при 1.58 и 1.62 м.д., синглет протонов метильного заместителя при C(6) в области 1.98 м.д., а также сигналы протонов двух аминометильных групп при 2.60 и 3.10 м.д. Наличие сигнала протона при C(1) в области 4.60

м.д. свидетельствует об образовании линейно связанной гетероциклической структуры. Характерный для пирролохинолиноновых систем сигнал протона в C(5) положении обнаруживается при 5.42 м.д. Сигналы протонов фенильного заместителя регистрируются в области 7.49–7.58 м.д.

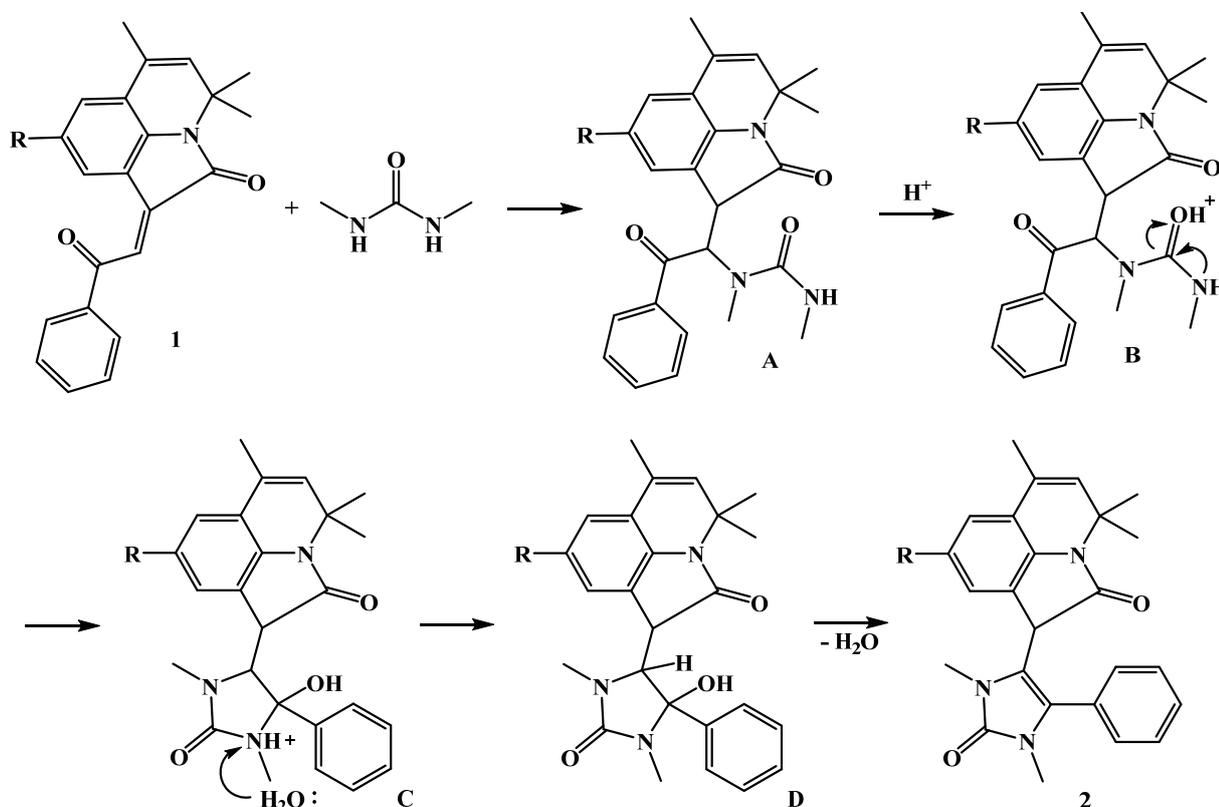


Рис. 3. Предполагаемый механизм образования имидазолона 2

Fig. 3. Possible mechanism of formation of imidazolone 2



На основе полученных экспериментальных данных и литературных сведений был предложен следующий возможный механизм реакции: при образовании соединения **2** изначально илиден **1** реагирует с 1,3-диметилмочевинной с образованием промежуточного соединения А, которое в присутствии пара-толуолсульфокислоты переходит в соединение В, аминогруппа которого атакует протонированный карбонил с образованием нового имидазолонового цикла (соединение С). Под воздействием молекулы воды, которая забирает протон у аминогруппы соединения С, образуется соединения Д, дегидратация которого приводит к конечному продукту **2** (рис. 3).

Таким образом, нами была показана принципиальная возможность получения новых замещённых имидазолпирроло[3,2,1-ij]хинолин-2-онов, содержащих в своей структуре привилегированные фармакофорные фрагменты пирролохинолинона и имидазолона. Также была обнаружена способность данных систем существовать в виде кето-енольных таутомеров.

#### Список литературы

1. Novichikhina N., Ilin I., Tashchilova A., Sulimov A., Kutov D., Ledenyova I., Krysin M., Shikhaliev Kh., Gantseva A., Gantseva E., Podoplelova N., Sulimov V. Synthesis, docking, and *in vitro* anticoagulant activity assay of hybrid derivatives of pyrrolo[3,2,1-ij]quinolin-2(1h)-one as new inhibitors of factor Xa and factor Xia // *Molecules*. 2020. Vol. 25, № 8. P. 1889. <https://doi.org/10.3390/molecules25081889>
2. Medvedeva S. M., Potapov A. Y., Gribkova I. V., Katkova E. V., Sulimov V. B., Shikhaliev K. S. Synthesis, docking, and anticoagulant activity of new factor-Xa inhibitors in a series of pyrrolo[3,2,1-ij]quinoline-1,2-Diones // *Pharm. Chem. J.* 2018. Vol. 51, № 11. P. 975–979. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1726-4>
3. Novichikhina N. P., Skoptsova A. A., Shestakov A. S., Potapov A. Yu., Kosheleva E. A., Kozaderov O. A., Ledenyova I. V., Podoplelova N. A., Panteleev M. A., Shikhaliev Kh. S. Synthesis and anticoagulant activity of new ethylidene and spiro derivatives of pyrrolo[3,2,1-ij]quinolin-2-ones // *Russ. J. Org. Chem.* 2020. Vol. 56, № 9. P. 1550–1556. <https://doi.org/10.1134/S1070428020090080>
4. Matesic L., Locke J. M., Vine K. L., Ranson M., Bremner J. B., Skropeta D. Synthesis and anti-leukaemic activity of pyrrolo[3,2,1-hi]indole-1,2-diones, pyrrolo[3,2,1-ij]quinoline-1,2-diones and other polycyclic isatin derivatives // *Tetrahedron*. 2012. Vol. 68, № 34. P. 6810–6819. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2012.06.049>
5. Novichikhina N. P., Shestakov A. S., Potapov A. Yu., Kosheleva E. A., Shatalov G. V., Verezhnikov V. N., Vandyshev D. Yu., Ledeneva I. V., Shikhaliev Kh. S. Synthesis of 4H-pyrrolo[3,2,1-ij]quinoline-1,2-diones containing a piperazine fragment and study of their inhibitory properties against protein kinases // *Russ. Chem. Bull.* 2020. Vol. 69, № 4. P. 787–792. <https://doi.org/10.1007/s11172-020-2834-3>
6. Kartsev V., Shikhaliev Kh. S., Geronikaki A., Medvedeva S. M., Ledenyova I. V., Krysin M. Yu., Petrou A., Ciric A., Glamoclija J., Sokovic M. Appendix A. dithioloquinolinethiones as new potential multitargeted antibacterial and antifungal agents: Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies // *Eur. J. Med. Chem.* 2019. Vol. 175. P. 201–214. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.04.046>
7. Носова Э. В. Биологически активные вещества гетероциклической природы : учеб. пособие. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2019. 144 с.
8. Dai L., Shu P., Wang Z., Li Q., Yu Q., Shi Y., Rong L. Brønsted acid catalyzed selective cyclization reaction: An efficient and facile synthesis of polysubstituted imidazole and pyrrole derivatives // *Synthesis*. 2016. Vol. 49, № 3. P. 637–646. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1588605>

#### References

1. Novichikhina N., Ilin I., Tashchilova A., Sulimov A., Kutov D., Ledenyova I., Krysin M., Shikhaliev Kh., Gantseva A., Gantseva E., Podoplelova N., Sulimov V. Synthesis, docking, and *in vitro* anticoagulant activity assay of hybrid derivatives of pyrrolo[3,2,1-ij]quinolin-2(1h)-one as new inhibitors of factor Xa and factor Xia. *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 8, pp. 1889. <https://doi.org/10.3390/molecules25081889>
2. Medvedeva S. M., Potapov A. Y., Gribkova I. V., Katkova E. V., Sulimov V. B., Shikhaliev K. S. Synthesis, docking, and anticoagulant activity of new factor-Xa inhibitors in a series of pyrrolo[3,2,1-ij]quinoline-1,2-Diones. *Pharm. Chem. J.*, 2018, vol. 51, no. 11, pp. 975–979. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1726-4>
3. Novichikhina N. P., Skoptsova A. A., Shestakov A. S., Potapov A. Yu., Kosheleva E. A., Kozaderov O. A., Ledenyova I. V., Podoplelova N. A., Panteleev M. A., Shikhaliev Kh. S. Synthesis and Anticoagulant Activity of New ethylidene and spiro derivatives of pyrrolo[3,2,1-ij]quinolin-2-ones. *Russ. J. Org. Chem.*, 2020, vol. 56, no. 9, pp. 1550–1556. <https://doi.org/10.1134/S1070428020090080>
4. Matesic L., Locke J. M., Vine K. L., Ranson M., Bremner J. B., Skropeta D. Synthesis and anti-leukaemic activity of pyrrolo[3,2,1-hi]indole-1,2-diones, pyrrolo[3,2,1-ij]quinoline-1,2-diones and other polycyclic isatin derivatives. *Tetrahedron*, 2012, vol. 68, no. 34, pp. 6810–6819. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2012.06.049>
5. Novichikhina N. P., Shestakov A. S., Potapov A. Yu., Kosheleva E. A., Shatalov G. V., Verezhnikov V. N., Vandyshev D. Yu., Ledeneva I. V., Shikhaliev Kh. S. Synthesis of 4H-pyrrolo[3,2,1-ij]quinoline-1,2-diones containing a piperazine fragment and study of their inhibitory properties against protein kinases // *Russ. Chem. Bull.* 2020. Vol. 69, № 4. P. 787–792. <https://doi.org/10.1007/s11172-020-2834-3>



- Vandyshev D. Yu., Ledeneva I. V., Shikhaliev Kh. S. Synthesis of 4H-pyrrolo[3,2,1-ij]quinoline-1,2-diones containing a piperazine fragment and study of their inhibitory properties against protein kinases. *Russ. Chem. Bull.*, 2020, vol. 69, no. 4, pp. 787–792. <https://doi.org/10.1007/s11172-020-2834-3>
6. Kartsev V., Shikhaliev Kh. S., Geronikaki A., Medvedeva S. M., Ledenyova I. V., Krysin M. Yu., Petrou A., Ciric A., Glamoclija J., Sokovic M. Appendix A. dithioloquinolinethiones as new potential multitargeted antibacterial and antifungal agents: Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies. *Eur. J. Med. Chem.*, 2019, vol. 175, pp. 201–214. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.04.046>
  7. Nosova E. V. *Biologicheski aktivnye veshchestva geterotsiklicheskoj prirody: uchebnoe posobie* [Biologically Active Substances of Heterocyclic Nature: Textbook]. Ekaterinburg, Izd-vo Ural. un-ta, 2019. 144 p. (in Russian).
  8. Dai L., Shu, P., Wang Z., Li Q., Yu Q., Shi Y., Rong L. Brønsted acid catalyzed selective cyclization reaction: An efficient and facile synthesis of polysubstituted imidazole and pyrrole derivatives. *Synthesis*, 2016, vol. 49, no. 3, pp. 637–646. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1588605>

Поступила в редакцию 06.09.22; одобрена после рецензирования 12.10.22; принята к публикации 14.10.22

The article was submitted 06.09.22; approved after reviewing 12.10.22; accepted for publication 14.10.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 11–17

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 11–17

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-11-17>, EDN: YYULYI

Научная статья

УДК 547.724:547.571

## 4-Этоксиметилен-2-фенил-5(4H)-оксазолон в реакциях с различными гетероциклическими аминами



А. В. Мирошникова ✉, А. С. Тихомолова, Н. О. Василькова, А. Ю. Егорова

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Мирошникова Анна Владимировна, студент Института химии, [anna.miroshnikova.01@mail.ru](mailto:anna.miroshnikova.01@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-5410-5401>

Тихомолова Александра Сергеевна, аспирант кафедры органической и биоорганической химии Института химии, [bondartsova.alexandra@yandex.ru](mailto:bondartsova.alexandra@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-8363-1910>

Василькова Наталья Олеговна, кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биоорганической химии Института химии, [vasilkovano@mail.ru](mailto:vasilkovano@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-9437-0704>

Егорова Алевтина Юрьевна, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой органической и биоорганической химии Института химии, [yegorovaay@gmail.com](mailto:yegorovaay@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-4368-0021>

**Аннотация.** Анализ литературных данных показал, что сведений о поведении 5(4H)-оксазолонов с аминами в условиях реактора герметичных сосудов, позволяющих с разными аминами получать гетероциклические системы, не имеется. Нами был разработан и представлен легкий, быстрый, надежный и инновационный метод получения нового ряда соединений, обладающих синтетическим и биологическим потенциалом, на основе взаимодействия 4-этоксиметилен-2-фенил-5(4H)-оксазолон и гетероциклических аминов с различным размером цикла и набором гетероатомов, с использованием реактора герметичных сосудов. На основании полученных результатов было установлено, что превращение протекает по механизму нуклеофильного присоединения Михаэля. Обсуждена схема проведенного взаимодействия. Первоначально происходит атака аминогруппы используемого амина по экзотической С=С связи исходного субстрата – этоксиметиленоксазолон, протекающая с отщеплением хорошо уходящей этокси-группы в виде молекулы этанола, что приводит к конечным 4-гетариламинометилиденовым производным оксазол-5(4H)-она. В ходе работы установлено, что использование реактора герметичных сосудов позволяет сокращать время протекания превращений, добиваться повышения селективности и выходов целевых продуктов по сравнению с обычным типом активации реакционной смеси, таким как при кипячении в этиловом спирте. Показано, что на скорость протекания реакции оказывает влияние не только тип активации, но и природа используемого растворителя. Установлено, что в данных условиях превращение протекает с сохранением оксазол-5(4H)-онового кольца. Контроль за ходом реакций, определение индивидуальности и идентификация полученных соединений осуществлялись методами ТСХ, элементного анализа, ИК-, ЯМР-спектроскопии.

**Ключевые слова:** 5(4H)-оксазолон, гетариламинометилиденовые производные, реактор герметичных сосудов, спектроскопия, физико-химические методы, гетероциклические амины

**Для цитирования:** Мирошникова А. В., Тихомолова А. С., Василькова Н. О., Егорова А. Ю. 4-Этоксиметилен-2-фенил-5(4H)-оксазолон в реакциях с различными гетероциклическими аминами // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 11–17. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-11-17>, EDN: YYULYI

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

### 4-Ethoxymethylene-2-phenyl-5(4H)-oxazolone in reactions with various heterocyclic amines

А. В. Мирошникова ✉, А. С. Тихомолова, Н. О. Василькова, А. Ю. Егорова

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Anna V. Miroshnikova, [anna.miroshnikova.01@mail.ru](mailto:anna.miroshnikova.01@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-5410-5401>

Aleksandra S. Tikhomolova, [bondartsova.alexandra@yandex.ru](mailto:bondartsova.alexandra@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-8363-1910>

Natalya O. Vasilkova, [vasilkovano@mail.ru](mailto:vasilkovano@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-9437-0704>

Alevtina Yu. Egorova, [yegorovaay@gmail.com](mailto:yegorovaay@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-4368-0021>

**Abstract.** The analysis of the literature data has showed that there is no information on the behavior in 5(4H)-oxazolones with amines under the conditions of a sealed vessel reactor, which makes it possible to obtain heterocyclic systems with different amines. We have developed



and presented an easy, fast, reliable and innovative method for the preparation of a new series of compounds with synthetic and biological potential, based on the interaction of 4-ethoxymethylene-2-phenyl-5(4*H*)-oxazolone and heterocyclic amines with different ring sizes and sets heteroatoms using a sealed vessel reactor. Based on the results obtained, it has been found that the transformation proceeds by the mechanism of nucleophilic addition of Michael. The scheme of the conducted interaction has been discussed. Initially, the amino group of the amine used is attacked at the exocyclic C=C bond of the initial substrate, ethoxymethylenexazolone, proceeding with the elimination of a well-leaving ethoxy group in the form of an ethanol molecule, which leads to the final 4-hetarylaminomethylidene derivatives of oxazol-5(4*H*)-one. In the course of the work, it has been found that the use of a sealed vessel reactor makes it possible to reduce the time of transformations, to achieve an increase in selectivity and yields of target products compared to the usual type of activation of the reaction mixture, such as boiling in ethanol. It has been shown that not only the type of activation, but also the nature of the solvent used affects the rate of the reaction. It has been found that under these conditions the transformation proceeds with the preservation of the oxazol-5(4*H*)-one ring. Control over the course of reactions, determination of individuality and identification of the obtained compounds have been carried out by TLC, elemental analysis, IR-, NMR spectroscopy.

**Keywords:** 5(4*H*)-oxazolones, hetrylaminomethylidene derivatives, pressurized vessel reactor, spectroscopy, physicochemical methods, heterocyclic amines

**For citation:** Miroshnikova A. V., Tikhomolova A. S., Vasilkova N. O., Egorova A. Yu. 4-Ethoxymethylene-2-phenyl-5(4*H*)-oxazolone in reactions with various heterocyclic amines. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 11–17 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-11-17>, EDN: YYULYI

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

## Введение

Химия соединений, содержащих оксазоловый фрагмент, является одной из основных тем, представляющих интерес для исследований в области органической химии и медицины. Производные оксазола обладают широким спектром биологической активности такой, как противомикробная [1], противораковая [2], противотуберкулезная [3], противовоспалительная [4], антиоксидантная [5], и выступают ключевыми элементами многих фармацевтических препаратов, применяющихся в лечении диабета [6], а также в борьбе с ожирением [7].

Наиболее перспективным и препаративно удобным субстратом для введения в структуру новой аминокомпоненты является 4-этоксиметилен-2-фенил-5(4*H*)-оксазолон, данный гетероцикл реагирует с аминокетонами белков, а также с первичными аминами. Аминолиз происходит путем замещения этоксигруппы под действием аминокетонной группы с получением продукта 4-(замещенного метилен)-2-фенил-5(4*H*)-оксазола [8].

Все это представляет интерес для исследования химии данного соединения с перспективами поиска путей построения фармакофорных структур.

В связи с этим **цель** данной работы заключается в изучении поведения 4-этоксиметилен-2-фенил-5(4*H*)-оксазола в реакциях с гетероциклическими аминами.

## Материалы и методы

Элементный анализ проводился на CHNS анализаторе Elementar Vario Micro cube (Elementar Analysensysteme GmbH, Германия). ИК-спектры снимали на ИК-фурье-спектрометре Nicolet

6700 (Thermo Scientific, США) в таблетках KBr. Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц) и  $^{13}\text{C}$  (100 МГц) регистрировались на спектрометре Varian 400 (Varian(Agilent), США) в ДМСО- $d_6$ , внутренний стандарт – ТМС. Однородность соединений подтверждали методом ТСХ на пластинках Alugram® Sil G UV254 (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Германия), элюент – этилацетат–гексан–хлороформ (2:2:1); проявляли в УФ (длина волны 254 нм).

### Метод получения продуктов (5а–е)

Смесь 0,0046 моль 4-этоксиметилен-2-фенил-5(4*H*)-оксазола (**6**), 0,0046 моль соответствующего гетероциклического амина (**3а–е**) помещали в виалу и подвергали нагреванию с помощью реактора герметичных сосудов при температуре 100°C в течение 20–40 мин. Полученные кристаллы растирали в этиловом спирте, отфильтровывали и сушили на воздухе.

*2-фенил-4-((пиридин-2-ил)амино)метилен оксазол-5(4*H*)-он (5а)*

Жёлтые кристаллы, выход (52%),  $T_{\text{пл}}$  290°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д. (J, Гц): 7.11–7.14 (т, 1H), 7.33 (д, 1H), 7.54–7.59 (м, 3H, Ph), 7.79–7.82 (т, 1H), 7.98 (д, 2H, Ph), 8.38 (д, 1H), 8.55 (с, 1H, CH), 10.05 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м. д.: 111.91, 113.54, 119.36, 119.49, 126.36, 126.72, 126.83, 128.88, 131.06, 131.24, 131.61, 138.72, 138.84, 148.41, 148.48, 151.32, 156.33, 167.15 (C=O).

*2-фенил-4-((тиазол-2-ил)амино)метилен оксазол-5(4*H*)-он (5б)*

Оранжевые кристаллы, выход (46%),  $T_{\text{пл}}$  178–180°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д. (J, Гц): 7,25 (с, 1H, CH), 7,43 (с, 1H, CH), 7,57–7,58 (т, 3H, Ph), 7,97 (д, 2H, Ph), 8,01 (с, 1H, СНэкз). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м. д.: 113.99, 114.93, 126.49, 127.20, 129.66, 131.78, 132.48, 133.89, 156.82, 161.72, 167.30 (C=O).



4-(((5-метилтиазол-2-ил)амино)метилен)-2-фенилоксазол-5(4H)-он (**5c**)

Светло-жёлтые кристаллы, выход (60%),  $T_{пл}$  192°C. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д. (J, Гц): 2.34 (с, 3H,  $CH_3$ ), 7.12 (с, 1H, CH), 7.55–7.60 (к, 4H, Ph), 7.96 (д, 2H,  $CH_{экз}$ ), 11.93 (с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}C$ ,  $\delta$ , м. д.: 11.98, 113.50, 127.03, 127.27, 128.20, 129.61, 132.42, 131.62, 136.92, 156.56, 160.71 (C=O).

4-(((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)метилен)-2-фенилоксазол-5(4H)-он (**5d**)

Бордовые кристаллы, выход (71%),  $T_{пл}$  164–165°C. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д. (J, Гц): 2.19 (с, 3H,  $CH_3$ ), 5.87 (с, 1H, CH), 7.53–7.54 (м, 3H, Ph), 7.86 (д, 1H,  $CH_{экз}$ ), 7.91–7.93 (т, 2H, Ph), 10.91 (д, 1H, NH), 12.21 (с, 1H, NHцикл). Спектр ЯМР  $^{13}C$ ,  $\delta$ , м. д.: 10.85, 93.92, 126.65, 131.90, 129.46, 131.71, 113.41, 134.94, 143.60, 149.04, 154.61, 167.83 (C=O).

N-(2-оксо-1,2-дигидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиримидин-3-ил)бензамида (**5e**)

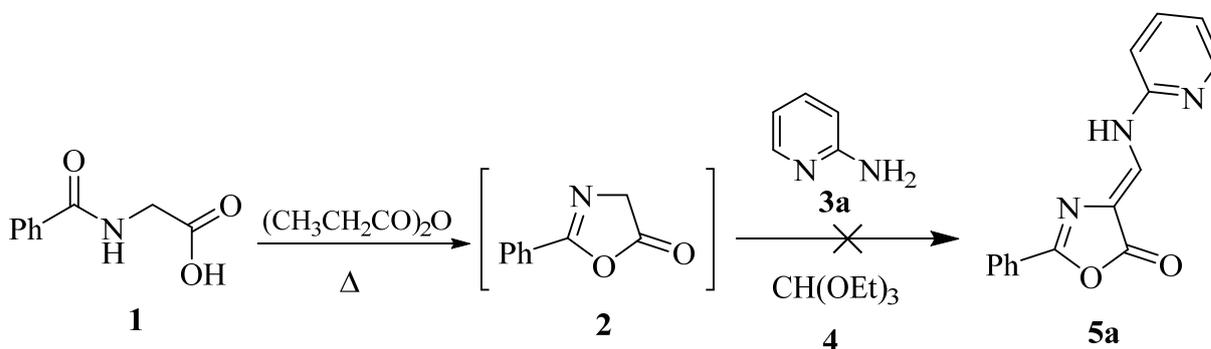
Тёмно-жёлтые кристаллы, выход (69%),  $T_{пл}$  287°C. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д. (J, Гц): 7.12 (с, 2H, CH), 7.39 (с, 2H, CH), 7.54 (д, 3H, Ph), 7.95 (д, 2H, Ph), 8.13 (с, 1H,  $CH_{экз}$ ), 12.00 (уш.с, 2H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}C$ ,  $\delta$ , м. д.: 88.64, 94.73, 113.63, 114.68, 116.30, 126.93, 128.01, 128.93, 129.34, 129.93, 132.00, 134.08, 155.82, 168.05 (C=O).

Результаты и их обсуждение

Ранее нами проведены исследования возможности введения в структуру 5-арил-3H-фуран-2-онов ариламинометиленового фрагмента как путем трехкомпонентной *one-pot* реакции взаимодействия 3H-фуран-2-онов, триэтилортоформиата и ароматических аминов [9, 10], так и мультикомпонентной реакцией с участием дополнительной метиленактивной компоненты – малонитрила [11].

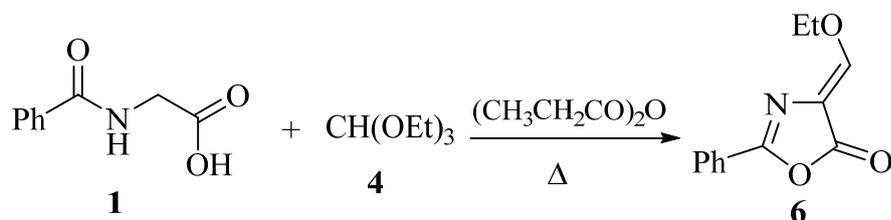
С целью расширения ряда соединений, обладающих биологической активностью и содержащих фармакофорные фрагменты, нами в реакцию с ортоэфиром и аминами вводился изоструктурный аналог фуран-2(3H)-она - оксазол-5(4H)-он.

Нами предприняты попытки синтеза гетариламинометиленовых производных оксазол-5(4H)-она на основе *one-pot* реакции гиппуровой кислоты (**1**), 2-аминопиридина (**3a**) и триэтилортоформиата (**4**) в пропионовом ангидриде с образованием *in situ* 2-фенилоксазол-5(4H)-она (**2**) при кипячении. Данная попытка не увенчалась успехом, поскольку происходило образование неразделимой смеси продуктов.



Разработаны условия синтеза и получены целевые продукты при изменении условий проведения процесса. Поэтапное проведение превращений основывалось на получении

этоксиметиленоксазол-5(4H)-она (**6**) по известной методике [12] из гиппуровой кислоты (**1**) и ортоэфира (**4**) в присутствии пропионового ангидрида при термической активации реакционной смеси.



С целью выявления наиболее подходящих условий для реакции нами проведена оптимизация условий синтеза гетариламинометиленовых производных оксазол-5(4H)-она на

модельной реакции 4-этоксиметилен-2-фенил-5(4H)-оксазолон (**6**) с 2-аминопиридином (**3a**), реагенты использовались в молярном соотношении 1:1 (таблица).

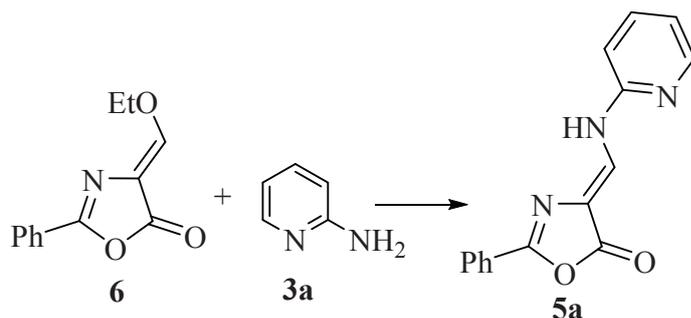


Таблица 1 / Table 1

Условия синтеза 4-гетариламинометилена-5(4H)-оксазолонов  
Conditions for the synthesis of 4-hetarylaminoethylene-5(4H)-oxazolones

Опыт / Entry	Растворитель / Solvent	Условия / Conditions	Время, мин / Time, min	Выход, % / Yield, %
1	–	Реактор / Reactor	24	71
2	iPrOH	Δ	60	46
3	Бензол, толуол / Benzene, toluene	Δ	120	60
4	Ацетонитрил / Acetonitrile	Реактор / Reactor	40	52

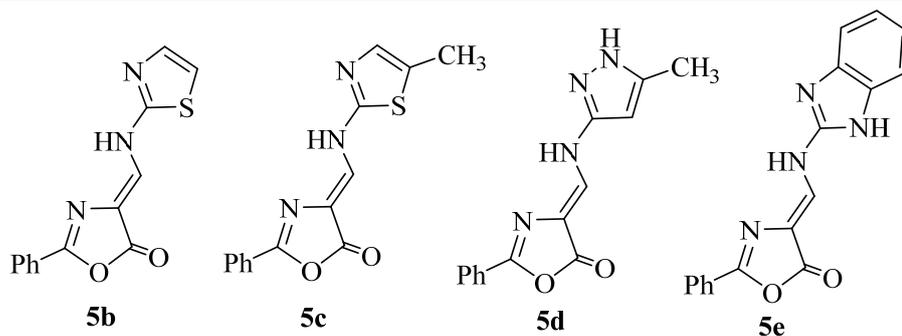
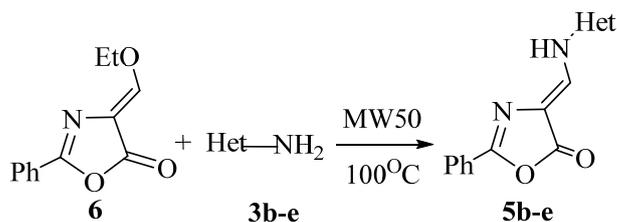
При проведении взаимодействия в условиях кипячения с обратным холодильником при использовании неполярных растворителей, таких как бензол и толуол, время реакции максимально, использование полярных растворителей (этанол, изопропиловый спирт, ацетонитрил) позволило увеличить скорость превращения (см. таблицу). Дальнейшие попытки повысить выход целевого продукта и сократить время превращения достигались с применением реактора герметичных сосудов как в присутствии растворителя, так и в его отсутствие. Наилучшие результаты были достигнуты в условиях отсутствия растворителя, где время превращения достигало 24 мин.

Использование реактора герметичных сосудов в органическом синтезе позволяет сокращать

время протекания превращений и добиваться повышения селективности и выходов целевых продуктов по сравнению с обычными типами активации реакционной смеси. Это обусловлено возможностью варьирования времени и температуры разогрева реакционной смеси под действием давления.

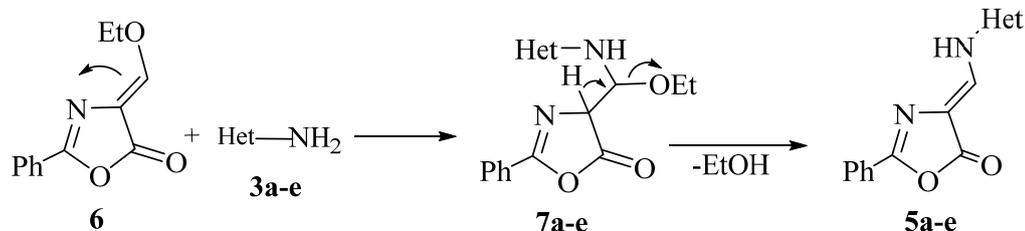
Таким образом, данные условия выбраны в качестве оптимальных для дальнейших исследований.

Улучшенные условия, объем и универсальность данного метода позволили нам исследовать превращения с использованием различных гетероциклических аминов. Общая схема реакции 4-этоксиметилена-2-фенил-5(4H)-оксазолона с гетероциклическими аминами:



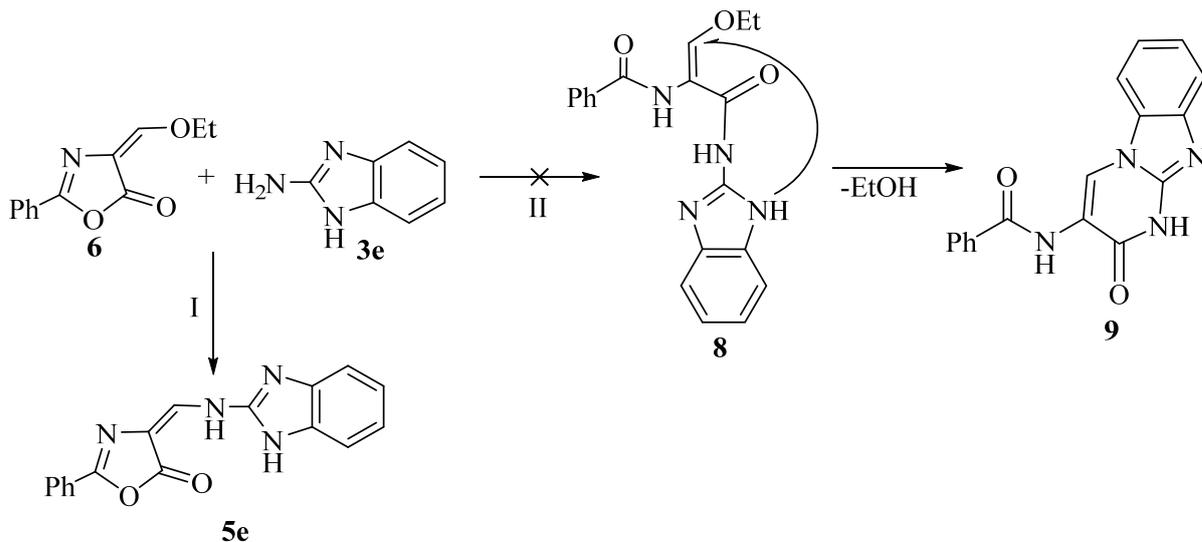


Превращение протекает по реакции Михаэля, в ходе процесса происходит нуклеофильное присоединение амина (3a–e) к α,β-непредельному фрагменту соединения (6), с формированием промежуточного соединения (7a–e), элиминирование молекулы этанола приводит к образованию конечных продуктов 4-гетариламинометилен-5(4H)-оксазолонов



Перспективно использование 2-аминобензимидазола (3e) в качестве гетероциклического амина в данном взаимодействии, поскольку можно было ожидать как продукт замещения (путь I) либо продукт раскрытия цикла и рециклизации (путь II). Несмотря на

(5a–e). Сравнимые результаты были получены при использовании различных гетероциклических аминов. В данном методе не наблюдается раскрытия оксазолонового кольца и внутримолекулярной конденсации, что не является типичным поведением этого пятичленного гетероцикла в присутствии нуклеофилов. Вероятная схема образования продуктов 5a–e:



Доказательством в пользу полученной структуры служит наличие в ИК-спектре полосы поглощения лактонного карбонила при 1768 см<sup>-1</sup> и в ЯМР <sup>13</sup>С спектре, записанного в DMSO-d<sub>6</sub> при 168.08 м.д., что говорит о сохранении оксазолон-5(4H)-онового фрагмента.

Строение всех продуктов (5a–e) установлено на основании данных ИК-, ЯМР <sup>1</sup>Н, <sup>13</sup>С, и двумерной корреляций HSQC, HMBC-спектроскопии.

### Заключение

Таким образом нами представлен простой, быстрый, безопасный и высокоэффективный метод получения фармакофорных структур

наличие нескольких нуклеофильных центров в бензимидазольном кольце, образование продукта внутримолекулярной конденсации (9) не наблюдается. Схема реакции 4-этоксиметилен-2-фенил-5(4H)-оксазолона с 2-аминобензимидазолом:

на основе взаимодействия 4-этоксиметилен-2-фенил-5(4H)-оксазолона и различных гетероциклических аминов.

### Список литературы

- Zhang W., Liu W., Jiang X., Jiang F., Zhuang H., Fu L. Design, synthesis and antimicrobial activity of chiral 2-(substituted-hydroxyl)-3-(benzo[d]oxazol-5-yl) propanoic acid derivatives // Eur. J. Med. Chem. 2011. Vol. 46, № 9. P. 3639–3650. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.05.028>
- Kumar D., Kumar N. M., Sundaree S., Johnson E. O., Shah K. An expeditious synthesis and anticancer activity of novel 4-(3'-indolyl)oxazole // Eur. J. Med.



- Chem. 2010. Vol. 45, № 3. P. 1244–1249. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.024>
- Moraski G. C., Chang M., Villegas-Estrada A., Franzblau S. G., Möllmann M., Miller M. J. Structure-activity relationship of new anti-tuberculosis agents derived from oxazoline and oxazole benzyl esters // *Eur. J. Med. Chem.* 2010. Vol. 45, № 5. P. 1703–1716. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.074>
  - Eren G., Ünlü S., Nuñez M. T., Labeaga L., Ledo F., Entrena A., Ea Banoğlu, Costantino G., Şahin M. F. Synthesis, biological evaluation, and docking studies of novel heterocyclic diaryl compounds as selective COX-2 inhibitors // *Bioorg. Med. Chem.* 2010. Vol. 18. P. 6367–6376. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.07.009>
  - Ashton W. T., Sisco R. M., Dong H., Lyons K. A., He H., Doss G. A., Leiting B., Patel R. A., Wu J. K., Marsilio F., Thornberry N. A., Weber A. E. Dipeptidyl peptidase IV inhibitors derived from  $\beta$ -aminoacylpiperidines bearing a fused thiazole, oxazole, isoxazole, or pyrazole // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005. Vol. 15, № 9. P. 2253–2258. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.03.012>
  - Jadhav R. D., Kadam K. S., Kandre S., Guha T., Reddy M. K., Brahma M. K., Deshmukh N. J., Dixit A., Doshi L., Potdar N., Enose A. A., Vishwakarma R. A., Sivaramakrishnan H., Srinivasan S., Nemmani V. S., Gupte A., Gangopadhyay A. K., Sharma R. Synthesis and biological evaluation of isoxazole, oxazole, and oxadiazole containing heteroaryl analogs of biarylureas as DGAT1 inhibitors // *Eur. J. Med. Chem.* 2012. № 54, P. 324–342. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.05.016>
  - Parveen M., Ali A., Ahmed S., Malla A. M., Alam M., Silva P. S. P., Silva M. R., Lee D. U. Synthesis, bioassay, crystal structure and ab initio studies of Erlenmeyer azlactones // *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2013. № 104. P. 538–545. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.11.054>
  - Benoiton N. L., Hudecz F., Chen F. F., and M. F. Amino-acid conjugates of the hapten 2-phenyl-4-ethoxymethylene-5(4H)-oxazolone. Synthesis and confirmation of structure // *Intern. J. Peptide Protein Res.* 1995. Vol. 45. P. 266–271.
  - Osipov A. K., Anis'kov A. A., Grinev V. S., Yegorova A. Y. Study of E/Z isomerization of (arylamino)methylidene-furan-2(3H)-ones by <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N spectroscopy and DFT calculations in different solvents // *Magnetic Resonance in Chemistry.* 2017. Vol. 55, № 8. P. 730–737. <https://doi.org/10.1002/mrc.4583>
  - Osipov A. K., Anis'kov A. A., Yegorova A. Y. Synthesis and configuration of (arylamino)methylidene-3H-furan-2-ones // *Russian Journal of Organic Chemistry.* 2017. Vol. 53, iss 2. P. 210–214. <https://doi.org/10.1134/s1070428017020117>
  - Тухомолова А. С., Майорова О. А., Егорова А. Ю. Синтез и особенности строения 5-(4-бромфенил)-3-((6-амино-2-меркаптопиримидин)-4-амино) метилиден)-3H-фуран-2-она // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология.* 2022. Т. 22, вып. 1. С. 4–8. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-1-4-8>
  - Shuvalov V. Yu., Rozhkova Yu. S., Plekhanova I. V., Kostyuchenko A. S., Shklyayev Yu. V., Fisyuk A. S. Synthesis of 3-amino-6,7-dihydroferroceno[a]quinolizin-4-one derivatives by the reaction of 3,4-dihydroferroceno[c]pyridines with azlactones // *Chem. Heterocycl. Compd.* 2022. Vol. 58, iss. 1. P. 7–14. <https://doi.org/10.1007/s10593-022-03050-5>

## References

- Zhang W., Liu W., Jiang X., Jiang F., Zhuang H., Fu L. Design, synthesis and antimicrobial activity of chiral 2-(substituted-hydroxyl)-3-(benzo[d]oxazol-5-yl) propanoic acid derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, vol. 46, no. 9, pp. 3639–3650. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.05.028>
- Kumar D., Kumar N. M., Sundaree S., Johnson E. O., Shah K. An expeditious synthesis and anticancer activity of novel 4-(3'-indolyl)oxazole. *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, vol. 45, no. 3, pp. 1244–1249. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.024>
- Moraski G. C., Chang M., Villegas-Estrada A., Franzblau S. G., Möllmann M., Miller M. J. Structure-activity relationship of new anti-tuberculosis agents derived from oxazoline and oxazole benzyl esters. *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, vol. 45, no. 5, pp. 1703–1716. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.074>
- Eren G., Ünlü S., Nuñez M. T., Labeaga L., Ledo F., Entrena A., Ea Banoğlu, Costantino G., Şahin M. F. Synthesis, biological evaluation, and docking studies of novel heterocyclic diaryl compounds as selective COX-2 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, vol. 18, pp. 6367–6376. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.07.009>
- Ashton W. T., Sisco R. M., Dong H., Lyons K. A., He H., Doss G. A., Leiting B., Patel R. A., Wu J. K., Marsilio F., Thornberry N. A., Weber A. E. Dipeptidyl peptidase IV inhibitors derived from  $\beta$ -aminoacylpiperidines bearing a fused thiazole, oxazole, isoxazole, or pyrazole. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005, vol. 15, no. 9, pp. 2253–2258. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.03.012>
- Jadhav R. D., Kadam K. S., Kandre S., Guha T., Reddy M. K., Brahma M. K., Deshmukh N. J., Dixit A., Doshi L., Potdar N., Enose A. A., Vishwakarma R. A., Sivaramakrishnan H., Srinivasan S., Nemmani V. S., Gupte A., Gangopadhyay A. K., Sharma R. Synthesis and biological evaluation of isoxazole, oxazole, and oxadiazole containing heteroaryl analogs of biarylureas as DGAT1 inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, no. 54, pp. 324–342. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.05.016>
- Parveen M., Ali A., Ahmed S., Malla A. M., Alam M., Silva P. S. P., Silva M. R., Lee D. U. Synthesis, bioassay,



- crystal structure and ab initio studies of Erlenmeyer azlactones. *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2013, no. 104, pp. 538–545. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.11.054>
8. Benoiton N. L., Hudecz F., Chen F. F., and M. F. Amino-acid conjugates of the hapten 2-phenyl-4-ethoxymethylene-5(4H)-oxazolone. Synthesis and confirmation of structure. *Intern. J. Peptide Protein Res.*, 1995, vol. 45, pp. 266–271.
  9. Osipov A. K., Anis'kov A. A., Grinev V. S., Yegorova A. Y. Study of E/Z isomerization of (arylamino) methylidene-furan-2(3H)-ones by <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N spectroscopy and DFT calculations in different solvents. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 2017, vol. 55, no. 8, pp. 730–737. <https://doi.org/10.1002/mrc.4583>
  10. Osipov A. K., Anis'kov A. A., Yegorova A. Y. Synthesis and configuration of (arylamino)methylidene-3H-furan-2-ones. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 2017, vol. 53, iss. 2, pp. 210–214. <https://doi.org/10.1134/s1070428017020117>
  11. Tikhomolova A. S., Mayorova O. A., Egorova A. Yu. Synthesis and structural features of 5-(4-bromophenyl)-3-((6-amino-2-mercaptopyrimidine)-4-amino)methylidene)-3H-furan-2-one. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 1, pp. 4–8 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-1-4-8>
  12. Shuvalov V. Yu., Rozhkova Yu. S., Plekhanova I. V., Kostyuchenko A. S., Shklyayev Yu. V., Fisyuk A. S. Synthesis of 3-amino-6,7-dihydroferroceno[a]quinolizin-4-one derivatives by the reaction of 3,4-dihydroferroceno[c]pyridines with azlactones. *Chem. Heterocycl. Compd.*, 2022, vol. 58, iss. 1, pp. 7–14. <https://doi.org/10.1007/s10593-022-03050-5>

Поступила в редакцию 01.12.22; одобрена после рецензирования 13.01.23; принята к публикации 13.01.23  
The article was submitted 01.12.22; approved after reviewing 13.01.23; accepted for publication 13.01.23



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 18–27

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 18–27

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-18-27>, EDN: HMXNJC

Научная статья

УДК 541.64:547(39+995)

## Свободно-радикальная привитая сополимеризация акриламида, 2-акриламидо-2-метилпропансульфоната натрия и хитозана



А. С. Обшицер<sup>1,2</sup>✉, Т. А. Байбурдов<sup>1,2</sup>, С. Л. Шмаков<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ООО «АКРИПОЛ», Россия, 410059, г. Саратов, ул. Советско-Чехословацкой дружбы, д. 1

<sup>2</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Обшицер Артур Самирович, <sup>1</sup>научный сотрудник, <sup>2</sup>магистр, аспирант кафедры полимеров Института химии, [artur.obschiczer@yandex.ru](mailto:artur.obschiczer@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0003-2739-1163>

Байбурдов Тельман Андреевич, кандидат химических наук, <sup>1</sup>директор, <sup>2</sup>доцент кафедры полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, [bta@acrypol.ru](mailto:bta@acrypol.ru), <https://orcid.org/0000-0003-1734-5323>

Шмаков Сергей Львович, кандидат химических наук, доцент кафедры полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, [shmakovsl@info.sgu.ru](mailto:shmakovsl@info.sgu.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8019-0083>

**Аннотация.** Предложен метод получения водорастворимого привитого сополимера сложной структуры на основе хитозана, акриламида (АА) и 2-акриламидо-2-метилпропансульфоната натрия (АМПС-Na) с целью получения флокулянта, устойчивого к действию солей поливалентных металлов и высоких температур, а также с возможным применением в качестве агента для разведки и добычи нефти. К явным преимуществам данного сополимера можно отнести наибольшую подверженность биодеструкции благодаря включению в состав сополимера природного биополимера, что важно для сохранности экологии, и эффективность его синтетических аналогов. Привитую сополимеризацию АА и АМПС-Na на реакционно-способные группы хитозана проводили в концентрированных водных растворах в среде азота, с использованием комбинированной иницирующей системы сложного состава при заданном соотношении мономеров [АА]>[АМПС-Na]. Изучение кинетики привитой сополимеризации проводили с помощью термометрического метода. Сделана попытка дать математическое описание реакции прививки мономеров АА и АМПС-Na на хитозан. Проведен ИК-спектральный анализ сополимеров. Изучение скорости реакции и молекулярных характеристик полученных сополимеров проводили при варьировании концентраций хитозана, мономеров, соотношения компонентов иницирующей системы и температуры проведения реакции на стадии синтеза. Установлено расчётное значение усреднённой энергии активации сополимеризации в диапазоне температур 10–25°C. О молекулярном составе и предполагаемом строении привитых сополимеров судили по результатам вискозиметрического и седиментационного анализов. Результаты данной работы позволяют получать привитые сополимеры с заданными свойствами и структурой для использования в таких областях, как очистка сточных и промышленных вод и добыча полезных ископаемых.

**Ключевые слова:** акриламид, 2-акриламидо-2-метилпропансульфонат натрия, хитозан, кинетика, концентрированные растворы, привитая сополимеризация, радикальная полимеризация

**Для цитирования:** Обшицер А. С., Байбурдов Т. А., Шмаков С. Л. Свободно-радикальная привитая сополимеризация акриламида, 2-акриламидо-2-метилпропансульфоната натрия и хитозана // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 18–27. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-18-27>, EDN: HMXNJC

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

### Free-radical graft copolymerization acrylamide, 2-sodium 2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic onto chitosan

A. S. Obshitser<sup>1,2</sup>✉, T. A. Bayburdov<sup>1,2</sup>, S. L. Shmakov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ACRYPOL Ltd., 1 Sovetsko-Chekhoslovatskoy Druzhyby St., Saratov 410059, Russia

<sup>2</sup>Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Arthur S. Obshitser, [artur.obschiczer@yandex.ru](mailto:artur.obschiczer@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0003-2739-1163>

Telman A. Bayburdov, [bta@acrypol.ru](mailto:bta@acrypol.ru), <https://orcid.org/0000-0003-1734-5323>

Sergei L. Shmakov, [shmakovsl@info.sgu.ru](mailto:shmakovsl@info.sgu.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8019-0083>

© Обшицер А. С., Байбурдов Т. А., Шмаков С. Л., 2023



**Abstract.** The method presents obtaining hydrosoluble graft copolymer of complicated structure based on chitosan, acrylamide (AM), sodium 2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic (AMPS-Na) in order to obtain flocculant which is resistant to salt of transition metals and heat temperature, and in order to use it as a reagent for oil production processes. The obvious advantages of this copolymer can be attributed to its biodegradation due to inclusion of a biopolymer into the composition of the copolymer, which is important for the preservation of ecology, and efficiency of its synthetic analogues. The graft copolymerization acrylamide and sodium 2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic onto active sites of chitosan has been performed under condition of high concentration monomers in nitrogen atmosphere using combined initiator system of complex composition under the following order monomers [AA]-[AMPS-Na]. Kinetic study of graft copolymerization has been carried out using thermometry methods. Attempts have been made to describe mathematically the reaction of graft monomers AM and AMPS-Na onto chitosan. The IR spectra analysis of copolymers has been carried out. The study of reaction rate and molecular characteristics of synthesized copolymers has been conducted under changing concentration of chitosan, monomers, ratio components of the initiator system and reaction temperature during synthesis. It has been determined that the averaged energy activation of copolymerization reaction was in the range of reaction temperature 10–25°C. Molecular composition and proposed structure of the grafted copolymers have been determined by the results of viscosity and sedimentation analysis. The results of this study allow to obtain grafted copolymers with specified properties and structure to use them in such areas as sewage and industrial water treatment and mineral industry.

**Keywords:** acrylamide, sodium 2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic, chitosan, kinetics, monomer-rich solutions, graft copolymerization, radical polymerization

**For citation:** Obshitsers A. S., Bayburdov T. A., Shmakov S. L. Free-radical graft copolymerization acrylamide, 2-sodium 2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic onto chitosan. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 18–27 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-18-27>, EDN: HMXNJC

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

## Введение

Водорастворимые полимеры акриламида (АА) применяются для очистки природных и сточных вод, обезвоживания осадков в целлюлозно-бумажной промышленности [1]. Его сополимеры, содержащие анионные звенья, обладают улучшенными прикладными характеристиками. В частности, сополимеры АА и натриевой соли 2-акриламида-2-метилпропансульфонокислоты (АМПС-На) обладают большей, по сравнению с сополимерами акриловой кислоты, устойчивостью в условиях термической и солевой агрессии, выраженной в способности функциональных групп АМПС образовывать водорастворимые комплексы с поливалентными металлами и предотвращать коагуляцию сополимера, что делает их перспективными в качестве агентов для добычи и разведки нефти, флокулянтов для очистки сточных вод гальвано- и металлургической промышленности. Однако введение большого количества звеньев АМПС-На в структуру сополимера ухудшает его качественные характеристики, что указывает на необходимость регулирования молекулярного состава данных сополимеров на стадии синтеза [2, 3].

Одним из актуальных направлений по получению новых материалов с ценными прикладными характеристиками, отвечающих современным экологическим требованиям, является создание «гибридных» сополимеров на основе полисахаридов растительного (крахмал, целлюлоза и др.) и животного происхождения (хитин, хитозан (ХТЗ)) с АА и его ионогенными производными, методом прививочной полимеризации виниловых мономеров на реакционно-

способные группы полисахаридов. Полученные сополимеры обладают комплексом полезных свойств, среди которых биодеструкция и водорастворимость [4–6].

В данной работе изучено влияние условий синтеза на кинетику и молекулярные характеристики привитых сополимеров ХТЗ, АА и АМПС-На.

## Материалы и методы

В работе использовали хитозан (ООО «АКРИПОЛ», Саратов) с молекулярной массой 286 кДа и степенью деацетилирования 86.1 мольн.%. Растворителем для хитозана служил 4.6% водный раствор 2-акриламида-2-метилпропансульфонокислоты при соотношении 1:1 моль, поскольку наличие двойной создает дополнительный реакционный центр. В качестве мономеров задействовали акриламид, полученный биокаталитическим методом на ООО «АКРИПОЛ» (Саратов), в виде 40% водного раствора, и 2-акриламида-2-метилпропансульфонокислоту («Alfa Aesar», Китай), персульфат аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  (ПСА), метабисульфит натрия  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  (МБ-На) х.ч. и сульфат церия  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (ТУ 6-09-1646-77). Азот для создания атмосферы имел чистоту не менее 99,99%. Применяли изопропиловый спирт (ООО «ЭКОС-1», ос.ч., ТУ 2632-064-44493179-01 с изм.1, 2) и оксид меди II в виде суспензии, полученный по методике [7].

Привитую радикальную сополимеризацию АА, 2-акриламида-2-метилпропансульфоната натрия и хитозана проводили в концентрированных водных растворах АА и АМПС-На в



атмосфере азота. Реакция инициировалась окислительно-восстановительной системой персульфат аммония–метабисульфит натрия–сульфат церия, хорошо зарекомендовавшей себя в работах [4, 5], и протекала в гомогенных условиях. Начальная температура полимеризации составила 25°C. Кинетические параметры процесса исследовали термометрическим методом, поскольку изменение температуры реакционной массы в условиях адиабатической полимеризации виниловых мономеров характеризует степень конверсии [7]. По достижению постоянного значения температуры реакционной массы реактор вместе с содержимым помещали в термостат и выдерживали 4 ч при 80°C для достижения максимальной степени конверсии. Полученные в виде однородного блока сополимеры, были полностью растворимы в воде в диапазоне рН 6–9, их измельчали механически и промывали 80% водным раствором изопропилового спирта для удаления остаточных количеств мономеров АА и АМПС-На, сушили на открытом воздухе и анализировали в виде их водных растворов, без предварительного разделения привитого сополимера ХТЗ, АА, АМПС-На и сополимера АА, АМПС-На

Усредненные свойства смеси привитого сополимера ХТЗ, АА, АМПС-На и сополимера АА, АМПС-На оценивали методами вискозиметрии: предельное число вязкости исследуемых образцов рассчитывали через время истечения растворов сополимеров, которое измеряли на вискозиметре ВПЖ-1 с диаметром капилляра 0.54 мм, динамическую вязкость реакционной массы измеряли ротационным вискозиметром Брукфильда модели RVE, седиментацию суспензии оксида меди II проводили в присутствии сополимеров как флокулянтов (с концентрацией 0.25 г/дл). Для определения времени истечения исследуемых образцов готовили водные растворы сополимеров в диапазоне концентраций 0.01–0.1%, с подавлением полиэлектролитного эффекта 10% раствором NaCl [7]. Спектральный анализ отдельных реагентов и полученного сополимера проводили с помощью ИК-фурье-спектрометра ФСМ 1201 (ООО «МОНИТОРИНГ», РФ). Образцы для исследования готовили

$$\frac{d \ln V_t}{d \ln [M_1]} = \frac{[M_1]}{V_t} \cdot \frac{dV_t}{d[M_1]} = \frac{[M_1]}{V_t} kn[M_1]^{n-1}[M_2]^m = n \frac{k[M_1]^n[M_2]^m}{C + k[M_1]^n[M_2]^m}.$$

Видим, что полученная величина будет заведомо меньше порядка реакции  $n$  по мономеру  $M_1$ , так как  $C > 0$ . Таким образом, угло-

из водных растворов с концентрацией исследуемого вещества 0.4 мас. % в виде тонких плёнок методом нанесения на флюоритовые стекла и сушки на открытом воздухе.

#### Расчётная часть

Термометрический метод для изучения кинетики сополимеризации имеет свои особенности [7]. Данный метод предполагает оценивать порядок реакции полимеризации по мономеру для случая гомополимеризации одного мономера (АА), когда скорость роста температуры системы представлена одним слагаемым:

$$V_t = \frac{dT}{dt} = k[AA]^n.$$

Для этого строится зависимость  $V_t$  от [АА] в двойных логарифмических координатах и через точки проводится прямая, угловой коэффициент которой равен  $n$ . Обычно берут значения  $V_t$  и [АА] при  $t = 0$  для ряда  $C_{AA}$ .

Для случая нескольких мономеров и, соответственно, нескольких реакций (со)полимеризации этот подход требует модификации, поскольку слагаемых несколько, а логарифм суммы не равен сумме логарифмов. Запишем температурную скорость реакции в виде:

$$V_t = C + k[M_1]^n[M_2]^m,$$

где  $M_1$  и  $M_2$  – мономеры,  $n$  и  $m$  – порядки реакции по ним,  $k$  – константа реакции (включая тепловой эффект и теплоёмкость), а через  $C$  обозначена сумма аналогичных слагаемых, описывающих реакции, мономеры в которых берутся при постоянных начальных концентрациях. Примем, что начальная концентрация мономера  $M_2$  также постоянна, а концентрация  $M_1$  – переменна, чтобы найти порядок реакции по этому мономеру. Начальный период реакции выбирается таким образом, чтобы изменения концентраций мономеров на нём было значимо меньше, чем сами эти концентрации и различия в значениях переменной концентрации  $[M_1]$  между экспериментами.

Если построить график зависимости  $V_t$  от  $[M_1]$  в двойных логарифмических координатах и провести к полученной кривой касательную (в ряде случаев её можно заменить прямой, проведённой через точки), то её угловой коэффициент будет равен:

вой коэффициент проведённой прямой даёт нижнюю оценку искомого порядка реакции по мономеру  $M_1$ .



В случае, когда мономер участвует в нескольких реакциях, расчёты можно провести лишь при допущении, что порядок каждой из них по этому мономеру одинаков и может быть вынесен за аналогичную дробь. Иначе будет получена некая усреднённая величина (средний порядок реакции).

### Результаты и их обсуждение

В условии эксперимента следует ожидать реакции прививки мономеров по трем направлени-

ям: по гидроксо-группам хитозана и двойной связи 2-акриламидо-2-метилпропансульфонокислоты, связанной с амино-группой хитозана.

На рис. 1 приведены ИК-спектры плёнок, полученных из водных растворов гомополимера АА (полиакриламида – ПАА) (1); нейтрализованной 2-акриламидо-2-метилпропансульфонокислоты (АМПС-Na) (2); сополимера АА и АМПС-Na (3); ХТЗ в 2-акриламидо-2-метилпропансульфонокислоте (4) и сополимера ХТЗ с АА и 2-акриламидо-2-метилпропансульфонатом натрия (5).

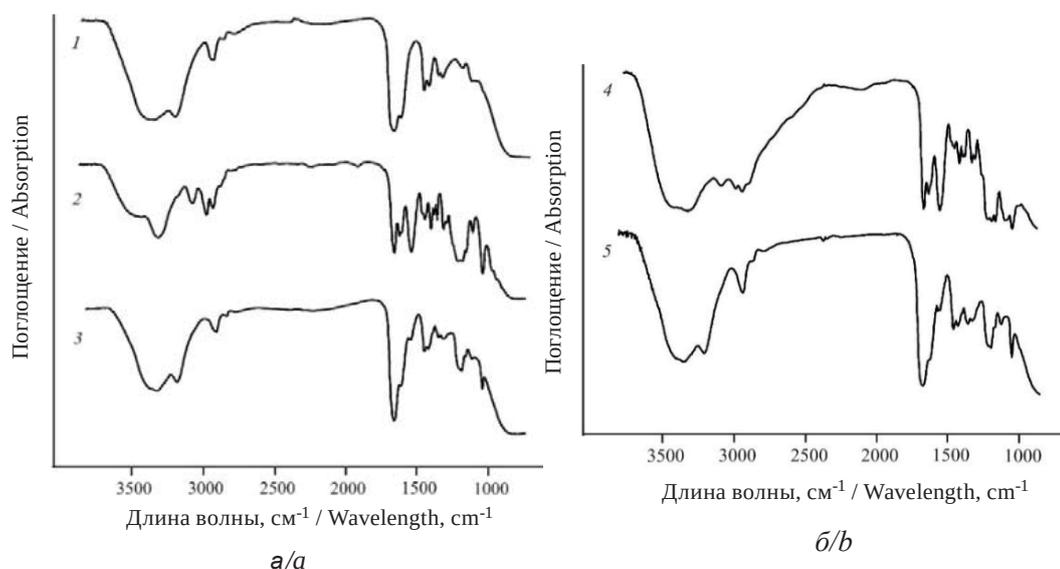


Рис. 1. Фурье-ИК-спектры: (1) ПАА; (2) АМПС-Na; (3) сополимер АА и АМПС-Na; (4) АМПС:ХТЗ; (5) привитого сополимера ХТЗ, АА и АМПС-Na (мольное отношение [АА]:[АМПС-Na] = 90:10; [АА]+[АМПС-Na] = 3.0 М; [ХТЗ] = 0.6 мас.%; [ПСА] =  $1.46 \cdot 10^{-4}$  М; [МБ-Na] =  $1.58 \cdot 10^{-4}$  М;  $[\text{Ce}(\text{SO}_4)_2] = 0.36 \cdot 10^{-6}$  М;  $T_0 = 25^\circ\text{C}$ )

Fig. 1. The IR spectra of (1) PAM; (2) AMPS-Na; (3) copolymer PAM and AMPS-Na; (4) AMPS-Chs; (5) graft copolymer Chs- p(AM-AMPS-Na) (mole ratio [AM]:[AMPS-Na] = 90:10; [AM]+[AMPS-Na] = 3.0 mole/L; [Chs] = 0.6 mas.%; [APS] =  $1.46 \cdot 10^{-4}$  mole/L; [SMB] =  $1.58 \cdot 10^{-4}$  mole/L;  $[\text{Ce}(\text{SO}_4)_2] = 0.36 \cdot 10^{-6}$  mole/L;  $T_0 = 25^\circ\text{C}$ )

В ИК-спектре ПАА (1) наблюдаются полосы поглощения при  $1664 \text{ см}^{-1}$ , характерные для валентных колебаний C=O, и деформационные колебания  $\text{NH}_2$ -группы первичного амида при  $1615 \text{ см}^{-1}$ .

В ИК-спектре АМПС-Na (2) имеются характерные полосы поглощения при  $1664 \text{ см}^{-1}$  для валентных колебаний C=O,  $1549 \text{ см}^{-1}$ , принадлежащие деформационным колебаниям N-H вторичного амида, и валентные колебания, относящиеся к сульфокислоте ( $-\text{SO}_2-$ ) при  $1250$ ,  $1222$  и  $1047 \text{ см}^{-1}$ .

В ИК-спектре сополимера АА и АМПС-Na (3) имеются максимум поглощения при  $1615 \text{ см}^{-1}$  (характерный для первичного и вторичного амида), деформационные колебания при  $1547 \text{ см}^{-1}$

для N–H связи и  $1210$  и  $1188 \text{ см}^{-1}$ , соответствующие валентным колебаниям S=O группы.

В ИК-спектре водного раствора ХТЗ в 2-акриламидо-2-метилпропансульфонокислоте (АМПС:ХТЗ) (4) наблюдается полоса с максимумом поглощения при  $1670 \text{ см}^{-1}$ , характерная для валентных колебаний C=O группы, и полосы при  $1605$  и  $1547 \text{ см}^{-1}$ , которые можно отнести к деформационным колебаниям протонированной аминогруппы  $-\text{NH}_3^+$  хитозана и деформационным колебаниям связи N–H вторичного амида АМПС. Полосы при  $1215$  и  $1186 \text{ см}^{-1}$  относятся к валентным колебаниям S=O группы. Характерные колебания связи C–O в кольце хитозана наблюдаются при  $1105$  и  $1091 \text{ см}^{-1}$ .



В ИК-спектре плёнки из водного раствора смеси привитого сополимера ХТЗ, АА, АМПС-На и сополимера АА, АМПС-На (5) присутствуют полосы поглощения валентных колебаний С=О группы при  $1668\text{ см}^{-1}$ , полоса при  $1617\text{ см}^{-1}$ , отнесённая к деформационным колебаниям  $\text{NH}_2$  группы первичного амида (АА), и  $1550\text{ см}^{-1}$  для деформационных колебаний связи N–H вторичного амида (АМПС). Имеют место полосы при  $1187$  и  $1158\text{ см}^{-1}$ , характерные для валентных колебаний S=O (АМПС). Также наблюдается характерная полоса при  $1110\text{ см}^{-1}$  для связи С–О углеродного скелета пиранозного кольца хитозана, что доказывает наличие привитых звеньев АА и АМПС на хитозан [4, 8, 9].

По предварительным данным [3–5], учитывая стерические затруднения, свойственные объёмистой молекуле АМПС-На, можно ожидать протекания следующих реакций полимеризации:

1) прививка АА на ХТЗ;

2) полимеризация АМПС-На с АА (на краю боковой цепочки сополимера с ХТЗ, гомополимера или сополимера без ХТЗ);

3) полимеризация АА на АА (на краю боковой цепочки сополимера с ХТЗ, гомополимера или сополимера без ХТЗ).

На первом этапе изучали кинетику процесса при постоянном составе иницирующей системы ( $[\text{ПСА}] = 1.46 \cdot 10^{-4}\text{ М}$ ,  $[\text{МБ-На}] = 1.58 \cdot 10^{-4}\text{ М}$ ,  $[\text{Ce}(\text{SO}_4)_2] = 0.36 \cdot 10^{-6}\text{ М}$ ), варьируя только концентрации субстрата (ХТЗ) и мономеров. Поскольку охарактеризовать коли-

чественный состав образующихся сополимеров возможным не представлялось, в дальнейшем сополимеры идентифицировали по составу исходной мономерной смеси.

Для определения влияния концентрации ХТЗ на кинетические и вязкостные свойства реакционной массы количество вводимого полисахаридного субстрата варьировали в диапазоне  $0.01\text{--}1.0\text{ мас.}\%$ . Рис. 2 отражает влияние начальной концентрации ХТЗ на кинетику привитой сополимеризации (АА, АМПС-На, ХТЗ) и на характеристики полученных сополимеров. Кривая зависимости начальной скорости сополимеризации  $V_0$  (кривая 1) в исследуемом диапазоне концентраций ХТЗ имеет максимум около  $C_{\text{ХТЗ}} = 0.2\text{ мас.}\%$ , в то время как усредненное значение предельного числа вязкости  $[\eta]$  (кривая 2) полученных сополимеров монотонно растёт с  $C_{\text{ХТЗ}}$ . Подобный эффект изменения скорости реакции наблюдался авторами [6] при проведении привитой полимеризации АА на крахмал. Найденный порядок реакции для ХТЗ в диапазоне концентраций  $0.2\text{--}1\%$  имеет отрицательное значение ( $-0.9$ ), что можно объяснить увеличением вязкости реакционной среды, приводящей к диффузионным затруднениям (см. рис. 2, б). На основании полученных данных (см. рис. 2), количество вводимого полисахаридного субстрата  $0.6\text{ мас.}\%$  было выбрано как одно из основных условий синтеза. Поскольку при данной концентрации вязкость реакционной среды незначительно влияет на скорость сополимеризации  $V_0$ .

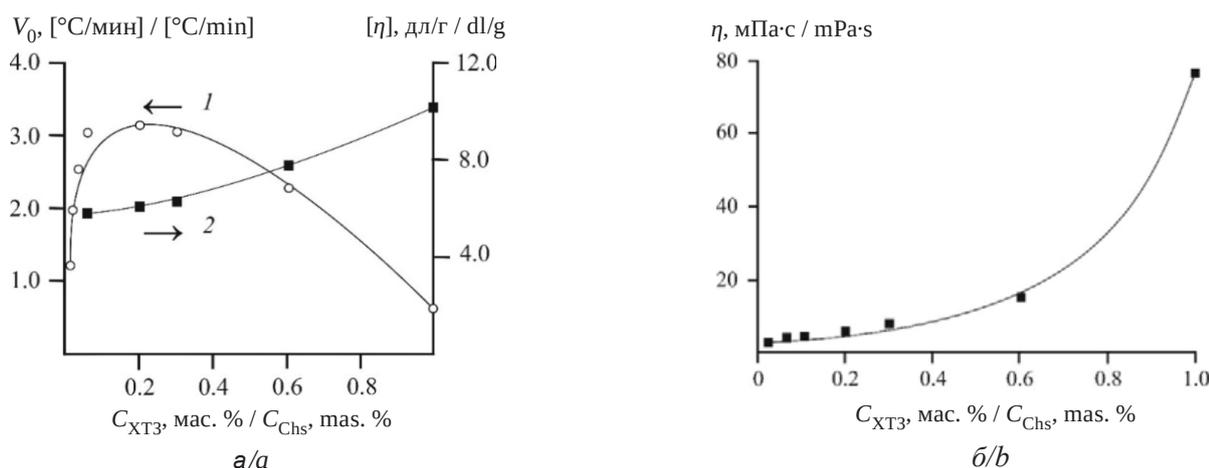


Рис. 2. Зависимость начальной скорости сополимеризации  $V_0$  (1), усредненного значения предельного числа вязкости сополимера  $[\eta]$  (2) (а) и динамической вязкости исходной мономерной смеси  $\eta$  (б) от концентрации ХТЗ в реакционной массе при мольном отношении  $[\text{АА}]:[\text{АМПС-На}] = 90:10$ ;  $[\text{АА}]+[\text{АМПС-На}] = 3.0\text{ М}$ ;  $[\text{ХТЗ}] = 0.6\text{ мас.}\%$ ;  $[\text{ПСА}] = 1.46 \cdot 10^{-4}\text{ М}$ ;  $[\text{МБ-На}] = 1.58 \cdot 10^{-4}\text{ М}$ ;  $[\text{Ce}(\text{SO}_4)_2] = 0.36 \cdot 10^{-6}\text{ М}$ ;  $T_0 = 25^\circ\text{C}$

Fig. 2. The effect of chitosan concentration (ChT) on the reaction rate  $V_0$  (1), averaged intrinsic viscosity of copolymers  $[\eta]$  (2) (a) and dynamic viscosity of monomers soluble  $\eta$  (b) (mole ratio  $[\text{AM}]:[\text{AMPS-Na}] = 90:10$ ;  $[\text{AM}]+[\text{AMPS-Na}] = 3.0\text{ mole/L}$ ;  $[\text{Chs}] = 0.6\text{ mas.}\%$ ;  $[\text{APS}] = 1.46 \cdot 10^{-4}\text{ mole/L}$ ;  $[\text{SMB}] = 1.58 \cdot 10^{-4}\text{ mole/L}$ ;  $[\text{Ce}(\text{SO}_4)_2] = 0.36 \cdot 10^{-6}\text{ mole/L}$ ;  $T_0 = 25^\circ\text{C}$ )



Изучение влияния состава исходной мономерной смеси на кинетику сополимеризации проводили при варьировании концентрации АА и АМПС-Нав диапазоне 2.0–3.5 М и 0.075–0.6 М соответственно, полученные результаты представлены на рис. 3. Видим, что с увеличением концентрации каждого из мономеров АА и АМПС-На в составе исходной мономерной смеси возрастают значения начальной скорости реакции. Найденные усреднённые значения порядков реакции по АА и АМПС-На составили 1.31 и 0.42 соответственно.

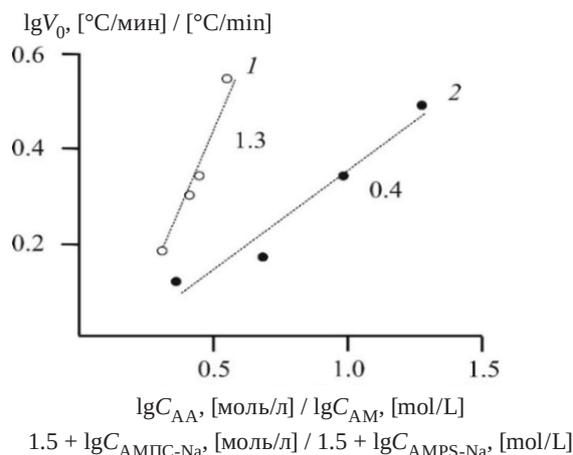


Рис. 3. Зависимость начальной скорости  $V_0$  сополимеризации АА, АМПС-На и ХТЗ от концентрации АА (1) и АМПС-На (2) при [АМПС-На] = 0.3 (1) и [АА] = 2.7 М (2); [ХТЗ] = 0.6 мас.%; [ПСА] =  $1.46 \cdot 10^{-4}$  М; [МБ-На] =  $1.58 \cdot 10^{-4}$  М; [Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] =  $0.36 \cdot 10^{-6}$  М;  $T_0 = 25^\circ\text{C}$   
Fig. 3. The effect of monomers concentration АМ (1) and АМPS-На (2) on the reaction rate. In conditions of mole ratio [АМPS-На] = 0.3 (1) and [АМ] = 2.7 mole/L (2); [Chs] = 0.6 mas.%; [APS] =  $1.46 \cdot 10^{-4}$  mole/L; [SMB] =  $1.58 \cdot 10^{-4}$  mole/L; [Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] =  $0.36 \cdot 10^{-6}$  mole/L;  $T_0 = 25^\circ\text{C}$

Учитывая перечень возможных реакций, можно предположить, что порядок реакции (со) полимеризации АА на АА (на конце цепочки с и без ХТЗ) будет равен 2, а порядок реакции (со) полимеризации АА на ХТЗ или АМПС-На будет равен 1. Порядок реакции (со) полимеризации АМПС-На на АА (на конце цепочки с и без ХТЗ) может быть равен единице, поскольку 0.42 – это нижний предел.

На рис. 4 представлено влияние состава исходной мономерной смеси на вязкостные и флокулирующие свойства образующихся сополимеров АА, АМПС-На и ХТЗ. Наибольшими значениями усредненного предельного числа вязкости и скоростью осаждения стандартной суспензии оксида меди (CuO) обладали сополи-

меры с наименьшим содержанием ионогенного мономера АМПС-На. По-видимому, они имели наибольшую молекулярную массу и высокие степени прививки. Это следствие более высокой реакционной способности акриламида при сополимеризации по сравнению с АМПС-На.

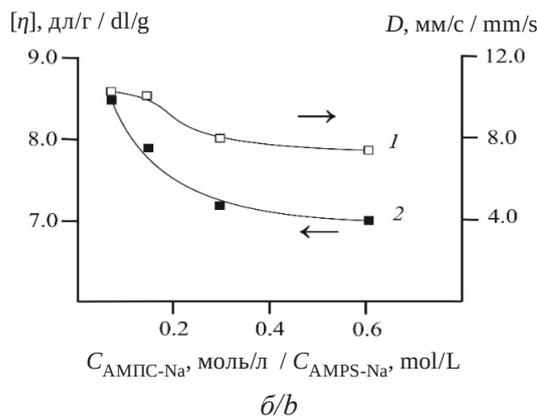
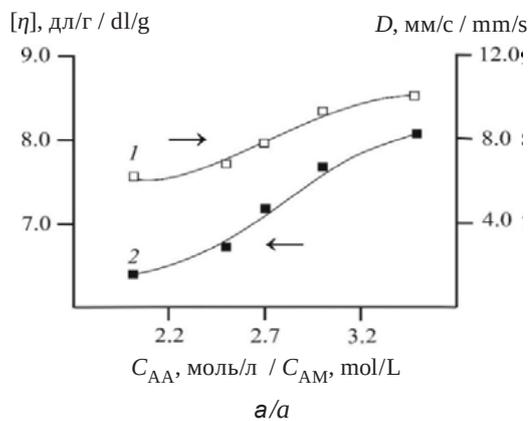


Рис. 4. Зависимость усредненной скорости осаждения стандартной суспензии CuO (1) и усредненного предельного числа вязкости суспензии сополимеров (2) от концентрации [АА] = 2.0–3.5 М (а), [АМПС-На] = 0.075–0.6 М (б) в исходной мономерной смеси при неизменном содержании [АМПС-На] = 0.3 М (а); [АА] = 2.7 М (б) и [ХТЗ] = 0.6 мас.%; [ПСА] =  $1.46 \cdot 10^{-4}$  М; [МБ-На] =  $1.58 \cdot 10^{-4}$  М; [Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] =  $0.36 \cdot 10^{-6}$  М;  $T_0 = 25^\circ\text{C}$

Fig. 4. The effect of monomers concentration [АМ] = 2.0–3.5 mole/L (a) and [АМPS-На] = 0.075–0.6 mole/L (b) on the averaged sedimentation rate of suspension CuO (1) and averaged intrinsic viscosity of copolymers (2) at [АМPS-На] = 0.3 mole/L (a); [АМ] = 2.7 mole/L (b), [Chs] = 0.6 mas.%; [APS] =  $1.46 \cdot 10^{-4}$  mole/L; [SMB] =  $1.58 \cdot 10^{-4}$  mole/L; [Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] =  $0.36 \cdot 10^{-6}$  mole/L;  $T_0 = 25^\circ\text{C}$

Зависимость начальной скорости сополимеризации  $V_0$ ,  $[\eta]$  и  $D$  полученных сополимеров от суммарной концентрации мономеров АА+АМПС-На представлена на рис. 5. Наблюдается увеличение усредненного предель-

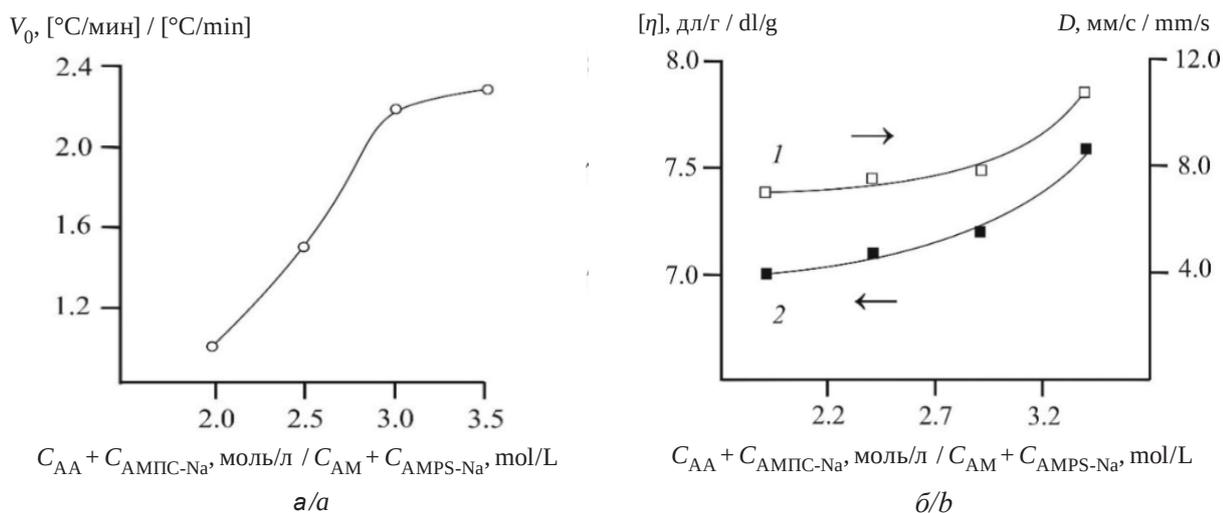


Рис. 5. Зависимости начальной скорости сополимеризации (а) и усредненных вязкостных и флокуляционных свойств сополимеров (б) от суммарной концентрации  $[AA]+[AMPC-Na]$  при мольном отношении  $[AA]:[AMPC-Na] = 90:10$ ,  $[XTЗ] = 0.6$  мас.%,  $[ПСА] = 1.46 \cdot 10^{-4}$  М,  $[МБ-Na] = 1.58 \cdot 10^{-4}$  М;  $[Ce(SO_4)_2] = 0.36 \cdot 10^{-6}$  М;  $T_0 = 25^\circ C$

Fig. 5. The effect of overall monomers concentration  $[AM]+[AMPS-Na]$  on the reaction rate (a) and on the overall sedimentation rate of suspension CuO (1) and averaged intrinsic viscosity of copolymers (b) at mole ratio  $[AM]:[AMPS-Na] = 90:10$ ;  $[AM]+[AMPS-Na] = 3.0$  mole/L;  $[Chs] = 0.6$  mas.%;  $[APS] = 1.46 \cdot 10^{-4}$  mole/L;  $[SMB] = 1.58 \cdot 10^{-4}$  mole/L;  $[Ce(SO_4)_2] = 0.36 \cdot 10^{-6}$  mole/L;  $T_0 = 25^\circ C$

ного числа вязкости привитых сополимеров с ростом суммарной концентрации мономеров AA+AMPC-Na (см. рис. 5, б, кривая 2), что также подтверждается данными усредненной скорости седиментации стандартной суспензии оксида меди (кривая 1) и говорит об увеличении степени прививки и средней ММ синтезированных сополимеров. Полученные данные согласуются с общими закономерностями радикальной полимеризации для виниловых мономеров [3].

На втором этапе исследований изучали кинетику процесса и молекулярные характеристики сополимеров в зависимости от состава иницирующей системы при условии  $[AA]+[AMPC-Na] = 3.0$  М, мольном отношении  $[AA]:[AMPC] = 90:10$ , с целью сравнения  $[\eta]$  и  $D$  полученных сополимеров от взаимодействия (субстрат + мономер) – инициатор при  $[XTЗ] = 0.6$  мас.% и при неизменных значениях остальных параметров реакционной среды. Конечная температура реакционной массы не превышала  $100^\circ C$ .

Персульфат аммония (ПСА) – известный и распространённый инициатор радикальной полимеризации, однако его недостатком является побочный процесс деструкции полисахаридных цепей. Данный недостаток отсутствует у соединений Ce(IV), поскольку образование активных

центров на цепях полисахарида не сопровождается их деструкцией [4, 5]. Поэтому введение ионов Ce(IV) в состав иницирующей системы позволяет уменьшить концентрацию ПСА без ущерба для скорости процесса и соответственно снизить деструкцию хитозана.

Влияние содержания ПСА и МБ-Na в исходной реакционной смеси на кинетические параметры и молекулярные характеристики сополимеров изучали в диапазоне концентраций  $(0.72-2.19) \cdot 10^{-4}$  М для каждого компонента соответственно. Увеличение концентраций ПСА и МБ-Na ожидаемо приводило к росту начальной скорости реакции  $V_0$ . Найденные значения порядков реакции составили 0.47 по ПСА (рис. 6, а, прямая 1) и 0.55 по МБ-Na (см. рис. 6, а, прямая 2). Величины порядков реакции по ПСА и МБ-Na, близкие к 0.5, свидетельствуют о бимолекулярном обрыве кинетических цепей.

Влияние концентрации сульфата церия  $Ce(SO_4)_2$  на кинетические параметры и характеристики сополимеров изучали в диапазоне концентраций  $(0.144-0.65) \cdot 10^{-6}$  М в реакционной массе (см. рис. 6, б). С увеличением концентрации  $Ce(SO_4)_2$  в исходной мономерной смеси наблюдался рост начальной скорости во всём исследуемом диапазоне концентрации. Найденный порядок реакции составил 1.03 (близок к единице).

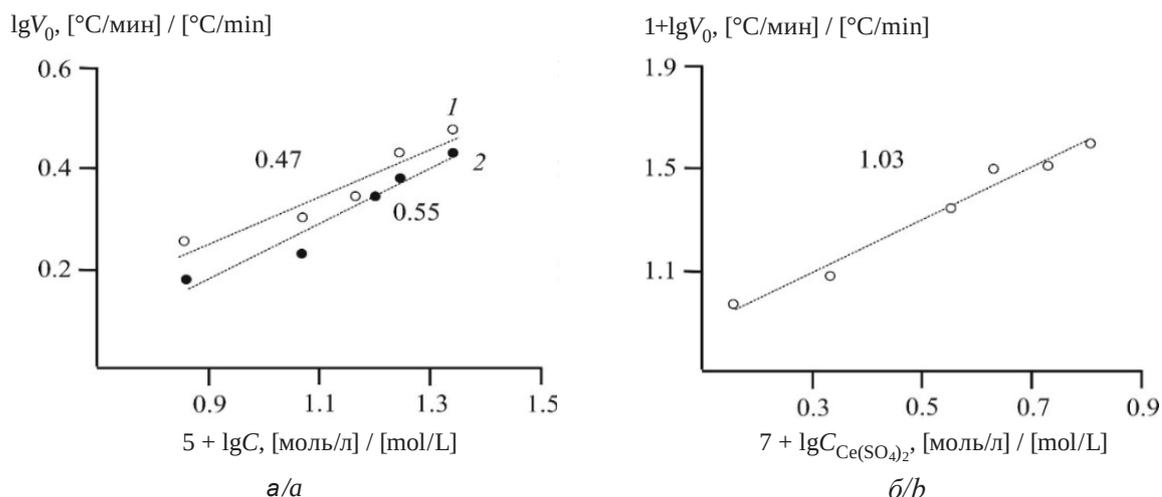


Рис. 6. Зависимость начальной скорости сополимеризации  $V_0$  от концентрации ПСА (1), МБ-На (2) (а) и  $Ce(SO_4)_2$  (б) при  $[AA] + [AMPC-Na] = 3.0$  М; мольном отношении  $[AA]:[AMPC] = 90:10$ ;  $[XT3] = 0.6$  мас.%;  $T_0 = 25^\circ C$   
 Fig. 6. The effect of initiator concentrations APS (1), SMB (2) (a) and  $Ce(SO_4)_2$  (b) on the reaction rate at  $[AM] + [AMPS-Na] = 3.0$  mole/L; mole ratio  $[AM]:[AMPS-Na] = 90:10$ ;  $[Chs] = 0.6$  mas.%;  $T_0 = 25^\circ C$

Варьирование концентраций ПСА и МБ-На в исследуемом диапазоне не оказало существенного влияния на усредненное предельное число вязкости полученных сополимеров. Однако усредненная скорость седиментации стандартной суспензии оксида меди уменьшалась с ростом концентрации ПСА (рис. 7, кривая 1), что косвенно подтверждает деградацию полимерных цепей под действием этого компонента иницирующей системы, в то время как усредненная скорость седиментации оставалась практически постоянной при изменении концентрации МБ-На в реакционной массе (см. рис. 7, кривая 2). Повышение концентрации  $Ce(SO_4)_2$  приводит к ускорению седиментации (см. рис. 7, кривая 3).

Влияние начальной температуры реакционной массы на кинетику процесса изучали в интервале  $10-25^\circ C$ . Полученная линейная зависимость начальной скорости сополимеризации от температуры в координатах уравнения Аррениуса представлена на рис. 8. Расчётное значение усреднённой энергии активации сополимеризации АА, АМПС-На и ХТЗ в присутствии иницирующей системы  $(NH_4)_2S_2O_8-Na_2S_2O_5-Ce(SO_4)_2$  составило  $E_{cp} = 36$  кДж/моль. Такое значение характерно для полимеризации, инициированной окислительно-восстановительными системами [5].

Существенного влияния начальной температуры реакционной среды на свойства полученных сополимеров обнаружено не было.

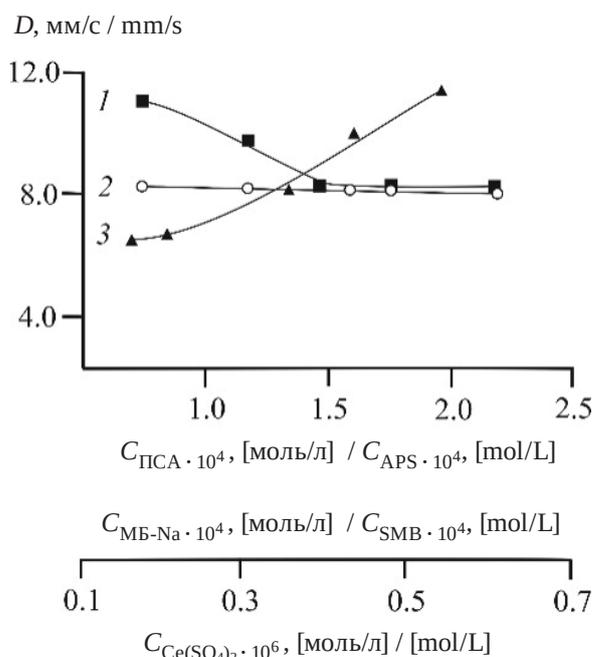


Рис. 7. Зависимость усредненной скорости седиментации стандартной суспензии оксида меди в присутствии сополимеров АА, АМПС-На, ХТЗ и АА, АМПС-На от концентрации ПСА (1), МБ-На (2) и  $Ce(SO_4)_2$  (3) при  $[AA]+[AMPC-Na] = 3.0$  М, мольном отношении  $[AA]:[AMPC] = 90:10$ ;  $[XT3] = 0.6$  мас.%

Fig. 7. The effect of initiator concentrations APS (1), SMB (2) and  $Ce(SO_4)_2$  (3) on the on the averaged sedimentation rate of suspension CuO in the presence of copolymers of AM, AMPS-Na, Chs and AM, AMPS-Na at  $[AM]+[AMPS-Na] = 3.0$  mole/L, mole ratio  $[AM] : [AMPS] = 90:10$ ;  $[Chs] = 0.6$  mas.%

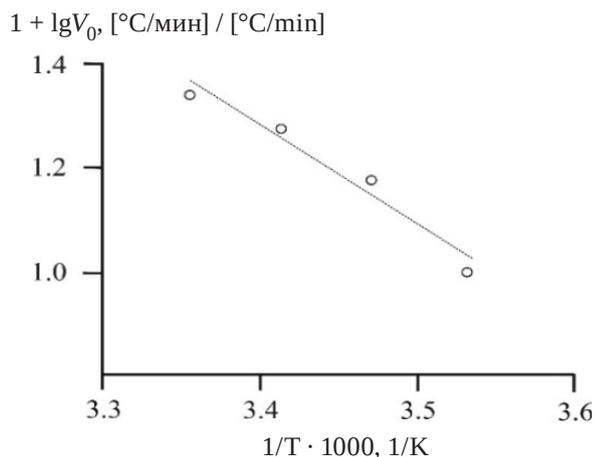


Рис. 8. Зависимость начальной скорости сополимеризации АА, АМПС-Na и ХТЗ от начальной температуры полимеризации при  $[AA] + [AMPS-Na] = 3.0$  М, мольном отношении  $[AA]:[AMPS-Na] = 90:10$ ,  $[ХТЗ] = 0.6$  мас.%,  $[ПСА] = 1.46 \cdot 10^{-4}$  М,  $[МБ-Na] = 1.58 \cdot 10^{-4}$  М,  $[Ce(SO_4)_2] = 0.36 \cdot 10^{-6}$  М

Fig. 8. The effect of reaction temperature on the reaction rate copolymerization of AM, AMPS-Na and Chs at  $[AM] + [AMPS-Na] = 3.0$  mole/L, mole ratio  $[AM]:[AMPS] = 90:10$ ;  $[Chs] = 0.6$  mas.%,  $[APS] = 1.46 \cdot 10^{-4}$  mole/L;  $[SMB] = 1.58 \cdot 10^{-4}$  mole/L;  $[Ce(SO_4)_2] = 0.36 \cdot 10^{-6}$  mole/L

### Заключение

Таким образом, в настоящей работе показаны кинетические особенности радикальной сополимеризации акриламида и 2-акриламидо-2-метилпропансульфоната натрия с хитозаном в концентрированных водных растворах. Дана оценка влияния условий синтеза на вязкостные и флокулирующие свойства полученных сополимеров. Установлено, что наиболее высокими значениями усредненного предельного числа вязкости и усредненной скоростью седиментации стандартной суспензии оксида меди обладали сополимеры, синтезированные при высоких концентрациях хитозана, суммарной концентрации мономеров акриламида и натриевой соли 2-акриламидо-2-метилпропансульфокислоты, и сульфата церия (IV), как инициатора привитой сополимеризации. Общий выход составил 95%. Данные сополимеры могут быть использованы для добычи и разведки нефти, в качестве флокулянтов для очистки сточных вод гальвано- и металлургической промышленности.

### Список литературы

1. Besra L., Sengupta D. K., Roy S. K., Ay P. Studies on flocculation and dewatering of kaolin suspensions by anionic polyacrylamide flocculant in the presence of

some surfactants // Intern. J. of Mineral Processing. 2002. Vol. 66. P. 1–28. [https://doi.org/10.1016/s0301-7516\(01\)00081-3](https://doi.org/10.1016/s0301-7516(01)00081-3)

2. Нечаев А. И., Лебедева И. И., Вальцифер В. А., Стрельников В. Н. Исследование влияния состава тройного сополимера акриламида, нитрила акриловой кислоты и 2-акриламидо-2-метилпропансульфоновой кислоты на его устойчивость к термосолевым агрессиям // Журнал прикладной химии. 2016. Т. 89, № 8. С. 1047–1053. <https://doi.org/10.1134/S1070427216080139>
3. Куренков В. Ф., Утикеева А. Р. Влияние ионной силы на сополимеризацию акриламида с натриевой солью 2-акриламидо-2-метилпропансульфокислоты в водных растворах // Высокомолекулярные соединения. Серия А. 2000. Т. 42, № 4. С. 587–593.
4. Мочалова А. Е., Заборщикова Н. В., Князев А. А., Смирнова Л. А., Извозчикова В. А., Медведева В. В., Семчиков Ю. Д. Привитая полимеризация акриламида на хитозан: структура и свойства сополимеров // Высокомолекулярные соединения. Серия А. 2006. Т. 48, № 9. С. 1588–1594. <https://doi.org/10.1134/S0965545X06090069>
5. Баранов И. А., Андриянова Н. А., Мочалова А. Е., Сибиркин А. А., Батенькин М. А., Смирнова Л. А. Привитая полимеризация акрилонитрила и метилакрилата на хитозан в присутствии комплексов кобальта III // Высокомолекулярные соединения. Серия Б. 2012. Т. 54, № 3. С. 498–505. <https://doi.org/10.1134/s1560090412030013>
6. Abdel-Razik E. S. A., Badawy D. S., El Nahas E. A. Graft copolymerization of acrylamide onto corn starch using mohr's salt/hydrogen peroxide redox system in aqueous media under visible light // Intern. J. Modern Organic Chemistry. 2015. Vol. 4. P. 1–17.
7. Байбурдов Т. А., Шиповская А. Б. Синтез, химические и физико-химические свойства полимеров акриламида: учебное пособие. Саратов : Саратовский источник, 2019. 94 с.
8. Rosa F., Bordado J., Casquilho M. Hydrosoluble copolymers of acrylamide-(2-acrylamido-2-methylpropanesulfonic acid). Synthesis and characterization by spectroscopy and viscometry // J. of Applied Polymer Science. 2003. Vol. 87. P. 192–198. <https://doi.org/10.1002/app.11325>
9. Ullah K., Sohail M., Mannan A., Rashid H., Shah A., Murtaza G., Khan S. A. Facile synthesis of chitosan based-(amps-co-aa) semi-ipns as a potential drug carrier: Enzymatic degradation, cytotoxicity, and preliminary safety evaluation // Curr. Drug Deliv. 2019. Vol. 16. P. 242–253. <https://doi.org/10.2174/1567201815666181024152101>

### References

1. Besra L., Sengupta D. K., Roy S. K., Ay P. Studies on flocculation and dewatering of kaolin suspensions by anionic polyacrylamide flocculant in the presence of



- of some surfactants. *Intern. J. of Mineral Processing*, 2002, vol. 66, pp. 1–28. [https://doi.org/10.1016/s0301-7516\(01\)00081-3](https://doi.org/10.1016/s0301-7516(01)00081-3)
2. Nechaev A. I., Lebedeva I. I., Val'tsifer V. A., Strel'nikov V. N. Influence of the composition of acrylamide-acrylonitrile-2-acrylamido-2-methylpropanesulfonic acid terpolymer on its resistance to high temperatures and salts. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 2016, vol. 89, no. 8, pp. 1296–1301 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S1070427216080139>
  3. Kurenkov V. F., Utikeeva A. R. The effect of ionic strength on copolymerization of acrylamide with sodium salt of 2-acrylamido-2-methylpropanesulfonic acid in aqueous solutions. *Polymer Science, Seriya A*, 2002, vol. 42, no. 4, pp. 372–377.
  4. Mochalova A. E., Zaborshchikova N. V., Knyazev A. A., Smirnova L. A., Izvozchikova V. A., Medvedeva V. V., Semchikov Yu. D. Graft polymerization of acrylamide on chitosan: copolymer structure and properties. *Polymer Science, Seriya A*, 2006, vol. 48, no. 9, pp. 918–923. <https://doi.org/10.1134/S0965545X06090069>
  5. Baranov I. A., Andriianova N. A., Mochalova A. E., Sibirkin A. A., Baten'kin M. A., Smirnova L. A. Grafted polymerization of acrylonitrile and methylacrylate on chitosan in the presence of complexes cobalt III. *Polymer Science, Series B*, 2012, vol. 54, no. 3, pp. 167–174. <https://doi.org/10.1134/s1560090412030013>
  6. Abdel-Razik E. S. A., Badawy D. S., El Nahas E. A. Graft copolymerization of acrylamide onto corn starch using mohr's salt/hydrogen peroxide redox system in aqueous media under visible light. *Intern. J. Modern Organic Chemistry*, 2015, vol. 4, pp. 1–17.
  7. Bayburdov T. A., Shipovskaya A. B. *Sintez, khimicheskie i fiziko-khimicheskie svoistva polimerov akrilamida* [Synthesis of chemical and physico-chemical properties of acrylamide polymers]. Saratov, Saratovskii istochnik Publ., 2019. 94 p. (in Russian).
  8. Rosa F., Bordado J., Casquilho M. Hydrosoluble copolymers of acrylamide-(2-acrylamido-2-methylpropanesulfonic acid). Synthesis and characterization by spectroscopy and viscometry. *J. of Applied Polymer Science*, 2003, vol. 87, pp. 192–198. <https://doi.org/10.1002/app.11325>
  9. Ullah K., Sohail M., Mannan A., Rashid H., Shah A., Murtaza G., Khan S. A. Facile synthesis of chitosan based-(amps-co-aa) semi-ipsn as a potential drug carrier: Enzymatic degradation, cytotoxicity, and preliminary safety evaluation. *Curr. Drug Deliv.*, 2019, vol. 16, pp. 242–253. <https://doi.org/10.2174/1567201815666181024152101>

Поступила в редакцию 17.10.22; одобрена после рецензирования 08.11.22; принята к публикации 16.11.22  
 The article was submitted 17.10.22; approved after reviewing 08.11.22; accepted for publication 16.11.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 28–38

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 28–38

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-28-38>, EDN: KOVSGK

Научная статья

УДК 543.645:543.544.943.3

## Тонкослойная хроматография некоторых статинов в водно-органических подвижных фазах, модифицированных буферными растворами



Е. Г. Сумина , А. А. Кутина, В. З. Угланова

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Сумина Елена Германовна, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, [suminaeg@yandex.ru](mailto:suminaeg@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-7310-9459>

Кутина Ангелина Александровна, студент Института химии, [kutina2000@mail.ru](mailto:kutina2000@mail.ru)

Угланова Варсения Загидовна, кандидат химических наук, доцент кафедры нефтехимии и техногенной безопасности Института химии, [uglanovavz@mail.ru](mailto:uglanovavz@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-6638-4508>

**Аннотация.** Методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) изучено влияние ряда факторов на хроматографические свойства статинов (аторвастатина, розувастатина, симвастатина) в нормально-фазовом и обращенно-фазовом режимах хроматографирования с целью выбора наиболее эффективных аналитических систем для суммарного и раздельного определения статинов в фармацевтических препаратах. Исследование проводили методом восходящей ТСХ на коммерческих пластинах с полярной, слабополярной и неполярной фазами. Установлены факторы, существенно влияющие на эффективность и селективность хроматографического разделения статинов: природа неподвижной фазы (НФ), природа подвижной фазы (ПФ), природа и концентрация органического растворителя подвижной фазы, ионная сила раствора. Выявлено, что наиболее эффективной НФ являются обращенно-фазовые пластины RP-18, на которых статины разделяются с высоким значением числа теоретических тарелок (N) и наименьшим значением высоты эквивалентной теоретической тарелки (H). Из органических растворителей эффективным оказался апротонный растворитель ацетонитрил, который в ПФ состава ацетонитрил–вода (70:30) дает лучшие результаты хроматографического разделения статинов. Найдено, что при увеличении ионной силы раствора в диапазоне 0,1–1,5 моль (KCl) подвижность статинов изменяется незначительно, что сопровождается существенным размыванием хроматографических зон и ухудшением разделения статинов, в связи с чем в дальнейших исследованиях сильный электролит не вводился. В выбранных оптимальных условиях разделены бинарные смеси аторвастатина и симвастатина. Найдено, что наибольшая селективность разделения наблюдается в ПФ ацетонитрил – фосфатный буфер (70:30) при pH 3. При оптимизации условий хроматографирования проведено количественное определение аторвастатина в лекарственных препаратах «Аторвастатин-OBL», «Липримар» и «Тулип». Правильность и достоверность определения устанавливали применением стандартного препарата аторвастатина, Sr не превысило 0,01–0,02.

**Ключевые слова:** статины, тонкослойная хроматография, органические растворители, фосфатный буферный раствор

**Для цитирования:** Сумина Е. Г., Кутина А. А., Угланова В. З. Тонкослойная хроматография некоторых статинов в водно-органических подвижных фазах, модифицированных буферными растворами // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 28–38. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-28-38>, EDN: KOVSGK

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

### Thin layer chromatography of some statins in aqueous organic mobile phases modified with buffer solutions

E. G. Sumina , A. A. Kutina, V. Z. Uglanova

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Elena G. Sumina, [suminaeg@yandex.ru](mailto:suminaeg@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-7310-9459>

Angelina A. Kutina, [suminaeg@yandex.ru](mailto:suminaeg@yandex.ru)

Varseniya Z. Uglanova, [uglanovavz@mail.ru](mailto:uglanovavz@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-6638-4508>

**Abstract.** The influence of a number of factors on the chromatographic properties of statins (atorvastatin, rosuvastatin, simvastatin) in normal-phase and reverse-phase chromatography modes has been studied by the method of the thin-layer chromatography (TLC) in order to select the most effective analytical systems for the total and separate determination of statins in pharmaceuticals. The study has been



performed by ascending TLC on commercial plates with polar, weakly polar, and nonpolar phases. Efficiency and selectivity of chromatographic separation of statins have been established: the nature of the stationary phase (SF), the nature of the mobile phase (MF), the nature and concentration of the organic solvent of the mobile phase, the ionic strength of the solution. It has been revealed that the most effective SF are the reverse-phase plates RP-18, on which statins are separated with a high value of the number of theoretical plates (N) and the lowest value of the height of the equivalent theoretical plate (H). From organic solvents, the aprotic solvent acetonitrile turned out to be effective, which in the MF of the acetonitrile – water composition (70:30) gives the best results of chromatographic separation of statins. It has been found that with an increase in the ionic strength of the solution in the range of 0.1–1.5 mol (KCl), the mobility of statins changes slightly, which is accompanied by a significant blurring of chromatographic zones and deterioration of statin separation, and therefore no strong electrolyte was introduced in further studies. Binary mixtures of atorvastatin and simvastatin have been separated under selected optimal conditions. It has been found that the greatest selectivity of separation is observed in the MF acetonitrile – phosphate buffer (70:30) at pH 3. Quantitative determination of atorvastatin in «Atorvastatin-OBL», «Lipimar» and «Tulip» drugs has been carried out to optimize the chromatography conditions. The correctness and reliability of the determination has been established using the standard drug atorvastatin, Sr did not exceed 0.01–0.02.

**Keywords:** statins, thin layer chromatography, organic solvents, phosphate buffer solution

**For citation:** Sumina E. G., Kutina A. A., Uglanova V. Z. Thin layer chromatography of some statins in aqueous organic mobile phases modified with buffer solutions. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 28–38 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-28-38>, EDN: KOVSGK

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

## Введение

Статины представляют собой класс препаратов, которые специфически ингибируют 3-гидрокси-3-метилглутарилкоэнзим А-редуктазу – фермент, ограничивающий скорость биосинтеза холестерина [1]. Их применение эффективно в снижении общего холестерина и уровня холестерина низкой плотности в организме человека. Высокий уровень холестерина низкой плотности в плазме крови является фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний [2–4]. В настоящее время в медицине широко используют химически синтезированные и ферментативные статины: аторвастатин, симвастатин, розувастатин, ловастатин, правастатин, флувастатин и др. [1]. Статины применяют как отдельно, так и в сочетании с другими фармацевтическими препаратами для длительной терапии. В связи с этим важной аналитической задачей является разработка эффективных методов оценки их потенциальной чистоты и продуктов разложения, так как примеси и продукты распада лекарств часто являются причиной побочных негативных эффектов.

Анализ литературных данных показал, что для определения статинов в разнообразных объектах используют различные физико-химические методы [5, 6]. Но чаще всего применяют спектроскопические методы анализа [7–13] и высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) с различными детекторами [13–25], реже тонкослойную хроматографию [26–30]. Несмотря на высокую точность и селективность методов, а также современные технические возможности (широкий выбор сорбентов, доступ-

ных хроматографических колонок и детекторов), данные методы являются дорогостоящими, малодоступными и не распространены в широкой аналитической практике.

Цель данной работы состояла в оценке и сравнении аналитических возможностей водно-органических ПФ для определения статинов в лекарственных препаратах методом ТСХ.

## Материалы и методы

**Реагенты.** Использовали статины (рис. 1): аторвастатин (Атв), розувастатин (Рзв) и симвастатин (Смв) (Sigma, Aldrich, США), содержание основного вещества в коммерческих препаратах составило  $94,4 \div 95,3 \%$ .

Стандартные растворы исследуемых статинов с концентрацией 1 мг/мл готовили по точной навеске растворением в этаноле, затем доводили объем раствора водой до метки колбы. Рабочие растворы ( $1 \cdot 10^{-3} \div 1 \cdot 10^{-2}$  мг/мл) – разбавлением исходных в воде непосредственно перед использованием. До проведения эксперимента все растворы хранили в холодильной камере.

Для приготовления водно-органических подвижных фаз (ПФ) использовали этанол ректифицированный, ацетонитрил (о.с.ч.), уксусную кислоту (ч.д.а.); ацетатно-аммиачные буферные растворы (ААБ) (рН 3–8) готовили смешиванием необходимых количеств 2 М растворов уксусной кислоты и аммиака, а фосфатный буферный раствор – растворением в колбе (объемом 100 мл) 0,68 г калия дигидрофосфата, доводя до нужного рН потенциометрически с помощью концентрированной фосфорной кислоты; хлорид калия (KCl, х.ч.).

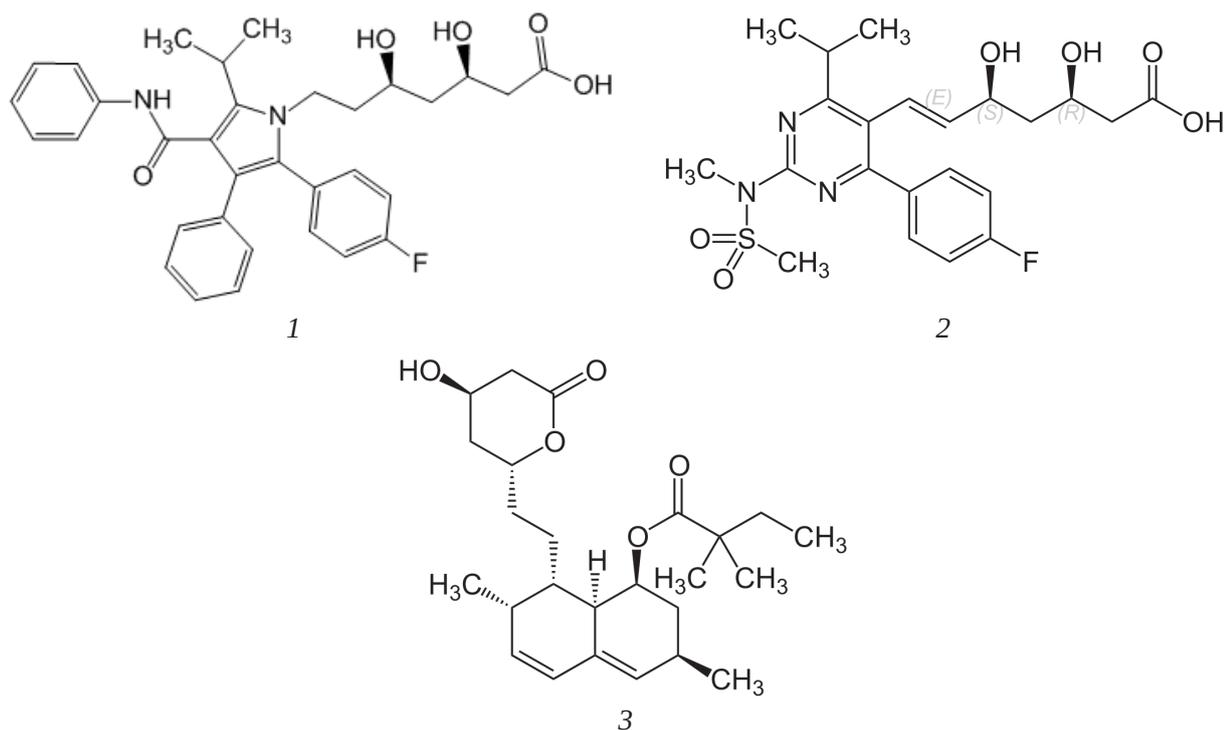


Рис. 1. Структура исследуемых статинов: 1 – **аторвастатин** ([R(R\*R\*)]-2-(4-Фторфенил)-бета, дельта-дигидрокси-(1-метилэтил)-3-фенил-4- [(фениламино)карбонил]-пиррол-1-гептановая кислота (и в виде кальциевой соли); 2 – **розувастатин** ((3R,5S,6E)-7-[4-(4-фторофенил)-2-(N-метилметансульфонамидо)-6-(пропан-2-ил)пиримидин-5-ил]-3,5-дигидрокси-гепт-6-еновая кислота); 3 – **симвастатин** (1S,3R,7S,8S,8aR)-8-{2-[(2R,4R)-4-гидрокси-6-оксотетрагидро-2H-пиран-2-ил]этил}-3,7-диметил-1,2,3,7,8,8a-гексагидронафтален-1-ил-2,2 диметилбутаноат

Fig.1. Structure of the studied statins: 1 – **atorvastatin** ([R(R\*R\*)]-2-(4- fluorophenyl)-beta, Δ-dihydroxy-(1-methyl-ethyl)-3- phenyl-4- [(phenylamino) carbonyl]- pyrrol-1- heptanoic acid (as calcium salt); 2 – **rosuvastatin** (3R,5S,6E)-7-[4-(4-fluorophenyl)-2-(N-methylmethanesulfonamido)-6-(propan-2-yl)pyrimidin-5-yl]-3,5-dihydroxyhept-6-enoic acid; 3 – **simvastatin** (1S,3R,7S,8S,8aR)-8-{2-[(2R,4R)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2H-pyran-2-yl]ethyl}-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl 2,2 dimethylbutanoate

**Аппаратура.** Исследования проводили методом восходящей ТСХ на коммерческих пластинах с полярной – Сорбфил на полимерной (ПП) и алюминиевой (Ал) подложках (Сорбполимер, Краснодар, Россия), слабополярной – Полиамид-6 (Fluka, Германия) и Плазмахром RP-3 (Россия) на полимерной (ПП) подложках, неполярной – RP-18 (Merck, Дармштадт, Германия) алюминиевой (Ал) подложке фазами.

Хроматографические зоны основных веществ статинов идентифицировали, обрабатывая пластины смесью свежеприготовленного  $2,5 \cdot 10^{-2}$  М водного раствора перманганата калия (зона окрашивалась в светло-желтый цвет). После хроматографирования и проявления пластинки сушили в течение 10 мин при 90 °С, охлаждали на воздухе, рассчитывали значения подвижности ( $R_f$ ) статинов, а также параметры эффективности разделения (число теоретических тарелок ( $N$ ) и высоту, эквивалентную теоретической тарелке, ВЭТТ ( $H$ ), разрешение ( $R_s$ ) и селективность ( $\alpha$ ).

Обработку параметров хроматограмм проводили с помощью многофункционального графического редактора «Adobe Photoshop CC 2018» (США).

Значения pH буферных растворов контролировали на приборе pH-метр (pH-673.M, Россия) со стеклянным индикаторным электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения.

Содержание аторвастатина оценивали в фармацевтических препаратах (таблетированные формы): «Аторвастатин-OBL» (Oblpharm, Россия), «Тулип» (Sandoz, Словения), «Липримар» (Pfizer, Германия). Содержание аторвастатина в таблетках составляло 10 мг.

### Результаты и их обсуждение

#### Водно-органические подвижные фазы

Анализ полученных результатов позволил выявить следующие факторы, влияющие на эффективность и селективность хроматографирования исследуемых статинов методом ТСХ:

– природа неподвижной фазы (НФ);



– природа и концентрация органического растворителя;  
 – рН подвижной фазы;  
 – ионная сила электролита.  
 Пример влияния природы неподвижной

фазы на хроматографическое поведение исследуемых веществ приведен на рис. 2. В качестве подвижной фазы апробирована система ацетонитрил – вода в соотношении 70:30, выбранная на основании данных литературы [31].

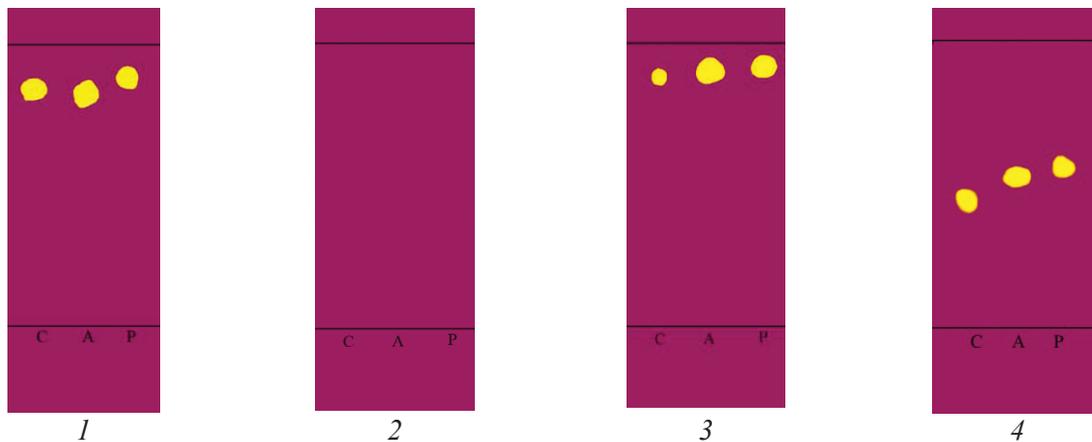


Рис. 2. Влияние природы НФ на хроматографическое поведение статинов ПФ: ацетонитрил – вода (70:30).  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  мг/мл. 1 – Сорбфил (А1), 2 – Полиамид-6 (ПП), 3 – RP-3 (ПП), 4 – RP-18 (ПП). С – симвастатин, А – аторвастатин, Р – розувастатин (цвет онлайн)

Fig. 2. Influence of the nature of SP on the chromatographic behavior of statins MP: acetonitrile – water (70:30).  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  mg/ml. 1 – Sorbfil (A1), 2 – Polyamide-6 (PP), 3 – RP-3 (PP), 4 – RP-18 (PP). С – simvastatin, А – atorvastatin, Р – rosuvastatin (color online)

Установлено, что хроматографические зоны на полярных и слабополярных сорбентах движутся либо с фронтом элюента (Сорбфил, RP-3) и имеют некомпактный вид, либо не обнаруживаются (Полиамид-6), т.е. оба типа НФ не пригодны для разделения анализируемых веществ в ПФ на водно-органической

основе. Хроматографические зоны сорбатов на неполярном сорбенте (RP-18) наиболее компактные и разрешенные. Это подтверждено и расчетом параметров эффективности, приведенных в табл. 1. Поэтому в дальнейшей работе использовали неполярную неподвижную фазу – RP-18.

Таблица 1 / Table 1

**Хроматографические параметры анализируемых систем в различных НФ. ПФ: ацетонитрил – вода (70:30). НФ: 1 – Сорбфил (А1), 2 – Полиамид-6, 3 – RP-3, 4 – RP-18.  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  мг/мл ( $n = 3, P = 0,95$ )**  
**Chromatographic parameters of the analyzed systems in various SP. MP: acetonitrile – water (70:30). SP: 1 – Sorbfil (A1), 2 – Polyamide-6 (PP), 3 – RP-3 (PP), 4 – RP-18.  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  mg/ml ( $n = 3, P = 0,95$ )**

НФ / SP	$\overline{R_f}$			N			H, мм / H, mm		
	Смв / Smv	Атв / Atv	Рзв / Rzv	Смв / Smv	Атв / Atv	Рзв / Rzv	Смв / Smv	Атв / Atv	Рзв / Rzv
1	0,84	0,83	0,88	1936	952	1495	0,0036	0,0074	0,0047
2	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3	0,89	0,90	0,91	1067	676	917	0,0066	0,0104	0,0076
4	<b>0,44</b>	<b>0,51</b>	<b>0,56</b>	<b>502</b>	<b>1156</b>	<b>829</b>	<b>0,0140</b>	<b>0,0061</b>	<b>0,0054</b>

Влияние природы и концентрации органического растворителя. Изучено хроматографическое поведение на НФ RP-18 исследуемых статинов в водно-органических ПФ на основе протонных (этиловый и другие спирты) и апротонных

(ацетонитрил) растворителей, которые наиболее часто используются в жидкостной хроматографии. Анализ литературных данных показал, что наиболее распространенным органическим растворителем при хроматографировании статинов



является ацетонитрил ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) [14, 17]. В связи с этим дальнейшие исследования проводили в водно-ацетонитрильных ПФ. На рис. 3 пред-

ставлены результаты влияния концентрации ацетонитрила на хроматографическое поведение статинов в водно-органической ПФ.

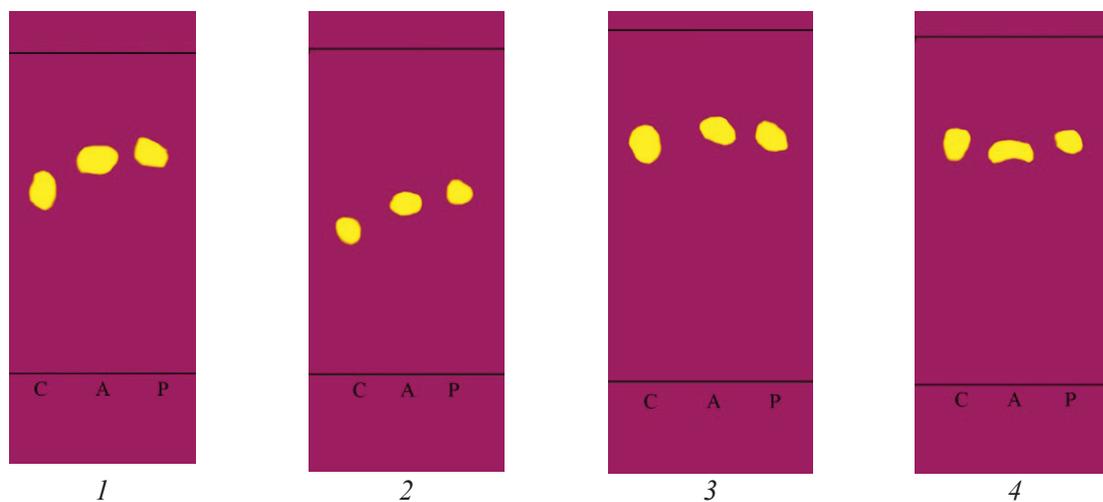


Рис. 3. Влияние концентрации ацетонитрила на подвижность статинов. НФ: RP-18. ПФ: ацетонитрил – вода.  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  мг/мл. 1 – 80:20, 2 – 70:30, 3 – 60:40, 4 – 50:50. С – симвастатин, А – аторвастатин, Р – розувастатин (цвет онлайн)

Fig. 3. Effect of acetonitrile concentration on the mobility of statins. SP: RP-18. MP: acetonitrile – water (70:30).  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  mg/ml. 1 – 80:20, 2 – 70:30, 3 – 60:40, 4 – 50:50. C – simvastatin, A – atorvastatin, P – rosuvastatin (color online)

Из рис. 3 видно, что с уменьшением концентрации ацетонитрила в ПФ  $R_f$  статинов повышается. Однако наиболее компактные хроматографические зоны можно наблюдать в системе ацетонитрил – вода (70:30). Результаты расчета значений  $N$  и  $H$  также подтверждают сделанный вывод (табл. 2). Так, значение  $N$  в ПФ, содержащей 70% ацетонитрила, для Смв –  $5,02 \cdot 10^2$ ,

Атв –  $11,5 \cdot 10^2$ , Рзв –  $8,29 \cdot 10^2$ , что в 1,2 – 4 раза превышает значения  $N$  в ПФ, содержащей 80%  $\text{CH}_3\text{CN}$  и незначительно ниже  $N$  в ПФ с 60 и 50%  $\text{CH}_3\text{CN}$ . Значение  $H$  для статинов в этой же ПФ в 2,5 – 6 раз ниже значений  $H$  в ПФ, содержащих 80, 60 и 50% ацетонитрила, что также подтверждает компактность хроматографических зон при соотношении  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{H}_2\text{O}$  (70:30).

Таблица 2 / Table 2

**Хроматографические параметры анализируемых систем в различных ПФ. НФ: RP-18.**

**ПФ: ацетонитрил – вода.  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  мг/мл ( $n = 3, P = 0,95$ )**

**Chromatographic parameters of the analyzed systems in various MP. SP: RP-18. MP: acetonitrile – water (70:30).**

**$C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  mg/ml ( $n = 3, P = 0,95$ )**

ПФ / MP	$\overline{R_f}$			$N$			$H, \text{ мм} / H, \text{ mm}$		
	Смв / Smv	Атв / Atv	Рзв / Rzv	Смв / Smv	Атв / Atv	Рзв / Rzv	Смв / Smv	Атв / Atv	Рзв / Rzv
80:20	0,59	0,67	0,68	121	740	784	0,0909	0,0149	0,0140
70:30	<b>0,44</b>	<b>0,51</b>	<b>0,56</b>	<b>502</b>	<b>1156</b>	<b>829</b>	<b>0,0140</b>	<b>0,0061</b>	<b>0,0054</b>
60:40	0,68	0,71	0,71	705	846	825	0,0156	0,0130	0,0133
50:50	0,69	0,68	0,69	647	1141	973	0,0170	0,0096	0,0113

*Влияние природы и pH буферного раствора.* Изучено влияние pH буферной системы в подвижной фазе на примере фосфатного (pH 3; 3,5; 4; 5) и ацетатно-аммиачного (pH 4; 5; 6; 7; 8) буферных растворов (рис. 4, 5).

Из рис. 4 видно, что в подвижных фазах  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{ФБ}$  наиболее оптимальной для определения статинов является ПФ с pH 3, а в ПФ  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{ААБ} - \text{ПФ}$  с pH 4 (см. рис. 5), так как в этих ПФ наблюдается наи-

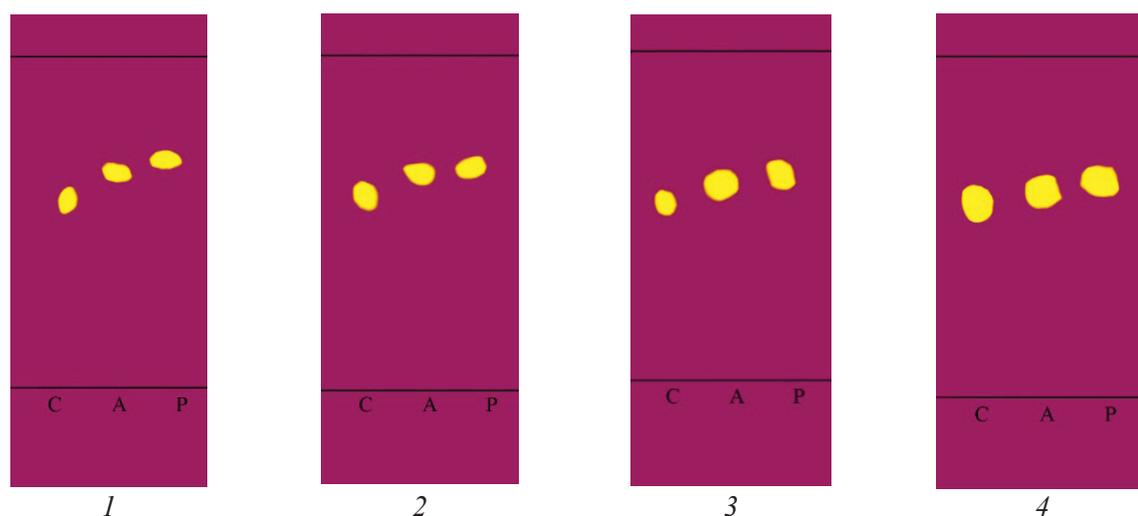


Рис. 4. Хроматограммы статинов в водно-органических ПФ, содержащих фосфатный буферный раствор. НФ: RP-18. ПФ:  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{ФБ}$  (70:30).  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  мг/мл. 1 – рН 3; 2 – рН 3,5; 3 – рН 4; 4 – рН 5. С – симвастатин, А – аторвастатин, Р – розувастатин (цвет онлайн)

Fig. 4. Chromatograms of statins in aqueous organic MP containing phosphate buffer solution. SP: RP-18. MP:  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{PhB}$  (70:30).  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  mg/ml. 1 – pH 3; 2 – pH 3,5; 3 – pH 4; 4 – pH 5. C – simvastatin, A – atorvastatin, P – rosuvastatin (color online)

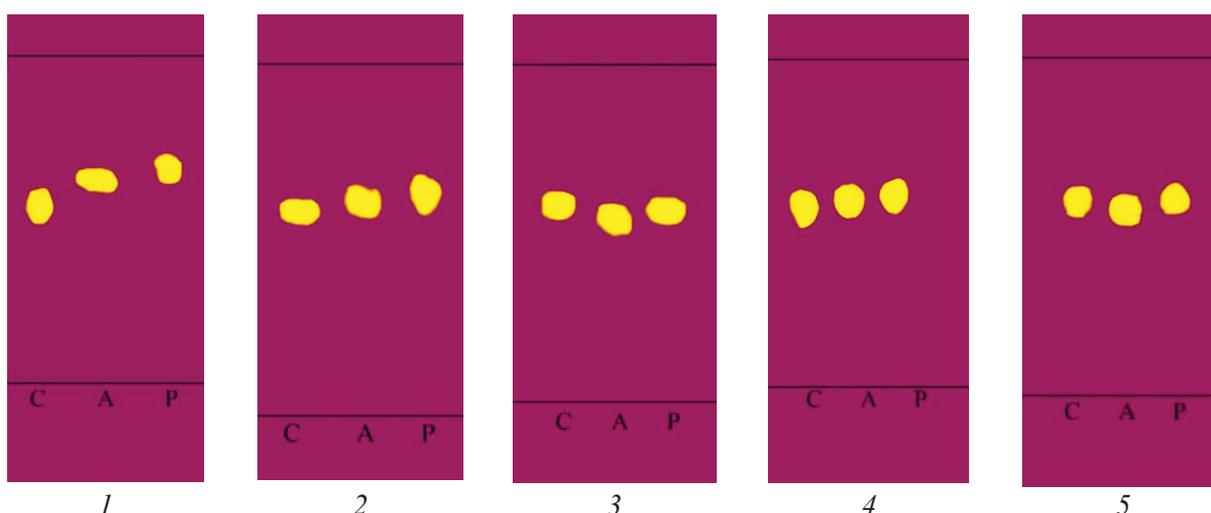


Рис. 5. Хроматограммы статинов в водно-органических ПФ, содержащих ацетатно-аммиачный буферный раствор. НФ: RP-18. ПФ:  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{ААБ}$  (70:30).  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  мг/мл. 1 – рН 4; 2 – рН 5; 3 – рН 6; 4 – рН 7; 5 – рН 8. С – симвастатин, А – аторвастатин, Р – розувастатин (цвет онлайн)

Fig. 5. Chromatograms of statins in water-organic MP containing an acetate-ammonia buffer solution. SP: RP-18. MP:  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{ААБ}$  (70:30).  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  mg/ml. 1 – pH 4; 2 – pH 5; 3 – pH 6; 4 – pH 7; 5 – pH 8. C – simvastatin, A – atorvastatin, P – rosuvastatin (color online)

лучшее разделение веществ, а хроматографические зоны имеют наиболее компактный вид. Результаты расчетов хроматографических параметров эффективности подтверждают это (табл. 3).

Установлено (см. табл. 3), что введение в ПФ буферных растворов приводит к повышению подвижности статинов,  $\Delta R_f = 0,12-0,15$

по сравнению с ПФ  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{вода}$  (70:30) –  $\Delta R_f = 0,06-0,12$ . Видно, что в ПФ  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{ФБ}$  (70:30) значения  $N_{\text{Смв}}$  выше в  $\sim 1,3$ ,  $N_{\text{Атв}} - \sim 1,7$ , а  $N_{\text{Рзв}} - \sim 2,6$  раза, чем в других ПФ. Значения  $H$  в этой же ПФ для статинов также ниже. Таким образом, можно сделать вывод, что подвижная фаза  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{ФБ}$  (70:30, рН 3) является наиболее оптимальной.



Таблица 3 / Table 3

**Хроматографические параметры анализируемых систем. НФ: RP-18.  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  мг/мл ( $n = 3, P = 0,95$ )**  
**Chromatographic parameters of the analyzed systems. SP: RP-18.  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  mg/ml ( $n = 3, P = 0,95$ )**

pH	$\overline{R_f}$			N			H, мм / H, mm		
	СМВ Smv	АТВ Atv	РЗВ Rzv	СМВ Smv	АТВ Atv	РЗВ Rzv	СМВ Smv	АТВ Atv	РЗВ Rzv
ПФ: CH <sub>3</sub> CN – вода (70:30) / МР: CH <sub>3</sub> CN – water (70:30)									
–	<b>0,44</b>	<b>0,51</b>	<b>0,56</b>	<b>502</b>	<b>1156</b>	<b>829</b>	<b>0,0140</b>	<b>0,0061</b>	<b>0,0054</b>
ПФ: CH <sub>3</sub> CN – ФБ (70:30) / МР: CH <sub>3</sub> CN – PhB (70:30)									
3	<b>0,59</b>	<b>0,66</b>	<b>0,70</b>	<b>676</b>	<b>1995</b>	<b>2240</b>	<b>0,0206</b>	<b>0,0055</b>	<b>0,0049</b>
3,5	0,57	0,63	0,64	557	1122	1225	0,0199	0,0099	0,0091
4	0,51	0,57	0,59	467	445	615	0,0234	0,0245	0,0178
5	0,56	0,57	0,60	361	492	676	0,0305	0,0224	0,0163
ПФ: CH <sub>3</sub> CN – ААБ (70:30) / МР: CH <sub>3</sub> CN – ААБ (70:30)									
4	<b>0,56</b>	<b>0,64</b>	<b>0,67</b>	<b>544</b>	<b>1129</b>	<b>900</b>	<b>0,0178</b>	<b>0,0063</b>	<b>0,0079</b>
5	0,57	0,60	0,61	876	676	380	0,0081	0,0105	0,0187
6	0,57	0,53	0,54	655	484	784	0,0108	0,0147	0,0091
7	0,54	0,57	0,57	400	576	447	0,0178	0,0123	0,0158
8	0,57	0,54	0,57	829	544	641	0,0086	0,0130	0,0111

*Подвижные фазы вода – электролит.* Установлено, что при увеличении ионной силы в диапазоне 0,1–1,5 М (KCl) подвижность статинов изменяется незначительно. Однако найдено, что при добавлении более 10% сильного электролита происходит размывание хроматографических зон при любых значениях ионной силы, а значения  $R_f$  приближены к линии фронта. Таким образом, введение сильного электролита в водно-ацетонитрильную ПФ ухудшает характеристики эффективности и селективности разделе-

ния статинов и в дальнейшем не применялось.

*Анализ смесей статинов.* В выбранных оптимальных условиях проведен анализ смеси стандартных растворов статинов. В связи с близкими значениями  $R_f$  аторвастатина и розувастатина удалось разделить только бинарные смеси (табл. 4). Найдено, что наибольшая селективность разделения наблюдается для ПФ CH<sub>3</sub>CN – ФБ (70:30) (pH 3). В этих условиях лучше всего разделяются смеси симвастатина и розувастатина ( $\Delta R_f = 0,11$ ;  $R_S = 1,65$ ;  $\alpha = 0,54$ ).

Таблица 4 / Table 4

**Критерии селективности разделения статинов. НФ: RP-18.  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  мг/мл ( $n = 3, P = 0,95$ )**  
**Selectivity criteria for separation of statins. SP: RP-18.  $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$  mg/ml ( $n = 3, P = 0,95$ )**

Состав ПФ / Composition of MP	Вещества / Substances	$\Delta R_f$	$R_S$	$\alpha$
CH <sub>3</sub> CN – вода (70:30) CH <sub>3</sub> CN – water (70:30)	СМВ-АТВ / Smv-Atv	0,07	1,49	0,63
	СМВ-РЗВ / Smv-Rzv	0,12	1,60	0,59
CH <sub>3</sub> CN – ФБ (70:30) (pH 3) CH <sub>3</sub> CN – PhB (70:30) (pH 3)	СМВ-АТВ / Smv-Atv	0,07	1,63	0,63
	СМВ-РЗВ / Smv-Rzv	0,11	1,65	0,54
CH <sub>3</sub> CN – ААБ (70:30) (pH 4) CH <sub>3</sub> CN – ААБ (70:30) (pH 4)	СМВ-АТВ / Smv-Atv	0,08	1,58	0,61
	СМВ-РЗВ / Smv-Rzv	0,11	1,60	0,53



### Количественное определение аторвастатина в лекарственных препаратах

В выбранных оптимальных условиях проведено количественное определение аторвастатина в лекарственных препаратах: «Аторвастатин-ОВЛ», «Тулип» и «Липримар». Установлено, что величины подвижности Аст в индивидуальном препарате и объектах совпадают, что подтверждает достоверность идентификации аналита (рис. 6). Видно, что применение ПФ  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{ФБ}$  (70:30) (рН 3) улучшило метрологические характеристики определения аторвастатина (табл. 5).

Результаты количественного определения аторвастатина в объектах приведены в табл. 6. В разработанном методе ТСХ значения  $S_r$  не превышают 0,02.

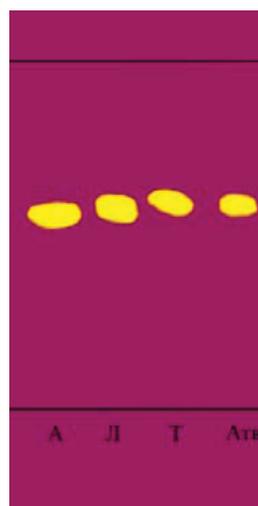


Рис. 6. Хроматограммы аторвастатина в исследуемых объектах. НФ: RP-18. ПФ: ацетонитрил – ФБ (70:30). А – Аторвастатин-ОВЛ, Л – Липримар, Т – Тулип, Атв – стандартное вещество аторвастатин (цвет онлайн)

Fig. 6. Chromatograms of atorvastatin in the studied objects. SP: RP-18. MP: acetonitrile – PhB (70:30). A – Atorvastatin-OBL, Л – Liprimar, Т – Tulip, Атв – standard substance atorvastatin (color online)

Таблица 5 / Table 5

Характеристики градуировочных графиков определения аторвастатина методом ТСХ. НФ: RP-18 ( $n = 3, P = 0,95$ )

Characteristics of calibration curves for the determination of atorvastatin by TLC. SP: RP-18 ( $n = 3, P = 0,95$ )

ПФ / МР	Уравнение The equation	$R^2$	Линейный диапазон, мг/мл Linear range, mg/ml	Чувствительность (tg $\alpha$ ) Sensitivity (tg $\alpha$ )
$\text{CH}_3\text{CN} - \text{вода}$ (70:30) / $\text{CH}_3\text{CN} - \text{water}$ (70:30)	$y = 1111x + 1277$	0,964	1–5	1,1
$\text{CH}_3\text{CN} - \text{ФБ}$ (70:30) (рН 3) / $\text{CH}_3\text{CN} - \text{PhB}$ (70:30) (рН 3)	$y = 998x + 422$	0,998	1–5	0,4
$\text{CH}_3\text{CN} - \text{ААБ}$ (70:30) (рН 4) / $\text{CH}_3\text{CN} - \text{ААВ}$ (70:30) (рН 4)	$y = 1012x + 203$	0,972	1–5	0,2

Таблица 6 / Table 6

Результаты определения аторвастатина в лекарственных препаратах. НФ: RP-18. ПФ: ацетонитрил – ФБ (70:30, рН 3) ( $n = 3, P = 0,95$ )

The results of the determination of atorvastatin in medicinal preparations. SF: RP-18. MF: acetonitrile – PhB (70:30, рН 3) ( $n = 3, P = 0,95$ )

Объект An object	$x_{\text{cp}} \pm \Delta x$ , мг/мл / $x_{\text{av}} \pm \Delta x$ mg/nl	$S_r$	$\Delta x/x_{\text{cp}}$ , % $\Delta x/x_{\text{av}}$ , %	Найдено Аст, мг Found Ast, mg	Паспортные данные объекта, мг Passport data object, mg
Аторвастатин-ОВЛ Atorvastatin-OBL	$4,8 \pm 0,2$	0,01	3,5	9,7	10
Липримар Liprimarin	$4,9 \pm 0,3$	0,02	5,8	9,4	
Тулип Tulip	$4,9 \pm 0,2$	0,02	4,4	9,6	

### Заключение

Таким образом, методом обращенно-фазовой ТСХ изучено хроматографическое поведение некоторых статинов (аторвастатина, розувастатина и симвастатина) в водно-органических подвижных фазах при варьировании концентрации

органического растворителя, рН подвижной фазы и ионной силы электролита. Показано, что подвижная фаза ацетонитрил – фосфатный буферный раствор (70:30, рН 3) позволяет значительно улучшить эффективность хроматографического процесса. Предложены методики количественного определения аторвастатина в



фармацевтических препаратах «Аторвастатин-OBL» (Oblpharm, Россия), «Тулип» (Sandoz, Словения), «Липримар» (Pfizer, Германия) со значениями  $Sr = 0.01-0.02$ .

### Список литературы

1. Emmanuel Eroume A. Egom, Hafsa Hafeez. Biochemistry of statins // *Advances in Clinical Chemistry*. 2016. Vol. 73. P. 127–168. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2015.10.005>
2. Муминов И. И. Клиническая эффективность и безопасность ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы у реципиентов трансплантированного сердца: дис. ... канд. мед. наук. М., 2016. 114 с.
3. Istvan E. S., Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase // *Science*. 2001. Vol. 292, № 5519. P. 1160–1164. <https://doi.org/10.1126/science.1059344>
4. Маливанова И. М. Коронарный атеросклероз и статины // *Креативная кардиология*. 2009. № 2. С. 118–130.
5. Antal I., Koneracka M., Zavisova V., Kubovcikova M., Kormosh Zh., Kopcansky P. Statins determination: A review of electrochemical techniques // *Reviews in Analytical Chemistry*. 2017. Vol. 47, № 6. P. 474–489. <https://doi.org/10.1080/10408347.2017.1332973>
6. Bozhanov S., Maslarska V. Spectroscopic and high-performance liquid chromatography methods for determination of statins // *Pharmacia*. 2016. Vol. 63, № 2. P. 35–48.
7. Naveed S., Qamar F. Simple UV spectrophotometric assay of rosuvastatin formulations // *The Global Journal of Pharmaceutical Research*. 2014. Vol. 3, № 3. P. 1985–1990.
8. Abdelwahab N. S., El-Zeiny B. A., Tohamy S. I. Two spectrophotometric methods for simultaneous determination of some antihyperlipidemic drugs // *J. Pharm. Anal.* 2012. Vol. 2(4). P. 279–284. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2012.02.002>
9. Stolarczyk M., Maślanka A., Apola A., Rybak W., Krzek J. Derivative spectrophotometric method for simultaneous determination of zofenopril and fluvastatin in mixtures and pharmaceutical dosage form // *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2015. Vol. 148. P. 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.03.100>
10. Lotfy H. M., Hegazy M. A. M. Simultaneous determination of some cholesterol-lowering drugs in their binary mixture by novel spectrophotometric methods // *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2013. Vol. 113. P. 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.04.064>
11. Ambole S. R., Shirote P. J., Kondawar M. S. Simultaneous estimation for rosuvastatin calcium and aspirin from capsule dosage forms by first order derivative spectroscopic method // *Intern. J. of ChemTech Res.* 2012. Vol. 4, № 3. P. 966–970.
12. Ashour S., Bahbouh M., Khateeb M. A novel use of oxidative coupling reactions for determination of some statins (cholesterol-lowering drugs) in pharmaceutical formulations // *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2011. Vol. 78, № 3. P. 913–917. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2010.08.030>
13. Hefnawy M. M., Mohamed M. S., Abounassif M. A., Alanazi A. M., Mostafa G. A. High performance liquid chromatography and derivative spectrophotometry for simultaneous determination of pravastatin and fenofibrate in the dosage form // *Acta Pharm.* 2014. Vol. 64. P. 433–446. <https://doi.org/10.2478/acph-2014-0039>
14. Sultana N., Arayne M. S., Naveed S. Simultaneous determination of captopril and statins in API, pharmaceutical formulations and in human serum by RP-HPLC // *J. of Chinese Chem. Soc.* 2010. Vol. 57, № 3A. P. 378–383. <https://doi.org/10.1002/jccs.201000056>
15. Ashour S., Nakshbandi H., Omar S. Quantitative determination of pravastatin in pharmaceutical dosage forms by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection // *Intern. J. Biomed. Sci.* 2008. Vol. 4, № 2. P. 135–139.
16. Sultana N., Arayne M. S., Shafi N., Siddiqui F. A., Husain A. Development of a RP-HPLC method for the simultaneous analysis of diltiazem and statin: Application in pharmaceuticals and human serum // *Anal. Methods*. 2010. Vol. 2, № 10. P. 1571–1576. <https://doi.org/10.1039/C0AY00337A>
17. Sultana N., Arayne M. S., Naveed S. Simultaneous determination of enalapril and statin's in pharmaceutical formulations by RP-HPLC // *J. Chil. Chem. Soc.* 2011. Vol. 56, № 3. P. 734–737. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072011000300003>
18. Silva T. D., Oliveira M. A., Oliveira R. B., Vianna-Soares C. D. Development and validation of a simple and fast HPLC method for determination of lovastatin, pravastatin and simvastatin // *J. Chromatogr. Sci.* 2012. Vol. 50, № 9. P. 831–838. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bms079>
19. Swathi V., Agarwal N. K., Jyothisna K. A Novel RP-HPLC method development and validation of atorvastatin and fenofibrate in bulk and pharmaceutical dosage forms // *Indian J. Res. Pharm. Biotechnol.* 2013. Vol. 1, № 5. P. 576–582.
20. Murthy T. G. K., Geethanjali J. Development of a validated RP-HPLC method for simultaneous estimation of metformin hydrochloride and rosuvastatin calcium in bulk and in-house formulation // *J. Chromatogr. Sep. Tech.* 2014. Vol. 5, № 6. P. 1–7. <https://doi.org/10.4172/2157-7064.1000252>
21. Arayene M. S., Sultana N., Tabassum A. Facile LC-UV methods for simultaneous monitoring of ciprofloxacin and rosuvastatin in API, formulations and human serum // *Biomed. Chromatogr.* 2015. Vol. 29, № 2. P. 202–209. <https://doi.org/10.1002/bmc.3260>
22. Solanki C., Patel N. Development and validation of RP-HPLC method for simultaneous estimation of rosuvastatin calcium and aspirin in capsule dosage form // *Intern. J. Pharm. Bio. Sci.* 2012. Vol. 3, № 3. P. 577–585.



23. Salama N. N. E. A. Simultaneous determination of fenofibrate, its metabolite and co-formulated/administered statins using reverse phase TLC-densitometry and HPLC-UV methods: Application in human plasma // *Current Chromatogr.* 2015. Vol. 2, № 1. P. 63–71. <https://doi.org/10.2174/2213240601666140917005519>
24. Assasi A. L., Roy C. E., Perovitch P., Auzeir J., Hamon T., Gaudin K. Green analytical method development for statin analysis // *J. Chromatogr. A.* 2015. Vol. 1380. P. 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.12.066>.
25. Arayne M. S., Sultana N., Tabassum A., Ali S. N., Naveed S. Simultaneous LC determination of Rosuvastatin, lisinopril, captopril and enalapril in API, pharmaceutical dosage formulations and human serum // *Medicinal Chem. Res.* 2012. Vol. 21. P. 4542–4548.
26. Shirkhedkar A., Surana S. Simultaneous densitometric TLC analysis of atorvastatin calcium and fenofibrate in the bulk drug and in pharmaceutical formulations // *JPC – J. of Planar Chromatography – Modern TLC.* 2009. Vol. 22, № 5. P. 355–358. <https://doi.org/10.1556/JPC.22.2009.5.7>
27. Dhaneshwar S. S., Dhaneshwar S. R., Deshpande P., Patil M. Development and validation of a method for simultaneous densitometric estimation of atorvastatin calcium and ezetimibe as the bulk drug and in tablet dosage forms // *Acta Chromatogr.* 2007. № 19. P. 141–148.
28. Sharma M. C., Sharma S., Kohlib D. V., Sharmac A. D. A validated HPTLC method for determination of simultaneous estimation Rosuvastatin Calcium and Ezetimibe in pharmaceutical solid dosage form // *Archives of Applied Science Research.* 2010. Vol. 2, № 1. P. 1–7.
29. Sane R. T., Kamat S. S., Shafi S. N. M., Inamdar R., Mote M. R. Determination of rosuvastatin calcium in its bulk drug and pharmaceutical preparations by high-performance thin-layer chromatography // *JPC – J. of Planar Chromatography – Modern TLC.* 2005. Vol. 18. P. 194–198.
30. Ramadan A. A., Al-akraa H., Maktabi M. TLC simultaneous determination of amlodipine, atorvastatin, rosuvastatin and valsartan in pure form and in tablets using phenyl-modified aleppo bentonite // *Intern. J. Pharmacy and Pharmaceutical Sci.* 2014. Vol. 6, № 3. P. 180–188.
31. Wagh K., Sonawane S., Chhajad S., Kshirsagar S. Development of a RP-HPLC method for separation of ezetimibe in presence of atorvastatin calcium and simvastatin and its application for quantitation of tablet dosage forms // *Asian J. of Pharmaceutical Analysis.* 2017. Vol. 7, № 3. P. 169–175. <https://doi.org/10.5958/2231-5675.2017.00027.8>
2. Muminov I. I. *Clinical efficacy and safety of HMG-CoA reductase inhibitors in transplanted heart recipients.* Diss. Cand. Sci. (Med.). Moscow, 2016. 114 p. (in Russian).
3. Istvan E. S., Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science*, 2001, vol. 292, no. 5519, pp. 1160–1164. <https://doi.org/10.1126/science.1059344>
4. Maliovanova I. M. Coronary atherosclerosis and statins. *Creative Cardiology*, 2009, no. 2, pp. 118–130 (in Russian).
5. Antal I., Koneracka M., Zavisova V., Kubovcikova M., Kormosh Zh., Kopcansky P. Statins determination: A review of electrochemical techniques. *Reviews in Analytical Chemistry*, 2017, vol. 47, no. 6, pp. 474–489. <https://doi.org/10.1080/10408347.2017.1332973>
6. Bozhanov S., Maslarska V. Spectroscopic and high-performance liquid chromatography methods for determination of statins. *Pharmacia*, 2016, vol. 63, no. 2, pp. 35–48.
7. Naveed S., Qamar F. Simple UV spectrophotometric assay of rosuvastatin formulations. *The Global Journal of Pharmaceutical Research*, 2014, vol. 3, no. 3, pp. 1985–1990.
8. Abdelwahab N. S., El-Zeiny B. A., Tohamy S. I. Two spectrophotometric methods for simultaneous determination of some antihyperlipidemic drugs. *J. Pharm. Anal.*, 2012, vol. 2(4), pp. 279–284. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2012.02.002>
9. Stolarczyk M., Maślanka A., Apola A., Rybak W., Krzek J. Derivative spectrophotometric method for simultaneous determination of zofenopril and fluvastatin in mixtures and pharmaceutical dosage form. *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2015, vol. 148, pp. 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.03.100>
10. Lotfy H. M., Hegazy M. A. M. Simultaneous determination of some cholesterol-lowering drugs in their binary mixture by novel spectrophotometric methods. *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2013, vol. 113, pp. 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.04.064>
11. Ambole S. R., Shirote P. J., Kondawar M. S. Simultaneous estimation for rosuvastatin calcium and aspirin from capsule dosage forms by first order derivative spectroscopic method. *Intern. J. of ChemTech Res.*, 2012, vol. 4, no. 3, pp. 966–970.
12. Ashour S., Bahbouh M., Khateeb M. A novel use of oxidative coupling reactions for determination of some statins (cholesterol-lowering drugs) in pharmaceutical formulations. *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2011, vol. 78, no. 3, pp. 913–917. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2010.08.030>
13. Hefnawy M. M., Mohamed M. S., Abounassif M. A., Alanazi A. M., Mostafa G. A. High performance liquid chromatography and derivative spectrophotometry for simultaneous determination of pravastatin and fenofibrate in the dosage form. *Acta Pharm.*, 2014, vol. 64, pp. 433–446. <https://doi.org/10.2478/acph-2014-0039>
14. Sultana N., Arayne M. S., Naveed S. Simultaneous determination of captopril and statins in API, pharmaceutical

## References

1. Emmanuel Eroume A. Egom, Hafsa Hafeez. Biochemistry of statins. *Advances in Clinical Chemistry*, 2016, vol. 73, pp. 127–168. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2015.10.005>



- formulations and in human serum by RP-HPLC. *J. of Chinese Chem. Soc.*, 2010, vol. 57, no. 3A, pp. 378–383. <https://doi.org/10.1002/jccs.201000056>
15. Ashour S., Nakshbandi H., Omar S. Quantitative determination of pravastatin in pharmaceutical dosage forms by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Intern. J. Biomed. Sci.*, 2008, vol. 4, no. 2, pp. 135–139.
16. Sultana N., Arayne M. S., Shafi N., Siddiqui F. A., Hussain A. Development of a RP-HPLC method for the simultaneous analysis of diltiazem and statin: Application in pharmaceuticals and human serum. *Anal. Methods*, 2010, vol. 2, no. 10, pp. 1571–1576. <https://doi.org/10.1039/C0AY00337A>
17. Sultana N., Arayne M. S., Naveed S. Simultaneous determination of enalapril and statin's in pharmaceutical formulations by RP-HPLC. *J. Chil. Chem. Soc.*, 2011, vol. 56, no. 3, pp. 734–737. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072011000300003>
18. Silva T. D., Oliveira M. A., Oliveira R. B., Vianna-Soares C. D. Development and validation of a simple and fast HPLC method for determination of lovastatin, pravastatin and simvastatin. *J. Chromatogr. Sci.*, 2012, vol. 50, no. 9, pp. 831–838. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bms079>
19. Swathi V., Agarwal N. K., Jyothsna K. A Novel RP-HPLC method development and validation of atorvastatin and fenofibrate in bulk and pharmaceutical dosage forms. *Indian J. Res. Pharm. Biotechnol.*, 2013, vol. 1, no. 5, pp. 576–582.
20. Murthy T. G. K., Geethanjali J. Development of a validated RP-HPLC method for simultaneous estimation of metformin hydrochloride and rosuvastatin calcium in bulk and in-house formulation. *J. Chromatogr. Sep. Tech.*, 2014, vol. 5, no. 6, pp. 1–7. <https://doi.org/10.4172/2157-7064.1000252>
21. Arayene M. S., Sultana N., Tabassum A. Facile LC-UV methods for simultaneous monitoring of ciprofloxacin and rosuvastatin in API, formulations and human serum. *Biomed. Chromatogr.*, 2015, vol. 29, no. 2, pp. 202–209. <https://doi.org/10.1002/bmc.3260>
22. Solanki C., Patel N. Development and validation of RP-HPLC method for simultaneous estimation of rosuvastatin calcium and aspirin in capsule dosage form. *Intern. J. Pharm. Bio. Sci.*, 2012, vol. 3, no. 3, pp. 577–585.
23. Salama N. N. E. A. Simultaneous determination of fenofibrate, its metabolite and co-formulated/administered statins using reverse phase TLC-densitometry and HPLC-UV methods: Application in human plasma. *Current Chromatogr.*, 2015, vol. 2, no. 1, pp. 63–71. <https://doi.org/10.2174/2213240601666140917005519>
24. Assassi A. L., Roy C. E., Perovitch P., Auzerie J., Hamon T., Gaudin K. Green analytical method development for statin analysis. *J. Chromatogr. A*, 2015, vol. 1380, pp. 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.12.066>
25. Arayne M. S., Sultana N., Tabassum A., Ali S. N., Naveed S. Simultaneous LC determination of Rosuvastatin, lisinopril, captopril and enalapril in API, pharmaceutical dosage formulations and human serum. *Medicinal Chem. Res.*, 2012, vol. 21, pp. 4542–4548.
26. Shirkhedkar A., Surana S. Simultaneous densitometric TLC analysis of atorvastatin calcium and fenofibrate in the bulk drug and in pharmaceutical formulations. *JPC – J. of Planar Chromatography – Modern TLC*, 2009, vol. 22, no. 5, pp. 355–358. <https://doi.org/10.1556/JPC.22.2009.5.7>
27. Dhaneshwar S. S., Dhaneshwar S. R., Deshpande P., Patil M. Development and validation of a method for simultaneous densitometric estimation of atorvastatin calcium and ezetimibe as the bulk drug and in tablet dosage forms. *Acta Chromatogr.*, 2007, no. 19, pp. 141–148.
28. Sharma M. C., Sharma S., Kohlib D. V., Sharmac A. D. A validated HPTLC method for determination of simultaneous estimation Rosuvastatin Calcium and Ezetimibe in pharmaceutical solid dosage form. *Archives of Applied Science Research*, 2010, vol. 2, no. 1, pp. 1–7.
29. Sane R. T., Kamat S. S., Shafi S. N. M., Inamdar R., Mote M. R. Determination of rosuvastatin calcium in its bulk drug and pharmaceutical preparations by high-performance thin-layer chromatography. *JPC – J. of Planar Chromatography – Modern TLC*, 2005, vol. 18, pp. 194–198.
30. Ramadan A. A., Al-akraa H., Maktabi M. TLC simultaneous determination of amlodipine, atorvastatin, rosuvastatin and valsartan in pure form and in tablets using phenyl-modified aleppo bentonite. *Intern. J. Pharmacy and Pharmaceutical Sci.*, 2014, vol. 6, no. 3, pp. 180–188.
31. Wagh K., Sonawane S., Chhajad S., Kshirsagar S. Development of a RP-HPLC method for separation of ezetimibe in presence of atorvastatin calcium and simvastatin and its application for quantitation of tablet dosage forms. *Asian J. of Pharmaceutical Analysis*, 2017, vol. 7, no. 3, pp. 169–175. <https://doi.org/10.5958/2231-5675.2017.00027.8>

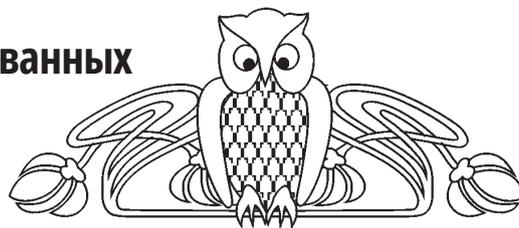
Поступила в редакцию 16.06.22; одобрена после рецензирования 10.08.22; принята к публикации 05.09.22  
The article was submitted 16.06.22; approved after reviewing 10.08.22; accepted for publication 05.09.22



Научная статья

УДК 543.615.33

## Электроаналитические свойства немодифицированных и модифицированных полианилином планарных сенсоров, чувствительных к доксициклину



Е. Г. Кулапина<sup>1</sup>✉, М. Н. Гаспарян<sup>1</sup>, О. И. Кулапина<sup>2</sup>, В. Д. Анкина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

<sup>2</sup>Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112

Кулапина Елена Григорьевна, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, [kulapinaeg@mail.ru](mailto:kulapinaeg@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-5644-5039>

Гаспарян Милена Нверовна, студент Института химии, [qasparyyan@mail.ru](mailto:qasparyyan@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-1784-5507>

Кулапина Ольга Ивановна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры детских болезней лечебного факультета, [olgakulapina@mail.ru](mailto:olgakulapina@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-4101-1877>

Анкина Влада Денисовна, студент лечебного факультета, [vlada.ankina@mail.ru](mailto:vlada.ankina@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8733-3710>

**Аннотация.** Доксициклин обладает широким спектром противомикробных и противовоспалительных свойств и используется для лечения различных инфекционных заболеваний. Для определения тетрациклиновых антибиотиков в различных объектах применяются спектроскопические, хроматографические, электрохимические, иммуноферментные и др. методы. Планарные сенсоры позволяют экспрессно детектировать антибиотики в малых объемах проб. Разработаны планарные потенциометрические сенсоры на основе ионных ассоциатов доксициклин – тетрафенилборат ( $C_{\text{орг}} = 2\text{--}3\%$ ), модификатор – полианилин, для количественного определения доксициклина. Установлено, что для немодифицированных сенсоров интервалы линейности электродных функций составляют  $1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-3}$  М,  $C_{\text{min}} - 5,0 \times 10^{-5}$  М, угловые коэффициенты –  $50 \pm 2$  мВ/рС, время отклика – 25 с. Показано, что введение модификатора в углеродсодержащие чернила сенсоров приводит к стабилизации их потенциала, к увеличению угловых коэффициентов электродных функций ( $56 \pm 1$ ), уменьшению времени отклика (20 с) и снижению предела обнаружения ( $4,0 \times 10^{-5}$  М). Сенсоры, чувствительные к доксициклину, характеризуются селективностью по отношению к основному иону ( $K_{i/j} \ll 1$ ) и к неорганическим катионам ( $K_{i/j}(K^+) = 0,61$ ;  $K_{i/j}(Na^+) = 0,01$ ;  $K_{i/j}(Mg^{2+}) = 0,01$ ;  $K_{i/j}(Ca^{2+}) = 0,09$ ) и свидетельствуют о возможности определения доксициклина в биологических жидкостях человека. На фоне жидкости ротовой полости (ЖРП) происходит уменьшение угловых коэффициентов электродных функций ( $45 \pm 1$  мВ/рС), что связано с фоновым влиянием ЖРП. Разработанные планарные сенсоры применены для определения доксициклина в лекарственных и биологических средах.

**Ключевые слова:** планарные потенциометрические сенсоры, полианилин, доксициклин, лекарственные и биологические среды

**Для цитирования:** Кулапина Е. Г., Гаспарян М. Н., Кулапина О. И., Анкина В. Д. Электроаналитические свойства немодифицированных и модифицированных полианилином планарных сенсоров, чувствительных к доксициклину // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 39–50. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-39-50>, EDN: JNYWNB

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

### Electroanalytic properties of unmodified and polyaniline-modified planar sensors sensitive to doxycycline

Е. Г. Кулапина<sup>1</sup>✉, М. Н. Гаспарян<sup>1</sup>, О. И. Кулапина<sup>2</sup>, В. Д. Анкина<sup>2</sup>

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, 112 Bolshaya Kazachya St., Saratov 410012, Russia

Elena G. Kulapina, [kulapinaeg@mail.ru](mailto:kulapinaeg@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-5644-5039>

Milena N. Gasparyan, [qasparyyan@mail.ru](mailto:qasparyyan@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-1784-5507>

Olga I. Kulapina, [olgakulapina@mail.ru](mailto:olgakulapina@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-5743-1256>

Vlada D. Ankina, [vlada.ankina@mail.ru](mailto:vlada.ankina@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8733-3710>



**Abstract.** Doxycycline has a wide range of antimicrobial and anti-inflammatory properties and is used to treat various infectious diseases. Spectroscopic, chromatographic, electrochemical, immunoassay and other methods are used to determine tetracycline antibiotics in various objects. Planar sensors allow express detection of antibiotics in small sample volumes. Planar potentiometric sensors based on ion associations doxycycline – tetraphenylborate ( $C_{opt} = 2-3\%$ ), modifier – polyaniline, for the quantitative determination of doxycycline have been developed. It has been found that for non-modified sensors, the linearity intervals of electrode functions are  $1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-3} M$ ,  $C_{min} - 5,0 \times 10^{-5} M$ , angular coefficients –  $50 \pm 2 mV/pC$ , response time – 25 s. It is shown that the introduction of a modifier into the carbon-containing ink of sensors leads to the stabilization of their potential, to an increase in the angular coefficients of electrode functions ( $56 \pm 1$ ), reduced response time (20 s) and reduced detection limit ( $4,0 \times 10^{-5} M$ ). It is shown that the introduction of the modifier into the carbon-containing ink of the sensors leads to stabilization of their potential, to an increase in the angular coefficients of electrode functions ( $56 \pm 1$ ), a decrease in response time (20 seconds) and a decrease in the detection limit ( $4,0 \times 10^{-5} M$ ). Doxycycline sensitive sensors have selectivity to the base ion ( $K_{ij} < 1$ ) and inorganic cations ( $K_{ij}(K^+) = 0,61$ ;  $K_{ij}(Na^+) = 0,01$ ;  $K_{ij}(Mg^{2+}) = 0,01$ ;  $K_{ij}(Ca^{2+}) = 0,09$ ), and indicate the possibility of determining doxycycline in human biological fluids. Against the background of oral liquid, the angular coefficients of electrode functions ( $45 \pm 1 mV/p5$ ) decrease, which is associated with the background influence of oral liquid. The developed planar sensors are used to determination doxycycline in medicinal and biological media.

**Keywords:** planar potentiometric sensors, polyaniline, doxycycline, medicinal and biological media

**For citation:** Kulapina E. G., Gasparyan M. N., Kulapina O. I., Ankina V. D. Electroanalytic properties of unmodified and polyaniline-modified planar sensors sensitive to doxycycline. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 39–50 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-39-50>, EDN: JNYWNB

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

## Введение

Тетрациклиновые антибиотики обладают иммуномодулирующим, жаропонижающим, обезболивающим и другими видами активности, применяются при лечении самых разнообразных инфекционно-воспалительных заболеваний [1–4].

Среди полусинтетических тетрациклинов широкое применение получили доксициклин и миноциклин. Доксициклин обладает широким спектром противомикробных и противовоспалительных свойств и используется для лечения широкого спектра бактериальных инфекций [5]. Доксициклин и его аналоги, такие как хлортетрациклин, окситетрациклин и тетрациклин, используются в ветеринарии как в терапевтических, так и в профилактических целях для сельскохозяйственных животных, а также в качестве кормовых добавок [6].

Для количественного определения тетрациклинов применяются различные методы: электрохимические [7], спектрофотометрические [8–10], флуоресцентные [11–16], хроматографические [17–23], иммуноферментные [24]. Объектами исследования являются пищевые продукты (молочные [7, 13–15, 20, 23, 24] и мясные изделия [17]), фармацевтические препараты [8–10, 12, 16], природные и сточные воды [18, 21], а также биологические жидкости [19] (плазма, кровь, моча).

Клинический анализ лекарств и их определение в биологических образцах важны с медицинской точки зрения. Эти анализы проводятся с использованием различных аналитических устройств, включая потенциометрические сенсоры [25].

Одним из основных направлений развития электрохимического анализа является совершенствование конструкций электрохимических сенсоров и поиск новых материалов для них [26–28]. Потенциометрия широко применяется исследователями как один из электрохимических методов благодаря своим преимуществам: экспрессности, селективности, простоте и доступности оборудования [25, 26, 28]. Наиболее перспективно в настоящее время применение модифицированных планарных сенсоров для определения неорганических и органических соединений в различных объектах [28]. Так, например, модифицированные композитом графена и наночастицами золота сенсоры предложены для определения тирозина [29]; сенсор на основе гибридного материала магнитный  $Fe_3O_4$  – восстановленный оксид графена использован для высокочувствительного определения бинафтола [30]; палладиевые наноленты применимы в качестве модификаторов для электрохимического определения гемоглобина [31]; стеклоуглеродный электрод, модифицированный золотом – для определения метимазола [32]. Проводящие полимеры, такие как полипиррол и полианилин (ПАНИ), очень часто используются для иммобилизации аналита и изготовления потенциометрических сенсоров [33–35]. Электронная проводимость полианилина обусловлена подвижностью делокализованных  $\pi$ -электронов в сопряженной структуре полимера.

Модифицированные полианилином твердоконтактные потенциометрические сенсоры предложены для определения антибиотиков в лекарственных препаратах и ротовой жидкости [26, 28].



Разработан стеклоуглеродный электрод, модифицированный полианилином, для обнаружения фосфорорганических и карбаминных пестицидов [25]; новая гибридная пленка полипиррол/полиэтиленмин использована в качестве потенциометрического преобразователя в биосенсоре мочевины. Токопроводящие полимеры обладают уникальными свойствами, которые предотвращают некоторые нежелательные электрохимические взаимодействия и облегчают перенос электронов в электрохимических сенсорах.

**Целью настоящего исследования** является разработка планарных потенциометрических сенсоров (немодифицированных и модифицированных полианилином) для количественного определения доксициклина в лекарственных и биологических средах.

#### Материалы и методы

В работе исследовались тетрациклиновые антибиотики доксициклин и тетрациклин, названия и формулы которых и их производители приведены в табл. 1.

Таблица 1 / Table 1

Названия, формулы, производители исследуемых антибиотиков  
Names, formulas, manufacturers of the studied antibiotics

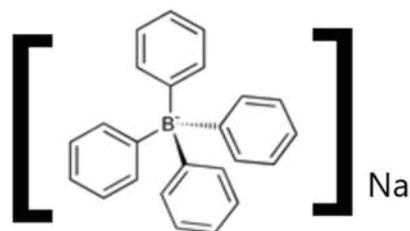
Антибиотик, производитель Antibiotic, manufacturer	Формула Formula	Сокращение Abbreviation
Доксициклин ООО «ОЗОН», Россия, Самарская обл., г. Жигулевск Doxycycline "OZON" LLC, Russia, Samara reg., Zhigulevsk		Dox
Тетрациклин ООО «ОЗОН», Россия, Самарская обл., г. Жигулевск Tetracycline "OZON" LLC, Russia, Samara reg., Zhigulevsk		Tetr

Доксициклин использован в виде таблеток массой 0,3870 г, содержание основного вещества – 104,00 мг, в пересчете на доксициклин – 100,00 мг; тетрациклин – таблетки массой 0,1327 г, содержание основного вещества тетрациклина гидрохлорида (в пересчете на 100% вещество) – 100,00 мг.

Исходные  $5 \times 10^{-3}$  М растворы антибиотиков готовили по точным навескам, подкисляли 0,1 М раствором HCl до pH 2–3 и доводили до метки дистиллированной водой, отфильтровывали от вспомогательных веществ. Рабочие  $5 \times 10^{-3}$ – $1 \times 10^{-6}$  М растворы готовили последовательным разбавлением исходных.

Тетрафенилборат натрия (ТФБ), производитель "Сметарол",  $1 \times 10^{-2}$  М раствор. Точную навеску тетрафенилбората натрия растворяли на водяной бане в небольшом количестве дистиллированной воды в мерной колбе вместимо-

стью 100 мл, доводили 0,1 М раствором NaOH (pH 9–10) и до метки дистиллированной водой. Титр раствора ТФБ определяли потенциометрическим титрованием стандартным раствором хлорида калия.



Тетрафенилборат натрия

В качестве электродноактивных соединений (ЭАС) для планарных потенциометрических сенсоров использованы ионные ассоциаты тетрафенилборат – доксициклин,  $C_{\text{зас}} = 1\text{--}3\%$ .



В углеродсодержащие чернила вносили поливинилхлорид, растворитель-пластификатор (дибутилфталат) и ЭАС. С учетом сложности состояния доксициклина необходимо было создать кислотность, при которой доксициклин существует в виде катиона (рН 2,5–3,5), поэтому синтез ЭАС проводили из кислого раствора. Смешивали равные объемы 0,01 М растворов доксициклина и ТФБ в соотношении 1:1. Осадок выпадал в течение получаса. Отделяли осадок центрифугированием, промывали дистиллированной водой и сутки высушивали на воздухе.

Синтез электродноактивных соединений осуществляли по реакции, представленной на следующей схеме:



Исследовали немодифицированные и модифицированные полианилином планарные сенсоры.

Изготовление углеродсодержащих чернил и планарных сенсоров проводили согласно [28]. Модификатор ПАНИ вносили в углеродсодержащие чернила вместе с ЭАС, соотношение модификатора к ЭАС 1:1. Сенсоры перед началом работы кондиционировали в течение часа в  $1 \times 10^{-3}$  М растворе антибиотика.

Электрохимические характеристики сенсоров изучали методом ЭДС с использованием элементов с переносом:

Ag, AgCl/KClнас.//исследуемый раствор/углеродсодержащие чернила

Ag, AgCl/KClнас.//исследуемый раствор/модификатор/углеродсодержащие чернила.

ЭДС цепи измеряли с помощью иономера Эксперт-00-3(01) при температуре  $20 \pm 3^\circ\text{C}$  (по-

грешность измерения ЭДС  $\pm 1$  мВ); электрод сравнения – стандартный хлоридсеребряный ЭВЛ-1МЗ. Измерения ЭДС в анализируемых растворах проводили от меньшей концентрации к большей.

**Время установления стационарного потенциала** – время отклика  $t = 0,95$ ) сенсоров проводили при скачкообразном изменении концентраций цефепима на порядок ( $1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-2}$  М) согласно рекомендациям ИЮПАК. Ионную силу  $\eta = 0,1$  создавали добавлением 0,1 М раствора хлорида натрия.

**Контроль рН** растворов проводили на рН-метре рН150ХП со стеклянным ЭСЛ-63-07 и хлоридсеребряным ЭВЛ-1МЗ электродами, а также использовали универсальные индикаторные бумаги рН 0–12.

**Произведение растворимости (Ks)** определяли методом потенциометрического титрования. Точку эквивалентности находили графически [36].

Для отделения белковых компонентов из смешанной слюны использовали центрифугу Centrifuge 5430 R «Eppendorf» (Германия).

Определение антибиотиков в лекарственных препаратах и ротовой жидкости проводили способом градуировочного графика; правильность контролировали методом «введено–найдено».

### Результаты и их обсуждение

Состав ионных ассоциатов тетрафенилбората натрия и доксициклина определяли методом потенциометрического титрования  $1 \times 10^{-2}$  М раствора доксициклина (рН 2–3) 0,01 М раствором тетрафенилбората натрия (рН 9–10) (рис. 1).

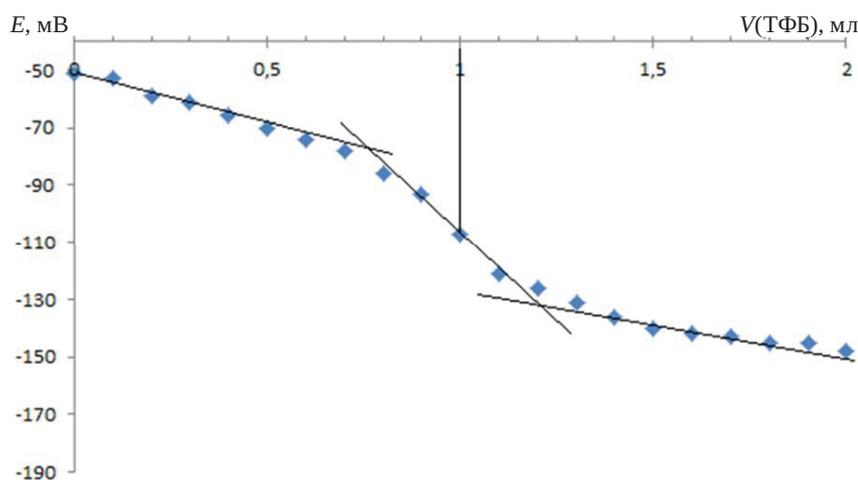


Рис. 1. Кривые потенциометрического титрования доксициклина тетрафенилборатом натрия;  $V_{\text{dox}} = 1,0$  мл;  $C_{\text{dox}} = C_{\text{ТФБ}} = 1 \times 10^{-2}$  М

Fig. 1. Potentiometric titration's curves of doxycycline with sodium tetraphenylborate;  $V_{\text{dox}} = 1.0$  ml;  $C_{\text{dox}} = C_{\text{TPB}} = 1 \times 10^{-2}$  М



Установлено, что стехиометрические соотношения компонентов в ионных ассоциатах Дох–ТФБ составляют 1:1.

Произведение растворимости тетрафенилбората доксициклина рассчитывали по кривым потенциометрического титрования. Величины условных произведений растворимости ионных ассоциатов тетрафенилбората доксициклина оказались равными  $(3,0 \pm 0,1) \times 10^{-7}$ . Тетрафенил-

борат–доксициклин является труднорастворимым соединением и может быть использован в качестве электродноактивного соединения для потенциометрических сенсоров.

**Время отклика.** Время установления стационарного потенциала определяли при измерении времени, прошедшего с момента переноса сенсора из раствора антибиотика с меньшей концентрацией в раствор с большей концентрацией (рис. 2).

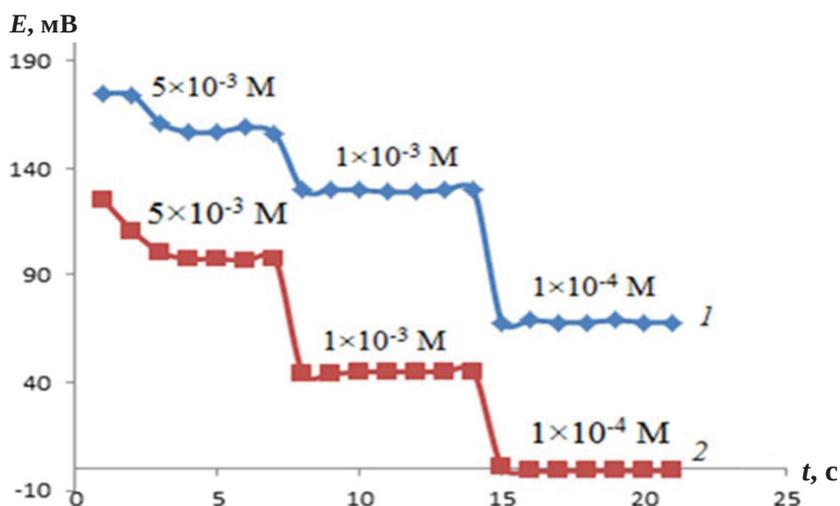


Рис. 2. Зависимость ЭДС от времени при скачкообразном изменении концентрации растворов доксициклина для немодифицированных (1) и модифицированных ПАНИ (2) сенсоров.  $C_{\text{ЭАК}} - 2\%$  (цвет онлайн)

Fig. 2. Dependence of EMF on time at a jump change in the concentration of doxycycline's solutions for unmodified (1) and modified PANI (2) sensors.  $C_{\text{EAK}} - 2\%$  (color online)

Время отклика составило: 25 с для немодифицированных; 20 с для модифицированных в  $1 \times 10^{-3}$  М в растворах доксициклина.

**Влияние концентрации ЭАС на электроаналитические свойства доксициклин-селективных сенсоров.**

На рис. 3 представлены электродные функции планарных потенциометрических немодифицированных сенсоров при различной концентрации ЭАС; в табл. 2 – их электроаналитические характеристики.

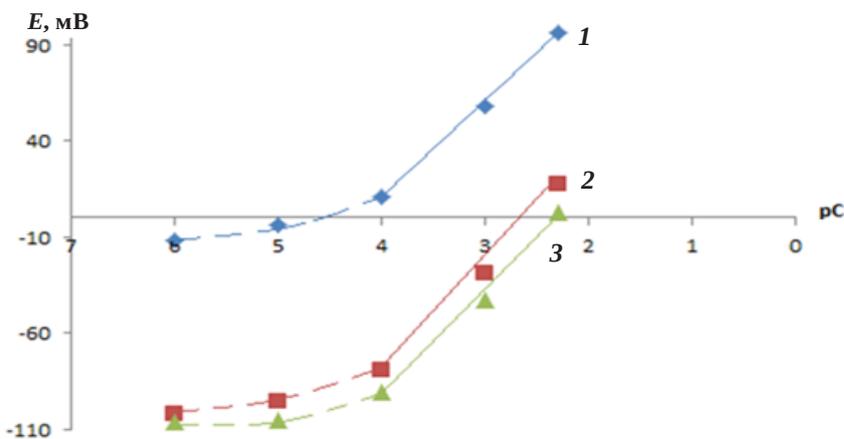


Рис. 3. Электродные функции на доксициклин для немодифицированных сенсоров при различной концентрации ЭАК, %: 1 – (1), 2 – (2), 3 – (3) (цвет онлайн)

Fig. 3. Electrode functions per doxycycline for unmodified sensors at different concentrations of EAK, %: 1 – (1), 2 – (2), 3 – (3) (color online)



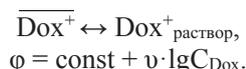
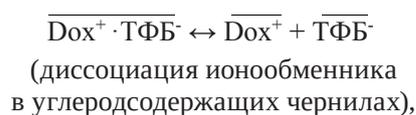
Таблица 2 / Table 2

**Электрохимические характеристики планарных немодифицированных сенсоров на основе Dox<sup>+</sup>·ТФБ<sup>-</sup> в растворах доксициклина при варьировании концентрации ЭАК ( $n = 3, p = 0,95$ ); pH 2–3**  
**Electrochemical characteristics of planar unmodified sensors based on Dox<sup>+</sup>·TPB<sup>-</sup> in doxycycline solutions with varying EAK concentration ( $n = 3, p = 0,95$ ); pH 2–3**

$C_{\text{ЭАК}}, \%$	Линейный диапазон электродных функций, М Linear range of electrode functions, M	$S \pm \Delta S, \text{ мВ/рС}$	$C_{\text{min}}, \text{ М}$	Время отклика $\tau, \text{ с}$ ( $10^{-4} - 10^{-3} \text{ М}$ ) Response time $\tau, \text{ s}$ ( $10^{-4} - 10^{-3} \text{ М}$ )
1	$1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-3}$	$51 \pm 2$	$7,0 \times 10^{-5}$	25
2	$1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-3}$	$54 \pm 2$	$7,9 \times 10^{-5}$	22
3	$1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-3}$	$52 \pm 2$	$5,0 \times 10^{-5}$	20

Из рис. 3 видно, что исследуемые сенсоры на основе Dox<sup>+</sup>·ТФБ<sup>-</sup> обладают чувствительностью к доксициклину в широком концентрационном интервале.

Потенциалоопределяющей реакцией является реакция ионного обмена на границе раздела углеродсодержащие чернила/раствор:



Линейность электродных функций наблюдается в интервале концентраций  $1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-3} \text{ М}$ .

В зависимости от содержания электродноактивного соединения в углеродсодержащих чернилах немодифицированных планарных сенсоров значения угловых коэффициентов электродных функций варьируются в пределах 51–54 мВ/рС и соответствуют значениям нернстовской величины для однозарядных ионов. Интервалы линейности электродных функций сенсоров идентичны при всех исследуемых концентрациях ЭАС (1,2,3%).

**Электрохимический отклик планарных сенсоров изучен при различной кислотности среды.** Кислотность изменяли в диапазоне pH 1–14, добавляя к  $5 \cdot 10^{-3} \text{ М}$  растворам доксициклина 0,10 М HCl и 0,10 М NaOH (рис. 4).

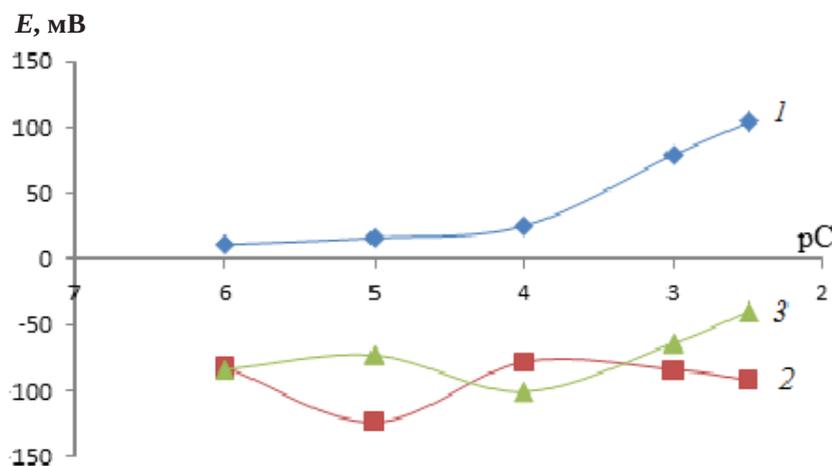


Рис. 4. Электрохимический отклик планарных сенсоров в  $5 \cdot 10^{-3} \text{ М}$  растворах доксициклина при различной кислотности: 1 – кислая среда (pH 1–3); 2 – нейтральная среда (pH 6–7); 3 – щелочная среда (pH 11–14) (цвет онлайн)  
 Fig. 4. Electrochemical response of planar sensors in  $5 \cdot 10^{-3} \text{ М}$  doxycycline solutions at different acidity: 1 – acidic medium (pH 1–3); 2 – neutral medium (pH 6–7); 3 – alkaline medium (pH 11–14) (color online)

Показано, что линейный диапазон электродных функций для планарных сенсоров наблюдается в кислой среде pH 1,0–3,0; при данной

кислотности антибиотик находится в виде катиона, к которому чувствителен планарный сенсор. Доксициклин и тетрациклин являются слабыми



кислотами, что способствует их растворению в кислых средах – диапазон рН 1,0–6,0 [37].

Электроаналитические свойства немодифицированных и модифицированных сенсоров

в растворах доксициклина. Электрохимические характеристики немодифицированных и модифицированных ПАНИ планарных сенсоров, чувствительных к доксициклину представлены в табл. 3.

Таблица 3 / Table 3

**Электрохимические характеристики планарных сенсоров в водных растворах доксициклина**

$C_{\text{зак}} - 2\%$  ( $n = 3, p = 0,95$ )

**Electrochemical characteristics of planar sensors in aqueous solutions of doxycycline  $C_{\text{EAK}} - 2\%$  ( $n = 3, p = 0.95$ )**

Модификатор Modifier	$E = f(C), \text{M}$	$S \pm \Delta S, \text{mB/pC}$	$\tau, \text{c}$ ( $1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-3} \text{M}$ )	$C_{\text{min}}, \text{M}$
Немодифицированные Unmodified	$1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-3}$	$50 \pm 2$	25	$5 \times 10^{-5}$
Модифицированные ПАНИ PANI's modified	$1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-3}$	$56 \pm 1$	20	$4 \times 10^{-5}$

Из табл. 3 следует, что исследуемые сенсоры на основе Дох-ТФБ обладают чувствительностью к доксициклину в широком концентрационном интервале. Угловые коэффициенты электродных функций соответствуют теоретическим для однозарядных ионов.

Для установления дрейфа потенциала и срока службы снимались электродные функции сенсоров в растворах доксициклина во времени; дрейф потенциала составил 3–5 мВ/сут для всех исследуемых сенсоров, срок службы – 15 сут для немодифицированных и 30 сут для модифицированных. Таким образом, для сенсоров на доксициклин оптимальным является интервал линейности  $5 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-4}$ , время отклика 25 с для немодифицированных, 20 с для модифицированных в  $5 \times 10^{-3}$  М растворах доксициклина, срок службы 1 месяц.

Процесс перехода от ионной проводимости мембраны к электронной в проводнике достаточно сложен. Модификаторы осуществляют функции медиатора электронного переноса, электрокатализатора, способствуют химической конверсии аналита, его физико-химическому концентрированию на поверхности электрода [26]. Улучшение электрохимических характеристик связано с тем, что модификаторы обладают высокими электропроводящими свойствами, снижают сопротивление мембран в 2 раза, обеспечивают большую удельную поверхность мембран сенсоров.

Показано, что введение модификатора в углеродсодержащие чернила сенсоров приводит к стабилизации их потенциала, к увеличению угловых коэффициентов электродных функций, уменьшению времени отклика и снижению предела обнаружения.

Определены коэффициенты потенциометрической селективности планарных сенсоров на основе Дох-ТФБ к тетрациклину и к ряду неорганических катионов (натрия, калия, магния, кальция), которые могут оказывать существенное влияние на отклик сенсоров в биологических жидкостях.

Коэффициенты потенциометрической селективности ( $K_{i/j}$ ) планарных немодифицированных доксициклин-селективных сенсоров оказались равными к ионам тетрациклина (0,59), калия (0,61), натрия (0,01), магния (0,01) и кальция (0,09) и свидетельствуют о возможности определения доксициклина при избытках неорганических ионов.

**Электроаналитические свойства немодифицированных доксициклин-селективных сенсоров на фоне ротовой жидкости.** Слюна может стать полезной неинвазивной альтернативой сбору крови, поскольку ее можно собирать быстро, часто и без стресса. Еще одним преимуществом является то, что он не требует медицинской подготовки и может выполняться в бытовой или спортивной сфере [38].

Пробу собственной ЖРП собирали через два часа после еды, в чистые полиэтиленовые пробирки, центрифугировали ее в течение 15 мин при 4000 об/мин для отделения белков и остатков пищи. Для исключения белкового отравления сенсоры предварительно кондиционировали в чистой ЖРП (без антибиотика) в течение 20–30 мин [28]. В подготовленные пробы ротовой жидкости вносились растворы доксициклина различных концентраций и регистрировали электродные функции, измерения проводили в объеме 3 мл (рис. 5).

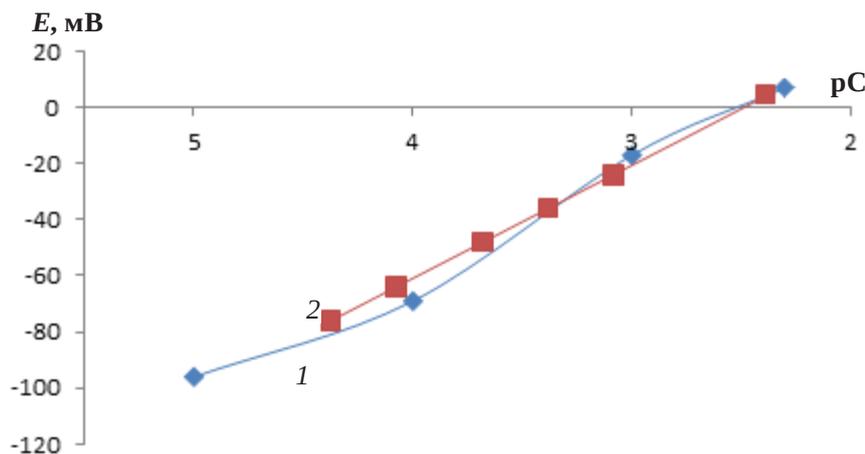


Рис. 5. Электродные функции немодифицированного планарного сенсора на основе Dox-ТФБ в водных растворах доксициклина (1) и на фоне смешанной слюны (2) (цвет онлайн)

Fig. 5. Electrode functions of unmodified Dox-TPB planar sensor in aqueous doxycycline solutions (1) and mixed saliva background (2) (color online)

На фоне ЖРП происходит уменьшение угловых коэффициентов электродных функций ( $45 \pm 1$ ) мВ/рС, что связано с фоновым влиянием ЖРП. Полученные данные свидетельствуют о применимости исследуемых сенсоров для по-

тенциометрического определения доксициклина в биологических жидкостях человека.

Проведено экспрессное определение доксициклина в лекарственных препаратах и ротовой жидкости (табл. 4).

Таблица 4 / Table 4

**Результаты потенциометрического определения доксициклина в лекарственном препарате с модифицированными сенсорами ( $n = 3, p = 0,95$ )**  
**Results of potentiometric determination of doxycycline in a modified sensor drug product ( $n = 3, p = 0,95$ )**

Введено / Introduce $m$ , мг/10 мл $m$ , mg/10 ml	Найдено / Found		
	$m_{cp} \pm \Delta m$ , мг $m_{cp} \pm \Delta m$ , mg	$S_r$	$D, \%$
12,73	$11,9 \pm 0,3$	0,01	6,5
8,48	$8,1 \pm 0,3$	0,01	4,3
2,55	$2,4 \pm 0,1$	0,02	7,5
1,27	$1,17 \pm 0,05$	0,02	7,8
0,85	$0,80 \pm 0,06$	0,04	5,5

Относительная погрешность определения не превышает 10% для немодифицированных и 8% для модифицированных ПАНИ планарных сенсоров.

Таким образом, разработанные планарные сенсоры могут быть применены для экспрессного определения исследуемых антибиотиков в лекарственных и биологических средах.

### Заключение

Разработаны планарные потенциометрические сенсоры, чувствительные к доксициклину,

на основе ионного ассоциата тетрафенилборат – доксициклин. Определены оптимальные содержания ЭАС в составе углеродсодержащих чернил. Соотношение реагирующих компонентов в ЭАС Dox-ТФБ составляет 1:1, произведение растворимости ( $K_s = n \cdot 10^{-7}$ ). Оценены электроаналитические свойства немодифицированных и модифицированных ПАНИ планарных доксициклин-селективных сенсоров. Показано, что введение модификатора в углеродсодержащие чернила сенсоров приводит к стабилизации их потенциала, к увеличению угловых коэффи-



циентов электродных функций ( $56 \pm 1$  мВ/рС), срока службы (1 месяц), уменьшению времени отклика (20 с) и снижению предела обнаружения ( $4 \times 10^{-5}$  М). По величинам коэффициентов потенциометрической селективности показана возможность определения доксициклина в биологических средах. Определено содержание доксициклина в лекарственных препаратах и ротовой жидкости.

### Список литературы

1. Alessandro C., Federica P., Gianandrea G., Sergio C., Lorenzo C. Tetracyclines: Insights and updates of their use in human and animal pathology and their potential toxicity // *The Open Biochem. J.* 2019. Vol. 13, № 1. P. 1–12. <https://doi.org/10.2174/1874091X01913010001>
2. Bortolanza M., Nascimento G. C., Socias S. B., Ploper D., Chehín R. N., Raisman-Vozari R., Del-Bel E. Tetracycline repurposing in neurodegeneration: Focus on Parkinson's disease // *J. Neural Transm.* 2018. Vol. 125, № 10. P. 1403–1415. <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1913-1>
3. Golub L. M., Elburki M. S., Walker C., Ryan M., Sorsa T., Tenenbaum H., Goldberg M., Wolff M., Gu Y. Non-antibacterial tetracycline formulations: host-modulators in the treatment of periodontitis and relevant systemic diseases // *Intern. Dental J.* 2016. Vol. 66, № 3. P. 127–135. <https://doi.org/10.1111/idj.12221>
4. Perry E. A., Bennett C. F., Luo C., Balsa E., Jedrychowski M., O'Malley K. E., Latorre-Muro P., Ladley R. P., Reda K., Wright P., Gygi S., Myers A., Puigserver P. Tetracyclines promote survival and fitness in mitochondrial disease models // *Nat. Metab.* 2021. Vol. 3, № 1. P. 33–42. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-00334-1>
5. Fabio G. C., Cesar R. Tetracyclines in food and feeding-stuffs: from regulation to analytical methods, bacterial resistance, and environmental and health implications // *J. Anal. Methods in Chem.* 2017. Vol. 2017. P. 1–24.
6. Fujita H., Sakamoto N., Ishimatsu Y., Kakugawa T., Hara S., Hara A., Amenomori M., Ishimoto H., Nagata T., Mukae H., Kohno S. Effects of doxycycline on production of growth factors and matrix metalloproteinases in pulmonary fibrosis // *Respiration.* 2011. Vol. 81, № 5. P. 420–430. <https://doi.org/10.1159/000324080>
7. Шайдарова Л. Г., Гедмина А. В., Сюткина В. Н., Челнокова И. А., Будников Г. К. Использование электрода, модифицированного поливинилпирролидоновой пленкой с включенным осадком золота, для вольтамперометрического определения тетрациклина в молоке // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки.* 2019. Т. 161, № 1. С. 20–30. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2019.1.20-30>
8. Qin J., Xie L., Ying Y. Determination of tetracycline hydrochloride by terahertz spectroscopy with PLSR model // *Food Chemistry.* 2015. Vol. 170. P. 415–422. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.050>
9. Сергеева А. С., Щепина Н. Д. Косвенное экстракционно-атомноабсорбционное определение тетрациклина // *Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация.* 2020. № 2. С. 16–23.
10. Rodríguez M. P., Pezza H. R., Pezza L. Simple and clean determination of tetracyclines by flow injection analysis // *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 2016. Vol. 153. P. 386–392. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.08.048>
11. Смирнова Т. Д., Паращенко И. И., Желобицкая Е. А. Возможность стационарной и разрешенной во времени сенсibilизированной флуоресценции при определении некоторых тетрациклинов в мицеллярных средах // *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* 2015. Т. 15, вып. 2. С. 13–19. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2015-15-2-13-19>
12. Амелин В. Г., Шаока З. А. Ч., Большаков Д. С. Твердофазно-флуориметрическое определение тетрациклинов в лекарственных препаратах на целлюлозной бумаге и тонком слое силикагеля с использованием смартфона // *Хим.-фарм. журнал.* 2021. Т. 55, № 3. С. 52–57. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2021-55-3-52-57>
13. Zhao N., Wang Y., Hou S., Zhao L. Functionalized carbon quantum dots as fluorescent nanoprobe for determination of tetracyclines and cell imaging // *Microchim. Acta.* 2020. Vol. 187, № 6. P. 351. <https://doi.org/10.1007/s00604-020-04328-1>
14. Wei W., He J., Wang Y., Kong M. Ratiometric method based on silicon nanodots and Eu<sup>3+</sup> system for highly-sensitive detection of tetracyclines // *Talanta.* 2019. Vol. 204. P. 491–498. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.036>
15. Jia P., Bu T., Sun X., Liu Y., Liu J., Wang Q., Shui Y., Guo S., Wang L. A sensitive and selective approach for detection of tetracyclines using fluorescent molybdenum disulfide nanoplates // *Food Chem.* 2019. Vol. 297. P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124969>
16. Xing X., Huang L., Zhao S., Xiao J., Lana M. S. N-Doped carbon dots for tetracyclines sensing with a fluorometric spectral response // *Microchem. J.* 2020. Vol. 157. P. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105065>
17. Mookantsa S. O. S., Dube S., Nindi M. M. Development and application of a dispersive liquid–liquid microextraction method for the determination of tetracyclines in beef by liquid chromatography mass spectrometry // *Talanta.* 2016. Vol. 148. P. 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.11.006>
18. Yang Y., Yin S., Yang D., Jiang Y., Li Y., Zhou C., Sun C. Carboxyl Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticle-based SPE and HPLC method for the determination of six tetracyclines in water // *Anal. Bioanal. Chem.* 2019. Vol. 411, № 2. P. 507–515. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.11.006>
19. Черкашина К. Д., Сумина А. И., Вах К. С., Булатов А. В. Жидкостная микроэкстракция тетрациклинов из биологических жидкостей для их последующего определения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75, № 11. С. 1014–1020. <https://doi.org/10.31857/S0044450220090078>



20. Tang H. Z., Wang Y. H., Li S., Wu J., Gao Z. X., Zhou H. Y. Development and application of magnetic solid phase extraction in tandem with liquid-liquid extraction method for determination of four tetracyclines by HPLC with UV detection // *J. Food Sci. Technol.* 2020. Vol. 57. P. 2884–2893. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04320-w>
21. Di X., Zhao X., Guo X. Hydrophobic deep eutectic solvent as a green extractant for high-performance liquid chromatographic determination of tetracyclines in water samples // *J. Sep. Sci.* 2020. Vol. 43, № 15. P. 3129–3135. <https://doi.org/10.1002/jssc.202000477>
22. Pamreddy A., Hidalgo M., Havel J., Salvado V. Determination of antibiotics (tetracycline's and sulfonamides) in biosolids by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2013. Vol. 1298. P. 68–75.
23. Nour A. A., Sereshti H., Hijazi A., Rashidi N. H. Determination of three tetracyclines in bovine milk using magnetic solid phase extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC // *J. Chromatogr. B.* 2018. Vol. 1092. P. 480–488. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.06.049>
24. Wang G., Zhang H. C., Liu J., Wang J. P. A receptor-based chemiluminescence enzyme linked immunosorbent assay for determination of tetracyclines in milk // *Anal. Biochem.* 2019. Vol. 564–565. P. 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.10.017>
25. Ozbek O., Berkel C., Isildak O. Applications of potentiometric sensors for the determination of drug molecules in biological samples // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2020. Vol. 52, № 4. P. 768–779. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1825065>
26. Кулапина Е. Г., Тютликова М. С., Кулапина О. И., Дубасова А. Е. Твердодоконтатные потенциометрические сенсоры для определения некоторых цефалоспориновых антибиотиков в лекарственных препаратах и ротовой жидкости // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74, № 7. С. 63–70. <https://doi.org/10.1134/S0044450219070156>
27. Кулапина Е. Г., Кулапина О. И., Анкина В. Д. Планарные потенциометрические сенсоры на основе углеродных материалов для определения цефотаксима и цефуросксима // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75, № 2. С. 145–152. <https://doi.org/10.31857/S0044450220020115>
28. Кулапина Е. Г., Чанина В. В. Экспрессное определение цефазолина в малых объемах проб с применением планарных потенциометрических сенсоров // *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* 2019. Т. 19, вып. 1. С. 4–10. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-4-10>
29. Луу М., Лао Ж., Ван Х., Су З., Луу Ж., Вен Л., Йин З., Луо К., Пен Х. Электрохимическое определение тирозина на стеклоглеродном электроде, модифицированном композитом графена и наночастицами золота // *Электрохимия.* 2021. Т. 57, № 1. С. 47–58. <https://doi.org/10.31857/S0424857020110067>
30. Ватандост Э., Сарай А. Г. Х., Чекин Ф., Раэйсу Ш. Н., Шахиди С.-А. Электрохимический сенсор на основе гибридного материала магнитный Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-восстановленный оксид графена для высокочувствительного определения бинафтола // *Электрохимия.* 2021. Т. 57, № 5. С. 265–275. <https://doi.org/10.31857/S0424857021050133>
31. Двараканат Ш. Ч., Шиванна С. Г. Синтез палладиевых нанолент и их применение для электрохимического определения гемоглобина // *Электрохимия.* 2021. Т. 57, № 4. С. 239–248. <https://doi.org/10.31857/S0424857021040083>
32. Луу Ж., Ма Л.-Т., Лин А.-С., Лев М., Кон Ф.-Д., Ван Ж. Электрохимическое поведение метимазола на стеклоглеродном электроде, модифицированном Au-C // *Электрохимия.* 2021. Т. 57, № 4. С. 256–262. <https://doi.org/10.31857/S042485702104006X>
33. Багхери А., Маранд М. Х. Вольтамперометрическое и потенциометрическое определение Cu<sup>2+</sup> с помощью электрохимического сенсора на основе сверхокисленного полипиррола // *Электрохимия.* 2020. Т. 56, № 6. С. 483–493. <https://doi.org/10.31857/S042485702006002X>
34. Mengarda P., Fernando A. L. D., João V. C. Determination of lactate levels in biological fluids using a disposable ion-selective potentiometric sensor based on polypyrrole films // *Sens. Actuators B Chem.* 2019. Vol. 296. P. 126663–126677. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126663>
35. Kamel A. H., Amr A. E. G. E., Abdalla N. S., El-Naggar M. Novel solid-state potentiometric sensors using Polyaniline (PANI) as a solid-contact transducer for flucarbazone herbicide assessment // *Polymers.* 2019. Vol. 11, № 11. P. 1796–1806. <https://doi.org/10.3390/polym11111796>
36. Марьянов Б. М. Метод линеаризации в инструментальной титриметрии. Томск : Изд-во Томского ун-та, 2001. 158 с.
37. De Oliveira J. L. S., Teles Júnior G. A. C., Bonfim D. A., Carvalho Júnior C. M. R., Santos J. A., Ferreira M. S., Santos Júnior A. de F. Effect of medium pH on *in vitro* dissolution of marketed tetracyclines (tetracycline and doxycycline) solid oral dosage forms in Bahia, Brazil // *Dissolution Technol.* 2020. Vol. 27, № 2. P. 32–40. <https://doi.org/10.14227/DT270220P32>
38. Ali T. A., Mohamed G. G., Omar M. M., Abdrabou V. N. Improved determination of mebeverine hydrochloride in urine, serum and pharmaceutical preparations utilizing a modified carbon paste electrode // *Intern. J. Electrochem. Sci.* 2015. Vol. 10, № 3. P. 2439–2454.

## References

1. Alessandro C., Federica P., Gianandrea G., Sergio C., Lorenzo C. Tetracyclines: Insights and updates of their use in human and animal pathology and their potential toxicity. *The Open Biochem. J.*, 2019, vol. 13, no. 1, pp. 1–12. <https://doi.org/10.2174/1874091X01913010001>
2. Bortolanza M., Nascimento G. C., Socias S. B., Ploper D., Chehín R. N., Raisman-Vozari, R., Del-Bel E. Tetra-



- cycline repurposing in neurodegeneration: Focus on Parkinson's disease. *J. Neural Transm.*, 2018, vol. 125, no. 10, pp. 1403–1415. <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1913-1>
3. Golub L. M., Elburki M. S., Walker C., Ryan M., Sorsa T., Tenenbaum H., Goldberg M., Wolff M., Gu Y. Non-antibacterial tetracycline formulations: host-modulators in the treatment of periodontitis and relevant systemic diseases. *Intern. Dental J.*, 2016, vol. 66, no. 3, pp. 127–135. <https://doi.org/10.1111/idj.12221>
  4. Perry E. A., Bennett C. F., Luo C., Balsa E., Jedrychowski M., O'Malley K. E., Latorre-Muro P., Ladley R. P., Reda K., Wright P., Gygi S., Myers A., Puigserver P. Tetracyclines promote survival and fitness in mitochondrial disease models. *Nat. Metab.*, 2021, vol. 3, no. 1, pp. 33–42. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-00334-y>
  5. Fabio G. C., Cesar R. Tetracyclines in food and feedingstuffs: from regulation to analytical methods, bacterial resistance, and environmental and health implications. *J. Anal. Methods in Chem.*, 2017, vol. 2017, pp. 1–24.
  6. Fujita H., Sakamoto N., Ishimatsu Y., Kakugawa T., Hara S., Hara A., Amenomori M., Ishimoto H., Nagata T., Mukae H., Kohno S. Effects of doxycycline on production of growth factors and matrix metalloproteinases in pulmonary fibrosis. *Respiration*, 2011, vol. 81, no. 5, pp. 420–430. <https://doi.org/10.1159/000324080>
  7. Shaidarova L. G., Gedmina A. V., Syutkina V. N., Chelnokova I. A., Budnikov H. C. The use of an electrode modified by polyvinylpyrrolidone film with a gold deposit for voltammetric determination of tetracycline in milk. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki* [Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series], 2019, vol. 161, no. 1, pp. 20–30 (in Russian). <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2019.1.20-30>
  8. Qin J., Xie L., Ying Y. Determination of tetracycline hydrochloride by terahertz spectroscopy with PLSR model. *Food Chemistry*, 2015, vol. 170, pp. 415–422. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.050>
  9. Sergeeva A. S., Shchepina N. D. Indirect and extraction determination of tetracycline by flame atomic-absorption spectrometry. *Bulletin of VSU. Ser. Chemistry. Biology. Pharmacy*, 2020, no. 2, pp. 16–23 (in Russian).
  10. Rodríguez M. P., Pezza H. R., Pezza L. Simple and clean determination of tetracyclines by flow injection analysis. *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2016, vol. 153, pp. 386–392. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.08.048>
  11. Smirnova T. D., Paraschenko I. I., Zhelobitskaya E. A. Possibilities of stationary and time-resolved sensitized fluorescence in the determination of some tetracyclines in micellar media. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2015, vol. 15, iss. 2, pp. 13–19 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2015-15-2-13-19>
  12. Amelin V. G., Shogan Z. A. C., Bol'shakov D. S. Solid phase-fluorimetric determination of tetracyclines in medical preparations on cellulose paper and in thin-layer silica gel with the use of smartphone. *Chem. Pharm. J.*, 2021, vol. 55, no. 3, pp. 52–57 (in Russian). <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2021-55-3-52-57>
  13. Zhao N., Wang Y., Hou S., Zhao L. Functionalized carbon quantum dots as fluorescent nanoprobe for determination of tetracyclines and cell imaging. *Microchim. Acta*, 2020, vol. 187, no. 6, pp. 351. <https://doi.org/10.1007/s00604-020-04328-1>
  14. Wei W., He J., Wang Y., Kong M. Ratiometric method based on silicon nanodots and Eu<sup>3+</sup> system for highly-sensitive detection of tetracyclines. *Talanta*, 2019, vol. 204, pp. 491–498. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.036>
  15. Jia P., Bu T., Sun X., Liu Y., Liu J., Wang Q., Shui Y., Guo S., Wang L. A sensitive and selective approach for detection of tetracyclines using fluorescent molybdenum disulfide nanoplates. *Food Chem.*, 2019, vol. 297, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124969>
  16. Xing X., Huang L., Zhao S., Xiao J., Lana M. S. N-Doped carbon dots for tetracyclines sensing with a fluorometric spectral response. *Microchem. J.*, 2020, vol. 157, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105065>
  17. Mookantsa S. O. S., Dube S., Nindi M. M. Development and application of a dispersive liquid–liquid microextraction method for the determination of tetracyclines in beef by liquid chromatography mass spectrometry. *Talanta*, 2016, vol. 148, pp. 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.11.006>
  18. Yang Y., Yin S., Yang D., Jiang Y., Li Y., Zhou C., Sun C. Carboxyl Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticle-based SPE and HPLC method for the determination of six tetracyclines in water. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019, vol. 411, no. 2, pp. 507–515. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.11.006>
  19. Cherkashina K. D., Sumina A. I., Vakh K. S., Bulatov A. V. Liquid–liquid microextraction of tetracyclines from biological fluids for their subsequent determination by high-performance liquid chromatography with UV detection. *J. Anal. Chem.*, 2020, vol. 75, no. 11, pp. 1424–1429. <https://doi.org/10.1134/S1061934820090075>
  20. Tang H. Z., Wang Y. H., Li S., Wu J., Gao Z. X., Zhou H. Y. Development and application of magnetic solid phase extraction in tandem with liquid–liquid extraction method for determination of four tetracyclines by HPLC with UV detection. *J. Food Sci. Technol.*, 2020, vol. 57, pp. 2884–2893. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04320-w>
  21. Di X., Zhao X., Guo X. Hydrophobic deep eutectic solvent as a green extractant for high-performance liquid chromatographic determination of tetracyclines in water samples. *J. Sep. Sci.*, 2020, vol. 43, no. 15, pp. 3129–3135. <https://doi.org/10.1002/jssc.202000477>
  22. Pamreddy A., Hidalgo M., Havel J., Salvado V. Determination of antibiotics (tetracycline's and sulfonamides) in biosolids by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 2013, vol. 1298, pp. 68–75.
  23. Nour A. A., Sereshti H., Hijazi A., Rashidi N. H. Determination of three tetracyclines in bovine milk using



- magnetic solid phase extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC. *J. Chromatogr. B*, 2018, vol. 1092, pp. 480–488. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.06.049>
24. Wang G., Zhang H.C., Liu J., Wang J. P. A receptor-based chemiluminescence enzyme linked immunosorbent assay for determination of tetracyclines in milk. *Anal. Biochem.*, 2019, vol. 564–565, pp. 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.10.017>
25. Ozbek O., Berkel C., Isildak O. Applications of Potentiometric Sensors for the Determination of Drug Molecules in Biological Samples. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 2020, vol. 52, no. 4, pp. 768–779. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1825065>
26. Kulapina E. G., Tyutlikova M. S., Kulapina O. I., Dubasova A. E. Solid-contact potentiometric sensors for the determination of some cephalosporin antibiotics in pharmaceuticals and oral fluid. *J. Anal. Chem.*, 2019, vol. 74, no. 2, pp. 52–58. <https://doi.org/10.1134/S1061934819070128>
27. Kulapina E. G., Kulapina O. I., Ankina V. D. Screen-printed potentiometric sensors based on carbon materials for determining cefotaxime and cefuroxime. *J. Anal. Chem.*, 2020, vol. 75, no. 2, pp. 231–237. <https://doi.org/10.1134/S1061934820020100>
28. Kulapina E. G., Chanina V. V. Express method for cefazolin determination in small samples sensors planar potentiometric. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 4–10 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-4-10>
29. Liu M., Lao J., Wang H., Su Z., Liu J., Wen L., Ying Z., Lo K., Pen H. Electrochemical determination of tyrosine on a glass-carbon electrode modified with a graphene composite and gold nanoparticles. *Electrochem.*, 2021, vol. 57, no. 1, pp. 47–58 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0424857020110067>
30. Vatandost E., Saray A. G.H., Chekin F., Raeisi Sh. N., Shahidi S.-A. Electrochemical sensor based on hybrid material magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-reduced graphene oxide for highly sensitive determination of binaphthol. *Electrochem.*, 2021, vol. 57, no. 5, pp. 265–275 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0424857021050133>
31. Dvarakanat Sh. Ch., Shivappa S. G. Synthesis of palladium nanolents and their application for electrochemical determination of hemoglobin. *Electrochem.*, 2021, vol. 57, no. 4, pp. 239–248 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0424857021040083>
32. Liu J., Ma L.-T., Lin A.-S., Lv M., Kon F.-D., Wang J. Electrochemical behavior of methimazole on a glass-carbon electrode modified by Ai-S. *Electrochem.*, 2021, vol. 57, no. 4, pp. 256–262 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S042485702104006X>
33. Bagheri A., Maran M. H. Voltammetric and potentiometric determination of Cu<sup>2+</sup> using an electrochemical sensor based on super-oxidized polypyrrole. *Electrochem.*, 2020, vol. 56, no. 6, pp. 483–493 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S042485702006002X>
34. Mengarda P., Fernando A. L. D., João V. C. Determination of lactate levels in biological fluids using a disposable ion-selective potentiometric sensor based on polypyrrole films. *Sens. Actuators B Chem.*, 2019, vol. 296, pp. 126663–126677. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126663>
35. Kamel A. H., Amr A. E. G. E., Abdalla N. S., El-Naggar M. Novel solid-state potentiometric sensors using Polyaniline (PANI) as a solid-contact transducer for flucarbazone herbicide assessment. *Polymers*, 2019, vol. 11, no. 11, pp. 1796–1806. <https://doi.org/10.3390/polym11111796>
36. Maryanov B. M. *Metod linearizatsii v instrumental'noj titrimetrii* [Linearization method in instrumental titrimetry]. Tomsk, Izd-vo Tomskogo un-ta, 2001. 158 p. (in Russian).
37. De Oliveira J. L. S., Teles Júnior G. A. C., Bonfim D. A., Carvalho Júnior C. M. R., Santos J. A., Ferreira M. S., Santos Júnior A. de F. Effect of medium pH on *in vitro* dissolution of marketed tetracyclines (tetracycline and doxycycline) solid oral dosage forms in Bahia, Brazil. *Dissolution Technol.*, 2020, vol. 27, no. 2, pp. 32–40. <https://doi.org/10.14227/DT270220P32>
38. Ali T. A., Mohamed G. G., Omar M. M., Abdrabou V. N. Improved determination of mebeverine hydrochloride in urine, serum and pharmaceutical preparations utilizing a modified carbon paste electrode. *Intern. J. Electrochem. Sci.*, 2015, vol. 10, no. 3, pp. 2439–2454.

Поступила в редакцию 07.12.22; одобрена после рецензирования 15.12.22; принята к публикации 15.12.22  
The article was submitted 07.12.22; approved after reviewing 15.12.22; accepted for publication 15.12.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 51–61  
*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 51–61  
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-51-61>, EDN: UDXDQM

Научная статья  
УДК 614.71:551.578.4

## Определение антропогенного загрязнения по физико-химическим характеристикам талого снега



Е. О. Маркова , Ю. П. Корякина, М. А. Титова, Д. В. Баранова-Федорова

Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, г. Смоленск, ул. Крупской, д. 28

Маркова Екатерина Олеговна, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей и медицинской химии, [smeshik-kate@mail.ru](mailto:smeshik-kate@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-4361-0824>

Корякина Юлия Петровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей гигиены, [tuman-yu@mail.ru](mailto:tuman-yu@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-4341-4417>

Титова Маргарита Андреевна, студент педиатрического факультета, [rita.2003.titova@gmail.com](mailto:rita.2003.titova@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-3978-0986>

Баранова-Федорова Дарья Вадимовна, студент педиатрического факультета, [dbaranovafedorova@bk.ru](mailto:dbaranovafedorova@bk.ru), <https://orcid.org/0000-0003-4398-2115>

**Аннотация.** Состояние окружающей среды в городах определяется степенью загрязнения отдельных компонентов окружающей среды. Геохимические аномалии в городских агломерациях часто образуются в депонирующих загрязнение средах: почвенный, снежный покров, донные отложения. Цель исследования – экологический мониторинг антропогенного воздействия в разных районах г. Смоленска и г. Вязьмы по физико-химическим характеристикам талого снега. Объектом исследования был выбран снег, так как он накапливает в себе многие вещества, поступающие в атмосферу, а впоследствии может стать источником вторичного загрязнения почвенного покрова, подземных и поверхностных вод. Определялись органолептические показатели (запах, цветность, мутность, наличие осадка в талой воде), химические показатели (количество взвешенных частиц, pH, общая жесткость, общая минерализация, количество органических веществ). Проводились определения на наличие хлорид-ионов ( $\text{Cl}^-$ ), сульфат-ионов ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), нитрат-ионов ( $\text{NO}_3^-$ ), нитрит-ионов ( $\text{NO}_2^-$ ), гидрокарбонат-ионов ( $\text{HCO}_3^-$ ) и ионов некоторых тяжелых металлов ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ). Параллельно проводилась биоиндикация исследуемых проб на кресс-салате. Был установлен низкий уровень загрязнения г. Смоленска и г. Вязьмы. Наибольший вклад в формирование уровня загрязнения в холодный период года вносят концентрации взвешенных веществ, соединения железа и марганца, концентрация которых превышает ПДК. Концентрация примесей зависит от удаленности от крупных промышленных объектов, авто- и ж/д-объектов, санитарно-технического состояния и режима уборки территории. Наиболее чистые – это придворовые территории Смоленска и Вязьмы. Наибольшую часть загрязнения снега дает ТЭЦ и транспорт. Самыми неблагоприятными оказались пробы, взятые вблизи автостоянок, ж/д-путей и недалеко от ТЭЦ.

**Ключевые слова:** экологический мониторинг, антропогенное воздействие, предельно допустимая концентрация

**Для цитирования:** Маркова Е. О., Корякина Ю. П., Титова М. А., Баранова-Федорова Д. В. Определение антропогенного загрязнения по физико-химическим характеристикам талого снега // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 51–61. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-51-61>, EDN: UDXDQM

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

### Determination of atmospheric air pollution by physical and chemical characteristics of snowmelt

Е. О. Markova , Yu. P. Koryakina, M. A. Titova, D. A. Baranova-Fedorova

Smolensk State Medical Academy, 28 Krupskaya St., Smolensk 214019, Russia

Ekaterina O. Markova, [smeshik-kate@mail.ru](mailto:smeshik-kate@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-4361-0824>

Yuliya P. Koryakina, [tuman-yu@mail.ru](mailto:tuman-yu@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-4341-4417>

Margarita A. Titova, [rita.2003.titova@gmail.com](mailto:rita.2003.titova@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-3978-0986>

Daria A. Baranova-Fedorova, [dbaranovafedorova@bk.ru](mailto:dbaranovafedorova@bk.ru), <https://orcid.org/0000-0003-4398-2115>

**Abstract.** The state of the environment in cities is determined by the degree of pollution of individual components of the environment. Geochemical anomalies in urban agglomerations are often formed in pollution depositing media such as soil, snow cover, bottom sediments. The purpose of the study is environmental monitoring of anthropogenic impact in different areas of Smolensk and Vyazma according to the physical and chemical characteristics of melted snow. Snow was chosen as the object of the study, because it accumulates many substances



entering the atmosphere, and subsequently can become a source of secondary pollution of the soil cover, underground and surface waters. The study determined organoleptic parameters (smell, color, turbidity, the presence of sediment in melt water), chemical parameters (the number of suspended particles, pH, total rigidity and mineralization, the amount of organic substances). The presence of chloride ions ( $\text{Cl}^-$ ), sulfate ions ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), nitrate ions ( $\text{NO}_3^-$ ), nitrite ions ( $\text{NO}_2^-$ ), bicarbonate ions ( $\text{HCO}_3^-$ ) and ions of some heavy metals ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ) have been determined. Bioindication of the studied samples on watercress has been carried out in parallel. A low level of air pollution in Smolensk and Vyazma has been established. The greatest contribution to the formation of the level of pollution in the cold period of the year is made by suspended substances, iron and manganese compounds in concentrations exceeding the maximum permissible concentration. The concentration of impurities depends on the distance from large industrial objects, automobile and railway objects, sanitary and technical condition and cleaning regime of the territory. The courtyard territories of Smolensk and Vyazma are the cleanest. The largest part of snow pollution is provided by the thermoelectric power stations and transport. Samples taken near car parks, railway tracks and near the thermoelectric power stations were the most unfavorable.

**Keywords:** environmental monitoring, anthropogenic impact, maximum permissible concentration

**For citation:** Markova E. O., Koryakina Yu. P., Titova M. A., Baranova-Fedorova D. A. Determination of atmospheric air pollution by physical and chemical characteristics of snowmelt. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 51–61 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-51-61>, EDN: UDXDQM

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

## Введение

Состояние окружающей среды оценивается по состоянию отдельных ее составляющих: атмосферного воздуха, поверхностных и подземных вод, почв и растительного покрова. Снег – один из наиболее информативных и удобных индикаторов загрязнения [1]. Зимой наблюдается повышение концентрации различных химических веществ в атмосфере, обусловленное ухудшением метеорологических условий рассеяния примесей, увеличением количества промышленных выбросов, замедлением химических процессов трансформации веществ. По этим причинам в снежном покрове накапливается основная масса атмосферных поллютантов [2–5]. При образовании и выпадении снега в результате процессов сухого и влажного вымывания концентрация загрязняющих веществ оказывается обычно на 2–3 порядка выше, чем в атмосферном воздухе [6, 7]. Более 93% загрязнителей имеют антропогенное происхождение: загрязняющие вещества от выбросов промышленных заводов, автотранспорта, противогололедные реагенты [8, 9]. Загрязняющие вещества ведут себя по-разному при контакте со снежным покровом: некоторые абсорбируются снегом, другие возвращаются в атмосферу. Снег, взаимодействуя с аэрозолями, может увеличивать концентрацию частиц в воздухе над снежным покровом, что также может негативно сказываться на здоровье людей. Во время весеннего таяния снега токсичные вещества поступают в почву. Это приводит к загрязнению почвы тяжелыми металлами, полициклическими ароматическими углеводородами, легкорастворимыми солями. Однако не все элементы задерживаются почвой. Часть загрязнителей вместе с талыми водами просачивается сквозь

почву и попадает в грунтовые воды, а затем в реки [9, 10]. Контроль загрязнения снежного покрова дает возможность проанализировать состав загрязнителей и оценить техногенный поток, позволяет проследить пространственное распределение загрязняющих веществ по территории и получить достоверную картину зон влияния конкретных промышленных предприятий и других объектов на состояние окружающей среды [11, 12].

*Цель исследования:* экологический мониторинг антропогенного воздействия в разных районах г. Смоленска и г. Вязьмы по физико-химическим характеристикам талого снега.

## Материалы и методы

Исследование проводилось в г. Смоленске (325,5 тыс. человек) и в г. Вязьме (52,3 тыс. человек). Основные источники загрязнения в этих городах: автотранспорт, предприятия приборостроения и машиностроения, производства строительных материалов [13]. Для взятия проб были отобраны зоны с различной степенью интенсивности и разными видами техногенного воздействия (табл. 1).

Пробы отбирали одновременно в начале марта непосредственно перед началом снеготаяния методом шурфа, не доходя 5-сантиметрового слоя над почвой, в трех повторностях [14]. Определялись органолептические показатели: запах [15], цветность [16], мутность [17], наличие осадка [18]. Отмечали наличие радужной пленки у исследуемой воды на фильтре при фильтровании проб [15]. Определялись физико-химические показатели: концентрация взвешенных частиц (гравиметрически после фильтрования пробы, по привесу высушенного фильтра), pH (потенциометрически с помо-



Таблица 1 / Table 1

**Точки отбора проб снега**  
**Snow sampling points**

№ пробы / No. samples	Местоположение Location	Характеристика Characteristic
1	г. Смоленск, ул. Светлая, д. 4 / Smolensk, Svetlyaya St., 4 (54,74952° С, 32,11511° В)	Придворовая территория, удаленная от дороги / Yard territory, remote from the road
2	г. Смоленск, ул. Крупской, д. 28 / Smolensk, Krupskaya str., 28 (54,76929° С, 32,06048° В)	Оживленный перекресток / Busy intersection
3	г. Смоленск, ул. Куриленко, д. 13 / Smolensk, Kurylenko St., 13 (54,76564° С, 32,07145° В)	Крупная автостоянка / Large parking lot
4	г. Вязьма, кв. Парковый, д.3 / Vyazma, Park square, 3 (55,22208° С, 34,30036° В)	Придворовая территория, удаленная от дороги / Yard territory, remote from the road
5	г. Вязьма, ул. Космонавтов, д.1 / Vyazma, Kosmonavtov St., 1 (55,20979° С, 34,28697° В)	Оживленный перекресток / Busy intersection
6	г. Вязьма, 25 Октября, д. 47 / Vyazma, October 25, 47 (55,19151° С, 34,30729° В)	Крупная автостоянка г. Вязьмы / Large parking lot in Vyazma
7	г. Смоленск, ТЭЦ-2 / Smolensk, CHP-2 (54,77808° С, 32,14750° В)	В районе теплоэлектростанции / In the area of the thermal power plant
8	г. Смоленск, ж/д / Smolensk, railway (54,79774° С, 32,03715° В)	В районе железнодорожных путей / In the area of railway tracks
9	г. Смоленск, Днепр / Smolensk, Dnipro (54,79103° С, 32,04803° В)	В районе набережной р. Днепр / In the area of the embankment of the Dnieper river

щью рН - метра-ионометра «Экотест - 2000»), общая жесткость (комплексометрически), общая минерализация (кондуктометрически), концентрация органических веществ (фотокolorиметрически), концентрация ионов  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  (фотометрически),  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$  (титриметрически) [16],  $\text{NO}_3^-$  (потенциометрически) [19],  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  (спектрофотометрически) [20–23]. При проведении биоиндикации использовали кресс-салат, отличающийся быстрым прорастанием семян и почти стопроцентной всхожестью. Его побеги и корни под действием загрязнителей подвергаются заметным морфологическим изменениям [24, 25]. Опыт проводился в лабораторных условиях при естественном освещении и температуре 22–24°C. Семена кресс-салата поливались пробами талого снега и сравнивались с контрольной пробой (водопроводная хлорированная вода). В течение 14 дней регистрировались всхожесть, высота

проростков, морфологические изменения побегов, на 14-й день измерялась масса. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2019 и Statistica 7. Различия между сравниваемыми параметрами считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение**

Наиболее чистые пробы по органолептическим показателям взяты в придворовых территориях. В качестве контрольной отобрана проба, взятая на придворовой территории г. Смоленска, как имеющая наилучшие показатели (табл. 2).

Во всех пробах отмечается наличие осадка в виде песка, что может быть обусловлено применением в качестве антигололедных средств песчано-соляной смеси. Наиболее загрязненные пробы взяты в районе автостоянок и вблизи железной дороги.



Таблица 2 / Table 2

**Органолептические показатели исследуемых проб**  
**Organoleptic parameters of the studied samples**

№ пробы No. samples	Показатель / Indicator				
	Запах (в норме 0–3) [26] Smell (normally 0–3)	Цветность (в норме до 20°) [26] Chroma (normally up to 300)	Мутность (в норме отсутствует) [26] Turbidity (normally absent)	Наличие осадка Presence of sediment	Наличие радужной пленки The presence of an iridescent film
1	Слабый, 2 Weak, 2	15	Отсутствует Absent	+	–
2	Заметный, 3 Notable, 3	45*Δ	Слабо-мутный Slightly muddy	+	–
3	Отчетливый, 4 Distinct, 4	321*Δ	Мутный Muddy	+	+
4	Слабый, 2 Weak, 2	20*	Слабо-мутный Slightly muddy	+	–
5	Отчетливый, 4 Distinct, 4	45*Δ	Слабо-мутный Slightly muddy	+	–
6	Отчетливый, 4 Distinct, 4	65*Δ	Мутный Muddy	+	+
7	Очень сильный, 5 Very strong, 5	125*Δ	Сильно-мутный Very muddy	+	–
8	Отчетливый, 4 Distinct, 4	211*Δ	Сильно-мутный Very muddy	+	+
9	Заметный, 3 Notable, 3	45*Δ	Отсутствует Absent	+	+

Примечание. \* –  $p < 0,05$  – по отношению к контрольной пробе; Δ –  $p < 0,05$  – по отношению к ПДК.

Note. \* –  $p < 0,05$  – in relation to the control sample; Δ –  $p < 0,05$  – in relation to the MPC.

В пробах 3, 6, 8, 9 обнаружены радужные пленки на поверхности воды, что может свидетельствовать о наличии органических веществ или оксидов железа. Формы железистых и нефтяных пленок различны: первые представляют собой тонкие пленки, разбивающиеся на остроугольные части, вторые имеют округлые очертания [27]. По форме обнаруженные пленки соответствуют пленкам железных оксидов. При проведении количественного исследования в пробах обнаружено, что концентрация органических веществ ниже 1 мг/л. Наименьшая концентрация растворенных органических веществ в незагрязненных природных водах должна составлять около 1 мг/л, наибольшая не превышать 10–20 мг/л [28]. Таким образом, существенного загрязнения органическими веществами не происходит и полученные радужные пленки говорят о наличии ионов железа в пробах.

В приземных слоях воздуха присутствуют твердые частицы: конгломерат углерода с

водородом, сажи, зола, различные выбросы, образующиеся при горении топлива [29, 30]. Появление взвешенных частиц может происходить от природных и антропогенных источников: применение в качестве антигололедных средств песчано-соляной смеси, двигатели внутреннего сгорания, твердые виды топлива, строительство, а также эрозия дорожного покрытия вследствие движения автотранспорта и истирания тормозных колодок и шин. За счет химических реакций газообразных загрязняющих веществ в воздухе (оксидов серы и азота) происходит формирование вторичных частиц [31]. В соответствии с ГН 2.1.6.3492-17 ПДК взвешенных веществ в воздухе составляет 0,15 мг/л. В РФ это значение выше, чем рекомендуемое ВОЗ: для взвешенных частиц PM10 рекомендуемая средне-суточная концентрация – 0,05 мг/л, а для PM2.5 – 0,025 мг/л [32]. По данным Росприроднадзора, в 2020 г. в Смоленской области выброс загрязняющих веществ составил 86,1 тыс. тонн. В целом



по г. Смоленску содержание взвешенных частиц составляло 0,283 мг/л [12]. По степени негативного влияния взвешенные вещества отнесены к 3-му классу опасности. Они способствуют повышению уровня заболеваемости болезнями

органов дыхания, системы кровообращения, злокачественными новообразованиями [33]. Наиболее чистые показатели исследуемых проб – в придворовой территории г. Вязьмы (в 2 раза меньше, чем в контрольном образце) (табл. 3).

Таблица 3 / Table 3

**Содержание взвешенных частиц в исследуемых пробах**  
**The content of suspended particles in the samples under study**

№ пробы / no. samples	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрация взвешенных частиц, мг/л Concentration of suspended particles, mg/l	20,2 ± 1,0 <sup>Δ</sup>	36,5 ± 1,1* <sup>Δ</sup>	70,3 ± 1,5* <sup>Δ</sup>	10,0 ± 0,9* <sup>Δ</sup>	35,0 ± 0,5* <sup>Δ</sup>	55,2 ± 1,1* <sup>Δ</sup>	32,06 ± 0,13* <sup>Δ</sup>	35,07 ± 0,04* <sup>Δ</sup>	23,1 ± 0,9 <sup>Δ</sup>

Примечание. См. табл. 2.  
Note. See Table 2.

Максимальная концентрация взвешенных частиц наблюдается в пробах, взятых в районе автостоянок г. Смоленска (в 3,5 раза больше, чем в контрольном пробе) и г. Вязьмы (в 2,8 раза). Вблизи дорог уровень запыленности возрастает в 1,8 раза, в районе ТЭЦ – в 1,6 раза, в районе ж/д – в 1,8 раз по отношению к контрольному образцу. Вблизи набережной р. Днепр уровень запыленности близок к контрольному. Полученные данные согласуются и с большим количеством осадка, наблюдаемого в пробах при отстаивании. Для природных вод сухой остаток может составлять до 1000–1500 мг/л, поэтому обнаруженные нами концентрации взвешенных частиц не будут критичными для водных объектов, куда они попадут при таянии снега.

Полученные при определении физико-химических показателей данные представлены в табл. 4, 5 и 6. В придворовых территориях г. Смоленска и Вязьмы показатель pH более близок к 7, чем в других пробах (см. табл. 4). Вблизи дороги и на автостоянке г. Вязьма наблюдали снижение pH, что может быть вызвано наличием в атмосфере оксидов серы, азота, хлористого водорода или летучих органических соединений, поступающих в больших количествах от автотранспорта. Оксиды, попадая в атмосферу, реагируют с молекулами воды, образуя кислоты [29]. От котлоагрегатов ТЭЦ, работающих на угле, выбрасываются в атмосферу NO, NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, CO, сажа, зола угля и бенз(а)пирен, а от котлоагрегатов ТЭЦ, работающих на газе, – NO, NO<sub>2</sub>, бенз(а)пирен и CO [34], что может вызывать снижение pH.

Таблица 4 / Table 4

**Физико-химические показатели талого снега (часть 1)**  
**Chemical indicators of melted snow (part 1)**

№ пробы no. samples	pH	Общая минерализация, мг/л Total mineralization, mg/l	Общая жесткость, мг-экв/л Total hardness, mg-eq/l
1	6,89 ± 0,14	21,1 ± 0,2	0,761 ± 0,014
2	7,45 ± 0,12*	47,1 ± 0,2*	2,326 ± 0,012*
3	7,59 ± 0,17*	252,2 ± 0,2*	3,704 ± 0,016*
4	7,05 ± 0,13*	67,4 ± 0,2*	1,302 ± 0,011*
5	5,66 ± 0,11*	132,6 ± 0,2*	2,340 ± 0,011*
6	6,61 ± 0,14*	168,4 ± 0,2*	2,607 ± 0,015*
7	5,86 ± 0,19*	318,5 ± 0,2*	10,604 ± 0,013*
8	7,38 ± 0,14*	278,8 ± 0,2*	4,523 ± 0,015*
9	6,00 ± 0,12*	77,4 ± 0,2*	1,122 ± 0,012*

Примечание. \* –  $p < 0,05$  – по отношению к контрольной пробе.  
Note. \* –  $p < 0,05$  – in relation to the control sample.



Физико-химические показатели талого снега (часть 2)  
 Chemical indicators of melted snow (part 2)

№ пробы / no. samples	[HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ], мг/л / mg/l	[SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ], мг/л / mg/l	[Cl <sup>-</sup> ], мг/л / mg/l	[NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ], мг/л / mg/l	[NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ], мг/л / mg/l	[NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] мг/л / mg/l
1	16,47±0,12	–	18,02±0,14	0,121±0,013	–	0,0596 ± 0,0017
2	69,54±0,17*	–	28,00±0,13*	0,47±0,02*	–	0,1930 ± 0,0016*
3	97,62±0,13*	–	36,64±0,18*	0,84±0,02*	–	0,3520 ± 0,0012*
4	31,72±0,14*	–	18,0±0,2	0,15±0,02	–	0,0370 ± 0,0012*
5	64,66±0,19*	22,009±0,012*	29,60±0,11*	0,553±0,011*	–	0,192 ± 0,005*
6	56,73±0,11*		36,6±0,2*	1,115±0,014*	–	0,0630 ± 0,0016*
7	26,92±0,16*	23,652±0,013*	47,97±0,14*	2,712±0,013*	–	0,237 ± 0,004*
8	119,56±0,17*	–	20,00±0,15*	0,90±0,02	–	0,4290 ± 0,0017*
9	24,41±0,12*	–	18,01±0,11	1,643±0,017*	–	0,0112 ± 0,0015*

Примечание. См. табл. 4.

Note. See Table 4.

По жесткости талая вода почти всех рассматриваемых образцов относится к классу мягких вод, что свидетельствует о низком содержании ионов Ca<sup>2+</sup> и Mg<sup>2+</sup> в образцах. Минимальные показатели зафиксированы в контрольной пробе. Однако вода из пробы, взятая в районе ж/д, относится к водам средней жесткости, а в районе ТЭЦ – к жестким водам (см. табл. 4).

Слабощелочная реакция среды, наблюдаемая в пробах, взятых вблизи дороги и на стоянке г. Смоленска, у ж/д и ТЭЦ может быть связана с наличием Ca(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> и Mg(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, что коррелирует с данными, полученными нами в эксперименте (содержание ниже ПДК – 400 мг/л [35]) (см. табл. 5).

Концентрация гидрокарбонатов в снежном покрове может определяться концентрацией CO<sub>2</sub> в атмосфере. Поступление больших количеств пыли в атмосферу г. Смоленска (цементная, строительная промышленность, теплоэнергетика) также приводит к увеличению содержания HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> за счет растворения техногенных карбонатов, содержащихся в пыли. Кроме того, подщелачивание осадков может быть обусловлено присутствием в атмосфере значительного количества твердых фракций сгоревшего топлива, оксидами металлов, аммиака и т.д. Обнаруженное нами содержание ионов NH<sub>4</sub><sup>+</sup> не превышает ПДК в воде водоемов (2,6 мг/л) и в питьевой воде (1,5 мг/л). По данным

ВОЗ, содержание NH<sub>4</sub><sup>+</sup> не должно превышать всего 0,5 мг/л. Более высокое содержание ионов аммония, чем в контрольном образце обнаружено в пробах вблизи дорог (в 3,2 раза) и на стоянке г. Смоленска (в 5,95 раза), у железной дороги (в 7,2 раза) и у ТЭЦ (в 4,0 раза). На придворовой территории г. Вязьмы содержание ионов аммония ниже, чем в контрольной пробе в 1,6 раза, а в районе набережной р. Днепр в 5,3 раза.

Во всех пробах обнаружены хлорид-ионы, содержание которых не превышает ПДК в питьевой воде (350 мг/л). Cl<sup>-</sup> обладают большой миграционной способностью, что объясняется их хорошей растворимостью, слабо выраженной способностью к сорбции на взвешенных веществах. Этим, возможно, и объясняется невысокое содержание хлоридов в талых водах [36, 37]. Более высокое содержание хлорид-ионов, по сравнению с контрольной пробой, отмечается в пробах, взятых вблизи дорог (в 1,5 раза больше), автостоянок (в 2,0 раза больше) и ТЭЦ (2,7 раза больше).

В пробах, взятых вблизи дороги г. Вязьмы и ТЭЦ, были обнаружены сульфаты (содержание ниже ПДК – 500 мг/л [35]). Накопление даже небольшого количества сульфатов может отражаться на снижении pH. Во всех пробах были обнаружены NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, содержание которых меньше ПДК (45 мг/л [35]). Самые низкие показатели на придворовых территориях г. Смоленска



(0,27 ПДК) и г. Вязьмы (0,33 ПДК). В остальных пробах наблюдается увеличенное количество нитратов: вблизи дороги г. Смоленска в 4 раза больше, чем в контрольной пробе; вблизи дороги г. Вязьмы в 4,6 раза, вблизи автостоянки г. Смоленска – в 1,4 раз, вблизи автостоянки г. Вязьмы – в 1,3 раз, в районе ж/д путей – в 1,6 раза, в районе ТЭЦ – в 2,9 раза больше. Нитриты в пробах не обнаружены (ПДК в питьевой воде – 0,3 мг/л; в воде водоемов составляет 3,3 мг/л). Вероятно, это объясняется их легкой окисляемостью.

В атмосфере над городами часто содержатся частицы железа и марганца, выступающие катализаторами реакций и усиливающие

образование кислот [38]. Ионы железа были обнаружены во всех пробах, кроме пробы 9. Концентрация ионов железа во всех пробах, кроме придворовых территорий, превышает ПДК в питьевой воде (0,3 мг/л [35]). Вблизи дороги г. Смоленска в 1,1 раза; вблизи дороги г. Вязьмы в 1,2 раза, вблизи автостоянки г. Смоленска – в 7 раз, вблизи автостоянки г. Вязьмы – в 9,3 раз, в районе набережной Днепра – в 13,3 раза, в районе ТЭЦ – в 22,5 раза больше (см. табл. 6). ПДК соединений железа в пересчете на железо в атмосферном воздухе (при воздействии не менее 24 ч) не должно превышать 0,015 мг/л.

Таблица 6 / Table 6

Содержание ионов тяжелых металлов в исследуемых пробах  
The content of heavy metal ions in the studied samples

Ионы металлов / Metal ions	№ пробы / no. samples								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
[Fe <sup>3+</sup> ] мг/л / mg/l	0,33 ± 0,02*	0,363 ± 0,014 <sup>Δ</sup>	0,47 ± 0,02* <sup>Δ</sup>	0,31 ± 0,02	0,392 ± 0,011* <sup>Δ</sup>	0,425 ± 0,016* <sup>Δ</sup>	0,973 ± 0,014* <sup>Δ</sup>	0,54 ± 0,02 <sup>Δ</sup>	–
[Mn <sup>2+</sup> ] мг/л / mg/l	0,123 ± 0,017 <sup>Δ</sup>	0,245 ± 0,012* <sup>Δ</sup>	0,309 ± 0,016* <sup>Δ</sup>	0,137 ± 0,011* <sup>Δ</sup>	0,249 ± 0,016* <sup>Δ</sup>	0,335 ± 0,015* <sup>Δ</sup>	0,506 ± 0,01* <sup>Δ</sup>	0,588 ± 0,014* <sup>Δ</sup>	0,487 ± 0,019* <sup>Δ</sup>

Примечание. См. табл. 2.  
Note. See Table 2.

Концентрация ионов марганца, обнаруженных во всех пробах, превышает ПДК в питьевой воде (0,1 мг/л): на придворовых территориях – в 1,2 раза, вблизи дорог – в 2,4; вблизи автостоянок – в 3–3,3, в районе набережной р. Днепр – в 4,8, в районе ТЭЦ – в 5, в районе ж/д путей – 5,8 раза. ПДК соединений марганца в пересчете на диоксид марганца в атмосферном воздухе (при воздействии не менее 24 ч) не должно превышать 0,001 мг/л. Ионы свинца и меди в пробах не обнаружены.

При проведении биоиндикации была получена 100% всхожесть семян кресс-салата во всех пробах, кроме пробы, взятой в районе ж/д (всхожесть 50%) и автостоянок (всхожесть 75%). Находящиеся в пробах примеси простимулировали рост семян: в контрольной пробе за 4 дня прирост составил 2,5 см, а в пробах, обработанных талыми водами – в среднем 3,5 см. Но после 5-го дня ростки, обрабатываемые талыми водами, замедлили рост и достоверного прироста уже не наблюдалось, проростки стали искривляться, на 10-й день рост остановился. В контрольной группе растений рост продолжался до последнего дня ис-

следования. Кроме того, во всех группах растений наблюдалось обламывание проростков на вторую неделю исследования, кроме контрольной. Это свидетельствует о том, что находящиеся в пробах вещества превысили допустимые значения концентрации и стали отрицательно воздействовать на рост растений. Наблюдалось отмирание нижних листьев, и они осыпались без всяких видимых изменений (табл. 7).

Прирост массы проростков так же подтверждает пагубное действие примесей, содержащихся в талых водах. Максимальный вес растений на 14-й день исследования отмечен в контрольной группе. В остальных группах – примерно в 1,67 раза меньше.

### Заключение

Уровень загрязнения снега в г. Смоленске и г. Вязьме достаточно низкий. Наибольший вклад в формирование уровня загрязнения в холодный период года вносят взвешенные вещества, соединения железа и марганца, концентрация которых превышает ПДК. Концентрация примесей зависит от удаленности от крупных про-



Таблица 7 / Table 7

**Биоиндикация проростков семян кресс-салата**  
**Bioindication of watercress seed seedlings**

№ пробы no. samples	День исследования / Research day						Масса, г Weight, g
	4	7	9	11	13	14	
1	3,67 ± 0,16*	6,4±0,9	6,1±1,0	6,7±0,3	6,7±0,3	6,7±0,3	3,2±0,2
2	4,0 ± 0,2*	6,2±0,7	6,05±0,10	6,6±0,2	6,6±0,2	6,6±0,2	3,0±0,2
3	3,8 ± 0,3*	5,4±1,7	6,2±0,3	6,8±0,4	6,8±0,4	6,8±0,4	3,2±0,4
4	3,6 ± 0,4*	6,9±0,8	7,1±0,3	7,4±0,8	7,4±0,8	7,8±1,8	3,6±0,3
5	3,6 ± 0,4*	6,7±0,8	6,4±0,8	6,7±0,3	6,7±0,3	7,2±0,8	3,3±0,2
6	3,2±0,2*	6,2±0,3	6,3±0,3	6,8±0,8	6,8±0,8	6,8±0,8	3,35±0,15
7	2,1±0,6*	4,6±1,4	5,1±1,0	6,1±1,1	6,2±0,6	6,2±0,6	3,0±0,2
8	3,7±0,7*	4,2±0,4	4,55±0,07	5,00±0,71	5,2±0,4	5,6±0,5	2,95±0,15
9	4,025±0,012*	7,0±0,3	6,5±0,4	7,2±0,3	7,4±1,0	7,4±1,0	3,4±0,4
Контрольная группа / Control	2,5±0,2*	5,6±0,9	6,2±0,9	7,63±0,15	8,4±0,2	9,381±0,018	5,2±0,2

Примечание. См. табл. 4.

Note. See Table 4.

мышленных объектов, авто- и ж/д-объектов, санитарно-технического состояния и режима уборки территории. Наиболее чистые – придворные территории г. Смоленска и г. Вязьмы. Результаты исследования подтвердили, что наибольшую часть загрязнения снега дает ТЭЦ и транспорт. Самыми неблагоприятными оказались пробы, взятые вблизи автостоянок, ж/д-путей и недалеко от ТЭЦ.

#### Список литературы

1. Стручкова Г. П., Крупнова Т. Г., Тихонова С. А., Капитонова Т. А. Исследование загрязнения снежного покрова угледобывающих районов с использованием спектральных характеристик // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2021. № 12-1. С. 195–203. <https://doi.org/10.25018/0236-1493-2021-121-0-195>
2. Белова Е. А., Ковальчук Н. В. Оценка загрязненности снежного покрова города Гродно // Живые и биокосные системы. 2013. № 3. С. 9.
3. Галеева Э. М., Теплова Д. С. Пространственная структура загрязнения депонирующих сред г. Уфы // Вестник Башкирского университета. 2015. Т. 20, № 4. С. 1251–1254.
4. Воробьевская Е. Л., Седова Н. Б., Слипечук М. В., Цымбал М. Н. Геоэкологические исследования снега и поверхностных вод в зимний период в центральной части Кольского полуострова // Теоретическая и прикладная экология. 2020. № 1. С. 64–70. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-1-064-070>
5. Cichowicz R., Wielgosinski G., Fetter W. Dispersion of atmospheric air pollution in summer and winter season // Environ. Monit. Assess. 2017. Vol. 189, iss.12. P. 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6319-2>
6. Соловьева Н. Е., Олькова Е. А., Алябьева А. А., Краева О. В. Исследование талой воды (снега) как показатель загрязнения атмосферы урбанизированной среды // Молодой ученый. 2015. № 14 (94). С. 668–672.
7. Негроров О. П., Астанин И. К., Стародубцев В. С., Астанина Н. Н. Снежный покров как индикатор состояния атмосферного воздуха в системе социально-гигиенического мониторинга // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2005. № 2. С. 149–153.
8. Потехина Р. М., Макаева В. И., Альмитова Л. И., Идиятов И. И., Тремасова А. М., Кузовкова Ю. В., Вафин И. Ф. Снежный покров как индикатор загрязнения атмосферного воздуха вблизи ТЭЦ микелиальными грибами и тяжелыми металлами // Ветеринарный врач. 2021. № 3. С. 39–45.
9. Курбаков Д. Н., Кузнецов В. К., Сидорова Е. В., Саруханов А. В., Дементьева Н. В., Новикова Н. В. Сравнительная оценка загрязнения тяжелыми металлами снежного покрова предприятиями черной металлургии // Экология и промышленность России. 2022. Т. 26, № 8. С. 59–65. <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2022-8-59-65>
10. Тающий городской снег содержит токсичные вещества. URL: [https://news.rambler.ru/science/36677934/?utm\\_content=news\\_media&utm\\_medium=read\\_more&utm\\_source=copylink](https://news.rambler.ru/science/36677934/?utm_content=news_media&utm_medium=read_more&utm_source=copylink) (дата обращения: 11.09.2022).



11. Lu K., Guo S., Tan Zh., Wang H., Shang D., Liu Y., Li X., Wu Zh., Hu M., Zhang Y. Exploring atmospheric free-radical chemistry in China: The self-cleansing capacity and the formation of secondary air pollution // National Science Review. 2019. Vol. 6, № 3. P. 579–594. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwy073>
12. Баранова Л. А. Химические элементы и их соединения в окружающей среде города Тюмени // Башкирский химический журнал. 2021. Т. 28, № 2. С. 87–89. <https://doi.org/10.17122/bcj-2021-2-87-89>
13. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Смоленской области в 2020 году: материалы к государственному докладу. Смоленск: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Смоленской области, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Смоленской области», 2021. 187 с.
14. ГОСТ 17.1.5.05-85 Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200008297> (дата обращения: 12.11.2022).
15. ГОСТ Р 57164-2016 Вода питьевая. Методы определения запаха, вкуса и мутности. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200140391> (дата обращения: 12.11.2022).
16. Пименова Е. В. Химические методы анализа в мониторинге водных объектов. Пермь : Изд-во ФГБОУ ВПО Пермская ГСХА, 2011. 138 с.
17. ГОСТ 1030 Вода хозяйственно-питьевого назначения. Полевые методы анализа. URL: [https://allgosts.ru/13/060/gost\\_1030-81](https://allgosts.ru/13/060/gost_1030-81) (дата обращения: 12.11.2022).
18. Аксенов В. И., Ушакова Л. И., Ничкова И. И. Химия воды: Аналитическое обеспечение лабораторного практикума. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2014. 140 с.
19. ГОСТ 23268.9-78 Вода. Воды минеральные, питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200022319> (дата обращения: 12.11.2022).
20. ГОСТ 33045-2014 Вода. Методы определения азотсодержащих веществ. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200115428> (дата обращения: 12.11.2022).
21. ГОСТ 4974-2014 Вода питьевая Определение содержания марганца фотометрическими методами. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200115798> (дата обращения: 12.11.2022).
22. ПНД Ф 14.1:2:3:4.239-2007 Количественный химический анализ вод. Методика измерений массовой концентрации свинца в питьевых, поверхностных, подземных пресных и сточных водах хроматным фотометрическим методом с дифенилкарбазидом. URL: <https://files.stroyinf.ru/Index2/1/4293793/4293793127.htm> (дата обращения: 12.11.2022).
23. ГОСТ 20580.2-80\* Свинец. Методы определения меди. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200010738> (дата обращения: 12.11.2022).
24. Тагирова К. Б., Барахнина В. Б., Гилязов А. А. Биотестирование буровых сточных вод на проростках кресс-салата, водорослях и низших ракообразных // Экологический вестник России. 2020. № 6. С. 14–17.
25. Кубрина Л. В., Супиниченко Е. А. Использование кресс-салата как тест-объекта для оценки загрязнения снежного покрова // Научное обозрение. Биологические науки. 2021. № 1. С. 11–15. <https://doi.org/10.17513/srbs.1218>
26. ГОСТ 2761-84 Источники централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200003220> (дата обращения: 12.11.2022).
27. Винокуров С. Ф., Тарасова Н. П., Трунова А. Н., Крюков Г. В. Содержания редкоземельных элементов и тяжелых металлов в пробах почв и снега // Безопасность в техносфере. 2018. № 1 (70). С. 27–30. [https://doi.org/10.12737/article\\_5b5ef709e7e877.93882747](https://doi.org/10.12737/article_5b5ef709e7e877.93882747)
28. Татаринцева Е. А., Ольшанская Л. Н., Бухарова Е. А. Очистка сточных вод от ионов тяжелых металлов и технологии утилизации металлосодержащих гальваншламов // Вестник ПНИПУ. Прикладная экология. Урбанистика. 2021. Т. 43, № 3. С. 53–64. <https://doi.org/10.15593/2409-5125/2021.03.05>
29. Логинова Е. В., Лопух П. С. Гидроэкология. Минск : БГУ, 2011. 300 с.
30. Сейпишова А. А. Исследование кислотности атмосферных осадков // Молодой ученый. 2019. № 21 (259). С. 74–76.
31. Мальцева В. С., Юшин В. В. Экологические проблемы крупных городов на примере Курска // Известия Юго-Западного государственного университета. Серия: Техника и технологии. 2016. № 1 (18). С. 36–41.
32. Трескова Ю. В. Проблемы нормирования мелкодисперсных частиц в России и за рубежом // Молодой ученый. 2017. № 23 (157). С. 17–19.
33. Muthukumar P., Cocom E., Nagrecha K., Comer D., Burga I., Taub J., Calvert Ch. F., Holm J., Pourhormayoun M. Predicting PM 2.5 atmospheric air pollution using deep learning with meteorological data and ground-based observations and remote-sensing satellite big data // Air Quality, Atmosphere and Health. 2022. № 15. P. 1221–1234. <https://doi.org/10.1007/s11869-021-01126-3>
34. Петров С. Б., Онучина Е. Н., Петров Б. А. Эколого-эпидемиологическое исследование по оценке влияния взвешенных веществ в атмосферном воздухе городской среды на развитие болезней органов дыхания // Фундаментальные исследования. 2011. № 11, ч. 2. С. 346–349.
35. СанПиН 1.2.3685-21 Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания. URL: <https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/npra-files/2021/01/28/sanpin1.2.3685-21.pdf> (дата обращения: 12.11.2022).
36. Волкова М. В., Климов К. К., Любомудров Б. Э., Сарапулова А. С., Велькин В. И. Разработка кон-



цепции экологически чистых ТЭЦ и ТЭС с активным использованием фотосинтетических процессов // Международный научный журнал Альтернативная энергетика и экология. 2020. № 25–27 (347–349). С. 184–192. <https://doi.org/10.15518/isjaee.2020.09.017>

37. Салтан Н. В., Святковская Е. А., Тростенюк Н. Н. Оценка загрязнения снегового покрова урбоэкосистем Кольского Севера в зоне влияния железнодорожных отводов // Теоретическая и прикладная экология. 2022. № 1. С. 78–83. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2022-1-078-083>
38. Тунакова Ю. А., Шагидуллина Р. А., Новикова С. В., Валиев В. С., Абдеев Э. Р. Методология определения нормативов содержания приоритетных химических загрязняющих веществ в объектах окружающей среды // Башкирский химический журнал. 2014. Т. 21, № 3. С. 79–85.

## References

1. Struchkova G. P., Krupnova T. G., Tikhonova S. A., Kapitonova T. A. Investigation of snow cover pollution in coal mining areas using spectral characteristics. *Mining Information and Analytical Bulletin (scientific and technical journal)*, 2021, no. 12-1, pp. 195–203 (in Russian). <https://doi.org/10.25018/0236-1493-2021-121-0-195>
2. Belova E. A., Kovalchuk N. V. Assessment of the pollution of the snow cover of the city of Grodno. *Zhivye i biokosnye sistemy*, 2013, no. 3, pp. 9 (in Russian).
3. Galeeva E. M., Teplova D. S. Spatial structure of pollution of depositing media of Ufa. *Vestnik Bashkirskogo universiteta* [Bulletin of Bashkir University], 2015, vol. 20, no. 4, pp. 1251–1254 (in Russian).
4. Vorobevskaya E. L., Sedova N. B., Slipenchuk M. V., Tsymbal M. N. Geoecological studies of snow and surface waters in winter in the central part of the Kola Peninsula. *Theoretical and Applied Ecology*, 2020, no. 1, pp. 64–70 (in Russian). <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-1-064-070>
5. Cichowicz R., Wielgosinski G., Fetter W. Dispersion of atmospheric air pollution in summer and winter season. *Environ. Monit. Assess*, 2017, vol. 189, iss. 12, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6319-2>
6. Soloveva N. E., Olkova E. A., Alyabeva A. A., Kraeva O. V. Investigation of melt water (snow) as an indicator of atmospheric pollution of an urbanized environment. *Young Scientist*, 2015, no. 14 (94), pp. 668–672 (in Russian).
7. Negrobov O. P., Astanin I. K., Starodubtsev B. C., Astanina N. N. Snow cover as an indicator of the state of atmospheric air in the system of social and hygienic monitoring. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*, 2005, no. 2, pp. 149–153 (in Russian).
8. Potekhina R. M., Makaeva V. I., Almitova L. I., Idiyatov I. I., Tremasova A. M., Kuzovkova Yu. V., Vafin I. F. Snow cover as an indicator of atmospheric air pollution near thermal power plants by mycelial fungi and heavy metals. *The Veterinarian*, 2021, no. 3, pp. 39–45 (in Russian).
9. Kurbakov D. N., Kuznetsov V. K., Sidorova E. V., Sarukhanov A. V., Dementeva N. V., Novikova N. V. Comparative assessment of heavy metal pollution of snow cover by ferrous metallurgy enterprises. *Ecology and Industry of Russia*, 2022, vol. 26, no. 8, pp. 59–65 (in Russian). <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2022-8-59-65>
10. *Melting urban snow contains toxic substances*. Available at: [https://news.rambler.ru/science/36677934/?utm\\_content=news\\_media&utm\\_medium=read\\_more&utm\\_source=copylink](https://news.rambler.ru/science/36677934/?utm_content=news_media&utm_medium=read_more&utm_source=copylink) (accessed 11 September 2022).
11. Lu K., Guo S., Tan Zh., Wang H., Shang D., Liu Y., Li X., Wu Zh., Hu M., Zhang Y. Exploring atmospheric free-radical chemistry in China: The self-cleansing capacity and the formation of secondary air pollution. *National Science Review*, 2019, vol. 6, no. 3, pp. 579–594. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwy073>
12. Baranova L. A. Chemical elements and their compounds in the environment of the city of Tyumen. *Bashkir Chemical Journal*, 2021, vol. 28, no. 2, pp. 87–89 (in Russian). <https://doi.org/10.17122/bcj-2021-2-87-89>
13. *On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Smolensk region in 2020: materials for the state report*. Smolensk, Upravlenie Federalnoy sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebiteley i blagopoluchiya cheloveka po Smolenskoj oblasti, FBUZ «Tsentr gigieny i epidemiologii v Smolenskoj oblasti», 2021. 187 p (in Russian).
14. *GOST 17.1.5.05-85 Nature conservation. Hydrosphere. General requirements for sampling surface and sea waters, ice and precipitation*. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200008297> (accessed 12 November 2022) (in Russian).
15. *GOST P 57164-2016 Drinking water. Methods for determining odor, taste and turbidity*. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200140391> (accessed 12 November 2022) (in Russian).
16. Pimenova E. V. *Khimicheskiye metody analiza v monitoringe vodnykh ob"yektov* [Chemical methods of analysis in the monitoring of water bodies]. Perm, Izd-vo FGBOU VPO Permskaya GSKHA, 2011. 138 p. (in Russian).
17. *GOST 1030 Water for household and drinking purposes. Field methods of analysis*. Available at: [https://allgosts.ru/13/060/gost\\_1030-81](https://allgosts.ru/13/060/gost_1030-81) (accessed 12 November 2022) (in Russian).
18. Aksenov V. I., Ushakova L. I., Nichkova I. I. *Khimiya vody: Analiticheskoye obespecheniye laboratornogo praktikuma* [Water chemistry: Analytical support for laboratory practice]. Ekaterinburg, Izd-vo Ural. un-ta, 2014. 140 p. (in Russian).
19. *GOST 23268.9-78 Water. Mineral waters, medicinal drinking waters, therapeutic canteens and natural canteens*. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200022319> (accessed 12 November 2022) (in Russian).



20. GOST 33045-2014 *Water. Methods for the determination of nitrogen-containing substances*. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200115428> (accessed 12 November 2022) (in Russian).
21. GOST 4974-2014 *Drinking water Determination of manganese content by photometric methods*. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200115798> (accessed 12 November 2022) (in Russian).
22. PND F 14.1:2:3:4.239-2007 *Quantitative chemical analysis of waters. Method of measuring the mass concentration of lead in drinking, surface, underground fresh and wastewater by chromatic photometric method with diphenyl carbamide*. Available at: <https://files.stroyinf.ru/Index2/1/4293793/4293793127.htm> (accessed 12 November 2022) (in Russian).
23. GOST 20580.2-80\* *Lead. Methods for determining copper*. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200010738> (accessed 12 November 2022) (in Russian).
24. Tagirova K. B., Barakhnina V. B., Gilyazov A. A. Bio-testing of drilling wastewater on watercress seedlings, algae and lower crustaceans. *Ecological Bulletin of Russia*, 2020, no. 6, pp. 14–17 (in Russian).
25. Kubrina L. V., Supinichenko E. A. Using watercress as a test object for assessing snow cover pollution. *Scientific Review. Biological Sciences*, 2021, no. 1, pp. 11–15 (in Russian). <https://doi.org/10.17513/srbs.1218>
26. GOST 2761-84 *Sources of centralized household and drinking water supply*. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200003220> (accessed 12 November 2022) (in Russian).
27. Vinokurov S. F., Tarasova N. P., Trunova A. N., Kryukov G. V. The content of rare earth elements and heavy metals in soil and snow samples. *Safety in Technosphere*, 2018, no. 1 (70), pp. 27–30 (in Russian). [https://doi.org/10.12737/article\\_5b5ef709e7e877.93882747](https://doi.org/10.12737/article_5b5ef709e7e877.93882747)
28. Tatarintseva E. A., Olshanskaya L. N., Bukharova E. A. Wastewater treatment from heavy metal ions and technologies for the disposal of metal-containing electroplating. *PNR PU Bulletin. Applied Ecology. Urban Development*, 2021, vol. 43, no. 3, pp. 53–64 (in Russian). <https://doi.org/10.15593/2409-5125/2021.03.05>
29. Loginova E. V., Lopukh P. S. *Gidroekologiya* [Hydroecology]. Minsk, BGU Publ., 2011. 300 p. (in Russian).
30. Seypishova A. A. Study of the acidity of atmospheric precipitation. *Young Scientist*, 2019, no. 21 (259), pp. 74–76 (in Russian).
31. Maltseva V. S., Yushin V. V. Environmental problems of large cities on the example of Kursk. *Proceedings of the South-West State University. Technics and Technology*, 2016, no. 1 (18), pp. 36–41 (in Russian).
32. Treskova Yu. V. Problems of fine particle rationing in Russia and abroad. *Young Scientist*, 2017, no. 23 (157), pp. 17–19 (in Russian).
33. Muthukumar P., Cocom E., Nagrecha K., Comer D., Burga I., Taub J., Calvert Ch. F., Holm J., Pourhomayoun M. Predicting PM 2.5 atmospheric air pollution using deep learning with meteorological data and ground-based observations and remote-sensing satellite big data. *Air Quality, Atmosphere and Health*, 2022, no. 15, pp. 1221–1234. <https://doi.org/10.1007/s11869-021-01126-3>
34. Petrov S. B., Onuchina E. N., Petrov B. A. Ecological and epidemiological study to assess the influence of suspended substances in the atmospheric air of the urban environment on the development of respiratory diseases. *Fundamental Research*, 2011, no. 11 (part 2), pp. 346–349 (in Russian).
35. SanPiN 1.2.3685-21. *Hygienic standards and requirements for ensuring the safety and (or) harmlessness of environmental factors for humans*. Available at: <https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/npa-files/2021/01/28/sanpin1.2.3685-21.pdf> (accessed 12 November 2022) (in Russian).
36. Volkova M. V., Klimov K. K., Lyubomudrov B. E., Sarapulova A. S., Velkin V. I. Development of the concept of environmentally friendly thermal power plants and thermal power plants with the active use of photosynthetic processes. *International Scientific Journal for Alternative Energy and Ecology (ISJAE)*, 2020, no. 25–27 (347–349), pp. 184–192 (in Russian). <https://doi.org/10.15518/isjaee.2020.09.017>
37. Saltan N. V., Svyatkovskaya E. A., Trostenyuk N. N. Assessment of pollution of snow cover of urban ecosystems of the Kola North in the zone of influence of railway branches. *Theoretical and Applied Ecology*, 2022, no. 1, pp. 78–83 (in Russian). <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2022-1-078-083>
38. Tunakova Yu. A., Shagidullina R. A., Novikova S. V., Valiev V. S., Abdeev E. R. Methodology for determining the standards for the content of priority chemical pollutants in environmental objects. *Bashkir Chemical Journal*, 2014, vol. 21, no. 3, pp. 79–85 (in Russian).

Поступила в редакцию 21.09.22; одобрена после рецензирования 05.12.22; принята к публикации 06.12.22  
 The article was submitted 21.09.22; approved after reviewing 05.12.22; accepted for publication 06.12.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 62–69

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 62–69

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-62-69>, EDN: CKLTGC

Научная статья

УДК 543.054+543.429.3

## Способ кислотного извлечения радионуклидов из увеличенных навесок почвы с использованием автоклавного разложения



С. Е. Сальменбаев , А. М. Миратова, Р. А. Кенжебаев

Институт радиационной безопасности и экологии Национального ядерного центра РК, 071100, Казахстан, г. Курчатова, ул. Бейбит Атом, д. 2

Сальменбаев Саян Елеусизович, начальник группы исследований высокоактивных образцов лаборатории радиохимических исследований, [salmenbayev@nnc.kz](mailto:salmenbayev@nnc.kz), <https://orcid.org/0000-0001-7338-682X>

Миратова Ардак Мираткызы, техник группы исследований высокоактивных образцов лаборатории радиохимических исследований, [miratova@nnc.kz](mailto:miratova@nnc.kz)

Кенжебаев Руслан Ахатович, инженер лаборатории ядерно-физических методов анализа, [Kenzhebaev@nnc.kz](mailto:Kenzhebaev@nnc.kz)

**Аннотация.** Специфика ядерных испытаний, проведенных на территории бывшего Семипалатинского испытательного полигона, привела к возникновению различных, отличающихся между собой уровнями радиоактивного загрязнения и радионуклидным составом, участков. При этом растворимость радиоактивных частиц существенно различается. Традиционно наличием малорастворимых, остеклованных частиц характеризовалась площадка «Опытное поле», что обуславливалось особенностями, присущими наземным испытаниям ядерного оружия, а именно взаимодействием высокотемпературной области взрыва с почвенными частицами. Наличие подобных малорастворимых частиц в почвенном покрове делает невозможным использование в радиохимическом анализе растворов HCl и HNO<sub>3</sub> с концентрацией 6–8 моль/л, наиболее часто используемых в методиках определения содержания радионуклидов <sup>90</sup>Sr и <sup>239+240</sup>Pu. Рассмотрены способы разложения почвы при определении содержания техногенных радионуклидов в почвах полигона с помощью смесей минеральных кислот. Цель – разработка способа кислотного извлечения техногенных радионуклидов из увеличенных навесок почвы с использованием автоклавного разложения. Для определения оптимальных параметров автоклавного разложения использовалась проба почвы с пренебрежимо малым содержанием техногенных радионуклидов; для отработки способа кислотного извлечения – образец почвы, отобранный на территории испытательной площадки «Опытное поле». В качестве оптимального индикатора кислотного выделения использовался радионуклид <sup>137</sup>Cs, ввиду его прочной фиксации на глинистых и минеральных частицах почвы и легкости его детектирования по дочернему гамма-излучению. Автоклавное разложение проводилось путем растворения исследуемых образцов в смеси концентрированных минеральных кислот (37% HCl, 59% HNO<sub>3</sub>, 46% HF и 95% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Удельная активность радионуклидов определялась с помощью гамма-спектрометра BE3830 с детектором из особо чистого германия (фирма Canberra, США), масса неразложившегося почвенного остатка определялась гравиметрическим методом (аналитические весы PA214C, фирма Ohaus, США). Наиболее полное извлечение радионуклида <sup>137</sup>Cs происходит при использовании концентрированных растворов HF (индивидуально либо в смеси с другими минеральными кислотами). Степень извлечения <sup>137</sup>Cs составила 85–100%. Наихудшие результаты показало применение смеси кислот 3HCl:HNO<sub>3</sub> – степень извлечения <sup>137</sup>Cs в этом случае не превысила 20%. Эффективность разложения навесок почвы массой 10 г концентрированным раствором HF при температурах от 120 до 160 °C составила ≥95%.

**Ключевые слова:** почва, автоклав, автоклавное разложение, разложение образцов, кислотное извлечение, степень извлечения, радионуклиды, Семипалатинский испытательный полигон

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке ГУ «Министерство энергетики Республики Казахстан» в рамках реализации НТП «Развитие атомной энергетики в Республике Казахстан» (ИРН – BR09158470).

**Для цитирования:** Сальменбаев С. Е., Миратова А. М., Кенжебаев Р. А. Способ кислотного извлечения радионуклидов из увеличенных навесок почвы с использованием автоклавного разложения // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 62–69. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-62-69>, EDN: CKLTGC

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Acid extraction of radionuclides from soil samples using autoclave decomposition

S. E. Salmenbayev , A. M. Miratova, R. A. Kenzhebaev

Institute of Radiation Safety and Ecology of National Nuclear Center of Kazakhstan, 2 Beibit Atom St., Kurchatov 071100, Kazakhstan



Sayan E. Salmenbayev, salmenbayev@nnc.kz, <https://orcid.org/0000-0001-7338-682X>

Ardak M. Miratova, miratova@nnc.kz

Ruslan A. Kenzhebaev, kenzhebaev@nnc.kz

**Abstract.** The specifics of the nuclear tests carried out on the territory of the former Semipalatinsk test site (STS) led to the emergence of various sites that differ in levels of radioactive contamination and radionuclide composition. This also led to a significant difference in the solubility of radioactive particles. Traditionally, the "Experimental Field" testing ground was characterized by the presence of sparingly soluble, vitrified particles, which was determined by the features inherent in ground tests of nuclear weapons, namely, the interaction of the high-temperature explosion region with soil particles. The presence of such sparingly soluble particles in the soil cover makes it impossible to use 6–8 M HCl and 7–8 M HNO<sub>3</sub> solutions which are most often used radiochemical analysis to determine the content of <sup>90</sup>Sr and <sup>239+240</sup>Pu. This paper considers methods for the acid extraction of anthropogenic radionuclides from soils of the STS using autoclaving. The aim of the research is to develop a method for the acid extraction of anthropogenic radionuclides from enlarged soil samples using autoclave decomposition. A blank soil sample was used to determine the optimal autoclave decomposition parameters; to test the acid extraction method, a soil sample was taken from the territory of the "experimental field" testing ground. The radionuclide <sup>137</sup>Cs has been used as the most optimal indicator of acid extraction due to its strong fixation on clay and mineral soil particles and ease of detection by the gamma radiation. Autoclave decomposition has been carried out by dissolving the studied samples in a mixture of mineral acids (HCl, HNO<sub>3</sub>, HF, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). The specific activity of radionuclide has been determined on a BE3830 gamma spectrometer with a high-purity germanium detector (Canberra, USA), the amount of undecomposed soil residue has been determined gravimetrically (PA214C analytical balance, Ohaus, USA). The data obtained indicate that the most complete extraction of <sup>137</sup>Cs occurs when using concentrated HF solutions (individually or in a mixture with other mineral acids). The degree of extraction of <sup>137</sup>Cs varied from 85 to 100%. The worst results have been shown by the use of a mixture of acids 3HCl:HNO<sub>3</sub>. In this case the degree of extraction of <sup>137</sup>Cs did not exceed 20%. The efficiency of decomposition of soil samples weighing 10 g with a concentrated solution of HF at a temperature of 120 to 160 °C was ≥95%.

**Keywords:** soil, autoclave, autoclave decomposition, decomposition of samples, acid extraction, extraction degree, radionuclides, STS

**Acknowledgements:** The work has been carried out with the financial support of the State Institution "Ministry of Energy of the Republic of Kazakhstan" within the framework of implementation of the Scientific and Technical Program "Development of nuclear power engineering in the Republic of Kazakhstan" (IRN - BR09158470).

**For citation:** Salmenbayev S. E., Miratova A. M., Kenzhebaev R. A. Acid extraction of radionuclides from soil samples using autoclave decomposition. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 62–69 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-62-69>, EDN: CKLTGC

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

## Введение

Многие современные инструментальные методы анализа, не говоря уже про классические химические методы и радиохимический анализ, требуют предварительного переведения исследуемого образца в растворенное состояние. Способы разложения могут включать в себя обработку в открытых или закрытых системах с использованием термической, ультразвуковой или лучистой энергии [1–8]. Подготовка пробы зачастую требует много времени, зависит от природы образца, природы и содержания аналита в определяемом образце, от желаемой точности определения и является, по своей сути, основным источником погрешностей [3, 9–11].

Разложение проб в автоклавах, наряду с микроволновым разложением и разложением спеканием, является одним из альтернативных методов пробоподготовки, но практически лишенным недостатков, присущим указанным методам. Так, недостатками микроволновых и ультразвуковых устройств являются их относительно высокая стоимость, а также использование малых навесок разлагаемого вещества, как правило, не превышающих 1 г [6, 10, 12]. Последнее также характерно и для разложения

спеканием, так как необходимо использовать не менее чем 6-кратное соотношение массы плавня к разлагаемому образцу почвы [13, 14]. Используемая при автоклавном разложении аппаратура является доступной и широко распространенной и включает в себя только сушильный шкаф, а разлагаемые навески почвы можно увеличивать, варьируя размеры реакционных емкостей.

Преимуществом использования автоклавов перед открытым разложением является то, что разложение анализируемого образца происходит при повышенном давлении, это, в свою очередь, увеличивает температуру кипения жидкостей и, соответственно, ускоряет процесс разложения почвенных частиц. Таким образом, разложение образцов происходит за более короткое время, с меньшими затратами реактивов и минимальными потерями аналита. Последний фактор, наряду с полнотой разложения, является основным показателем, влияющим на качество выполнения количественного химического анализа (при прочих равных условиях).

Целью данной работы является разработка способа кислотного извлечения радионуклидов из увеличенных навесок почвы с использованием автоклавного разложения.



## Материалы и методы

Для исследования полноты разложения почвенных частиц использовалась проба почвы, содержание техногенных радионуклидов в которой находилось ниже предела обнаружения использованной аппаратуры.

Для экспериментов по кислотному извлечению радионуклидов использовалась точечная проба почвы, отобранная на территории бывшей испытательной площадки «Опытное поле» Семипалатинского испытательного полигона (СИП), которая, как известно, характеризуется наличием прочносвязанных форм техногенных радионуклидов ( $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{241}\text{Am}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{239+240}\text{Pu}$ ) [15–17]. Так как определение радионуклидов  $^{90}\text{Sr}$  и  $^{239+240}\text{Pu}$  представляет собой достаточно трудоемкий процесс, требующий тщательного проведения процедуры радиохимической очистки и выделения, то в качестве индикаторов кислотного выщелачивания (извлечения) планировалось использовать радионуклиды  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{241}\text{Am}$  – ввиду возможности относительно простого и быстрого детектирования их содержания по собственному или дочернему гамма-излучению. Однако содержание  $^{241}\text{Am}$  в исходном образце почвы ( $180 \pm 10$  Бк/кг) не отвечало необходимому для проведения экспериментов условию, касающемуся надежного и относительно быстрого выделения скорости счета препарата из фона спектрометра, согласно которому содержание радионуклида в подготавливаемых счетных образцах должно было быть не менее 10 Бк/образец. Поэтому в экспериментах был использован  $^{137}\text{Cs}$ , удельная активность которого в исходном образце составляла  $2,6 \cdot 10^3 \pm 0,13 \cdot 10^3$  Бк/кг. Во внимание принимались также его высокая сорбционная способность и прочная фиксация на глинистых и минеральных частицах почвы.

**Пробоподготовка.** Первичная пробоподготовка включала в себя высушивание исследуемого образца до воздушно-сухого состояния, просеивание через сито с размером ячеек  $2 \times 2$  мм, квартование и минерализацию отобранных навесок почвы в муфельной печи SNOL 7,2/1100 (AB UMEGA-GROUP, Литва) при температуре  $550^\circ\text{C}$ .

**Автоклав.** Реакционная емкость и внешний сосуд автоклава вытаскивались из фторопластовых стержней диаметром 110 мм (рис. 1). В качестве внешней защитной оболочки использовалась стальная труба с внешним диаметром 108 мм и толщиной стенок 4 мм, которая закрывалась с двух сторон металлическими фланцами, стянутыми между собой болтами.

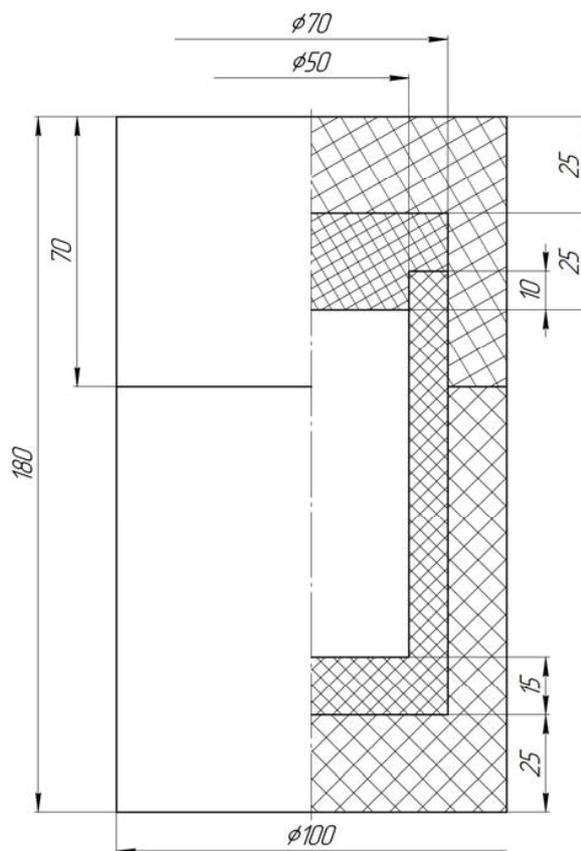


Рис. 1. Схема автоклава  
Fig. 1. Scheme of autoclave

**Автоклавное разложение.** Прокаленные навески почвы переносились в автоклав с помощью небольшого количества дистиллированной  $\text{H}_2\text{O}$  и обрабатывались в течение 2 ч при необходимой температуре (от  $120$  до  $160^\circ\text{C}$ ) концентрированными растворами минеральных кислот, наиболее часто используемыми в практике химического анализа для разложения почв и различных минералов ( $\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HF}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) [3, 5, 12–14]. По истечении необходимого времени автоклав вынимали из термостата и охлаждали до комнатной температуры. Разделение гетерогенных фаз производили на центрифуге Digicen 21 (Orto Alresa, Испания) при скорости 4500 об./мин в течение 10 мин. Фугат, полученный после разделения фаз, переносился в заранее взвешенные химические стаканы, а осадок фторидов кипятился в течение часа в конической колбе в растворе  $0,5\text{M HCl}$  с добавлением  $\text{H}_3\text{BO}_3$  – для перевода в растворенное состояние соосажденных актиноидов (III) и лантаноидов (III), а также элементов которые не образуют малорастворимые соединения с  $\text{F}^-$ -ионом, но могут быть



захваченными или адсорбированными при образовании подобного аморфного осадка [18–21]. После охлаждения до комнатной температуры содержимое колб пропускать через фильтровальную бумагу «синяя лента» для отделения неразложившихся почвенных частиц. Фильтрат объединялся с фугатом и измерялся на полупроводниковом гамма-спектрометре. Фильтры высушивались на воздухе, помещались в

предварительно прокаленные и взвешенные тигли и озолялись в муфельной печи при температуре 550 °С в течение 6 ч. Масса неразложившегося почвенного остатка определялась как разница в массах тиглей с учетом зольности фильтра. Общая схема кислотного извлечения радионуклидов из проб почвы с использованием автоклавного разложения представлена на рис. 2.

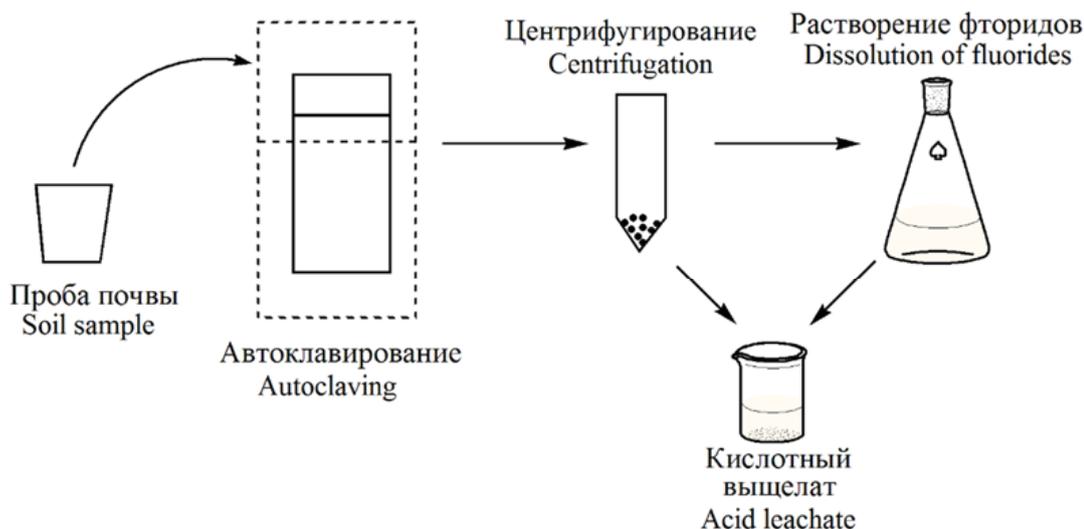
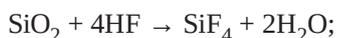


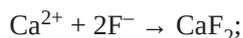
Рис. 2. Схема кислотного извлечения радионуклидов из почвы с использованием автоклавирования  
 Fig. 2. Scheme of acid extraction of radionuclides from soil using autoclaving

Ввиду того что рассматриваемые изотопы могут находиться в составе различных остеклованных частиц и микрообразований [22, 23], предположительный механизм растворения анализируемой матрицы (в основном состоящей из  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  и  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  [24]) и последующего перевода радионуклидов в раствор можно представить следующим образом:

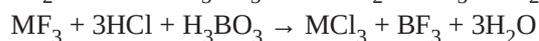
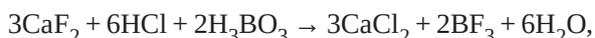
1) растворение силикатной составляющей:



2) образование малорастворимого осадка фторидов (в основном образованного  $\text{CaF}_2$ ), с которым соосаждаются ионы редкоземельных и трансурановых элементов со степенью окисления +3:



3) растворение осадка фторидов и перевод радионуклидов в раствор:



( $\text{M}^{3+}$  – ион лантаноида (III) или актиноида (III)).

*Измерение удельной активности подготовленных спектрометрических источников.* Содержание радионуклидов в подготовленных спектрометрических образцах (почве, кислотных выщелатах) оценивалось путем измерений на гамма-спектрометре ВЕ3830 с детектором из особо чистого германия (Canberra, США). Калибровка гамма-спектрометра по эффективности и энергии производилась с помощью объемных мер активности специального назначения, самопоглощение в измеряемом образце учитывалось программным обеспечением спектрометрического оборудования. Расчет удельной активности радионуклида  $^{137}\text{Cs}$  производился по формуле:

$$A = \frac{S}{t \times \varepsilon \times I \times m},$$

где  $S$  – площадь пика полного поглощения определяемого радионуклида;  $t$  – время измерения, с;  $\varepsilon$  – эффективность регистрации гамма-квантов;  $I$  – квантовый выход линии определяемого радионуклида;  $m$  – масса навески, кг.



### Результаты и их обсуждение

Определение оптимальных параметров автоклавного разложения проб почвы

Для определения оптимальных параметров

автоклавного разложения навески почвы массой 10 г обрабатывались в автоклаве одинаковым объемом 46 % HF (60 мл) при различных температурных режимах (рис. 3).

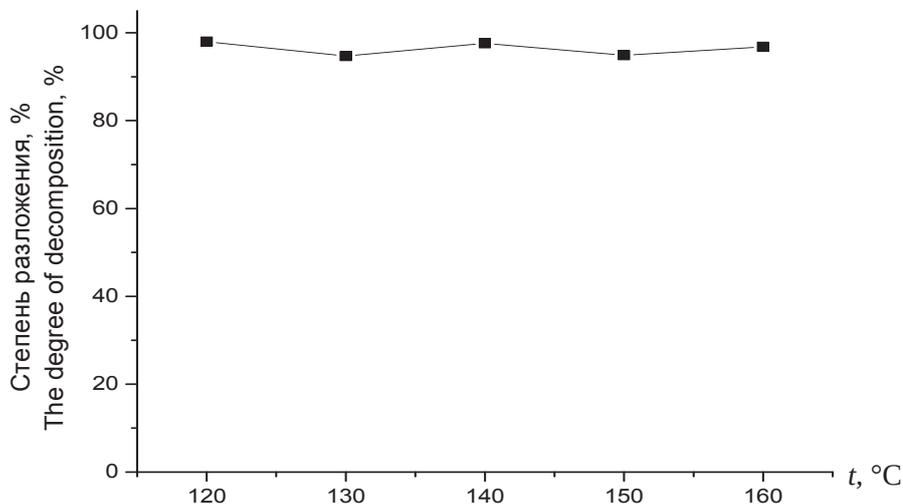


Рис. 3. Зависимость степени разложения частиц почвы от температуры

Fig. 3. The dependence of the degree of decomposition of soil particles on temperature

В результате проведенного эксперимента зависимости между массой почвенного остатка и температурой разложения обнаружено не было. Данное обстоятельство может быть обусловлено двумя причинами:

- влиянием остатка неразложившихся фторидов – о чем можно было предположить по наличию на дне колб неких нерастворенных частичек сероватого цвета, которые визуально невозможно было идентифицировать как почвенные либо фторидные остатки;

- малой растворимостью в кислых растворах борной кислоты, так как, несмотря на то что она добавлялась порциями по 0,5 г, а ее масса была одинаковой и составляла 3 г, в ряде случаев при ее добавлении происходило образование хлопьев белого цвета.

Очевидно, что наиболее проблемным вопросом при использовании автоклавного разложения почв будет растворение осадка фторидов, что требует его дальнейшей проработки. Однако разложение образцов происходит с достаточно высокой эффективностью, составившей не менее 95 %.

*Исследование степени извлечения техногенных радионуклидов из почвы*

Для изучения степени извлечения  $^{137}\text{Cs}$  навески почвы массой 5 г обрабатывались в

автоклавах при температуре 120 °C различными кислотными смесями. Степень извлечения  $^{137}\text{Cs}$  ( $\alpha$ ) рассчитывалась как

$$\alpha = \frac{A_2}{A_1} \cdot 100\%,$$

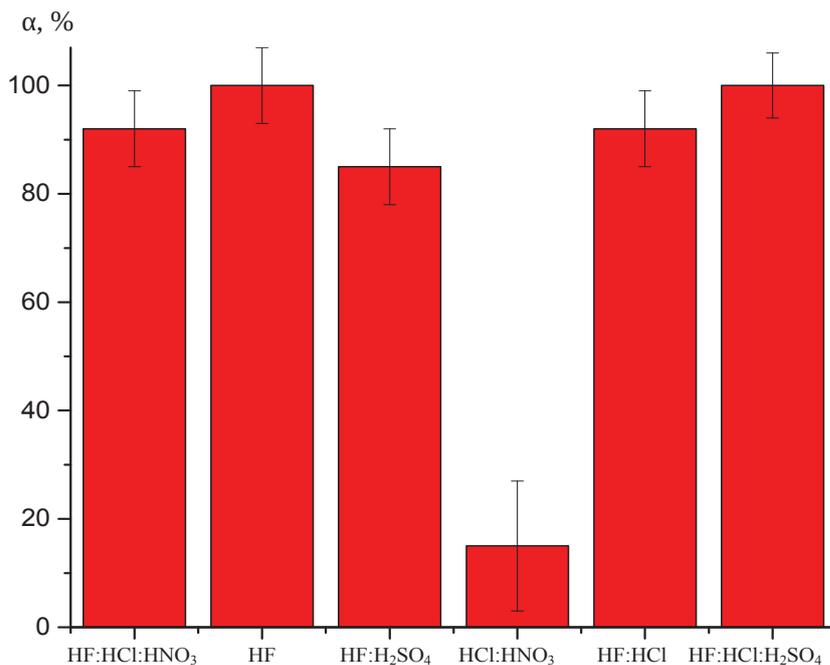
где  $A_2$  – активность радионуклида в кислотном выщелате, Бк;  $A_1$  – активность радионуклида на исходную навеску почвы, Бк.

Полученные результаты приведены на рис. 4.

Полученные данные свидетельствуют о том, что извлечение радионуклида  $^{137}\text{Cs}$  из исследуемого образца почвы происходит наиболее полно во всех тех случаях, когда была применена концентрированная HF (индивидуально либо в смеси с другими минеральными кислотами). Степень извлечения  $^{137}\text{Cs}$  составила при этом диапазон от 85 до 100%. В случае, когда HF не использовалась (эксперимент с применением смеси  $\text{ZnCl}_2:\text{HNO}_3$ ), степень извлечения  $^{137}\text{Cs}$  не превысила 20%.

### Заключение

Проведено сравнение различных кислотных смесей для извлечения радионуклида  $^{137}\text{Cs}$  из образца почвы, характеризующегося наличием прочносвязанных форм техногенных радионуклидов, с использованием автоклав-

Рис. 4. Выделение <sup>137</sup>Cs из пробы почвыFig. 4. Extraction of <sup>137</sup>Cs from soil sample

ного разложения. Результаты исследования свидетельствуют о том, что извлечение <sup>137</sup>Cs происходит наиболее полно при использовании концентрированной HF (индивидуально либо в смеси с другими минеральными кислотами). Степень извлечения <sup>137</sup>Cs составила 85–100%. Эффективность разложения навесок почвы массой 10 г при температурах от 120 до 160 °C составила ≥ 95%. Использованный способ подготовки проб может применяться для разложения навесок почв массой до 10 г, в том числе и для почв, в которых техногенные радионуклиды находятся в составе малорастворимых остеклованных частиц и микрообразований.

#### Список литературы

1. Oliveira E. Sample preparation for atomic spectroscopy: Evolution and future trends // Journal of the Brazilian Chemical Society. 2003. Vol. 14, № 2. P. 174–182. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532003000200004>
2. Башилов А. Микроволновая подготовка проб к элементному анализу – вчера, сегодня, завтра // Аналитика. 2011. № 11. С. 6–15.
3. Matusiewicz H. Sample Decomposition Techniques in Inorganic Trace Elemental Analysis // Handbook of Trace Analysis: Fundamentals and Applications. Springer International Publishing, 2016. P. 75–122. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-19614-5\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-19614-5_5)
4. Sahayam A., Jiang S., Wan C. Microwave assisted volatilization of silicon as fluoride for the trace impurity determination in silicon nitride by dynamic reaction cell inductively coupled plasma-mass spectrometry // Analytica Chimica Acta. 2007. Vol. 605. P. 130–133. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.10.043>
5. Доронина М. С., Карпов Ю. А., Барановская В. Б. Современные методы пробоподготовки возвратного металлосодержащего сырья // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2016. Т. 82, № 3. С. 5–12.
6. Суриков В. Т. Кислотное растворение кремния и его соединений для анализа методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой // Аналитика и контроль. 2008. Т. 12, № 3-4. С. 93–100.
7. Сокольникова Ю. В., Васильева И. Е. Выбор условий химической пробоподготовки для анализа кварцитов методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой // Вестник ИрГТУ. 2012. № 1 (60). С. 119–127.
8. Navarrete-López M., Jonathan M. P., Rodríguez-Espinosa P. F., Salgado-Galeana J. A. Autoclave decomposition method for metals in soils and sediments // Environmental Monitoring and Assessment. 2012. Vol. 184. P. 2285–2293. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2117-4>
9. Троеглазова А. В., Злобина Е. В., Кириллов А. Д., Кудрявцева Г. С., Карпов Ю. А. Совершенствование способов химической пробоподготовки при анализе ренийсодержащего сырья // Успехи в химии и химической технологии. 2012. Т. XXVI, № 2. С. 21–25.
10. Третьякова Е. И., Плотникова О. Е., Ильина Е. Г. Микроволновой метод подготовки проб для определения общего фосфора в объектах окружающей среды // Ползуновский вестник. 2008. № 1-2. С. 152–156.



11. Карпов Ю. А., Орлова В. А. Современные методы автоклавной пробоподготовки в химическом анализе веществ и материалов // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2007. Т. 73, № 1. С. 4–11.
12. МИ 2221-92 Рекомендация. Государственная система обеспечения единства измерений. Почвы и биологические объекты анализа. Методика подготовки проб в аналитическом автоклаве. М. : ВНИИМС, 1993. 20 с.
13. Воробьева Л. А. Химический анализ почв: учебник. М. : Изд-во МГУ, 1998. 272 с.
14. Бок Р. Методы разложения в аналитической химии / пер. с англ. В. А. Трофимовой. М. : Химия, 1984. 432 с.
15. Бахур А. Е., Дубинчук В. Т., Березина Л. А., Мануилова Л. И., Мальшев В. И., Берикболов Б. Р., Шишков И. А., Ермилов А. П. Радиоактивные частицы в почвах Семипалатинского полигона // Радиация и риск. 1997. Т. 9. С. 71–84.
16. Артемьев О. И., Ахметов М. А., Птицкая Л. Д. Радионуклидное загрязнение территории бывшего Семипалатинского испытательного ядерного полигона // Вестник НЯЦ РК. 2001. № 3. С. 12–19.
17. Кундузбаева А. Е., Лукашенко С. В., Магашева Р. Ю. Формы нахождения искусственных радионуклидов в почвах на территории площадки «Опытное поле» // Актуальные вопросы радиэкологии Казахстана : сборник трудов Национального ядерного центра Республики Казахстан за 2014–2016. Павлодар : Дом печати, 2017. Т. 2, вып. 6. С. 181–208.
18. Лисин С. К., Смирская Г. П., Смирский Ю. Н., Родионов Ю. Ф., Шубко В. М. Формы нахождения  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{90}\text{Sr}$  в почвах Брянской области // Радиация и риск. 1993. Т. 3. С. 129–133.
19. Василенко И. Я., Булдакова Л. А. Радионуклидное загрязнение окружающей среды и здоровье населения. М. : Медицина, 2004. 400 с.
20. Hirose K., Kikawada K., Igarashi Y., Fujiwara H., Jugder D., Matsumoto Y., Oi T., Nomura M. Plutonium,  $^{137}\text{Cs}$  and uranium isotopes in Mongolian surface soils // Journal of Environmental Radioactivity. 2017. Vol. 166. P. 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2016.01.007>
21. Сальменбаев С. Е., Нургайсинова Н. К., Умаров М. А. Использование гидроксидов и фторидов металлов для концентрирования и выделения изотопов самария из кислотных выщелатов почвы // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2020. Т. 20, вып. 3. С. 284–289. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2020-20-3-284-289>
22. Бахур А. Е. Научно-методические основы радиэкологической оценки геологической среды : дис. ... д-ра геол.-минерал. наук. М., 2008. 297 с.
23. Lukashenko S., Kabyrakova A., Lind O. C., Goralachev I., Kunduzbayeva A., Kvochkina T., Janssens K., Nolf W. De., Yakovenko Yu., Salbu B. Radioactive particles released from different sources in the Semipalatinsk Test Site // Journal of Environmental Radioactivity. 2020. Vol. 216. P. 106–160. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2020.106160>
24. Самофалова И. А. Химический состав почв и почвообразующих пород: учебное пособие. Пермь : Изд-во ФГОУ ВПО «Пермская ГСХА», 2009. 132 с.

## References

1. Oliveira E. Sample preparation for atomic spectroscopy: Evolution and future trends. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2003, vol. 14, no. 2, pp. 174–182. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532003000200004>
2. Bashilov A. Microwave sample preparation for elemental analysis. *Analitika*, 2011, no. 11, pp. 6–15 (in Russian).
3. Matusiewicz H. Sample Decomposition Techniques in Inorganic Trace Elemental Analysis. *Handbook of Trace Analysis: Fundamentals and Applications*. Springer International Publishing, 2016, pp. 75–122. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-19614-5\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-19614-5_5)
4. Sahayam A., Jiang S., Wan C. Microwave assisted volatilization of silicon as fluoride for the trace impurity determination in silicon nitride by dynamic reaction cell inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 2007, vol. 605, pp. 130–133. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.10.043>
5. Doronina M. S., Karpov Iu. A., Baranovskaia V. B. Modern methods for sample preparation of returnable metal-containing raw materials. *Industrial Laboratory. Diagnostics of Materials*, 2016, vol. 82, no. 3, pp. 5–12 (in Russian).
6. Surikov V. T. Acidic dissolution of silicon and its compounds for analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytics and Control*, 2008, vol. 12, no. 3-4, pp. 93–100 (in Russian).
7. Sokol'nikova Iu. V., Vasil'eva I. E. Choice of conditions for chemical sample preparation for analysis of quartzites by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Vestnik IrGTU*, 2012, no. 1 (60), pp. 119–127 (in Russian).
8. Navarrete-López M., Jonathan M. P., Rodríguez-Espinosa P. F., Salgado-Galeana J. A. Autoclave decomposition method for metals in soils and sediments. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2012, vol. 184, pp. 2285–2293. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2117-4>
9. Troeglazova A. V., Zlobina E. V., Kirillov A. D., Kudriavtseva G. S., Karpov Iu. A. Improvement of methods of chemical sample preparation in the analysis of rhenium-containing raw materials. *Uspekhi v khimii i khimicheskoi tekhnologii*, 2012, vol. XXVI, no. 2, pp. 21–25 (in Russian).
10. Tret'iakova E. I., Plotnikova O. E., Il'ina E. G. Microwave sample preparation method for determination of total phosphorus in environmental objects. *Polzunovskii vestnik*, 2008, no. 1-2, pp. 152–156 (in Russian).



11. Karpov Iu. A., Orlova V. A. Modern methods of autoclave sample preparation in the chemical analysis of substances and materials. *Industrial Laboratory. Diagnostics of Materials*, 2007, vol. 73, no. 1, pp. 4–11 (in Russian).
12. MI 2221-92 Rekomendatsiia. Gosudarstvennaia sistema obespecheniia edinstva izmerenii. *Pochvy i biologicheskie ob'ekty analiza. Metodika podgotovki prob v analiticheskom avtoklave* [MI 2221-92. Recommendation. State system for ensuring the uniformity of measurements. Soils and biological objects of analysis. Sample preparation procedure in an analytical autoclave]. Moscow, VNIIMS Publ., 1993. 20 p. (in Russian).
13. Vorob'eva L. A. *Khimicheskii analiz pochv* [Chemical Analysis of the Soil]. Moscow, Izd-vo MGU, 1998. 272 p. (in Russian).
14. Bock R. *A handbook of decomposition methods in analytical chemistry*. A Halsted Press book, 1979. 444 p. (Russ. ed.: Moscow, Khimiya Publ., 1984. 432 p.).
15. Bakhur A. E., Dubinchuk V. T., Berezina L. A., Manuilova L. I., Malyshev V. I., Berikbolov B. R., Shishkov I. A., Ermilov A. P. Radioactive particles in the soils of the Semipalatinsk test site. *Radiation & Risk*, 1997, vol. 9, pp. 71–84 (in Russian).
16. Artem'ev O. I., Akhmetov M. A., Ptitskaia L. D. Radionuclide contamination of the territory of the former Semipalatinsk nuclear test site. *NNC RK Bulletin*, 2001, no. 3, pp. 12–19 (in Russian).
17. Kunduzbaeva A. E., Lukashenko S. V., Magasheva R. Iu. Speciation of artificial radionuclides in soils on the territory of the Experimental Field site. *Aktual'nye voprosy radioekologii Kazakhstan: sbornik trudov Natsional'nogo iadernogo tsentra Respubliki Kazakhstan za 2014–2016*. [Topical Issues of Radioecology of Kazakhstan: Proceedings of the National Nuclear Center of the Republic of Kazakhstan, 2014–2016]. Pavlodar, Dom pečhati Publ., 2017, vol. 2, iss. 6, pp. 181–208 (in Russian).
18. Lisin S. K., Simirskaia G. P., Simirskii Iu. N., Rodionov Iu. F., Shubko V. M. Speciation of  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{90}\text{Sr}$  in soils of the Bryansk region. *Radiation & Risk*, 1993, vol. 3, pp. 129–133 (in Russian).
19. Vasilenko I. Ia., Buldakova L. A. *Radionuklidnoe zagriaznenie okruzhaiushchei sredy i zdorov'e naseleniia* [Radionuclide contamination of the environment and public health]. Moscow, Meditsina Publ., 2004. 400 p. (in Russian).
20. Hirose K., Kikawada K., Igarashi Y., Fujiwara H., Jugder D., Matsumoto Y., Oi T., Nomura M. Plutonium,  $^{137}\text{Cs}$  and uranium isotopes in Mongolian surface soils. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2017, vol. 166, pp. 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2016.01.007>
21. Sal'menbaev S. E., Nurgaisinova N. K., Umarov M. A. Pre-concentration and extraction of Sm isotopes by precipitation of slightly soluble hydroxides and fluorides of metals. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2020, vol. 20, iss. 3, pp. 284–289 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2020-20-3-284-289>
22. Bakhur A. E. *Scientific and methodological foundations of radioecological assessment of the geological environment*. Diss. Dr. Sci. (Geol.-Mineral.). Moscow, 2008. 297 p. (in Russian).
23. Lukashenko S., Kabdyrakova A., Lind O.C., Gorlachev I., Kunduzbayeva A., Kvochkina T., Janssens K., Nolf W. De., Yakovenko Yu., Salbu B. Radioactive particles released from different sources in the Semipalatinsk Test Site. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2020, vol. 216, pp. 106–160. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2020.106160>
24. Samofalova I. A. *Khimicheskii sostav pochv i pochvoobrazuiushchikh porod* [Chemical Composition of Soils and Parent Rocks]. Perm', FGOU VPO «Permskaia GSKhA» Publ., 2009. 132 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 12.10.22; одобрена после рецензирования 25.10.22; принята к публикации 31.10.22  
The article was submitted 12.10.22; approved after reviewing 25.10.22; accepted for publication 31.10.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 70–76

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 70–76

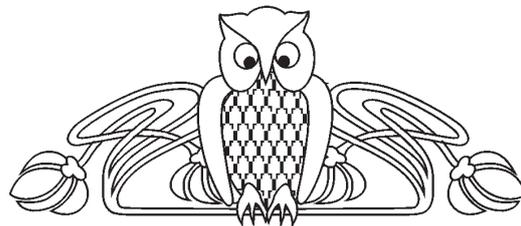
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-70-76>, EDN: AOVKKS

Научная статья

УДК 544.723.21

## Изучение адсорбции ионов кадмия из растворов на природном и модифицированных диатомитах



Д. Е. Борисков, С. Ю. Ефремова, Н. А. Комарова ✉

Пензенский государственный технологический университет, Россия, 440039, г. Пенза, проезд Байдукова/ул. Гагарина, д. 1а/11

Борисков Дмитрий Евгеньевич, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры «Биотехнологии и техносферная безопасность», [boriskovde@yandex.ru](mailto:boriskovde@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0003-4151-8351>

Ефремова Сания Юнусовна, доктор биологических наук, профессор кафедры «Биотехнологии и техносферная безопасность», [efremova@penzgtu.ru](mailto:efremova@penzgtu.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9520-4094>

Комарова Надежда Алексеевна, ассистент кафедры «Биотехнологии и техносферная безопасность», [sss-potr@yandex.ru](mailto:sss-potr@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6972-1744>

**Аннотация.** Поиск новых технологий очистки природных и сточных вод не теряет своей актуальности. Тяжелые металлы являются наиболее опасными загрязнителями. Наибольшей токсичностью среди них обладает кадмий, вызывая при техногенном загрязнении водной среды серьезные экологические проблемы, поэтому его извлечение является актуальной задачей. Проведен анализ зарубежных исследований по извлечению ионов кадмия. Адсорбция кадмия исследовалась многими авторами и описана во многих работах на каолинах оксидах/гидрооксидах железа, в отличие от кремнистых пород. Для очистки сточных вод от ионов тяжелых металлов предлагается сорбционный метод с использованием природного и модифицированного диатомита. Целью явилось изучение сорбционной активности диатомита по отношению к ионам кадмия. В статических условиях были исследованы процессы физико-химического модифицирования диатомита для извлечения ионов кадмия из водных растворов, изучено влияние времени и pH на величину сорбции, определены оптимальные условия сорбционного извлечения, построены изотермы адсорбции, получены количественные характеристики величин адсорбции ионов кадмия на поверхности модифицированных сорбентов, оценена принципиальная возможность использования диатомитов для очистки кадмийсодержащих сточных вод. На основании полученных данных можно заключить, что кислотная активация не способствует адсорбции (наблюдается даже отрицательная адсорбция), что подтверждает подвижность кадмия в области низких pH. С увеличением щелочности велика вероятность образования катиона гидроксокадмия ( $\text{CdOH}^+$ ), что также понижает подвижность этого металла. Термическая активация показывает стабильную адсорбцию по отношению к  $\text{Cd}^{2+}$ , что дает основание предположить возможность использования такой активации диатомита для сорбции кадмия и других металлов, то есть при комплексном загрязнении.

**Ключевые слова:** адсорбция, диатомит, модифицирование, очистка сточных воды, ионы тяжелых металлов, кадмий

**Для цитирования:** Борисков Д. Е., Ефремова С. Ю., Комарова Н. А. Изучение адсорбции ионов кадмия из растворов на природном и модифицированных диатомитах // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 70–76. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-70-76>, EDN: AOVKKS

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

**Study of adsorption of cadmium ions from solutions on natural and modified diatomites**

D. E. Boriskov, S. Yu. Efremova, N. A. Komarova ✉

Penza State Technological University, 1a/11 Baidukova passage/Gagarina St., Penza 440039, Russia

Dmitry E. Boriskov, [boriskovde@yandex.ru](mailto:boriskovde@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0003-4151-8351>

Sania Yu. Efremova, [efremova@penzgtu.ru](mailto:efremova@penzgtu.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9520-4094>

Nadezhda A. Komarova, [sss-potr@yandex.ru](mailto:sss-potr@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6972-1744>

**Abstract.** The search for new technologies for the purification of natural and waste water does not lose its relevance. Biologically, heavy metals are among the most dangerous pollutants. The highest toxicity among them has cadmium, causing serious environmental problems during technogenic pollution of the aquatic environment, and its extraction is an urgent task. The analysis of foreign studies



on the extraction of cadmium ions is carried out. The adsorption of cadmium has been studied by many authors and described in many works on kaolin oxides / iron hydroxides, in contrast to siliceous rocks. In this work, the use of the sorption method is proposed for the purification of wastewater from ions of heavy metals. The aim was to study the sorption activity of diatomite in relation to cadmium ions. The studies have been carried out under static conditions. The processes of physicochemical modification of diatomite for the extraction of cadmium ions from aqueous solutions have been investigated. The influence of time and pH on the value of sorption has been studied. The optimal conditions for sorption extraction have been determined. Adsorption isotherms have been constructed, and quantitative characteristics of the values of adsorption of cadmium ions on the surface of modified sorbents have been obtained. The fundamental possibility of using diatomites for the purification of cadmium-containing wastewater has been assessed. Based on the data obtained, it can be concluded that acid activation does not promote adsorption (even negative adsorption is observed), which confirms the mobility of cadmium in the low pH region, it can be assumed that only an increase in alkalinity to the possibility of formation of hydroxocadmium ( $\text{CdOH}^+$ ). Thermal, shows stable adsorption in relation to  $\text{Cd}^{+2}$ , which suggests the possibility of using such activation of cadmium diatomite and other metals, that is, with complex pollution.

**Keywords:** adsorption, diatomite, modification, waste water treatment, heavy metal ions, cadmium

**For citation:** Borisikov D. E., Efremova S. Yu., Komarova N. A. Study of adsorption of cadmium ions from solutions on natural and modified diatomites. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 70–76 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-70-76>, EDN: AOVKKS

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

## Введение

С каждым годом увеличивается нагрузка на окружающую среду, в том числе и на водные объекты. Вода играет важную роль в сохранении жизнеспособности экосистем, в то же время не стоит забывать, что она является исчерпаемым ресурсом. Поиск новых технологий очистки загрязненных природных и сточных вод не теряет своей актуальности. В биологическом отношении тяжелые металлы (ТМ) – наиболее опасные загрязнители. Попадая в природную среду, они вступают во взаимодействие, превращаются в различные соединения, и это в значительной мере оказывает влияние на качество очистки вод. Существующие биохимические методы, флотация, коагуляция не всегда позволяют обеспечить должный уровень очистки.

Анализ отечественных и зарубежных исследовательских работ по очистке загрязненных ТМ стоков показал эффективность использования различных сорбентов. В свою очередь, применение сорбционных методов позволяет не только очистить воду, но и извлечь из промышленных стоков ценные металлы.

Следует отметить, что наибольшей токсичностью среди ТМ обладает кадмий. Он вызывает при техногенном загрязнении водной среды серьезные экологические проблемы, и его извлечение является актуальной задачей. Адсорбция кадмия исследовалась многими авторами и описана во многих работах на каолинах оксидах/гидрооксидах железа [1–5], в отличие от кремнистых пород.

В обзорной статье Femina Carolin с соавторами была рассмотрена эффективная очистка сточных вод и их способность к восстановлению и снижению воздействия на окружающую среду

и предоставлен эскиз технологии обработки промышленных стоков с последующим извлечением из них ТМ. Статья содержит информацию о важных методах, включенных в лабораторные исследования, которые необходимы для определения осуществимой эффективной очистки стоков. Кроме того, сделан акцент на секвестрацию ионов ТМ из сточных вод и создание научной основы для сокращения сбросов ТМ в окружающую среду [6].

В серии лабораторных экспериментов по предотвращению миграции ТМ в грунтовые воды был использован обычный мелкодисперсный кварцевый песок, обогащенный оксидом графена (GO). Результаты показали, что сорбционная емкость оксида графена составила 530,85; 170,1; 49,78 и 14,41 мг/г соответственно для Pb(II), Cd(II), As(III) и Cr(VI).

Присутствие GO увеличивало адсорбционную способность столбика кварцевого песка до 92, 87, 88 и 94% для Pb(II), Cd(II), As(III) и Cr(VI) соответственно. Было исследовано удержание одного тяжелого металла и их смеси приготовленным сорбентом в указанных условиях. Также было показано, что в смеси ТМ адсорбционная емкость снижается на 14, 21 и 39% для Pb(II), Cd(II) и As(III) соответственно. Более длительное время удержания или адсорбционной способности на GO было достигнуто для Pb(II) – 10,83 ч, а для Cd(II) – 4,23 ч. Это указывает на более высокую эффективность адсорбционной среды в удержании Pb(II) и Cd(II). Характеристики адсорбции изучались с использованием четырех линейных и нелинейных изотермических моделей. Нелинейная модель Фрейндлиха была лучшей моделью, соответствующей экспериментальным наблюдениям в равновесных реакциях [7].



В обзоре [8] были представлены последние тенденции в области модификаций, механизмов, сравнения удаления металлов, термокинетики, механизмов регенерации и безопасных методов утилизации. Биочар – твердый остаток, богатый углеродом – получается из широкого спектра доступного сырья, такого как лесные и сельскохозяйственные отходы, промышленные побочные продукты и отходы, а также твердые бытовые отходы, обработанные путем пиролиза. Сорбенты на основе биоугля широко используются в очистке сточных вод благодаря своим свойствам, а именно: высокой пористости, большой площади поверхности, сродству к металлам, модификации поверхности, стабильности, вторичной переработке и даже безопасному удалению. Согласно этим исследованиям, сорбенты на основе биоугля проявляли адсорбционную способность тяжелых металлов в мг/г: 1217 (Ag), 560 (Pb), 288 (Cu), 216 (Cd), 204 (As), 130 (Cr), 58 (Ni), 48 (Hg) и др. при оптимальных условиях.

Gang Cao с соавторами провели эксперимент с использованием трубчатых колонок с целью оценки поведения биоугля в окружающей среде, полученного измельчением в шаровой мельнице (BMBC) [9]. Результаты экспериментов на трубчатой колонке показали, что перенос BMBC увеличивался при высокой скорости потока, большом размере частиц, высоком pH и низкой ионной силе. Сильная хемосорбция  $Cd^{2+}$  по отношению к BMBC приводила к уменьшению выноса  $Cd^{2+}$ . Таким образом, присутствие  $Cd^{2+}$  в растворе незначительно уменьшало транспорт BMBC, который, в свою очередь, связывал ионы кадмия.

В последнее время широко применяется метод ремедиации – извлечение тяжелых металлов из почв с помощью растений с последующим сжиганием. При совместном пиролизе растения *Sedum alfredii* и пластиковых отходов (поливинилхлорид – ПВХ) при температуре 300–900°C, выход биочара увеличился на 5,18–37,19% по сравнению с контрольными значениями. Концентрации Cd и Zn, выщелачиваемых из биочара, значительно повышались с увеличением количества добавленного ПВХ, приводящим к появлению хлороводородной кислоты. Это свидетельствует о том, что добавление ПВХ увеличивало подвижность Cd и Zn в биочаре. Кроме того, полученные биочары *S. alfredii* показали значительную сорбционную емкость по отношению к Cd (87,6–198,3 мг/г). Эти результаты предполагают, что добавление ПВХ оказывает положительное влияние на разделение ТМ и получение биочара при пиролизе гипераккумулятора Cd/Zn. [10].

Для извлечения ионов многих ТМ при очистке природных сред от загрязнений токсичными соединениями широко применяются кремнийорганические материалы, особенно привлекательными оказались нанопористые кремнеземы.

Вышеизложенное определило цель работы – исследование сорбционных свойств модифицированного природного диатомита в отношении высокотоксичного кадмия. В связи с чем были поставлены задачи: проведение модификации различными способами диатомита; построение изотермы адсорбции ионов кадмия модифицированными и природными диатомитами; обоснование типа модификации для достижения максимальной адсорбции при незначительном времени контактирования.

### Материалы и методы

Объектом исследований явился диатомит (Ахматовское месторождение Пензенской области), химический состав диатомита приведен в работе [11]. Согласно литературным данным, природные диатомиты обладают достаточно высокой сорбционной способностью, вместе с этим существенно увеличить их сорбционную емкость можно модифицированием поверхностных слоев [12, 13–15].

Процесс модификации образцов диатомита проводили 1N HCl (кислотная активация) в течение 1 ч, затем промывали дистиллированной водой, нейтрализовали примерно до pH 7 и высушивали до состояния воздушно-сухого вещества при комнатной температуре. Термическую активацию природного диатомита (просеянного и промытого) проводили в муфельной печи 3 ч при  $t = 440–460^\circ C$ , при этом цвет становился оранжево-бурым, в отличие от исходного светло-серого диатомита [8, 10, 15]. Стандартные растворы иона кадмия (+2) готовились на основе  $Cd(NO_3)_2$  марки ХЧ; содержание ионов кадмия в стандартных растворах было 0,0001 М, 0,001М, 0,001 моль/л. Измерение концентрации  $Cd^{2+}$  в суспензиях проводилось методом ион-селективной потенциометрии с использованием кадмий-селективного электрода в трехкратной повторности. Величины адсорбции рассчитывались по формулам (1), (2) и строились изотермы адсорбций [10, 11], построение графиков и статистическая обработка результатов проводились в пакете программ Microsoft Excel:

$$A = ((C_0 - C_{равн}) \times V_{p-ра}) / m_{адсорб} \text{ [моль/кг]}, \quad (1)$$

$$\alpha = (C_0 - C_{равн} / C_0) \times 100\%. \quad (2)$$



### Результаты и их обсуждение

Исследования показали, что диатомиты обладают высокой сорбционной активностью по отношению к ионам кадмия, за исключением кислотной активации. Согласно литературным источникам, с ростом pH адсорбция кадмия увеличивается, но на фоне значительных отклонений трудно сделать правильные выводы о стехиометрии поверхностных адсорбционных комплексов. Сорбция катионов (обычно в виде гидроксида) при высоких концентрациях может проходить по механизму поверхностного осаждения [2, 3]. За счет сил неэлектростатического характера адсорбция кадмия происходит специфически. В мономолекулярном слое величина максимальной адсорбции ионов практически не зависит от размера ионов (за исключением некоторых ионов природных органических соединений, прежде всего гуминовых кислот) и определяется концентрацией адсорбционных центров на поверхности адсорбента, в этом качестве обычно рассматриваются поверхностные OH-группы. Однако величину максимальной адсорбции в мономолекулярном слое для кадмия практически не удается измерить. Связано это с тем, что кадмий (как и подобные ему металлы) способен образовывать твердые гидроксиды, причем растворимость таких гидроксидов в присутствии адсорбента снижается [5].

Согласно литературным данным [4, 5], поверхность кварцеподобных диэлектриков

отрицательно заряжена, содержит различные по гидрофильности участки, отличающиеся наличием поверхностных гидроксидов. В водных растворах поверхность заряжена отрицательно вследствие поверхностной диссоциации силанольных групп (рис. 1).

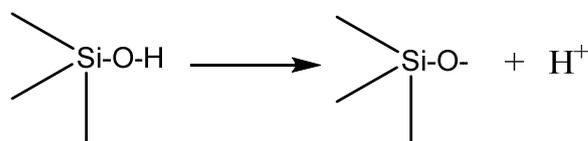


Рис. 1. Поверхностная диссоциация силанольных групп  
Fig. 1. Surface dissociation of silanol groups

Как известно, в водных растворах соли ТМ, в том числе и кадмия, гидролизуются. В кислых растворах преобладают аквакомплексы  $\text{Cd}^{+2}$ , гидролиз подавляется.

Гидролиз усиливается с увеличением pH раствора, в этом случае возможно появление не только положительно заряженных гидроксокомплексов, но и отрицательно заряженных типа  $[\text{Cd}(\text{OH})_4]^{2-}$ , которые не адсорбируются на одноименно заряженной поверхности.

Модификация диатомита кислотой приводит к растворению ее примесных компонентов, при этом высвобождаются микро- и нанопоры, что в итоге снижает сорбционную активность (по сравнению с адсорбцией ионов меди [10]) и адсорбционное равновесие не достигается в указанное время. Графики зависимостей представлены на рис. 2.

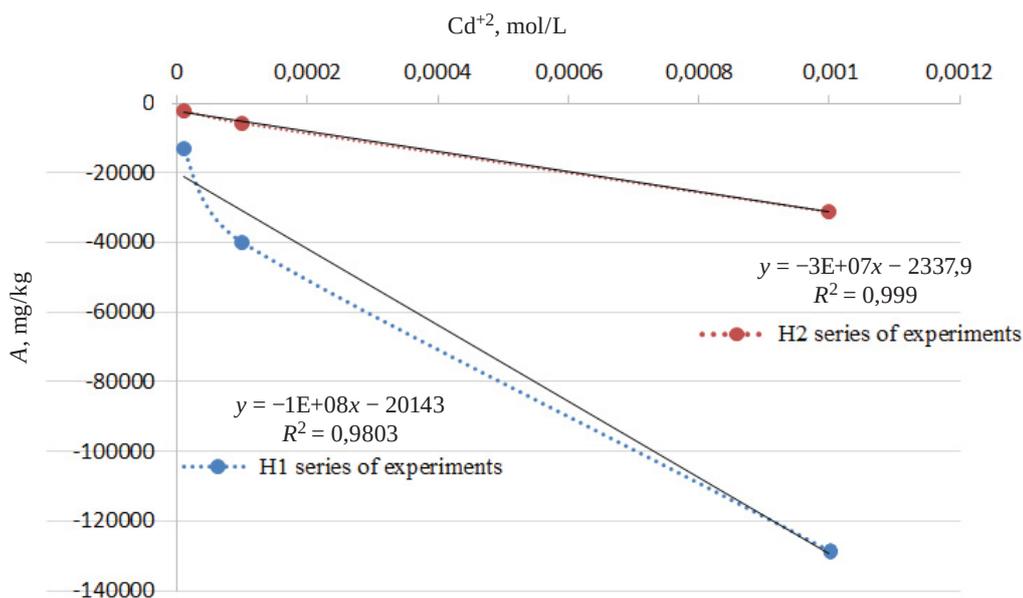


Рис. 2. Изотермы кинетики сорбции ионов кадмия модифицированным кислотой диатомитом (1 ч)

Fig. 2. Sorption kinetics isotherms of cadmium ions by acid modified diatomite (1 h)



Природный диатомит по отношению к ионам кадмия проявляет значительную сорбционную активность, особенно при низких концентрациях адсорбата (таблица). При увеличении концентрации ионов  $Cd^{2+}$  происходит снижение, особенно во время малого контакта (рис. 3).

Термическая активация диатомитов показывает стабильную адсорбцию по отношению ко многим ТМ, в том числе и к  $Cd^{2+}$ , что дает основание предположить возможность использования такой активации диатомита и для поглощения и других ТМ – свинца, меди, то есть при комплексном загрязнении (рис. 4).

**Адсорбция на диатомите ионов кадмия  $Cd^{2+}$ , масса адсорбента  $m = 0,002$  кг,  $V_{p-pa} = 0,1$  л, время контактирования 1 ч**

Table. Adsorption of cadmium ions  $Cd^{2+}$  on diatomite, adsorbent mass  $m = 0.002$  kg,  $V_{s-on} = 0.1$  l, contact time 1 hour

$C_{исх.}$ моль/л / $C_{original one}$ mol/l	Термический (1-я серия опытов, трехкратная повторность) «Т1» Thermal (1st series of experiments, three-fold repetition) "T1"			Термический (2-я серия опытов, трехкратная повторность) «Т2» Thermal (2nd series of experiments, three-fold repetition) "T2"		
	$C_{равн.}$ , моль/л $C_{equil.}$ , mol/l	$A$ , моль/кг $A$ , mol/kg	$A$ , мг/кг $A$ , mg/kg	$C_{равн.}$ , моль/л $C_{equil.}$ , mol/l	$A$ , моль/кг $A$ , mol/kg	$A$ , мг/кг $A$ , mg/kg
0.001	0.00018	0.04065	4553.369	0.000785	0.010771	1206.35
0.0001	1.3E-07	0.00499	559.2708	1.02E-05	0.004489	502.7218
0.00001	1.95E-09	0.0005	55.9891	1.27E-06	0.000437	48.90621
	Природный (1-й опыт) «N1» Natural (1st experience) "N1"			Природный (2-й опыт) «N2» Natural (2nd experience) "N2"		
0.001	9.18E-05	0.04541	5085.777	0.000513	0.02436	2728.266
0.0001	2.67E-08	0.00499	559.8504	6.36E-06	0.004682	524.3893
0.00001	5.1E-10	0.0005	55.99715	5.21E-07	0.000474	53.08109
	Кислотный (1-й опыт) «Н1» Acidic (1st experience) "H1"			Кислотный (2-й опыт) «Н2» Acidic (2nd experience) "H2"		
0.001	0.02394	-0,31131	-128484	0,006577	-0,27886	-31232,6
0.0001	0.00722	-0.11327	-39906.4	0.001128	-0.05138	-5754.3
0.00001	0.00236	0.0005	-13190	0.000394	-0.01922	-2152.39

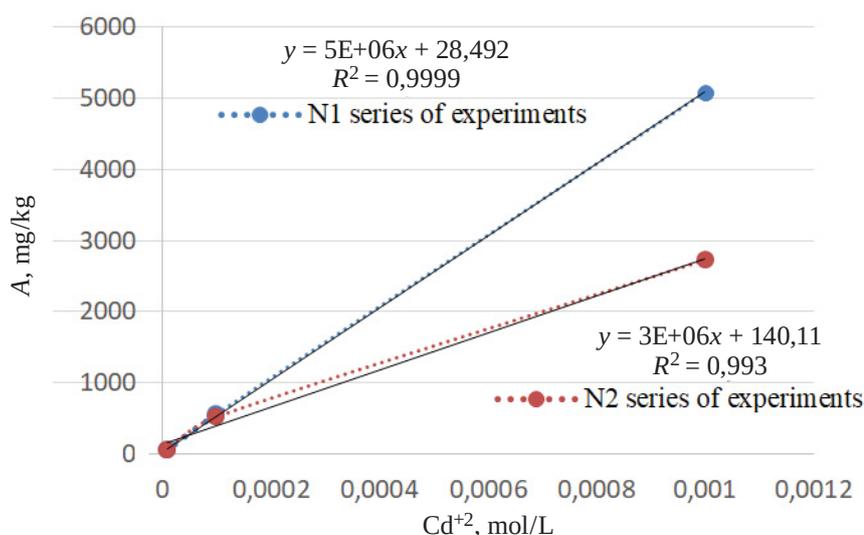


Рис. 3. Изотермы кинетики сорбции ионов кадмия природным диатомитом (1 ч)  
Fig. 3. Sorption kinetics isotherms of cadmium ions by natural diatomite (1 h)

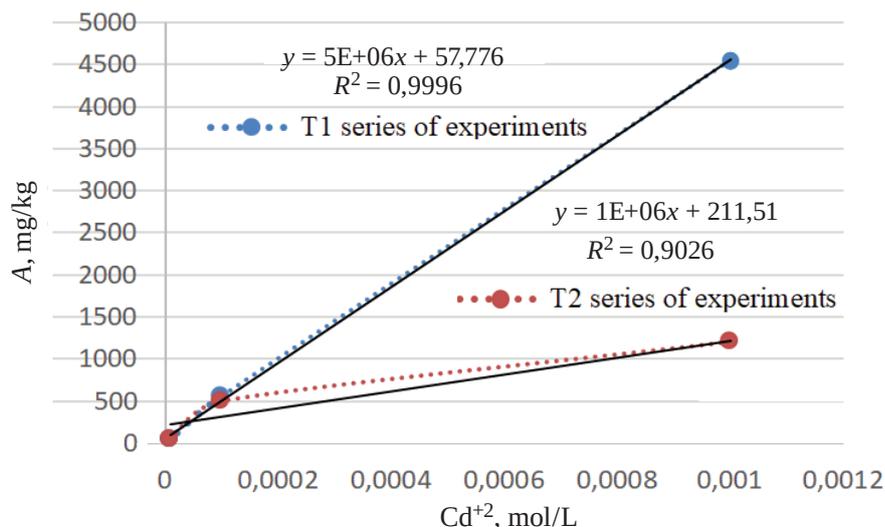


Рис. 4. Изотермы кинетики сорбции ионов кадмия термически модифицированным диатомитом (1 ч)

Fig. 4. Sorption kinetics isotherms of cadmium ions by thermally modified diatomite (1 h)

Принимая во внимание, что гальванические стоки, содержащие кадмий и другие ТМ, имеют рН значительно меньше 7, можно предположить, что диатомит, активированный кислотами, будет иметь недостаточную адсорбционную емкость, по сравнению со всеми остальными, поэтому следует вести дальнейшие исследования в области поиска методов активации диатомитов, с целью создания универсальных адсорбентов.

### Выводы

На основании полученных данных можно заключить, что кислотная активация не способствует адсорбции (наблюдается даже отрицательная адсорбция), что подтверждает подвижность кадмия в области низких рН. С увеличением щелочности велика вероятность образования катиона гидроксиокадмия (CdOH)<sup>+</sup>, что также понижает мобильность этого металла. Термическая активация показывает стабильную адсорбцию по отношению к Cd<sup>2+</sup>, что дает основание предположить возможность использования такой активации диатомита для сорбции кадмия и других металлов, то есть при комплексном загрязнении.

Результаты исследований позволяют сделать вывод о том, что после кратковременного (1 ч) контактирования адсорбтива Cd<sup>2+</sup> с адсорбентом модифицированным или природным диатомитом адсорбционное равновесие не наступало ни в одном из типов эксперимента.

Термически модифицированный и природный диатомит проявляют себя практически

одинаково по отношению к адсорбтиву – ионам кадмия в области концентраций от 0,00001 до 0,001 моль/л.

### Список литературы

1. Moore J. W., Ramamoorthy S. Heavy metals in natural waters. N.Y. : Springer, 1983. 268 p.
2. Альков Н. М., Шачнева Е. Ю., Арчибасова Д. Е. Изучение адсорбции кадмия из водных растворов на модифицированных сорбентах // Научный потенциал регионов на службу модернизации : межвуз. сб. науч. ст. / гл. ред. Д. П. Ануфриев. Астрахань : АИСИ, 2012. № 2 (3). 170 с.
3. Forbes E. A., Posner A. M., Quirk J. P. The specific adsorption of divalent Cd, Co, Cu, Pb, and Zn on goethite // J. Soil Sci. 1976. Vol. 27. P. 154–166.
4. Бузаева М. В., Климов Е. С. Физико-химические свойства природных сорбентов Ульяновской области // Башкирский химический журнал. 2010. № 4. С. 37–40.
5. Пимнева Л. А., Искакова А. И. Термодинамика адсорбции ионов кадмия на каолине // Современные наукоемкие технологии. 2019. № 3, ч. 1. С. 60–64.
6. Femina Carolin C., Senthil Kumar P., Saravanan A., Janet Joshiba G., Naushad Mu. Efficient techniques for the removal of toxic heavy metals from aquatic environment // Journal of Environmental Chemical Engineering. 2017. Vol. 5, № 3. P. 2782–2799.
7. Mona Abbasi, Edwin Safari, Majid Baghdadi, Mehran Janmohammadi. Enhanced adsorption of heavy metals in groundwater using sand columns enriched with graphene oxide: Lab-scale experiments and process modeling // Journal of Water Process Engineering. 2021. Vol. 40. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.101961>



8. Sarthak Gupta, Sireesha S., Sreedhar I., Patel Chetan M., Anitha K. L. Latest trends in heavy metal removal from wastewater by biochar based sorbents // *Journal of Water Process Engineering*. 2020. Vol. 38. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101561>
9. Gang Cao, Jiaxue Sun, Menghua Chen, Huimin Sun, Guilong Zhang. Co-transport of ball-milled biochar and Cd<sup>2+</sup> in saturated porous media // *Journal of Hazardous Materials*. 2021. Vol. 416. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125725>
10. Xiaoqiang Cui, Jianwei Zhang, Minghui Pan, Qiang Lin, Muhammad Bilal Khan, Xiaoe Yang, Zhenli He, Beibei Yan, Guanyi Chen. Double-edged effects of polyvinyl chloride addition on heavy metal separation and biochar production during pyrolysis of Cd/Zn hyperaccumulator // *Journal of Hazardous Materials*. 2021. Vol. 416. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125793>
11. Борисков Д. Е., Блинохватов А. А. Диатомиты Пензенской области и их использование в качестве универсальных сорбентов при очистке воды для нужд пищевой промышленности // *Инновационная техника и технология*. Пенза : Изд-во «Фролов Дмитрий Иванович», 2018. № 1 (14). С. 47–49.
12. Максатова А. М., Везенцев А. И., Михайлюкова М. О., Калашникова Л. А. Физико-химические основы получения адсорбента на основе диатомита // *Вестник современных исследований*. 2017. № 7-1 (10). С. 162–169.
13. Борисков Д. Е., Кузьмин А. А., Комарова Н. А., Давыдова М. А. Влияние типа модификации диатомита на его сорбционную способность // *Инновационная техника и технология*. 2019. № 3 (20). С. 68–74.
14. Клочков Е. П., Павленко В. И., Матюхин П. В., Ястребинская А. В. Модифицирование природных минеральных систем для очистки воды от радионуклидов // *Совр. проблемы науки и образования*. 2012. № 6. С. 32–35.
15. Лисин С. А. Модифицирование биогенного кремнезема и пути его использования : автореф. дис. ... канд. хим. наук. Казань, 2004. 23 с.
4. Buzaeva M. V., Klimov E. S. Physico-chemical properties of natural sorbents of the Ulyanovsk region. *Bashkir Chemical Journal*, 2010, no. 4, pp. 37–40 (in Russian).
5. Pimneva L. A., Iskakova A. I. Thermodynamics of adsorption of cadmium ions on kaolin. *Modern High Technologies*, 2019, no. 3, pt. 1, pp. 60–64 (in Russian).
6. Femina Carolin C., Senthil Kumar P., Saravanan A., Janet Joshiba G., Naushad Mu. Efficient techniques for the removal of toxic heavy metals from aquatic environment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2017, vol. 5, no. 3, pp. 2782–2799.
7. Mona Abbasi, Edwin Safari, Majid Baghdadi, Mehran Janmohammadi. Enhanced adsorption of heavy metals in groundwater using sand columns enriched with graphene oxide: Lab-scale experiments and process modeling. *Journal of Water Process Engineering*, 2021, vol. 40. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.101961>
8. Sarthak Gupta, Sireesha S., Sreedhar I., Patel Chetan M., Anitha K. L. Latest trends in heavy metal removal from wastewater by biochar based sorbents. *Journal of Water Process Engineering*, 2020, vol. 38. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101561>
9. Gang Cao, Jiaxue Sun, Menghua Chen, Huimin Sun, Guilong Zhang. Co-transport of ball-milled biochar and Cd<sup>2+</sup> in saturated porous media. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, vol. 416. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125725>
10. Xiaoqiang Cui, Jianwei Zhang, Minghui Pan, Qiang Lin, Muhammad Bilal Khan, Xiaoe Yang, Zhenli He, Beibei Yan, Guanyi Chen. Double-edged effects of polyvinyl chloride addition on heavy metal separation and biochar production during pyrolysis of Cd/Zn hyperaccumulator. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, vol. 416. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125793>
11. Boriskov D. E., Blinokhvatov A. A. Diatomites of the Penza region and their use as universal sorbents in water purification for the needs of the food industry. *Innovative Technique and Technology*. Penza, Publishing house “Frolov Dmitry Ivanovich”, 2018, no. 1 (14), pp. 47–49 (in Russian).
12. Maksatova A. M., Vezentsev A. I., Mikhailyukova M. O., Kalashnikova L. A. Physico-chemical bases of obtaining an adsorbent based on diatomite. *Bulletin of Modern Research*, 2017, no. 7-1 (10), pp. 162–169 (in Russian).
13. Boriskov D. E., Kuzmin A. A., Komarova N. A., Davydova M. A. Influence of the type of modification of diatomite on its sorption capacity. *Innovative Technique and Technologies*, 2019, no. 3 (20), pp. 68–74 (in Russian).
14. Klochkov E. P., Pavlenko V. I., Matyukhin P. V., Yastrebinskaya A. V. Modification of natural mineral systems for water purification from radionuclides. *Modern Problems of Science and Education*, 2012, no. 6, pp. 32–35 (in Russian).
15. Lisin S. A. *Modification of biogenic silica and methods of its use*. Thesis Diss. Cand. Sci. (Chem.). Kazan, 2004. 23 p. (in Russian).

## Reference

1. Moore J. W., Ramamoorthy S. *Heavy metals in natural waters*. New York, Springer, 1983. 268 p.
2. Alykov N. M., Shachneva E. Yu., Archibasova D. E. Investigation of cadmium adsorption from aqueous solutions on modified sorbents. *Nauchnyu potentsial regionov na sluzhbu modernizatsii: mezhvuz. sb. nauch. st. Pod red. D. P. Anufriyeva* [Anufriyev D. P., ed. Scientific Potential of the Regions for the Service of Modernization: interuniv. coll.]. Astrakhan, AISI Publ., 2012, no. 2 (3). 170 p. (in Russian).
3. Forbes E. A., Posner A. M., Quirk J. P. The specific adsorption of divalent Cd, Co, Cu, Pb, and Zn on goethite. *J. Soil Sci.*, 1976, vol. 27, pp. 154–166.

Поступила в редакцию 04.05.2022; одобрена после рецензирования 31.05.22; принята к публикации 01.06.2022  
The article was submitted 04.05.2022; approved after reviewing 31.05.22; accepted for publication 01.06.2022

## БИОЛОГИЯ

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 77–85

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 77–85  
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-77-85>

EDN: ILPPVS

УДК 574.24:615.322

# Изучение закономерностей накопления наиболее опасных экотоксикантов в дикорастущем лекарственном растительном сырье различных экотопов Воронежской области

Н. А. Дьякова

Воронежский государственный университет, Россия, 394006, г. Воронеж, Университетская пл., д. 1

Дьякова Нина Алексеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, [Ninochka\\_V89@mail.ru](mailto:Ninochka_V89@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-0766-3881>

**Аннотация.** Воронежская область – один из важнейших районов земледелия и растениеводства. Целью исследования являлось изучение закономерностей накопления наиболее опасных тяжелых металлов в дикорастущем лекарственном растительном сырье различных экотопов Воронежской области. Изучалось накопление тяжелых металлов (свинца, ртути, кадмия, никеля, меди, цинка, кобальта, хрома) и мышьяка на примере 10 видов лекарственных растений, произраставших в 51 экотопе Воронежской области. При анализе средних значений коэффициентов накопления тяжелых металлов и мышьяка всеми изучаемыми видами лекарственного растительного сырья можно построить ряд убывания общей средней эффективности аккумуляции определяемых элементов данными растениями, который выглядит следующим образом: цинк > медь > кадмий > кобальт > никель > мышьяк > хром > свинец > ртуть. При анализе значений коэффициентов накопления построены ряды убывания эффективности аккумуляции элементов во всех изучаемых видах лекарственного растительного сырья. Детальный анализ особенностей накопления тяжелых металлов и мышьяка из почв в лекарственном растительном сырье показал наличие тесной положительной взаимосвязи между концентрациями в почве и растениях для большинства определяемых элементов, что указывает на преимущественное загрязнение растительного сырья через грунт.

**Ключевые слова:** Воронежская область, лекарственное растительное сырье, свинец, ртуть, кадмий, никель, медь, цинк, кобальт, хром

**Для цитирования:** Дьякова Н. А. Изучение закономерностей накопления наиболее опасных экотоксикантов в дикорастущем лекарственном растительном сырье различных экотопов Воронежской области // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 77–85. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-77-85>, EDN: ILPPVS

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

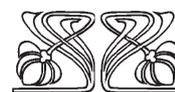
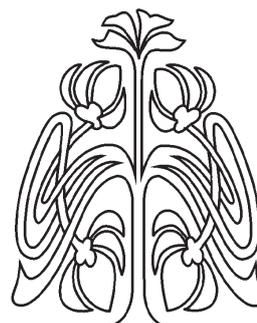
**Study of patterns of accumulation of the most dangerous ecotoxicants in wild medicinal plant raw materials of various ecotopes of the Voronezh region**

**N. A. Dyakova**

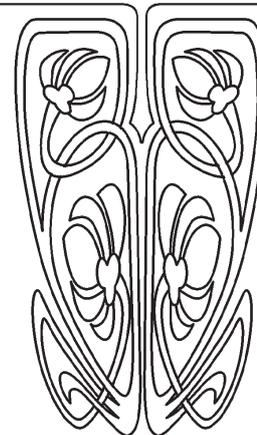
Voronezh State University, 1 University pl., Voronezh 394006, Russia

Nina A. Dyakova, [Ninochka\\_V89@mail.ru](mailto:Ninochka_V89@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-0766-3881>

© Дьякова Н. А., 2023



**НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ**





**Abstract.** Voronezh region is one of the most important areas of agriculture and crop production. The purpose of the study was to study the patterns of accumulation of the most dangerous heavy metals in wild medicinal plant raw materials of various ecotopes of the Voronezh region. The accumulation of heavy metals (lead, mercury, cadmium, nickel, copper, zinc, cobalt, chromium) and arsenic was studied, using an example of 10 types of medicinal plant raw materials, which were produced in 51 ecotopes of the Voronezh region. When analyzing the average values of the accumulation coefficients of heavy metals and arsenic by all studied types of medicinal plant raw materials, it is possible to build up a series of decreases in the total average accumulation efficiency of the determined elements for these plants, which is as follows: zinc > copper > cadmium > cobalt > nickel > arsenic > chromium > lead > mercury. When analyzing the values of accumulation coefficients, rows of decreasing efficiency of accumulation of elements in all types of medicinal plant raw materials studied are constructed. A detailed analysis of the characteristics of the accumulation of heavy metals and arsenic from soils in medicinal plant raw materials showed the presence of a close positive relationship between concentrations in soil and plants for most of the determined elements, which indicates the predominant contamination of plant raw materials through the soil.

**Keywords:** Voronezh region, medicinal herbal raw materials, lead, mercury, cadmium, nickel, copper, zinc, cobalt, chrome

**For citation:** Dyakova N. A. Study of patterns of accumulation of the most dangerous ecotoxicants in wild medicinal plant raw materials of various ecotopes of the Voronezh region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 77–85 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-77-85>, EDN: ILPPVS

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

## Введение

На начало 2022 г. фармацевтический рынок РФ насчитывает более 2 тыс. лекарственных препаратов и почти 8 тыс. БАД на основе лекарственного растительного сырья (ЛРС). С учетом высокой стоимости импортных лекарственных средств в России отмечается значительный рост спроса на отечественные препараты, в том числе растительного происхождения. Высокий интерес к препаратам из ЛРС связан прежде всего со значительной эффективностью и относительной безопасностью. С начала 90-х гг. в нашей стране произошел сдвиг товарной структуры в пользу дикорастущего ЛРС, удельный вес которого увеличился с 52% (в конце 80-х гг. XX в.) до 83% (в настоящее время). Однако большинство используемых ресурсов дикорастущего ЛРС находится в зоне активной хозяйственной деятельности человека и оказывается подвержено загрязнению экотоксикантами. К ним относятся территории, находящиеся вблизи населенных пунктов, автомобильных и железных дорог, промышленных предприятий, сельскохозяйственных угодий. Загрязненное ЛРС и лекарственные препараты на его основе могут являться одними из источников поступления экотоксикантов в организм человека [1–3].

Одними из наиболее опасных экотоксикантов в силу высокой токсичности, устойчивости в окружающей среде и способности к биологической миграции являются тяжёлые металлы. Они обладают способностью к аккумуляции в почве и лекарственном растительном сырье. Классификация элементов на биогенные и токсичные весьма условна и часто определяется их концентрацией. Показатели нормальных концентраций элементов в ЛРС значительно

варьируют в зависимости от вида растения, его фенологической фазы, адаптации к геохимическим условиям, анализируемых органов, типа почвы, содержания элемента в почве и др. Термин «тяжелые металлы» в научной литературе определяется по разным критериям – плотность, атомная масса, токсичность, распространенность в окружающей среде, вовлеченность в трофические цепи и т.д. Таким образом, к тяжелым металлам причисляют порядка 40 элементов, которые можно отнести к потенциальным загрязнителям ЛРС, в частности, наиболее опасные – свинец, ртуть, кадмий, никель, хром, кобальт, медь, цинк [4–6].

Воронежская область – один из крупных регионов земледелия и растениеводства. Активная химизация в сельском хозяйстве, расширение производственных площадей, освоение минеральных ресурсов и транспортной инфраструктуры обострили вопрос обеспечения различных отраслей промышленности безопасным ЛРС в регионе. Таким образом, учитывая значительное, ежегодно возрастающее влияние токсичных химических элементов на растительные организмы, необходима комплексная оценка эколого-гигиенического состояния ЛРС Воронежской области с учетом влияния хозяйственной деятельности человека [7–9].

*Цель исследования* – изучение закономерностей накопления наиболее опасных тяжелых металлов в дикорастущем ЛРС различных экотопов Воронежской области.

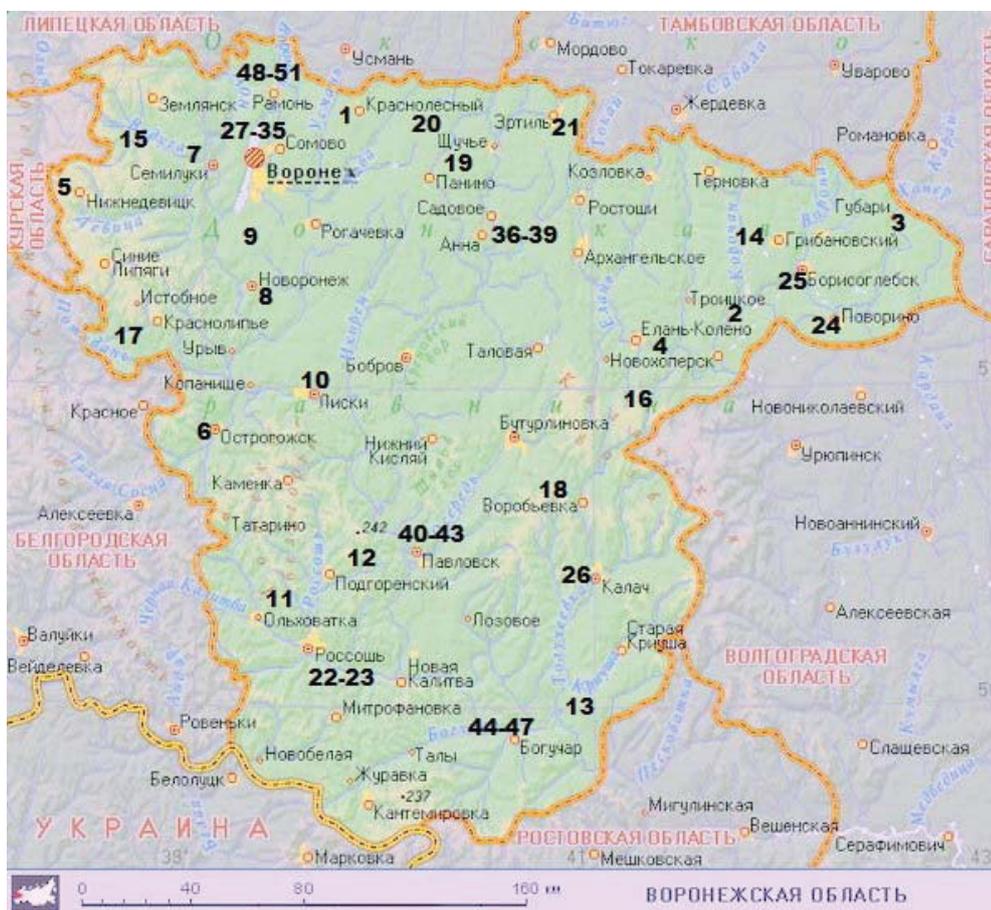
## Материалы и методы

Объектами исследования явились виды ЛРС, широко распространенного в средней



полосе России, в частности, в Воронежской области: листья подорожника большого (*Plantago major* L.), листья крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.), цветки липы сердцевидной (*Tilia cordata* Mill.), цветки пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.), трава тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.), трава полыни горькой (*Artemisia absinthium* L.), трава пустырника пятилопастного (*Leonurus quinquelobatus* Gilib.), трава горца птичьего (*Polygonum aviculare* L.), корни одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* F. H. Wigg.), корни лопуха обыкновенного (*Arctium lappa* L.) [10, 11]. Сбор образцов ЛРС проводили согласно требованиям по заготовке. Также отбирали пробы верхних слоев почв (ВСП) (0–10 см от поверхности).

Районы сбора изучаемых образцов на территории Воронежской области обусловлены особенностями воздействия человека (рисунок, таблица): промышленные предприятия (см. рисунок: 23, 24, 28); теплоэлектроцентраль (27); атомная электростанция (8); международный аэропорт (30); улицы городов (25, 26, 31); высоковольтные линии электропередач (9); Воронежское водохранилище (29); месторождение никелевых руд (4); зоны радиоактивного загрязнения после аварии в Чернобыле (5–7); сельскохозяйственные поля (10–22); дороги разной степени загруженности на удалении 0, 100, 200, 300 м от транспортных магистралей: трасса М4 (32–35, 40–43), трасса А144 (36–39), проселочная дорога (44–47) и железная дорога (48–51); зоны сравнения – заповедные территории (1, 2, 3)).



Карта отбора образцов (цифры расшифрованы выше)  
Figure. Sampling card (numbers deciphered above)

Исследование образцов почв и ЛРС проводилось методом атомно-абсорбционной спектрометрии на аналитическом комплексе МГА-915МД [12]. Каждое определение проводили трижды,

экспериментальные данные статистически обрабатывали с помощью программы «Microsoft Excel» при доверительной вероятности 95%. Изучали содержание в образцах таких токсич-



ных элементов, как ртуть, кадмий, свинец, мышьяк, кобальт, цинк, никель, хром и медь. Для оценки эффективности переноса элементов из почв в ЛРС рассчитывали коэффициенты накопления (КН):

$$КН = \frac{C_{ЛРС} \times 100}{C_{ВСП}},$$

где  $C_{ЛРС}$  – содержание элемента в ЛРС;  $C_{ВСП}$  – валовое содержание элемента в верхних слоях почв [7–9].

### Результаты и их обсуждение

Результаты исследования особенностей накопления наиболее опасных тяжелых металлов в ЛРС, произрастающем в различных экотопах Воронежской области, приведены в табл. 1, 2.

Проведенные исследования показали, что свинец наиболее эффективно концентрируется в корнях одуванчика лекарственного и лопуха обыкновенного. Наибольшей концентрирующей способностью к накоплению ртути обладают листья крапивы двудомной и подорожника большого, трава полыни горькой. Кадмий активно накапливается в травах полыни горькой и пустырника пятилопастного, корнях лопуха обыкновенного и одуванчика лекарственного, листьях подорожника большого. Аккумуляторами мышьяка являются трава полыни горькой и тысячелистника обыкновенного, листья подорожника большого и корни лопуха большого.

Наибольшую концентрирующую способность в отношении никеля проявили листья

Таблица 1 / Table 1

### Диапазон варьирования коэффициентов накопления тяжелых металлов в ЛРС синантропной флоры Воронежской области

#### Range of variation factors of accumulation of heavy metals in medicinal plant raw materials of synanthropic flora of Voronezh region

ЛРС / Medicinal plant raw materials	Коэффициенты накопления / Storage coefficients								
	Pb	Hg	Cd	As	Ni	Cr	Co	Cu	Zn
Трава горца птичьего / Mountain bird Grass	0,06–0,42	0,01–0,40	0,00–0,75	0,06–0,83	0,08–1,16	0,07–0,62	0,06–0,49	0,29–1,37	0,44–2,69
Трава полыни горькой / Bitter wormwood grass	0,03–0,22	0,04–0,80	0,06–6,22	0,24–3,25	0,05–0,67	0,03–0,55	0,02–0,14	0,38–3,85	0,62–2,23
Трава тысячелистника обыкновенного / Millennial herb	0,02–0,16	0,01–0,40	0,04–1,00	0,17–2,92	0,05–0,68	0,02–0,12	0,03–0,13	0,38–2,03	0,24–2,36
Трава пустырника пятилопастного / Five-bladed dummy grass	0,02–0,17	0,02–0,50	0,08–1,89	0,13–1,58	0,09–1,23	0,03–0,14	0,06–0,30	0,29–1,89	0,47–2,29
Листья подорожника большого / Big plantain leaves	0,04–0,46	0,04–0,70	0,04–1,89	0,17–3,00	0,05–1,37	0,13–1,16	0,05–0,29	0,12–1,29	0,28–1,61
Листья крапивы двудомной / Nettle dioecious leaves	0,03–0,23	0,04–0,90	0,00–1,00	0,03–0,83	0,09–1,16	0,07–0,65	0,01–0,24	0,18–1,78	0,38–1,99
Цветки липы сердцевидной / Heart-shaped flowers	0,01–0,08	0,00–0,20	0,00–0,50	0,01–0,08	0,01–0,78	0,00–0,07	0,01–0,10	0,05–0,75	0,30–1,95
Цветки пижмы обыкновенной / Common linden flowers	0,01–0,07	0,00–0,30	0,04–1,00	0,01–0,33	0,04–1,57	0,00–0,10	0,01–0,15	0,15–1,13	0,32–1,92
Корни одуванчика лекарственного / Dandelion medicine roots	0,09–0,59	0,02–0,50	0,11–6,00	0,12–1,67	0,04–1,35	0,20–1,49	0,52–2,66	0,14–1,48	0,58–2,49
Корни лопуха обыкновенного / Burdock common roots	0,11–0,90	0,02–0,50	0,28–2,14	0,18–2,58	0,06–1,16	0,16–1,14	0,33–1,90	0,20–2,38	0,42–2,87



Таблица 2 / Table 2

**Средние значения коэффициентов накопления тяжелых металлов в ЛРС  
синантропной флоры Воронежской области**  
**Mean values factors of accumulation of heavy metals in medicinal plant raw materials  
of synanthropic flora of Voronezh region**

ЛРС / Medicinal plant raw materials	Коэффициенты накопления / Storage coefficients								
	Pb	Hg	Cd	As	Ni	Cr	Co	Cu	Zn
Трава горца птичьего / Mountain bird Grass	0,14	0,05	0,11	0,09	0,27	0,16	0,12	0,51	0,82
Трава полыни горькой / Bitter wormwood grass	0,07	0,12	0,74	0,41	0,18	0,07	0,05	0,83	0,83
Трава тысячелистника обыкновенного / Millennial herb	0,07	0,06	0,17	0,27	0,16	0,05	0,06	0,61	0,53
Трава пустырника пятилопастного / Five-bladed dummy grass	0,07	0,07	0,47	0,19	0,27	0,07	0,10	0,54	0,76
Листья подорожника большого / Big plantain leaves	0,11	0,12	0,48	0,33	0,29	0,27	0,12	0,24	0,56
Листья крапивы двудомной / Nettle dioecious leaves	0,07	0,13	0,05	0,10	0,28	0,23	0,09	0,33	0,60
Цветки липы сердцевидной / Heart-shaped flowers	0,01	0,02	0,08	0,01	0,06	0,02	0,05	0,15	0,60
Цветки пижмы обыкновенной / Common linden flowers	0,02	0,03	0,16	0,05	0,16	0,03	0,04	0,31	0,49
Корни одуванчика лекарственного / Dandelion medicine roots	0,21	0,07	0,44	0,18	0,15	0,36	0,84	0,30	0,84
Корни лопуха обыкновенного / Burdock common roots	0,20	0,07	0,55	0,27	0,22	0,30	0,66	0,37	0,72
Среднее значение / Mean value	0,10	0,07	0,33	0,19	0,20	0,16	0,21	0,42	0,68

подорожника большого и крапивы двудомной, травы полыни горькой, горца птичьего, пустырника пятилопастного, корни лопуха обыкновенного. Хром наиболее активно накапливается в корнях и листьях высших растений. Кобальт накапливается преимущественно в корнях растения, примерно в 8–10 раз эффективнее, чем других анализируемых видах лекарственного растительного сырья.

Медь эффективнее всего накапливается в травах (полыни горькой, тысячелистника обыкновенного, пустырника пятилопастного, горца птичьего). Цинк – эффективнее всего корнями одуванчика лекарственного, лопуха обыкновенного, травами полыни горькой, горца птичьего, пустырника пятилопастного [13–22].

При анализе значений коэффициентов накопления построены ряды убывания эффективности аккумуляции элементов во всех изучаемых видах ЛРС (табл. 3).

Для детального анализа особенностей накопления тяжелых металлов и мышьяка из почв в ЛРС были рассчитаны коэффициенты корреляции Пирсона, которые показали наличие тесной положительной взаимосвязи между концентрациями в почве и ЛРС для большинства определяемых элементов, что указывает на преимущественное загрязнение ЛРС через грунт и малый вклад аэрозольного загрязнения (табл. 4). Слабая корреляционная связь между концентрациями ртути в почвах и ЛРС в данном случае может быть объяснена низкими содержаниями элемента в образцах сырья, но косвенно может указывать на загрязнение его посредством атмосферных выбросов [9].

На основе проведенного исследования можно утверждать, что для изучаемых видов ЛРС происходит формирование экотипов, образующихся в условиях техногенного загрязнения окружающей среды Воронежской области, и проявление адаптации к этим условиям [9, 16, 18, 22].



Таблица 3 / Table 3

**Ряды убывания эффективности аккумуляции тяжелых металлов в ЛРС**  
**Series of decreasing efficiency of heavy metals accumulation in medicinal plant raw materials**

ЛРС / Medicinal plant raw materials	Ряд убывания эффективности аккумуляции тяжелых металлов / A series of decreases in the efficiency of accumulation of heavy metals
Трава горца птичьего / Mountain bird Grass	Zn > Cu > Ni > Cr > Pb > Co > Cd > As > Hg
Трава полыни горькой / Bitter wormwood grass	Zn = Cu > Cd > As > Ni > Hg > Cr = Pb > Co
Трава тысячелистника обыкновенного / Millennial herb	Cu > Zn > As > Cd > Ni > Pb > Co = Hg > Cr
Трава пустырника пятилопастного / Five-bladed dummy grass	Zn > Cu > Cd > Ni > As > Co > Cr = Pb = Hg
Листья подорожника большого / Big plantain leaves	Zn > Cd > As > Ni > Cr > Cu > Co = Hg > Pb
Листья крапивы двудомной / Nettle dioecious leaves	Zn > Cu > Ni > Cr > Hg > As > Co > Pb > Cd
Цветки липы сердцевидной / Heart-shaped flowers	Zn > Cu > Cd > Ni > Co > Cr = Hg > As = Pb
Цветки пижмы обыкновенной / Common linden flowers	Zn > Cu > Ni = Cd > As > Co > Cr > Hg > Pb
Корни одуванчика лекарственного / Dandelion medicine roots	Zn = Co > Cd > Cr > Cu > Pb > As > Ni > Hg
Корни лопуха обыкновенного / Burdock common roots	Zn > Co > Cd > Cu > Cr > As > Ni > Pb > Hg

Таблица 4 / Table 4

**Коэффициенты корреляции содержания тяжелых металлов в почве и ЛРС**  
**Correlation coefficients of heavy metals content in soil and medicinal plant raw materials**

ЛРС / Medicinal plant raw materials	Коэффициенты корреляции / Correlation coefficients								
	Pb	Hg	Cd	As	Ni	Cr	Co	Cu	Zn
Трава горца птичьего / Mountain bird Grass	0,94	0,00	0,66	0,92	0,74	0,81	0,52	0,86	0,73
Трава полыни горькой / Bitter wormwood grass	0,79	0,27	0,51	0,86	0,71	0,82	0,72	0,70	0,97
Трава тысячелистника обыкновенного / Millennial herb	0,87	-0,09	0,59	0,86	0,72	0,84	0,86	0,87	0,83
Трава пустырника пятилопастного / Five-bladed dummy grass	0,68	0,26	0,74	0,86	0,78	0,87	0,82	0,86	0,91
Листья подорожника большого / Big plantain leaves	0,80	0,37	0,53	0,82	0,55	0,79	0,85	0,80	0,78
Листья крапивы двудомной / Nettle dioecious leaves	0,74	0,38	0,44	0,41	0,74	0,78	0,78	0,68	0,89
Цветки липы сердцевидной / Heart-shaped flowers	0,66	-0,01	0,51	0,60	0,50	0,53	0,66	0,68	0,84
Цветки пижмы обыкновенной / Common linden flowers	0,82	-0,01	0,60	0,05	0,78	0,70	0,70	0,80	0,91
Корни одуванчика лекарственного / Dandelion medicine roots	0,74	0,14	0,48	0,85	0,70	0,80	0,81	0,81	0,94
Корни лопуха обыкновенного / Burdock common roots	0,78	0,33	0,82	0,85	0,63	0,80	0,85	0,77	0,91



## Заключение

Проведены фундаментальные региональные эколого-гигиенические исследования качества ЛРС на примере Воронежской области, изучены особенности накопления наиболее опасных тяжелых металлов и мышьяка в ЛРС, произрастающем как в традиционных местах заготовки, так и в антропогенно нарушенных экотопах. Наиболее высокий уровень накопления свинца отмечен в корнях одуванчика лекарственного и лопуха обыкновенного, траве горца птичьего, листьях подорожника. Накопление ртути во всех изучаемых образцах в целом низкое, но более высокий уровень ее аккумуляции отмечается в листьях подорожника большого и крапивы двудомной, траве полыни горькой. Более высокие коэффициенты накопления кадмия выявлены в травах полыни горькой и пустырника пятилопастного, корнях лопуха обыкновенного и одуванчика лекарственного, листьях подорожника большого. Мышьяк наиболее интенсивно аккумулируется в травах полыни горькой и тысячелистника обыкновенного, листьях подорожника большого, корнях лопуха обыкновенного. Никель интенсивно накапливается листьями подорожника большого и крапивы двудомной, травами пустырника пятилопастного и горца птичьего. Наиболее активными концентраторами хрома и кобальта являются корни; хром также активно накапливается в листьях изучаемых растений. Высоким накоплением меди отличались травы. Цинк в наибольшей степени аккумулируется в исследуемых корнях и травах растений. При анализе средних значений коэффициентов накопления тяжелых металлов и мышьяка всеми изучаемыми видами лекарственного растительного сырья можно построить ряд убывания общей средней эффективности аккумуляции определяемых элементов данными растениями, который выглядит следующим образом: цинк > медь > кадмий > кобальт > никель > мышьяк > хром > свинец > ртуть. При анализе значений коэффициентов накопления построены ряды убывания эффективности аккумуляции элементов во всех изучаемых видах лекарственного растительного сырья. Детальный анализ особенностей накопления тяжелых металлов и мышьяка из почв в лекарственном растительном сырье показал наличие тесной положительной взаимосвязи между концентрациями в почве и растениях для большинства определяемых элементов, что указывает на преимущественное загрязнение растительного сырья через грунт.

## Список литературы

1. Егорова И. Н., Колмогорова Е. Ю. Оценка качества и безопасности листьев *Betula pendula* Roth., заготовленных в условиях породного отвала угольного разреза «Кедровский» в Кузбассе // Современные проблемы науки и образования. Биологические науки (электронный журнал). 2015. № 2, ч. 1.
2. Егорова И. Н., Неверова О. А., Григорьева Т. И. Оценка содержания тяжелых металлов в почках *Pinus sylvestris* L., произрастающей на породном отвале угольного разреза // Современные проблемы науки и образования. Биологические науки (электронный журнал). 2015. № 6.
3. Егорова И. Н., Неверова О. А. Оценка содержания тяжелых металлов в *Sanguisorba officinalis* L., произрастающей на нарушенных угледобычей землях // Современные проблемы науки и образования. Биологические науки (электронный журнал). 2014. № 6.
4. Арзамасцев А. П., Коваленко Л. И., Родионова Г. М., Чумакова З. В., Зрелова Л. В. Основы экологии и охраны природы. М. : Медицина, 2008. 416 с.
5. Попов А. И., Егорова И. Н. Состояние ресурсной базы дикорастущих лекарственных растений Мариинского, Тяжинского и Чебулинского районов Кемеровской области // Химико-фармацевтический журнал. 1992. Т. 26, № 3. С. 71–73.
6. Нечаева Е. Г., Белозерцева И. А., Напрасникова Е. В. Мониторинг и прогнозирование вещественно-динамического состояния геосистем сибирских регионов. Новосибирск : Наука. Сиб. отд-ние, 2010. 315 с.
7. Дьякова Н. А., Самылина И. А., Сливкин А. И., Гапонов С. П., Мындра А. А. Оценка содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье Воронежской области // Химико-фармацевтический журнал. 2018. Т. 52, № 3. С. 32–35.
8. Дьякова Н. А., Сливкин А. И., Гапонов С. П. Сравнение особенностей накопления основных токсических элементов цветками липы сердцевидной и пижмы обыкновенной // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2017. № 1. С. 148–154.
9. Дьякова Н. А. Экологическая оценка сырьевых ресурсов лекарственных растений Воронежской области. Воронеж : Цифровая полиграфия, 2022. 264 с.
10. Универсальная энциклопедия лекарственных растений / сост. И. Н. Путырский, В. Н. Прохоров. М. : Махаон, 2000. 656 с.
11. Куркин В. А. Фармакогнозия. Самара : СамГМУ, 2004. 1180 с.
12. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Т. 2. М. : ФЭМБ, 2018. URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения: 20.03.2022).
13. Дьякова Н. А. Накопление тяжелых металлов цветками липы сердцевидной, произрастающей в агро- и



- урбоземных экосистемах Воронежской области // Труды Карельского научного центра Российской академии наук. 2020. № 5. С. 70–79. <https://doi.org/10.17076/eco1150>
14. Дьякова Н. А. Экологическая оценка лекарственного растительного сырья Воронежской области на примере цветков пижмы обыкновенной // Вестник Нижневартковского государственного университета. Биологические науки. 2020. № 1. С. 19–26. <https://doi.org/10.36906/2311-4444/20-1/04>
  15. Дьякова Н. А., Сливкин А. И., Гапонов С. П. Изучение накопления тяжелых металлов и мышьяка и оценка влияния поллютантов на содержание флавоноидов у *Polygonum aviculare* (Caryophyllales, Polygonaceae) // Вестник Камчатского технического государственного университета. 2019. № 48. С. 71–77. <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2020-59-61-72>
  16. Дьякова Н. А. Накопление тяжелых металлов и мышьяка лекарственным растительным сырьем лопуха обыкновенного // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 4. С. 478–487. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-4-478-487>
  17. Дьякова Н. А. Анализ накопления тяжелых металлов и мышьяка травой *Leonurus quinquelobatus* Gilib. // Вестник Нижневартковского государственного университета. 2021. № 2 (54). С. 48–56. <https://doi.org/10.36906/2311-4444/21-2/06>
  18. Дьякова Н. А. Накопление тяжелых металлов и мышьяка травой полыни // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. 2020. Т. 20, вып. 4. С. 445–453. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2020-20-4-445-453>
  19. Дьякова Н. А. Особенности накопления тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье тысячелистника обыкновенного, собранного в урбо- и агробиоценозах Воронежской области // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2020. Т. 28, № 3. С. 213–224. <https://doi.org/10.22363/2313-2310-2020-28-3-213-224>
  20. Дьякова Н. А. Особенности накопления тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье одуванчика лекарственного, собранного в урбо- и агробиоценозах Воронежской области // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021. Т. 24, № 3. С. 49–55. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-03-07>
  21. Дьякова Н. А. Накопление тяжелых металлов и мышьяка листьями крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.) // Ульяновский медико-биологический журнал. 2020. № 2. С. 145–156. <https://doi.org/10.34014/2227-1848-2020-2-145-156>
  22. Дьякова Н. А. Накопление тяжелых металлов и мышьяка листьями подорожника большого // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. 2020. Т. 20, вып. 2. С. 232–239. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2020-20-2-232-239>

## References

1. Egorova I. N., Kolmogorova E. Yu. Assessment of the quality and safety of *Betula pendula* Roth leaves harvested in the conditions of the Kedrovsky coal mine rock dump in Kuzbass. *Modern Problems of Science and Education*, 2015, no. 2, part 1 (in Russian).
2. Egorova I. N., Neverova O. A., Grigor'eva T. I. Assessment of the content of heavy metals in the kidneys of *Pinus sylvestris* L., growing on the rock dump of a coal mine. *Modern Problems of Science and Education*, 2015, no. 6 (in Russian).
3. Egorova I. N., Neverova O. A. Assessment of the content of heavy metals in *Sanguisorba officinalis* L., growing on disturbed coal-mining lands. *Modern Problems of Science and Education*, 2014, no. 6 (in Russian).
4. Arzamastsev A. P., Kovalenko L. I., Rodionova G. M., Chumakova Z. V., Zrelva L. V. *Osnovy ekologii i ohrany prirody* [Fundamentals of Ecology and Nature Conservation]. Moscow, Meditsina Publ., 2008. 416 p. (in Russian).
5. Popov A. I., Egorova I. N. The state of the resource base of wild medicinal plants of the Mariinsky, Tyazhinsky and Chebulinsky districts of the Kemerovo region. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 1992, iss. 3, pp. 71–73 (in Russian).
6. Nechaeva E. G., Belozerceva I. A., Naprasnikova E. V. *Monitoring i prognozirovaniye veshchestvenno-dinamicheskogo sostoyaniya geosistem sibirskikh regionov* [Monitoring and forecasting of real-dynamic state of geosystems of Siberian regions]. Novosibirsk, Nauka. Sib. otd-nie Publ., 2010. 315 p. (in Russian).
7. D'yakova N. A., Samylina I. A., Slivkin A. I., Gaponov S. P., Myndra A. A. Assessment of the content of heavy metals and arsenic in medicinal plant raw materials of the Voronezh Region. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2018, iss. 3, pp. 32–35 (in Russian).
8. D'yakova N. A., Slivkin A. I., Gaponov S. P. Comparison of the peculiarities of the accumulation of the main toxic elements by the flowers of heart-shaped linden and ordinary tansy. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*, 2017, no. 1, pp. 148–154 (in Russian).
9. D'yakova N. A. *Ekologicheskaya otsenka syr'evykh resursov lekarstvennykh rasteniy Voronezhskoi oblasti* [Environmental assessment of raw materials of medicinal plants of the Voronezh region]. Voronezh, Tsifrovaya poligrafiya Publ., 2022. 264 p. (in Russian).
10. *Universal'naya entsiklopediya lekarstvennykh rasteniy*. Sost. Putyrskij I. N., Prohorov V. N. [Putyrskij I. N., Prohorov V. N., comp. Universal Encyclopedia of Medicinal Plants]. Moscow, Mahaon Publ., 2000. 656 p. (in Russian).
11. Kurkin V. A. *Farmakognoziya* [Pharmacognosy]. Samara, SamGMU Publ., 2004. 1180 p. (in Russian).
12. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoi Federatsii* (State Pharmacopoeia of the Russian Federation, ed. XIV, vol. 2). Moscow, FEMB Publ., 2018. 1423 p. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (accessed 20 March 2022) (in Russian).



13. D'yakova N. A. Accumulation of heavy metals by linden flowers of heart-shaped linden growing in agro- and urban eco-systems of the Voronezh region. *Transactions of Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences*, 2020, no. 5, pp. 70–79 (in Russian). <https://doi.org/10.17076/eco1150>
14. D'yakova N. A. Environmental assessment of medicinal plant raw materials of the Voronezh region on the example of ordinary tansy flowers. *Bulletin of Nizhnevartovsk State University. Biological Sciences*, 2020, no. 1, pp. 19–26 (in Russian). <https://doi.org/10.36906/2311-4444/20-1/04>
15. D'yakova N. A., Slivkin A. I., Gaponov S. P. Study of the accumulation of heavy metals and arsenic and assessment of the influence of pollutants on the content of flavonoids in *Polygonum aviculare* (Caryophyllales, Polygonaceae). *Bulletin of Kamchatka State Technical University*, 2019, no. 48, pp. 71–77 (in Russian). <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2020-59-61-72>
16. Dyakova N. A. Accumulation of heavy metals and arsenic with medicinal herbal raw material of common shovel harvested in Voronezh region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 4, pp. 478–487 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-4-478-487>
17. D'yakova N. A. Analysis of the accumulation of heavy metals and arsenic by the grass *Leonurus quinquelobatus* Gilib. *Bulletin of Nizhnevartovsk State University. Biological Sciences*, 2021, no. 2 (54), pp. 48–56 (in Russian). <https://doi.org/10.36906/2311-4444/21-2/06>
18. Dyakova N. A. Accumulation of heavy metals and arsenic by medicinal plant raw material of *Bitter Hollow*. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2020, vol. 20, iss. 4, pp. 445–453 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2020-20-4-445-453>
19. D'yakova N. A. Peculiarities of the accumulation of heavy metals and arsenic in medicinal plant raw materials of yarrow of ordinary, collected in urban and agrobiocenoses of the Voronezh region. *RUDN Journal of Ecology and Life Safety*, 2020, vol. 28, no. 3, pp. 213–224 (in Russian). <https://doi.org/10.22363/2313-2310-2020-28-3-213-224>
20. D'yakova N. A. Peculiarities of accumulation of heavy metals and arsenic in medicinal plant raw materials of medicinal dandelion collected in urbo- and agrobiocenoses of Voronezh region. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*, 2021, vol. 24, no. 3, pp. 49–55 (in Russian). <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-03-07>
21. D'yakova N. A. Accumulation of heavy metals and arsenic by *Urtica dioica* L. *Ulyanovsk Medico-Biological Journal*, 2020, no. 2, pp. 145–156 (in Russian). <https://doi.org/10.34014/2227-1848-2020-2-145-156>
22. Dyakova N. A. Accumulation of heavy metals and arsenic in the leaves of *Plantago major*. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2020, vol. 20, iss. 2, pp. 232–239 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2020-20-2-232-239>

Поступила в редакцию 26.07.22; одобрена после рецензирования 07.11.22; принята к публикации 05.12.22  
 The article was submitted 26.07.22; approved after reviewing 07.11.22; accepted for publication 05.12.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 86–93

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 86–93

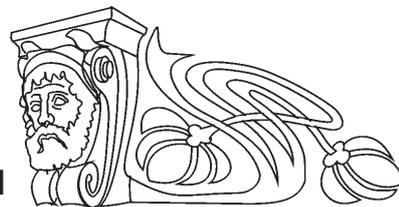
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-86-93>, EDN: GVNYYU

Научная статья

УДК 577.344.3.579.61.666.1.056

## Золотые нанозвезды как фотоагент при антимикробном воздействии инфракрасного (808 нм) лазерного излучения



А. В. Симоненко<sup>1,2</sup>, Г. К. Савельев<sup>1</sup>, Эль-Хих Айя Нидаль<sup>1</sup>, В. А. Ханадеев<sup>2,3</sup>, Е. С. Тучина<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

<sup>3</sup>Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова, Россия, 410012, г. Саратов, Театральная пл., д. 1

Симоненко Андрей Викторович, <sup>1</sup>студент кафедры биохимии и биофизики; <sup>2</sup>инженер лаборатории нанобиотехнологии, [av\\_simonenko@mail.ru](mailto:av_simonenko@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-0730-4843>

Савельев Григорий Константинович, студент кафедры биохимии и биофизики, [gr2001sav@gmail.com](mailto:gr2001sav@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-9752-0541>

Эль-Хих Айя Нидаль, студент кафедры биохимии и биофизики, [ayya0022@gmail.com](mailto:ayya0022@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-1149-3966>

Ханадеев Виталий Андреевич, <sup>2</sup>старший научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии; <sup>3</sup>доцент кафедры микробиологии и биотехнологии, [khanadeev@gmail.com](mailto:khanadeev@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-3404-5402>

Тучина Елена Святославна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики, [kliany@rambler.ru](mailto:kliany@rambler.ru), <https://orcid.org/0000-0003-4498-2846>

**Аннотация.** Синтезированы и охарактеризованы золотые нанозвезды со средним диаметром ядра 122,2 нм и длиной шипов 114,6 нм в концентрации  $5,36 \times 10^{10}$  шт./мл с максимумом поглощения 840 нм. Золотые нанозвезды были покрыты тиолированным полиэтиленгликолем, его количество составило около  $8 \times 10^4$  молекул на 1 частицу и около  $4,4 \times 10^{15}$  молекул/мл в коллоиде. Дзета-потенциал золотых нанозвезд, покрытых PEG-SH, составил  $-2,3$  мВ. Исследовано сочетанное влияние золотых нанозвезд и низкоинтенсивного инфракрасного (808 нм) лазерного излучения на бактерии *Staphylococcus aureus* 209 P и *Escherichia coli* 113-13. Инкубация взвесей микроорганизмов в присутствии наночастиц без доступа света не приводила к существенному сокращению численности бактерий. Облучение в течение 30 мин бактериальных суспензий, содержащих наночастицы, вызывало гибель 39% популяции *S. aureus* и 80% популяции *E. coli*. Повышение температуры контрольных образцов, не содержащих фототермических агентов, в обоих случаях не превышало 1°C на протяжении всего времени эксперимента. Для суспензий бактерий (в равной степени *S. aureus* и *E. coli*), инкубированных с золотыми нанозвездами в процессе облучения, было выявлено повышение температурного показателя, в среднем, на 4°C. Более выраженная антибактериальная активность комбинации золотых нанозвезд и инфракрасного (808 нм) лазерного излучения в отношении *E. coli* может быть объяснена также большей чувствительностью грамотрицательных микроорганизмов к фототермическому воздействию.

**Ключевые слова:** фототермическое воздействие, наночастицы, золотые нанозвезды, ИК НИЛИ, 808 нм, микроорганизмы, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

**Благодарности:** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда, проект № 23-22-00354.

**Для цитирования:** Симоненко А. В., Савельев Г. К., Эль-Хих Айя Нидаль, Ханадеев В. А., Тучина Е. С. Золотые нанозвезды как фотоагент при антимикробном воздействии инфракрасного (808 нм) лазерного излучения // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 86–93. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-86-93>, EDN: GVNYYU

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

### Gold nanostars as a photoagent under the antimicrobial action of infrared (808 nm) laser radiation

A. V. Simonenko<sup>1,2</sup>, G. K. Savelyev<sup>1</sup>, El-Khih Ayya Nidal<sup>1</sup>, V. A. Khanadeev<sup>2,3</sup>, E. S. Tuchina<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup>Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Federal Research Center "Saratov Scientific Center of the Russian Academy of Sciences" (IBPPM RAS), 13 Entuziastov Ave., Saratov 410049, Russia

<sup>3</sup>Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N. I. Vavilov, 1 Teatralnaya Sq., Saratov 410012, Russia



Andrey V. Simonenko, av\_simonenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0730-4843>

Grigoriy K. Savelyev, gr2001sav@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9752-0541>

El-Khih Ayya Nidal, ayya0022@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1149-3966>

Vitaly A. Khanadeev, khanadeev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3404-5402>

Elena S. Tuchina, kliany@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4498-2846>

**Abstract.** Gold nanostars with an average core diameter of 122,2 nm and a spike length of 114,6 nm were synthesized and characterized at a concentration of  $5,36 \times 10^{10}$  pcs/ml with an absorption maximum of 840 nm. Gold nanostars were coated with thiolated polyethylene glycol, its amount was about  $8 \times 10^4$  molecules per 1 particle and about  $4,4 \times 10^{15}$  molecules/ml in the colloid. The zeta potential of gold nanostars coated with PEG-SH was  $-2.3$  mV. The combined effect of gold nanostars and low-intensity infrared (808 nm) laser radiation on the bacteria *Staphylococcus aureus* 209 P and *Escherichia coli* 113-13 has been studied. Incubation of suspensions of microorganisms in the presence of nanoparticles without access to light did not lead to a significant reduction in the number of bacteria. Irradiation for 30 min of bacterial suspensions containing nanoparticles caused the death of 39% of the *S. aureus* population and 80% of the *E. coli* population. During the thermometry of the studied suspensions, it was found that the temperature increase is dose-dependent. The increase in temperature of the control samples that did not contain photothermal agents did not exceed  $1^\circ\text{C}$  in both cases throughout the entire time of the experiment. For suspensions of bacteria (equally *S. aureus* and *E. coli*) incubated with gold nanostars during irradiation, an increase in temperature indicators, on average, by  $4^\circ\text{C}$  was revealed. The more pronounced antibacterial activity of the combination of gold nanostars and infrared (808 nm) laser radiation against *E. coli* can also be explained by the greater sensitivity of gram-negative microorganisms to photothermal exposure.

**Keywords:** photothermal therapy, nanoparticles, gold nanostars, IR LLLR, 808 nm, microorganisms, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

**Acknowledgements:** This research was supported by the Russian Science Foundation (project no. 23-22-00354).

**For citation:** Simonenko A. V., Savelyev G. K., El-Khih Ayya Nidal, Khanadeev V. A., Tuchina E. S. Gold nanostars as a photoagent under the antimicrobial action of infrared (808 nm) laser radiation. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 86–93 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-86-93>, EDN: GVNYYU

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

## Введение

Наночастицы золота (GN) – наноматериал, все шире находящийся применение в медицине и биологии и обладающий уникальными свойствами. Наночастицы характеризуются биосовместимостью, высокой адсорбционной способностью и широкими возможностями модификации их поверхности [1–4]. Оптические и электрохимические свойства GN сильно зависят от их формы и размера [5–7]. При этом наночастицы могут быть функционализированы различными биомолекулами, такими как лекарства, гены, пептиды и другие лиганды-мишени [1–7].

Использование GN, конъюгированных с антибиотиками, обеспечивает выраженную антимикробную активность [5], но при этом не решает проблему мультирезистентности микроорганизмов к антибиотическим препаратам. Достичь угнетения роста патогенных и условно-патогенных микроорганизмов возможно, используя фототермические свойства GN. Золотые нанозвезды обладают широким диапазоном настройки локализованного поверхностного плазмонного резонанса от 650 до 1900 нм, который включает в себя несколько «окон прозрачности» биотканей. Использование длин волн, поглощаемых водой минимально, а проникающих вглубь органов и тканей максимально, важно для биомедицинского применения золотых нанозвезд и позволяет таргетно достичь фототермического эффекта. Кроме того, новые серебряные наночастицы

должны быть менее токсичные за счет отсутствия поверхностно-активных веществ в синтезе.

Цель данного исследования заключалась в оценке чувствительности грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов к комбинированному действию низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения (ИК НИЛИ) с длиной волны 808 нм и золотых нанозвезд (GNS).

## Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали музейные штаммы следующих видов бактерий – *Staphylococcus aureus* 209 P и *Escherichia coli* 113-13 (ГИСК им. Л. А. Тарасевича, г. Москва). Каждый микроорганизм выращивали с учётом оптимальных условий на соответствующих их физиологическим особенностям питательных средах. Посев осуществляли при температуре  $37^\circ\text{C}$  на ГРМ-агаре (Россия, г. Оболенск).

Облучение бактериальных взвесей проводили в иммунологических полистирольных планшетах. В качестве источника излучения использовали лазер с максимумом спектра испускания  $\lambda = 808$  нм и плотностью мощности  $60$  мВт/см<sup>2</sup>. Время облучения варьировали от 5 до 30 мин.

В качестве фотосенсибилизирующего агента использовали золотые нанозвезды. Они были синтезированы зародышевым методом, как описано в [8]. На первом этапе синтезирова-



ли золотые зародыши по методу Френса [9]. В колбе Эрленмейера доводили воду до кипения, добавляли золотохлористоводородную кислоту (ЗХВК) и цитрат натрия. Раствор приобретал винно-красный цвет. На втором этапе получали золотые нанозвезды. При перемешивании добавляли к водному раствору ЗХВК соляную кислоту, золотые зародыши, нитрат серебра и аскорбиновую кислоту и перемешивали в течение 30 с. После синтеза покрывали нанозвезды тиолированным полиэтиленгликолем (PEG-SH) с последующей отмыжкой нанозвезд от продуктов реакции центрифугированием и перерастворением в воде [10].

Изображения просвечивающей электронной микроскопии получены на микроскопе Libra-120 (Carl Zeiss, Германия) в Центре коллективного пользования исследовательского оборудования «Симбиоз» в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии Российской академии наук в Институте биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН, Саратов). Для статистики были измерены параметры более ста частиц. Спектры экстинкции измеряли на спектрофотометрах Specord 250 и Specord S300 (Analytik Jena, Германия). Дзета-потенциал измеряли на анализаторе Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Великобритания).

Для измерения температуры бактериальных суспензий в иммунологических тест-планшетах использовали цифровой мультиметр (MY68, Mastech, China) с погрешностью измерения  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ , путём погружения датчика в суспензию.

В ходе экспериментов источник излучения (выход через волоконный световод) располагали над тест-планшетами. При постановке опытов использовали бактериальную культуру, предварительно выращенную в течение 24 ч при температуре  $37^\circ\text{C}$  на плотной питательной среде. Бактериальную взвесь готовили в стерильном физиологическом растворе методом последовательных десятикратных разведений; конечная концентрация составляла  $10^3$  микробных клеток (м.к.) в 1 мл. Контрольные (необлученные) и подвергнутые воздействию ИК НИЛИ бактериальные суспензии в объеме 20 мкл помещали в лунки плоскодонного полистирольного планшета, содержащие 100 мкл 0,5% пептона для дальнейшей инкубации.

Рабочая концентрация наночастиц GNS –  $5,36 \times 10^9$  шт./мл, PEG-SH –  $4,4 \times 10^{14}$  молекул/мл.

В работе использовали следующие варианты бактериальных суспензий: 808 нм – бактериальные клетки в физиологическом растворе, облученные ИК НИЛИ; 808 нм + PEG-SH – бактериальные клетки в растворе полиэтиленгликоля, облученные ИК НИЛИ; 808 нм + GNS – бактериальные клетки в суспензии покрытых PEG-SH наночастиц, облученные ИК НИЛИ.

Учёт результатов осуществляли путем измерения оптической плотности бактериальных суспензий на планшетном фотометре iMark (Bio Rad, США) через 24–48 ч после инкубации при  $37^\circ\text{C}$ .

В качестве контроля принимали оптическую плотность суспензии, не подвергавшейся облучению и не обработанной нанозвездами.

Изменение численности бактерий вычисляли как отношение оптической плотности бактериальной суспензии после обработки к оптической плотности контрольных образцов по следующей формуле:

$$\text{Численность} = \text{OD}(\text{опыт}) / \text{OD}(\text{контроль}) \times 100\%.$$

Эксперименты проводились в пятикратной повторности, данные обрабатывали с помощью пакета программ Statistica base (StatSoft, США).

### Результаты и их обсуждение

Золотые нанозвезды были получены зародышевым методом в два этапа. Такой метод синтеза позволяет получать частицы с узким распределением по размерам без поверхностно-активных веществ. К тому же данный метод позволяет получать нанозвезды с ПР в рамках ближней ИК области.

Для реализации цели был получен коллоид золотых нанозвезд со средним диаметром ядра 122,2 нм и длиной шипов 114,6 нм в концентрации  $5,36 \times 10^{10}$  шт./мл с максимумом поглощения 840 нм. Нанозвёды были покрыты PEG-SH. Добавляли избыток PEG-SH, который полностью покрывал и стабилизировал поверхности нанозвезд для сохранения их оптических свойств и коллоидной стабильности. В конечном итоге его количество составило около  $8 \times 10^4$  молекул на 1 частицу и около  $4,4 \times 10^{15}$  молекул/мл в коллоиде. Оценка количества молекул PEG-SH при адсорбции на поверхность золотых наночастиц приведена на основе данных работы [11].

Дзета-потенциал золотых нанозвезд, покрытых PEG-SH, составил  $-2,3$  мВ. На рис. 1 представлен спектр экстинкции (а) золотых нанозвезд. В спектре наблюдается выраженный ПР на 840 нм, который имеет хорошее соотношение



максимума к минимуму и соответствует длине лазера 808 нм, который используется для облучения. На рис. 1 представлено также изображение (б) синтезированных нанозвезд, полученное с помощью просвечивающего электронного

микроскопа. Обнаружено, что средний диаметр ядра составляет 122,2 нм, длина шипов в среднем 114,6 нм. На рисунке диаметр ядра кажется больше за счет наличия неровностей и небольших выступов на поверхности.

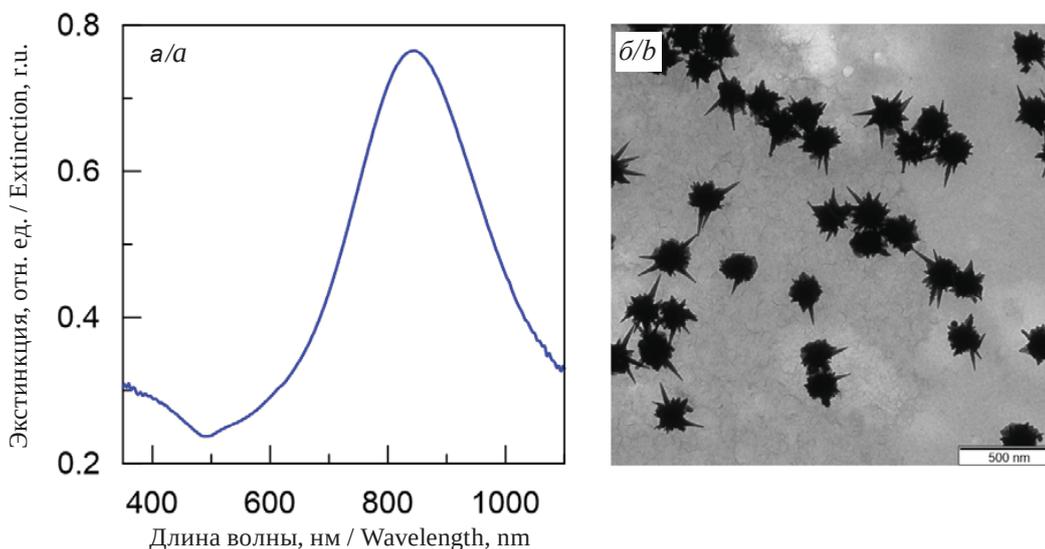


Рис. 1. Спектр экстинкции (а) и изображение просвечивающего электронного микроскопа (б) синтезированных золотых нанозвезд

Fig. 1. Extinction spectrum (a) and transmission electron microscopy image (b) of synthesized gold nanostars

С использованием полученных наночастиц изучено влияние наночастиц в сочетании с ИК НИЛИ (808 нм) на выживаемость грамположительных бактерий *S. aureus* 209 P. Установлено, что данный штамм золотистого стафилококка достаточно устойчив к действию лазерно-

го излучения с выбранными параметрами (рис. 2). Сокращение численности отмечено лишь на 31% относительно контроля после 30 мин облучения, что полностью согласуется с данными, полученными в предыдущих исследованиях [12].

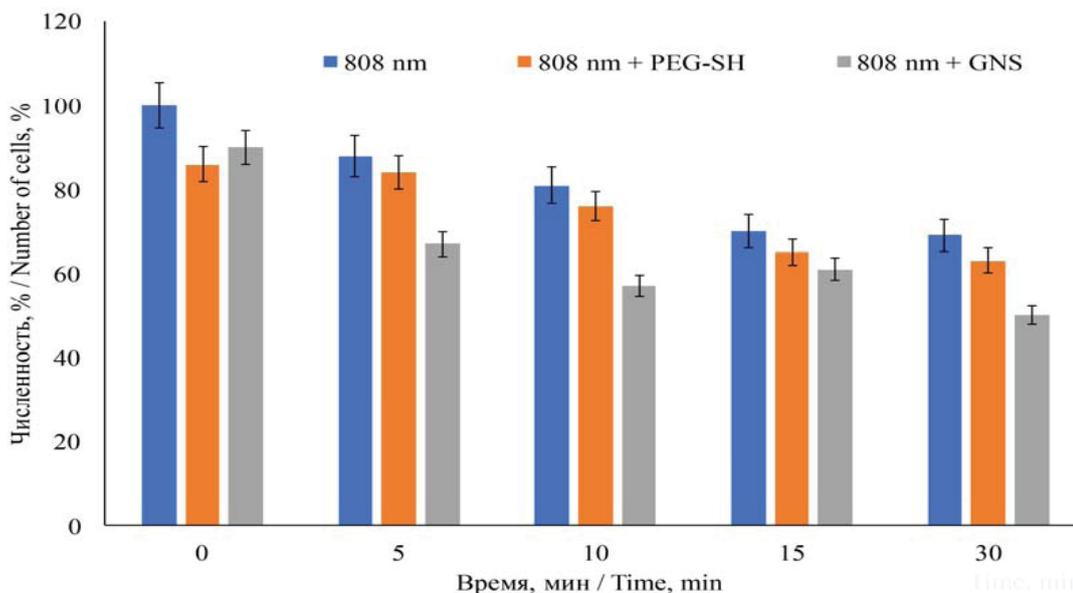


Рис. 2. Влияние ИК НИЛИ (808 нм, 60 мВт/см<sup>2</sup>) и наночастиц на выживаемость *S. aureus* 209 P (цвет онлайн)

Fig. 2. Effect of IR LLLR (808 nm, 60 mW/cm<sup>2</sup>) and nanoparticles on *S. aureus* 209 P (color online)



Использование PEG-SH в качестве стабилизирующего агента является распространенной практикой в нанотехнологии для покрытия золотых наночастиц благодаря формированию устойчивой связи между золотом с серой [10, 13]. Важно было оценить, усиливает ли PEG-SH в рабочей концентрации эффективность фототермического воздействия.

Изменение численности *S. aureus* 209 P в суспензиях, содержащих PEG-SH, под действием ИК НИЛИ (808 нм) незначительно (на 3–5%) отличалось от результатов действия ИК НИЛИ (808 нм) на бактерии в физиологическом растворе.

Использование комбинированного фототермического воздействия ИК НИЛИ (808 нм) с применением GNS выявило более выраженный угнетающий эффект бактерии *S. aureus* 209 P. Временной

интервал воздействия от 5 до 15 мин приводил к снижению численности на 33–43%, увеличение времени воздействия до 30 мин обуславливало сокращение относительного числа бактерий до 50% (см. рис. 2).

Как правило, чувствительность представителей видов грамположительных и грамотрицательных бактерий к фотодинамическому/фототермическому воздействию качественно отличается [2, 4].

Показано, что клетки *E. coli* 113-13 более восприимчивы к действию ИК НИЛИ, снижение численности отмечено на 25% после 5 мин облучения и на 50% после 30 мин. После 10 мин воздействия введение PEG-SH усиливает подавляющий эффект излучения в среднем на 10% (рис. 3).

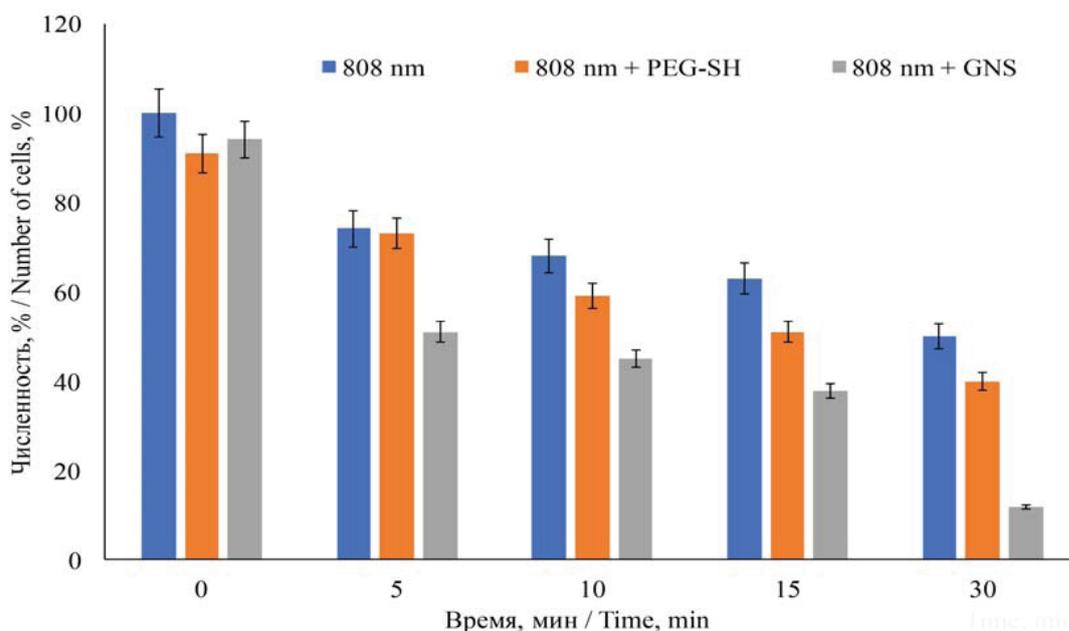


Рис. 3. Влияние ИК НИЛИ (808 нм, 60 мВт/см<sup>2</sup>) и наночастиц на выживаемость *E. coli* 113-13 (цвет онлайн)

Fig. 3. Effect of IR LLLR (808 nm, 60 mW/cm<sup>2</sup>) and nanoparticles on *E. coli* 113-13 (color online)

Использование наночастиц обеспечивало выраженное подавление численности *E. coli* 113-13. После 5 мин комбинированного действия излучения и нанозвезд численность бактерий не превышала 49% от исходного количества, после 30 мин снижалась до 12% (см. рис. 3).

Повышение температуры контрольных образцов, не содержащих фототермических агентов, в течение эксперимента (с 5 до 30 мин воздействия) происходило на 18 °С. Для суспензий бактерий (в равной степени *S. aureus* и *E. coli*), инкубированных с GNS в процессе облучения,

было выявлено повышение температурных показателей, в среднем, на 2–4 °С по сравнению с контролем (таблица).

Модификация поверхности гидрофильными полимерами широко используется в ряде биомедицинских приложений для контроля взаимодействия с белками, клетками и бактериями. Однако архитектура полимерных слоев играет важную роль в способности либо полностью предотвращать неспецифические взаимодействия, либо взаимодействовать с белками для усиления реакции клеток на биоматериалы. Известно,



**Изменение средней температуры бактериальных взвесей при воздействии ИК НИЛИ (808 нм, 60 мВт/см<sup>2</sup>)**

*Table. Change in the average temperature of bacterial suspensions under the influence of IR LILR (808 nm, 60 mW/cm<sup>2</sup>)*

Время, мин / Time, min	T °C		
	Control	PEG-SH	GNS
0	25,00 ± 1,25	25,00 ± 1,25	25,00 ± 1,25
5	31,00 ± 1,24	31,00 ± 1,65	33,00 ± 1,5
10	33,00 ± 1,65	33,00 ± 1,32	36,00 ± 1,8
15	36,00 ± 1,44	37,00 ± 1,85	39,00 ± 1,5
30	43,00 ± 2,15	44,00 ± 1,98	47,00 ± 2,3
ΔT °C	18	19	22
ΔT <sub>р-ра</sub> – ΔT <sub>к</sub> , °C	–	1	4

Примечание. Control – бактериальные суспензии, не содержавшие наночастиц, PEG-SH – бактериальные суспензии, содержавшие ПЭГ-тиол, GNS – бактериальные суспензии, содержавшие золотые нанозвезды.

Note. Control – bacterial suspensions without nanoparticles, PEG-SG – bacterial suspensions containing PEG-thiol, GNS – bacterial suspensions containing gold nanostars.

что многослойные конструкции из PEG-SH снижают адгезивные свойства бактерий [13, 14], и данный материал широко используется при синтезе GN. В нашем исследовании показано, что PEG-SH не обладал токсическим эффектом в отношении микроорганизмов без доступа света. Присутствие его оказывает незначительное влияние (+1 °C) на общий нагрев суспензий в ходе эксперимента. При этом имеются выраженные различия в чувствительности грамположительных и грамотрицательных бактерий на действие ИК НИЛИ в присутствии PEG-SH – сокращение численности *E. coli* 113-13 после 15 мин облучения было на 20% сильнее, чем для *S. aureus* 209 P.

Основой повреждающего эффекта фототермического действия ИК НИЛИ в присутствии GN является локальный нагрев среды вблизи клеточной оболочки бактерий. Фототермическое преобразование с участием плазмонного резонанса использует разницу в скоростях термической релаксации между липидами и окружающими молекулами воды, что приводит к мгновенному «кипению» липидных компонентов и разрушению мембран. Данные об общем нагреве суспензий в ходе эксперимента позволяют оценить локальный нагрев в области контакта GNS с бактериальной клеточной стенкой [15]. Этот механизм, вероятно, лежит в основе повреждений, возникающих в клетке.

Снижение численности микроорганизмов в суспензиях происходит при незначительных изменениях температуры (на 1–5 °C). Локальная температура наночастиц, прикреплённых к бактериальной клеточной стенке, существенно выше средней температуры суспензий, поскольку порог, разрушающий биологический материал при непрерывном облучении, составляет 50–60 °C.

Основываясь на полученных данных, можно утверждать, что золотые нанозвезды являются перспективным материалом для фототермического антимикробного воздействия, в первую очередь, в отношении грамотрицательных микроорганизмов. Такое воздействие может найти применение, например, при лечении гнойных поражений кожных покровов и слизистых оболочек человека и животных.

### Список литературы

1. Feng Y., Liu L., Zhang J., Aslan H., Dong M. Photoactive antimicrobial nanomaterials // *J. Mater. Chem. B*. 2017. Vol. 5. P. 8631–8652. <https://doi.org/10.1039/C7TB01860F>
2. Tao C. Antimicrobial activity and toxicity of gold nanoparticles: Research progress, challenges and prospects // *Letters in Applied Microbiology*. 2018. Vol. 67. P. 537–543. <https://doi.org/10.1111/lam.13082>
3. Penders J., Stolzoff M., Hickey D. J., Andersson M., Webster T. J. Shape-dependent antibacterial effects of non-



- cytotoxic gold nanoparticles // *International Journal of Nanomedicine*. 2017. Vol. 12. P. 2457–246. <https://doi.org/10.2147/IJN.S124442>
4. Ray P., Lodha T., Biswas A., Sau T. K., Ramana V. Particle specific physical and chemical effects on antibacterial activities: A comparative study involving gold nanostars, nanorods and nanospheres // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2022. Vol. 634. Article 127915. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127915>.
  5. Bagga P., Hussain Siddiqui H., Akhtar J., Mahmood T., Zahera M., Khan M. S. Gold nanoparticles conjugated levofloxacin: For improved antibacterial activity over levofloxacin alone // *Current Drug Deliv*. 2017. Vol. 14. P. 114–119. <https://doi.org/10.2174/1567201814666170316113432>.
  6. Hu W. C., Younis M. R., Zhou Y., Wang C., Xia X. H. *In situ* fabrication of ultrasmall gold nanoparticles/2D MOFs hybrid as nanozyme for antibacterial therapy // *Small*. 2020. Vol. 16. Article e2000553. <https://doi.org/10.1002/sml.202000553>.
  7. Franco D., Calabrese G., Guglielmino S. P. P., Conoci S. Metal-Based Nanoparticles: Antibacterial Mechanisms and Biomedical Application // *Microorganisms*. 2022. Vol. 10. P. 1778–1800. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091778>
  8. Khlebtsov B. N., Panfilova E. V., Khanadeev V. A., Khlebtsov N. G. Improved size-tunable synthesis and SERS properties of Au nanostars // *J. Nanopart. Res*. 2014. Vol. 16. P. 2623. <https://doi.org/10.1007/s11051-014-2623-8>
  9. Frens G. Controlled nucleation for regulation of particle size in monodisperse gold suspensions // *Nat. Phys. Sci*. 1973. Vol. 241. P. 20–22. <https://doi.org/10.1038/physci241020a0>
  10. Gao J., Huang X., Liu H., Zan F., Ren J. Colloidal stability of gold nanoparticles modified with thiol compounds: Bioconjugation and application in cancer cell imaging // *Langmuir*. 2012. Vol. 28. P. 4464–4471. <https://doi.org/10.1021/la401956c>
  11. Rahme K., Chen L., Hobbs R. G., Morris M. A., O'Driscolle C., Holmes J. D. PEGylated gold nanoparticles: polymer quantification as a function of PEG lengths and nanoparticle dimensions // *RSC Adv*. 2013. Vol. 3. P. 6085–6094. <https://doi.org/10.1039/c3ra22739a>
  12. Khlebtsov B., Tuchina E., Tuchin V., Khlebtsov N. Multi-functional Au nanoclusters for targeted bioimaging and enhanced photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus* // *RSC Advances*. 2015. Vol. 5. P. 61639–61649. <https://doi.org/10.1039/c5ra11713e>
  13. Ryan S. M., Mantovani G., Wang X., Haddleton D. M., Brayden D. J. Advances in PEGylation of important biotech molecules: Delivery aspects // *Expert Opin. Drug Deliv*. 2008. Vol. 5. P. 371–383. <https://doi.org/10.1517/17425247.5.4.371>
  14. Al-Ani A., Boden A., Al Kobaisi M., Pingle H., Wang P.-Y., Kingshott P. The influence of PEG-thiol derivatives on controlling cellular and bacterial interactions with gold surfaces // *Applied Surface Science*. 2018. Vol. 462. P. 980–990. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.08.136>
  15. Zarkov S. V., Avetisyan Yu. A., Akchurin G. G., Akchurin G. G. jr., Bibikova O. A., Tuchin V. V., Yakunin A. N. Numerical modeling of plasmonic properties of gold nanostars to prove the threshold nature of their modification under laser pulse // *Optical Engineering*. 2020. Vol. 59. P. 061628–34. <https://doi.org/10.1117/1.oe.59.6.061628>
- ## References
1. Feng Y., Liu L., Zhang J., Aslan H., Dong M. Photoactive antimicrobial nanomaterials. *J. Mater. Chem. B*, 2017, vol. 5, pp. 8631–8652. <https://doi.org/10.1039/C7TB01860F>
  2. Tao C. Antimicrobial activity and toxicity of gold nanoparticles: Research progress, challenges and prospects. *Letters in Applied Microbiology*, 2018, vol. 67, pp. 537–543. <https://doi.org/10.1111/lam.13082>
  3. Penders J., Stolzoff M., Hickey D. J., Andersson M., Webster T. J. Shape-dependent antibacterial effects of non-cytotoxic gold nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, vol. 12, pp. 2457–246. <https://doi.org/10.2147/IJN.S124442>
  4. Ray P., Lodha T., Biswas A., Sau T. K., Ramana V. Particle specific physical and chemical effects on antibacterial activities: A comparative study involving gold nanostars, nanorods and nanospheres. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2022, vol. 634, article 127915. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127915>
  5. Bagga P., Hussain Siddiqui H., Akhtar J., Mahmood T., Zahera M., Khan M. S. Gold nanoparticles conjugated levofloxacin: For improved antibacterial activity over levofloxacin alone. *Current Drug Deliv*, 2017, vol. 14, pp. 114–119. <https://doi.org/10.2174/1567201814666170316113432>.
  6. Hu W. C., Younis M. R., Zhou Y., Wang C., Xia X. H. *In situ* fabrication of ultrasmall gold nanoparticles/2D MOFs hybrid as nanozyme for antibacterial therapy. *Small*, 2020, vol. 16, article e2000553. <https://doi.org/10.1002/sml.202000553>
  7. Franco D., Calabrese G., Guglielmino S. P. P., Conoci S. Metal-based nanoparticles: Antibacterial mechanisms and biomedical application. *Microorganisms*, 2022, vol. 10, pp. 1778–1800. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091778>
  8. Khlebtsov B. N., Panfilova E. V., Khanadeev V. A., Khlebtsov N. G. Improved size-tunable synthesis and SERS properties of Au nanostars. *J. Nanopart. Res.*, 2014, vol. 16, pp. 2623. <https://doi.org/10.1007/s11051-014-2623-8>
  9. Frens G. Controlled nucleation for regulation of particle size in monodisperse gold suspensions. *Nat. Phys. Sci.*, 1973, vol. 241, pp. 20–22. <https://doi.org/10.1038/physci241020a0>



10. Gao J., Huang X., Liu H., Zan F., Ren J. Colloidal stability of gold nanoparticles modified with thiol compounds: Bioconjugation and application in cancer cell imaging. *Langmuir*, 2012, vol. 28, pp. 4464–4471. <https://doi.org/10.1021/la401956c>
11. Rahme K., Chen L., Hobbs R. G., Morris M. A., O'Driscolle C., Holmes J. D. PEGylated gold nanoparticles: polymer quantification as a function of PEG lengths and nanoparticle dimensions. *RSC Advances*, 2013, vol. 3, pp. 6085–6094. <https://doi.org/10.1039/c3ra22739a>
12. Khlebtsov B., Tuchina E., Tuchin V., Khlebtsov N. Multifunctional Au nanoclusters for targeted bioimaging and enhanced photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus*. *RSC Advances*, 2015, vol. 5, pp. 61639–61649. <https://doi.org/10.1039/c5ra11713e>
13. Ryan S. M., Mantovani G., Wang X., Haddleton D. M., Brayden D. J. Advances in PEGylation of important biotech molecules: Delivery aspects. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2008, vol. 5, pp. 371–383. <https://doi.org/10.1517/17425247.5.4.371>
14. Al-Ani A., Boden A., Al Kobaisi M., Pingle H., Wang P.-Y., Kingshott P. The influence of PEG-thiol derivatives on controlling cellular and bacterial interactions with gold surfaces. *Applied Surface Science*, 2018, vol. 462, pp. 980–990. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.08.136>
15. Zarkov S. V., Avetisyan Yu. A., Akchurin G. G., Akchurin G. G. jn., Bibikova O. A., Tuchin V. V., Yakunin A. N. Numerical modeling of plasmonic properties of gold nanostars to prove the threshold nature of their modification under laser pulse. *Optical Engineering*, 2020, vol. 59, pp. 061628–34. <https://doi.org/10.1117/1.oe.59.6.061628>

Поступила в редакцию 03.11.22; одобрена после рецензирования 23.11.22; принята к публикации 07.12.22  
The article was submitted 03.11.22; approved after reviewing 23.11.22; accepted for publication 07.12.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 94–103

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 94–103

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-94-103>, EDN: FSIHWE

Научная статья

УДК 612.42[577.725]

## Молекулярные механизмы звукового открытия гематоэнцефалического барьера у грызунов



Е. И. Саранцева ✉, Т. Д. Искра, О. В. Семячкина-Глушковская

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Саранцева Елена Ивановна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных, [sophora68@mail.ru](mailto:sophora68@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3507-7708>

Искра Татьяна Дмитриевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных, [tata-isk@yandex.ru](mailto:tata-isk@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-1895-8159>

Семячкина-Глушковская Оксана Валерьевна, доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой физиологии человека и животных, [glushkovskaya@mail.ru](mailto:glushkovskaya@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6753-7513>

**Аннотация.** В экспериментах на 35 здоровых мышах-самцах линии C57BL/6 весом  $25 \pm 3$  г было показано, что громкие звук/музыка в течение 2 ч вызывают временное повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера у грызунов. Для исследования изменений проницаемости гематоэнцефалического барьера были исследованы молекулярные механизмы, ответственные за его открытие с помощью лазерной спекл-контрастной визуализации регионального мозгового кровотока (rCBF), иммуногистохимического анализа и биохимического анализа адреналина в плазме крови. При звукозависимом повышении проницаемости гематоэнцефалического барьера наблюдалось снижение интенсивности сигнала со стороны CLND-5, Oсс, JAM и повышение сигнала от ZO-1. Однако уже через 4 ч наблюдалось восстановление интенсивности сигнала от изучаемых белков, что может быть связано с их интернализацией. Результаты исследования о музыкально-звуковом открытии гематоэнцефалического барьера в интактном мозге требуют пересмотра традиционных знаний о барьерных функциях мозга и открывают новые возможности неинвазивных стратегий доставки лекарственных средств. Это может дать некоторое представление об этиологии расстройств головного мозга, которые возникают в результате непреднамеренного или преднамеренного воздействия очень громких звуков, например, боевых действий или рок-концертов.

**Ключевые слова:** гематоэнцефалический барьер, белки плотных контактов, лазерная спекл-контрастная визуализация, региональный мозговой кровоток, иммуногистохимический анализ

**Для цитирования:** Саранцева Е. И., Искра Т. Д., Семячкина-Глушковская О. В. Молекулярные механизмы звукового открытия гематоэнцефалического барьера у грызунов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 94–103. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-94-103>, EDN: FSIHWE

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

### Molecular mechanisms of the opening of the blood-brain barrier in rodents by means of sound

E. I. Sarantseva ✉, T. D. Iskra, O. V. Semyachkina-Glushkovskaya

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Elena I. Sarantseva, [sophora68@mail.ru](mailto:sophora68@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3507-7708>

Tatyana D. Iskra, [tata-isk@yandex.ru](mailto:tata-isk@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-1895-8159>

Oksana V. Semyachkina-Glushkovskaya, [glushkovskaya@mail.ru](mailto:glushkovskaya@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6753-7513>

**Abstract.** In this study, in experiments on 35 healthy male mice of the C57BL/6 line weighing  $25 \pm 3$  g, it was shown that loud sound/music for 2 hours causes a temporary increase in the permeability of the blood-brain barrier (BBB) in rodents. To investigate changes in the permeability of the blood-brain barrier, the molecular mechanisms responsible for its discovery were investigated using laser speckle-contrast imaging of regional cerebral blood flow (rCBF), immunohistochemical analysis and biochemical analysis of adrenaline in blood plasma. With a sound-dependent increase in the permeability of the blood-brain barrier, there was a decrease in signal intensity from CLND-5, Oсс, JAM and an increase in the signal from ZO-1. However, after 4 hours, the signal intensity from the studied proteins was restored, which may be due to their internalization. The results of the study of the effects of music and sound on of BBB in the intact brain require a revision of



traditional knowledge about the barrier functions of the brain and open up new opportunities for non-invasive drug delivery strategies. They also may offer some insight into the etiology of brain disorders that follow inadvertent or deliberate exposure to very loud sounds, i.e. battle or rock concerts.

**Keywords:** blood-brain barrier, tight junction (TJ) assembly, laser speckle-contrast imaging regional Cerebral Blood Flow (rCBF), immunohistochemical analysis

**For citation:** Sarantseva E. I., Iskra T. D., Semyachkina-Glushkovskaya O. V. Molecular mechanisms of the opening of the blood-brain barrier in rodents by means of sound. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 94–103 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-94-103>, EDN: FSIHWE

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

## Введение

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) является серьезным препятствием для проникновения многих лекарственных средств в мозг. Поэтому неврологические расстройства, вызывающие инвалидность у миллиарда человек во всем мире, трудно поддаются лечению. Адресная доставка терапевтических средств к очагам заболевания была и остается одной из самых больших задач в медицине, поскольку она определяет эффективность применения многих лекарственных препаратов [1].

Гематоэнцефалический барьер является специфическим структурным образованием, необходимым для нормального функционирования мозга. Он препятствует поступлению макро- и микромолекул из крови в мозг для поддержания его гомеостаза. За счет физиологических и физико-химических механизмов структуры гематоэнцефалического барьера функционируют как единое целое и регулируют потоки веществ между кровью и тканями мозга [2]. Эта особенность позволяет пересмотреть уже известные пути доставки некоторых лекарственных препаратов в мозг, а также открывает большие возможности для новых стратегий, которые могут применяться в повседневной клинической практике для лечения болезней центральной нервной системы.

Не так давно было предложено более 70 различных методов обхода ГЭБ, включая интраназальную доставку лекарств [3], фотодинамические эффекты [4] или прямую внутричерепную инфузию [5]. Однако эти методы имеют ограничения для клинического применения из-за отсутствия специфичности, инвазивности или недостаточной концентрации препарата в ткани головного мозга. В настоящее время у людей изучены только два подхода к открытию ГЭБ. Первый из них – внутриартериальная инфузия маннита для химиотерапии, сопровождающаяся вскрытием ГЭБ у пациентов с первичной лимфомой ЦНС [6]. Второй – открытие гематоэн-

цефалического барьера у пациентов с болезнью Альцгеймера с помощью МР-направленного сфокусированного ультразвука [7]. Однако эти методы являются инвазивными и могут быть выполнены только высокопрофессиональными врачами со специальными препаратами в немногих неврологических центрах. Именно поэтому целью настоящих исследований стала разработка неинвазивных и легко выполняемых подходов для безопасной доставки лекарств в мозг в повседневной клинической практике, что по-прежнему является очень важным мероприятием для инновационных методов терапии заболеваний головного мозга. Молекулярные механизмы, лежащие в основе проницаемости гематоэнцефалического барьера, позволяют восстанавливать защитную функцию мозга после звукового воздействия. Особое внимание в данном случае привлекает громкая музыка и звук как естественный физический фактор, влияющий на проницаемость гематоэнцефалического барьера у мышей.

## Материалы и методы

**Объекты исследования.** Исследования были выполнены на 35 мышах-самцах линии C57BL/6 весом  $25 \pm 3$  г. Эксперименты проводились в пяти группах мышей: I – без музыки, контрольная группа; II – сразу после воздействия музыкой; III, IV, V – экспериментальные группы, включающие мышей через 1, 4 и 24 ч после воздействия музыки соответственно.  $N = 7$  в каждой группе. Для наркотизации мышей использовали 2% изофлуран при 1л/мин  $N_2O/O_2 - 70:30$ .

Все процедуры проводились в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных». Период адаптации животных к условиям содержания составлял не менее 7 дней. Протокол экспериментов одобрен Комитетом по уходу и использованию лабораторных животных в Саратовском государственном университете (протокол № 13 от 07.02.2017 г.).



Музыкальная композиция Scorpions “Still loving you” использовалась для демонстрации эффекта громкой музыки (рис. 1).

Частотный диапазон музыки был рассчитан с использованием бесплатного программного

обеспечения для обработки звука (Audacity®).

Для получения громкого звука (70–90–100 дБ, 370 Гц) использовался звуковой динамик (7А, 12 В, ПАО «Авто ВАЗ», Тольятти, Россия) (рис. 2).

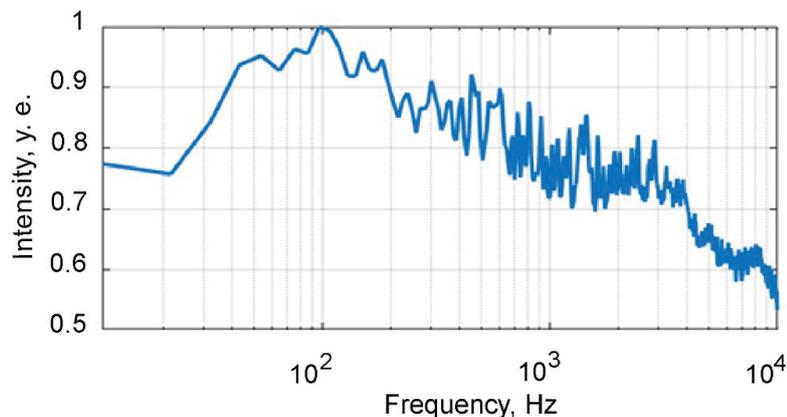


Рис. 1. Частотный диапазон музыки (Scorpions, Still Loving You), частоты в диапазоне 100–10 000 Гц и максимальная интенсивность около 100 дБ  
Fig. 1. Frequency range of music (Scorpions, Still Loving You) frequencies in the range of 100–10 000 Hz and a maximum intensity of about 100 dB

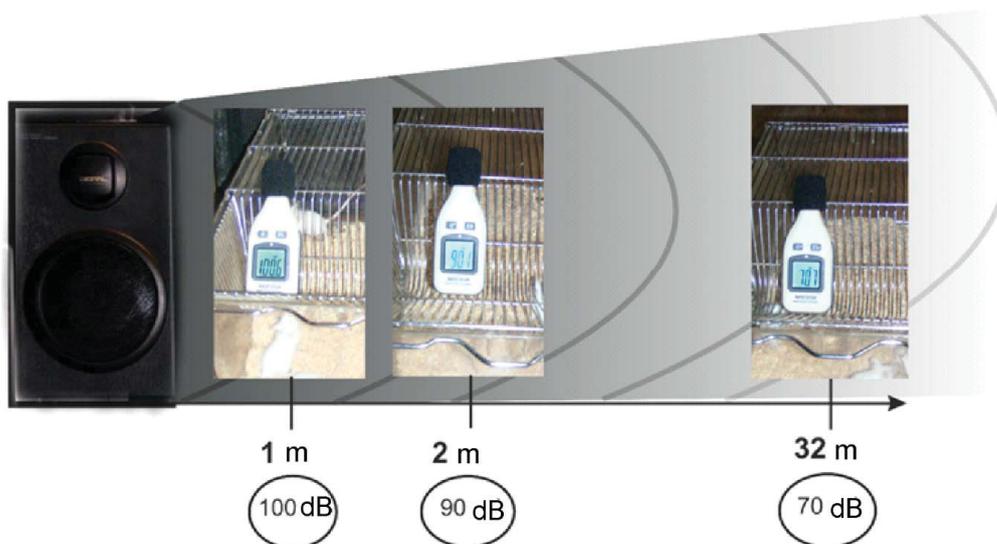


Рис. 2. Демонстрация эксперимента на мышах с применением громкого звука или музыки для открытия ГЭБ. Клетки размещали на заранее рассчитанных расстояниях от источника звука (100 дБ = 1 м, 90 дБ = 4 м и 70 дБ = 32 м)

Fig. 2. Demonstration of an experiment on mice using loud sound or music to open the BBB. The animal cages were placed at pre-calculated distances from the sound source (100 dB = 1 m, 90 dB = 4 m and 70 dB = 32 m)

Повторяющаяся экспозиция музыки/звука выполнялась с использованием последовательности: 60 с – звук включен, затем 60 с – звук выключен в течение 2 ч. Уровень звука измеряли непосредственно в клетке с животными с помощью шумомера (Мегеон 92130, Россия).

За три дня до экспериментов в бедренную вену был имплантирован полиэтиленовый катетер для внутривенного введения красителя *Evan Blue* бодрствующим мышам. Имплантация катетера проводилась под наркозом. До или через 1 ч/4 ч/24 ч после музыкальных/звуко-



вых вмешательств вводили краситель *Evans Blue*, который циркулировал в крови в течение 30 мин в соответствии с рекомендуемым протоколом [8]. По истечении времени циркуляции красителя мышей декапитировали, их мозг и кровь быстро собирали и помещали на лед (во время сбора крови антикоагуляция не использовалась). Перед удалением мозг был перфузирован физиологическим раствором, чтобы вымыть остатки красителя в сосудах головного мозга.

Флуоресцентный микроскоп использовался для визуализации экстравазации *Evans Blue* из сосудов головного мозга в его ткани через оптически очищенное окно черепа [9].

**Лазерная спекл-контрастная визуализация регионального мозгового кровотока (rCBF).** Изготовленная на заказ система лазерной спекл-контрастной визуализации использовалась для мониторинга rCBF до и через 1 ч / 4 ч после звукового воздействия у 7 мышей под ингаляционной анестезией (2% изофлурана, 70% N<sub>2</sub>O и 30% O<sub>2</sub>) через оптически очищенное окно черепа (диаметр: 5 мм) с использованием метода оптического очищения FDISCO, подробно описанного у Q. Yisong с соавторами 2019 [9]. Голова мыши была выбрита, по средней линии был сделан разрез. Затем скальп удаляли и поверхность черепа высушивали чистым сжатым воздухом. С помощью просветлителей изготавливали оптическое окно.

Свет от одномодового He-Ne лазера (Thorlabs, HNL210L, 632,8 нм, 21 мВт) был направлен в оптическое окно с одномодовой поляризацией (Thorlabs, P3-630PM-FC-1). Угол падения луча был установлен приблизительно на 45°. Полученный колеблющийся узор спеклов был проанализирован с помощью объектива Computar M1614-MP2 с одним удлинительным кольцом для увеличения, близкого к единице. F-stop для объектива был установлен на f/6, чтобы получить отношение спекла к пикселю около 15. Дополнительно использовалась металлооксидно-полупроводниковая (КМОП) камера Basler acA2500-14 gm с площадью пикселя 2,2 × 2,2 мкм<sup>2</sup>. Частота кадров записанной последовательности составляла 40 кадров в секунду. Пространственный контраст спеклов был рассчитан с использованием отношения между стандартным отклонением и средним значением флуктуаций интенсивности в пределах скользящих окон размером 5 × 5 пикселей. Пятьдесят последовательных кадров спекл-контраста

были усреднены, чтобы улучшить соотношение сигнал/шум. Алгоритм автоматической сегментации использовался для вычисления среднего значения CBF на макро- (в сагиттальном синусе) и микроуровнях [10].

**Иммуногистохимический анализ.** Мышей в контрольной группе (до звука,  $n = 7$ ) и в экспериментальных группах через 1–4–24 ч после воздействия звука ( $n = 7$  в каждой группе) подвергали эвтаназии с помощью внутрибрюшинной инъекции смертельной дозы кетамина и ксилазина и внутрисердечной перфузии 0,1 М PBS в течение 5 мин. После чего мозг извлекали и фиксировали в 4% забуференном параформальдегиде в течение одного дня и в 20% сахарозе в течение еще одного дня.

Экспрессию антигенов на свободно плавающих срезах оценивали с использованием стандартного метода одновременного комбинированного окрашивания (протокол Abcam). Срезы мозга (50 мкм) фиксировали в 150 мкл 10% BSA/0,2% Triton X-100/PBS в течение 2 ч, затем инкубировали в течение ночи при 4°C и 2 ч при комнатной температуре с мышинным Rb-антителом к бета-2-адренорецепторам (1:500; Abcam, ab182136, Кембридж, США); Rb-антителом мышинового бета-аррестина 1 (1:500; Abcam, ab32099, Кембридж, США); CLND-5 (1:500; Santa Cruz Biotechnology, sc-28670, Санта-Крус, США); ZO-1 (1:500; Биотехнология Санта-Крус, sc-8147, Санта-Крус, США); Occ (1:500; Abcam, ab58803, Кембридж, США); JAM (1:500, Abcam, ab1316, Кембридж, США). После нескольких промывок в PBS предметные стекла инкубировали в течение 3 ч при комнатной температуре с флуоресцентно мечеными вторичными антителами на 1% BSA/0,2% Triton X-100/PBS (1:500; Goat A/Rb, Alexa 555- Abcam, Великобритания, ab150078). Конфокальную микроскопию коры головного мозга мышей проводили с использованием полностью автоматизированного конфокального лазерного сканирующего микроскопа Olympus FV10i-W (Olympus, Япония). ImageJ использовался для обработки и анализа данных изображений. Площади экспрессии антигенов были рассчитаны с помощью плагина «Анализировать частицы» на вкладке «Анализ», который вычисляет общую площадь антиген-экспрессирующих элементов ткани – показатель «Общая площадь». Во всех случаях были проанализированы 10 областей.



**Биохимические анализы адреналина в плазме крови.** Уровень адреналина в плазме (нг/мл) определяли с помощью наборов ELISA (Abnova, Тайвань) в нормальном состоянии (до звука), во время звукового стресса (в последнюю минуту (120 мин) звукового стресса) и в пост-стрессовый период (1 ч и 4 ч после звукового воздействия) у мышей ( $n = 7$  в каждой группе). Пластины считывали при 450 нм с помощью устройства для считывания пластин ELx 800 (BioTek Instruments Inc.). Пределы обнаружения составляли 0,3 нг/мл (с коэффициентами вариации внутри и между анализами 11,2–16,3% и 8,7–12,6% соответственно).

**Методика открытия гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).** Для изучения звукового воздействия на ГЭБ была выбрана максимальная сила звука 100 дБ. С целью сравнения использовали звук 90 дБ, т.е. на порог ниже. Интенсивность звука 70 дБ была выбрана как минимальная точка.

На рис. 3 представлена схема проведения тестов по анализу звуко-зависимого открытия ГЭБ с применением в качестве маркера альбуминового комплекса *Evans Blue* (EBAC) проницаемости эндотелия церебральных сосудов с указанием времени их введения и забора мозга в опытах *ex vivo* и *in vivo*.

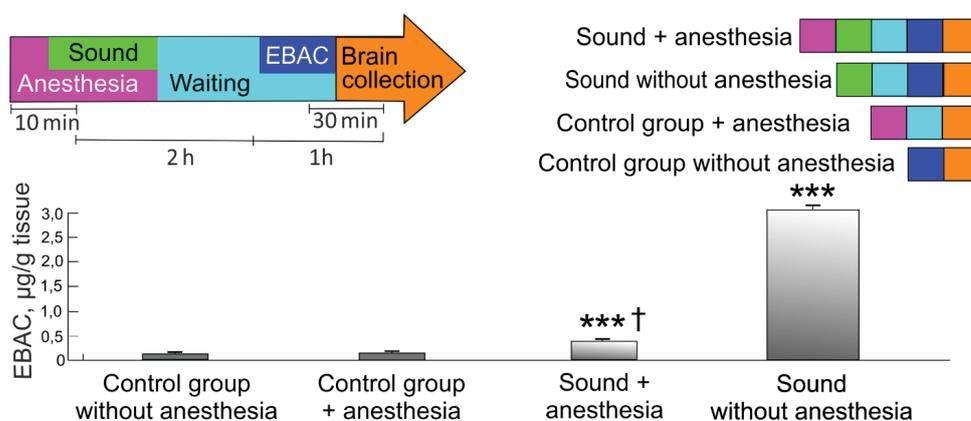


Рис. 3. Схема тестирования звукозависимого открытия ГЭБ с применением EBAC в опытах *ex vivo* (цвет онлайн)

Fig. 3. Testing scheme of sound-dependent BBB opening using EBAC in *ex vivo* experiments (color online)

Время воздействия звука во всех сериях экспериментов составляло 2 ч, но с периодичностью прослушивания звука 60 с и 60 с – пауза. Такой подход обусловлен тем, что в соответствии с рекомендациями для звука силой 90 дБ максимально возможное время непрерывного прослушивания составляет 2 ч, для 100 дБ – всего 15 мин. Однако в предварительных исследованиях с применением спектрофлуориметрического анализа экстравазации EBAC из церебральных сосудов в ткани мозга не показано повышения проницаемости ГЭБ при 15 мин и даже при 1-часовом воздействии звука 100 дБ. Чтобы адаптировать безопасное воздействие звука на мышей с применением разной его силы, был выбран алгоритм прерывного прослушивания звука на протяжении 2 ч. Уровень звука измеряли непосредственно в клетке животных с помощью измерителя уровня звука (Мегеон 92130, Россия).

**Статистическая обработка экспериментальных данных.** Пространственный спекл-контраст был рассчитан с использованием отношения стандартного отклонения к среднему значению флуктуаций интенсивности в скользящих окнах  $5 \times 5$  пикселей. Пятьдесят последовательных спекл-контрастных кадров были усреднены, чтобы улучшить отношение сигнал/шум. Автоматический алгоритм сегментации, описанный в работе [11], использовался для расчета среднего значения мозгового кровотока на макро- (в сагитальной синусе) и микроуровнях.

Результаты представлены как среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка среднего (SEM). Отличия от исходного уровня в той же группе были оценены с помощью теста Вилкоксона. Межгрупповые различия оценивались с использованием критерия Манна – Уитни и ANOVA-2 (последующий анализ с ранго-



вым тестом Дункана). Уровни значимости были установлены на  $p < 0,05-0,001$  для всех анализов.

### Результаты и их обсуждение

Влияние громкого звука на мышей является стрессорным фактором. Было установлено, что сразу после звукового воздействия (через 2 ч воздействия звука) уровень адреналина в

плазме был в 7 раз выше по сравнению с нормальным состоянием ( $23,1 \pm 2,7$  нг/мл против  $3,3 \pm 0,9$  нг/мл,  $p < 0,001$ ) (рис. 4). Однако через 1 ч после звукового воздействия уровень адреналина существенно снижался до  $8,7 \pm 2,7$  нг/мл ( $p < 0,001$ ), что, тем не менее, было выше базальных значений. Через 4 ч в момент восстановления барьерной функции мозга уровень гормона был в пределах нормы.

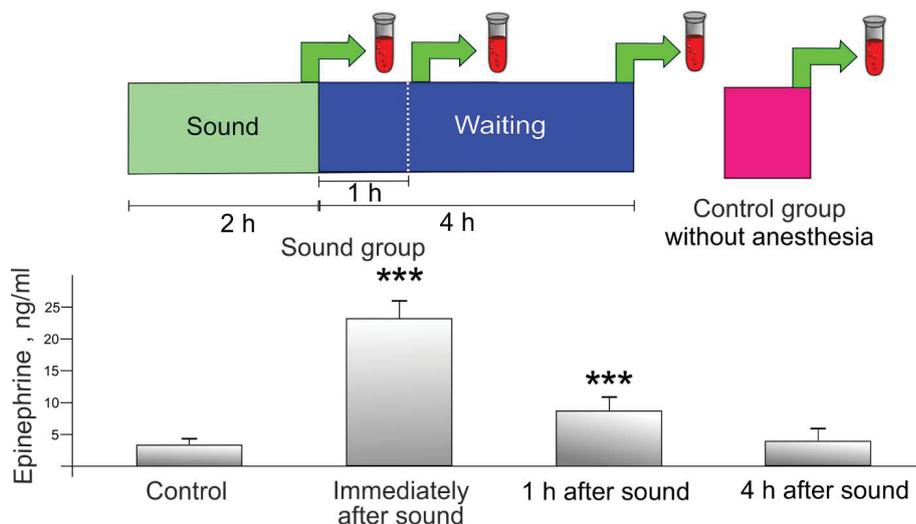


Рис. 4. Уровень адреналина в крови до и после звукового воздействия на ГЭБ у мышей: \*\*\* –  $p < 0,05$  относительно контроля; † –  $p < 0,05$  между экспериментальными группами, ( $n = 7$ ) для каждой группы (цвет онлайн)

Fig. 4. The level of adrenaline in the blood before and after sound exposure on BBB in mice: \*\*\* –  $p < 0,05$  relative to control; † –  $p < 0,05$  between experimental groups, ( $n = 7$ ) for each group (color online)

Было изучено состояние проницаемости ГЭБ к ЕВАС в условиях острого (иммобилизация в течение 2 ч) стресса. Результаты выявили, что острый стресс не приводит к изменению проницаемости ГЭБ сразу по окончании стресса и через 1, 4 и 24 ч после его отмены по сравнению с контрольной группой ( $0,15 \pm 0,01$  мкг/г,  $0,12 \pm 0,08$  мкг/г,  $0,11 \pm 0,02$  мкг/г, ( $0,15 \pm 0,05$  мкг/г и  $0,11 \pm 0,07$  мкг/г соответственно,  $n = 7$  в каждой группе).

Таким образом, результаты исследований позволяют заключить, что острый стресс не вызывает повышения проницаемости ГЭБ к высокомолекулярным соединениям и молекулярные механизмы целостности ГЭБ не нарушаются, что было также показано в исследованиях на людях [11].

Сразу после звукового воздействия и через 1 ч после снятия звукового стресса мы наблюдали повышенный уровень адреналина и rCBF по сравнению с нормальным состоянием. Различные

стрессовые события, по-видимому, имеют общий адренергический механизм повышения rCBF и энергетического обмена [12]. Адренергический механизм вызванных стрессом изменений СВФ включает стимуляцию бета-2-адренергических рецепторов (B2-ADR) либо адреналином, секретруемым мозговым веществом надпочечников, либо, возможно, эндогенным норадреналином головного мозга [13]. Бета-аррестин-1 (ARRB1) является мембранным кофактором активации B2-ADR, играющим важную роль в сосудистых реакциях на стресс, а также важным адапторным белком, регулирующим проницаемость эндотелия и сборку плотных соединений [14, 15]. Принимая во внимание эти факты, на следующем этапе изучали влияние звука (100 дБ, 370 Гц, продолжительность 2 ч: 60 с – звук; 60 с – пауза) на комплекс белков плотных контактов (TJs), таких как клаудин-5 (CLDN-5), окклюдин (Occl), молекула адгезии (JAM) и зонула один (ZO-1) в тканях мозга (рис. 5).

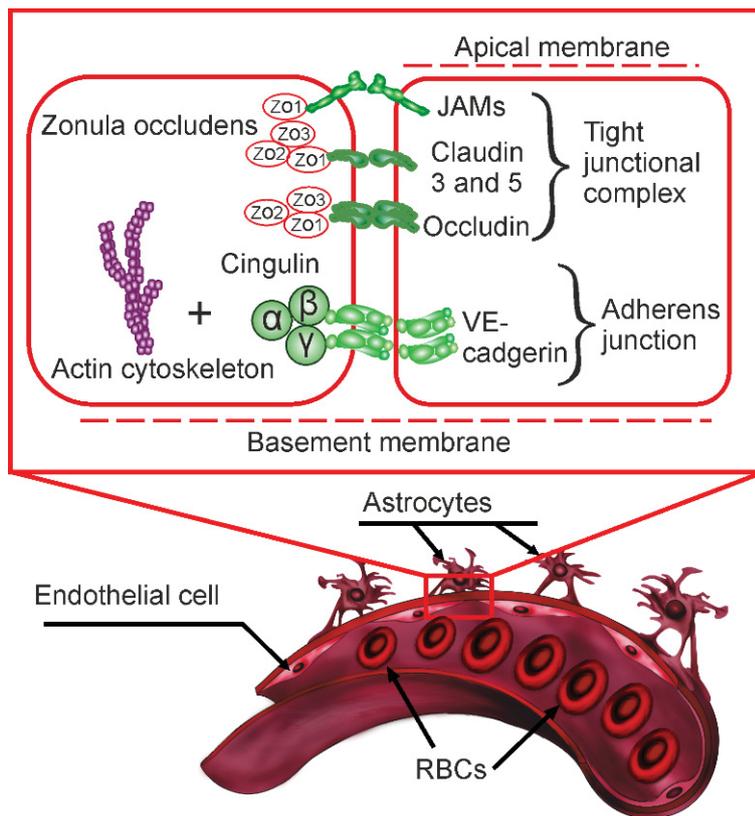


Рис. 5. Схема молекулярной структуры гематоэнцефалического барьера  
Fig. 5. Diagram of the molecular structure of the blood-brain barrier

Данные на рис. 6 показывают, что сразу и через 1 ч после звукового воздействия, в момент открытия ГЭБ, наблюдалось снижение интенсивности сигнала от CLDN-5, Осс и JAM, а также

его увеличение со стороны ZO-1, сопровождаемое повышением уровня адреналина и rCBF по сравнению с нормальным состоянием, что свидетельствует о дезорганизации сборки TJ.

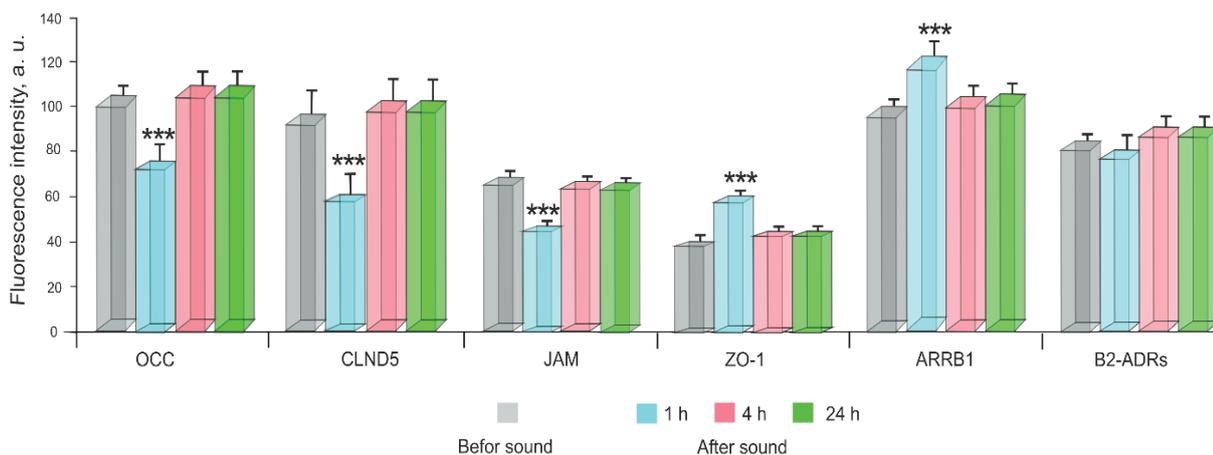


Рис. 6. Экспрессия молекулярных факторов регуляции проницаемости эндотелия в контрольной группе (до воздействия звука) и через 1–4–24 ч после звукового воздействия ( $n = 7$  для каждой группы): \*\*\* –  $p < 0,001$  по сравнению с контрольной группой (до воздействия звука) (цвет online)

Fig. 6. The expression of molecular factors of regulation of endothelial permeability in the control group (before sound exposure) and 1–4–24 hrs after sound impact ( $n = 7$  for each group): \*\*\* –  $p < 0,001$  vs. the control group (before sound) (color online)



Эти изменения были связаны со значительным повышением экспрессии ARRB1, вероятно, как компенсаторный механизм, который был показан в ситуациях с открытием ГЭБ после инсульта [16] и разрушением эндотелиального барьера тромбином [17]. Также можно предположить, что ARRB1 «останавливает» экспрессию CLND-5, Осс, JAM, стимулируя его интернализацию. Потеря поверхности белков TJ в пространстве между эндотелиальными клетками может быть одним из механизмов, лежащих в основе индуцированного звуком открытия ГЭБ.

Через 4 и 24 ч после действия звука интенсивность сигнала от изучаемых белков не отличалась от нормы до воздействия звука, что свидетельствует о быстром восстановлении комплекса

TJs. Экспрессия B2-ADR не изменилась во всех тестируемых группах, что позволяет предположить, что внешняя B2-ADR-адренергическая сигнальная система остается нормальной во время индуцированного звуком открытия ГЭБ.

Таким образом, открытие ГЭБ, индуцированное звуковым воздействием, сопровождается дезорганизацией TJ белков в пораженных эндотелиальных клетках головного мозга, что, однако, быстро восстанавливается.

Следующая серия опытов показала изменения церебрального кровотока до и после воздействия звуком (100 дБ, 370 Гц, продолжительность 2 ч: 60 с – звук; 60 с – пауза) с применением лазерной спекл-визуализации. Результаты исследований представлены на рис. 7.

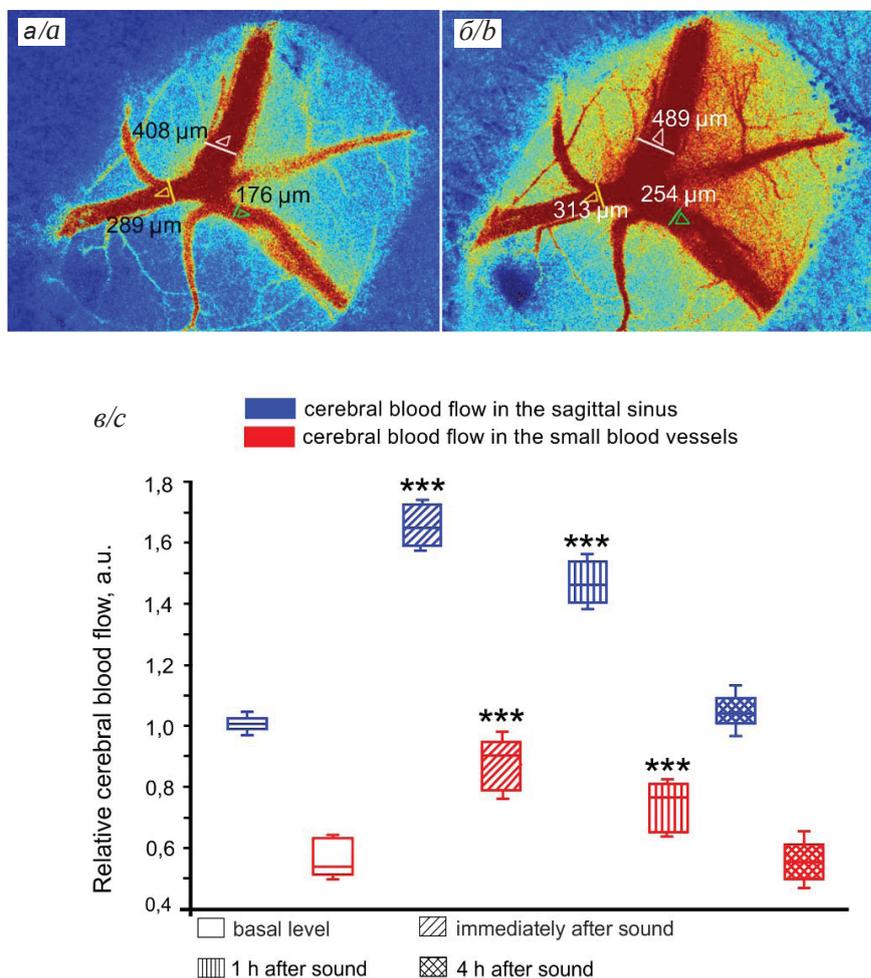


Рис. 7. Лазерная спекл-визуализация мозгового кровотока у мышей под воздействием музыки на венозном и микроциркуляторном уровнях: \*\*\* –  $p < 0,001$  по сравнению с исходным уровнем мозгового кровотока (перед воздействием музыки), ( $n = 7$ ) для каждой группы (цвет онлайн)

Fig. 7. Laser speckle imaging of cerebral blood flow in mice under the influence of music at the venous and microcirculatory levels: \*\*\* –  $p < 0,001$  compared to the baseline level of cerebral blood flow (before exposure to music), ( $n = 7$ ) for each group (color online)



Сразу после звуковых эффектов и через 1 ч воздействия музыкой церебральный кровоток был высоким, как на уровне венозного, так и микроциркуляторного уровня ( $1,69 \pm 0,04$  усл.ед. против  $1,03 \pm 0,06$  усл. ед.,  $p < 0,001$  для сагиттального синуса и  $0,91 \pm 0,07$  усл. ед. против  $0,52 \pm 0,01$  усл. ед.,  $p < 0,001$ ).

Через 1 ч после отмены стресса в момент, когда ГЭБ открывался, отмечалась тенденция к снижению кровотока мозга, который, однако, оставался высоким по сравнению с нормой ( $1,69 \pm 0,03$  усл. ед. против  $1,03 \pm 0,06$  усл. ед.,  $p < 0,001$  для сагиттального синуса и  $0,80 \pm 0,02$  усл. ед. против  $0,52 \pm 0,01$  усл. ед.,  $p < 0,001$ ) для микрососудов.

Через 4 ч после отмены стресса в момент нормализации ГЭБ отмечалось восстановление кровотока мозга ( $1,08 \pm 0,07$  усл. ед. против  $1,03 \pm 0,06$  усл. ед.,  $p < 0,01$  для сагиттального синуса и  $0,56 \pm 0,09$  усл. ед. против  $0,52 \pm 0,01$  усл. ед.,  $p < 0,001$ ) для микрососудов.

### Заключение

Звукозависимое повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера является обратимым и безопасным, что проявляется в быстром восстановлении барьерной функции мозга (через 4 ч после звукового воздействия) с сохранением нормальной функции гематоэнцефалического барьера на следующие сутки. Острый стресс не влияет на повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера. При звукозависимом повышении проницаемости гематоэнцефалического барьера наблюдалось снижение интенсивности сигнала со стороны CLND-5, Осс, JAM и повышение сигнала от ZO-1. Однако уже через 4 ч наблюдалось восстановление интенсивности сигнала от изучаемых белков, что может быть связано с их интернализацией.

В момент открытия гематоэнцефалического барьера отмечается повышение кровотока мозга на микро- и макроуровнях, что сопровождается дилатацией сагиттального синуса.

Таким образом, звук оказывает существенное влияние на тонус церебральных сосудов, производя релаксирующие эффекты, что сопровождается обратимой дезорганизацией комплекса белков плотных контактов. Это также может дать некоторое представление об этиологии расстройств головного мозга, которые возникают в результате непреднамеренного или преднамеренного воздействия очень громких звуков, например, боевых действий или рок-концертов.

### Список литературы

1. Ronaldson P., Davis T. Regulation of blood-brain barrier integrity by microglia in health and disease: A therapeutic opportunity // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2020. Vol. 40. P. 10–12. <https://doi.org/10.1177/0271678X20951995>
2. Banks W. From blood-brain barrier to blood-brain interface: New opportunities for CNS drug delivery // *Nature.* 2016. Vol. 15. P. 46–74. <https://doi.org/10.1038/nrd.2015.21>
3. Wu S., Li K., Yan Y., Gran B., Han Y., Zhou F., Guan Y., Rostami A., Zhang G. Intranasal Delivery of Neural Stem Cells: A CNS-specific, Non-invasive Cell-based Therapy for Experimental Autoimmune Encephalomyelitis // *J. Clin. Cell. Immunol.* 2013. Vol. 4, iss. 3. PMID:24244890. <https://doi.org/10.4172/2155-9899.1000142>
4. Semyachkina-Glushkovskaya O., Kurths J., Borisova E., Sokolovsky S., Mantareva N., Angelov I., Shirokov A., Navolokin N., Shushunova N., Khorovodov A., Ulanova M., Sagatova M., Ahranovich I., Sindeeva O., Gekalyuk A., Bordova A., Rafailov E. Photodynamic opening of blood-brain barrier // *BOE.* 2017. № 8 (11). P. 5040–5048. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.005040>
5. Gill S., Patel N., Hotton G., O'Sullivan K., McCarter R., Bunnage M., Brooks D., Svendsen C., Heywood P. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease // *Nat. Med.* 2003. Vol. 9. P. 589–595. <https://doi.org/10.1038/nm850>
6. Kiviniemi V., Korhonen V., Kortelainen J., Rytty S., Keinänen T., Tuovinen T., Isokangas M., Sonkajarvi E., Siniluoto T., Nikkinen J., Alahuhta S., Tervonen O., Turpeenniemi-Hujanen T., Myllylä T., Kuittinen O., Voipio J. Real-time monitoring of human blood-brain barrier disruption // *PLoS One.* 2017. Vol. 12, iss. 3. P. 1–16. <https://doi.org/10.1731>
7. Lipsman N., Meng Y., Bethune A., Huang Y., Lam B., Masellis M., Herrmann N., Heyn C., Aubert I., Boutet A., Smith G. S., Hynynen K., Black S. E. Blood-brain barrier opening in Alzheimer's disease using MR-guided focused ultrasound // *Nat. Commun.* 2018. Vol. 9. P. 2336. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04529-6>
8. Wang H. L., Lai T. W. Optimization of Evans blue quantitation in limited rat tissue samples // *Sci. Rep.* 2014. Vol. 4. P. 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep06588>
9. Yisong Q., Tingting Yu., Jianyi X., Peng W., Yilin M., Jingtang Z., Yusha L., Gong H., Luo Q., Zhu D. FDISCO: Advanced solvent-based clearing method for imaging whole organs // *Sci. Adv.* 2019. Vol. 5. P. eaau8355. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aau8355>
10. Abdurashitov A., Lychagov V., Sindeeva O., Semyachkina-Glushkovskaya O., Tushin V. Histogram analysis of laser speckle contrast image for cerebral blood flow monitoring // *Front. Optoelectron.* 2015. Vol. 8, iss. 2. P. 187–194. <https://doi.org/10.1007/s12200-015-0493-z>
11. Roszkowski M., Bohacek J. Stress does not increase blood-brain barrier permeability in mice // *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism.* 2016. Vol. 36, № 7. P. 43–46. <https://doi.org/10.1177/0271678X16647739>



12. Bryan R. M. Cerebral blood flow and energy metabolism during stress // *Am. J. Physiol.* 1990. Vol. 259. P. 269–280. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1990.259.2.H269>
13. Matter K., Balda M. S. Signalling to and from tight junctions // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2003. Vol. 4, № 3. P. 225–236. <https://doi.org/10.1038/nrm1055>
14. Ghosh C., Gonzalez-Martinez J., Hossain M., Cucullo L., Fazio V., Damir Janigro D., Marchi N. Pattern of P450 expression at the human blood–brain barrier: Roles of epileptic condition and laminar flow // *Epilepsia*. 2010. Vol. 51. P. 1–3. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02428.x>
15. Hara M. R., Kovacs J. J., Whalen E. J. A stress response pathway regulates DNA damage through  $\beta$ 2-adrenoreceptors and  $\beta$ -arrestin-1 // *Nature*. 2011. Vol. 477, № 7364. P. 349–353. <https://doi.org/10.1038/nature10368>
16. Kanki H., Sasaki T., Matsumura S., Satoru Yokawa S., Yukami T., Munehisa Shimamura M., Manabu Sakaguchi M., Furuno T., Suzuki T., Mochizuki H.  $\beta$ -arrestin-2 in PAR-1-biased signaling has a crucial role in endothelial function via PDGF- $\beta$  in stroke // *Cell Death and Disease*. 2019. Vol. 10, № 2. P. 456–459. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1375-x>
17. Soh U. J. K., Trejo J. A. Activated protein C promotes protease-activated receptor-1 cytoprotective signaling through  $\beta$ -arrestin and dishevelled-2 scaffolds // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011. Vol. 108, № 50. P. 1372–1380. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112482108>
7. Lipsman N., Meng Y., Bethune A., Huang Y., Lam B., Masellis M., Herrmann N., Heyn C., Aubert I., Boutet A., Smith G. S., Hynynen K., Black S. E. Blood–brain barrier opening in Alzheimer’s disease using MR-guided focused ultrasound. *Nat. Commun.*, 2018, vol. 9, pp. 2336. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04529-6>
8. Wang H. L., Lai T. W. Optimization of Evans blue quantitation in limited rat tissue samples. *Sci. Rep.*, 2014, vol. 4, pp. 1–7 <https://doi.org/10.1038/srep06588>
9. Yisong Q., Tingting Yu., Jianyi X., Peng W., Yilin M., Jingtang Z., Yusha L., Gong H., Luo Q., Zhu D. FDISCO: Advanced solvent-based clearing method for imaging whole organs. *Sci. Adv.*, 2019, vol. 5, pp. eaau8355. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aau8355>
10. Abdurashitov A., Lychagov V., Sindeeva O., Semyachkina-Glushkovskaya O., Tuchin V. Histogram analysis of laser speckle contrast image for cerebral blood flow monitoring. *Front. Optoelectron*, 2015, vol. 8, iss. 2, pp. 187–194. <https://doi.org/10.1007/s12200-015-0493-z>
11. Roszkowski M., Bohacek J. Stress does not increase blood-brain barrier permeability in mice. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2016, vol. 36, no. 7, pp. 43–46. <https://doi.org/10.1177/0271678X16647739>
12. Bryan R. M. Cerebral blood flow and energy metabolism during stress. *Am. J. Physiol.*, 1990, vol. 259, pp. 269–280. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1990.259.2.H269>
13. Matter K., Balda M. S. Signalling to and from tight junctions. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2003, vol. 4, no. 3, pp. 225–236. <https://doi.org/10.1038/nrm1055>
14. Ghosh C., Gonzalez-Martinez J., Hossain M., Cucullo L., Fazio V., Damir Janigro D., Marchi N. Pattern of P450 expression at the human blood–brain barrier: Roles of epileptic condition and laminar flow. *Epilepsia*, 2010, vol. 51, pp. 1–3. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02428.x>
15. Hara M. R., Kovacs J. J., Whalen E. J. A stress response pathway regulates DNA damage through  $\beta$ 2-adrenoreceptors and  $\beta$ -arrestin-1. *Nature*, 2011, vol. 477, no. 7364, pp. 349–353. <https://doi.org/10.1038/nature10368>
16. Kanki H., Sasaki T., Matsumura S., Satoru Yokawa S., Yukami T., Munehisa Shimamura M., Manabu Sakaguchi M., Furuno T., Suzuki T., Mochizuki H.  $\beta$ -arrestin-2 in PAR-1-biased signaling has a crucial role in endothelial function via PDGF- $\beta$  in stroke. *Cell Death and Disease*, 2019, vol. 10, no. 2, pp. 456–459. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1375-x>
17. Soh U. J. K., Trejo J. A. Activated protein C promotes protease-activated receptor-1 cytoprotective signaling through  $\beta$ -arrestin and dishevelled-2 scaffolds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, vol. 108, no. 50, pp. 1372–1380. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112482108>

## References

1. Ronaldson P., Davis T. Regulation of blood–brain barrier integrity by microglia in health and disease: A therapeutic opportunity. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2020, vol. 40, pp. 10–12. <https://doi.org/10.1177/0271678X20951995>
2. Banks W. From blood-brain barrier to blood-brain interface: New opportunities for CNS drug delivery. *Nature*, 2016, vol. 15, pp. 46–74. <https://doi.org/10.1038/nrd.2015.21>
3. Wu S., Li K., Yan Y., Gran B., Han Y., Zhou F., Guan Y., Rostami A., Zhang G. Intranasal Delivery of Neural Stem Cells: A CNS-specific, Non-invasive Cell-based Therapy for Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J. Clin. Cell. Immunol.*, 2013, vol. 4, iss. 3, PMID: 24244890, <https://doi.org/10.4172/2155-9899.1000142>
4. Semyachkina-Glushkovskaya O., Kurths J., Borisova E., Sokolovsky S., Mantareva N., Angelov I., Shirokov A., Navolokin N., Shushunova N., Khorovodov A., Ulanova M., Sagatova M., Ahranovich I., Sindeeva O., Gekalyuk A., Bordova A., Rafailov E. Photodynamic opening of blood-brain barrier. *BOE*, 2017, no. 8 (11), pp. 5040–5048. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.005040>
5. Gill S., Patel N., Hotton G., O’Sullivan K., McCarter R., Bunnage M., Brooks D., Svendsen C., Heywood P. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat. Med.*, 2003, vol. 9, pp. 589–595. <https://doi.org/10.1038/nm850>
6. Kiviniemi V., Korhonen V., Kortelainen J., Rytky S.,

Поступила в редакцию 14.11.22; одобрена после рецензирования 06.12.22; принята к публикации 07.12.22  
The article was submitted 14.11.22; approved after reviewing 06.12.22; accepted for publication 07.12.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 104–109

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 104–109

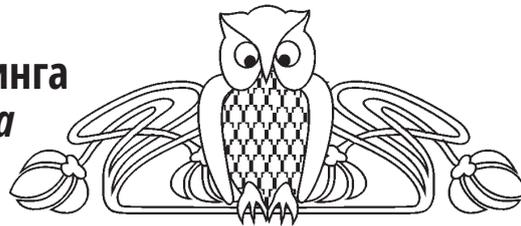
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-104-109>, EDN: DYIHLL

Научная статья

УДК 57.084.01

## Цветометрическая система мониторинга роста микроводоросли *Dunaliella salina* в лабораторных условиях



А. А. Галицкая<sup>1,2</sup>✉, А. А. Акопян<sup>1</sup>, Л. А. Дыкман<sup>2</sup>, В. А. Богатырев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» Российской академии наук (ИБФРМ РАН), Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

Галицкая Анна Алексеевна, кандидат биологических наук, <sup>1</sup>доцент кафедры биохимии и биофизики, <sup>2</sup>научный сотрудник лаборатории иммунохимии, [ann.gal@mail.ru](mailto:ann.gal@mail.ru), <http://orcid.org/0000-0002-7364-4726>

Акопян Арам Ашотович, студент кафедры биохимии и биофизики, [aram99298@gmail.com](mailto:aram99298@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-1510-6628>

Дыкман Лев Абрамович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии, [dykman\\_l@ibppm.ru](mailto:dykman_l@ibppm.ru), <https://orcid.org/0000-0001-7252-8312>

Богатырев Владимир Александрович, доктор биологических наук, <sup>1</sup>профессор кафедры физиологии человека и животных, <sup>2</sup>ведущий научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии, [bogatyrev\\_v@ibppm.ru](mailto:bogatyrev_v@ibppm.ru), <https://orcid.org/0000-0001-5602-3365>

**Аннотация.** Солоноводная микроводоросль *Dunaliella salina*, являясь экстремофильным галофитом, представляет собой перспективный объект для биотехнологических производств. Целью данной работы является разработка методологии неdestructивного контроля развития культуры микроводоросли в условиях сбалансированного роста в процессе периодического культивирования в планшетах. Перед началом эксперимента культуру микроводоросли синхронизировали. Количественное содержание хлорофиллов *a* и *b*, а также каротиноидов определяли спектрофотометрически в спиртовых экстрактах. В процессе культивирования осуществляли запись изображений цейтраферной съемкой на камеру смартфона. Основу цветиметрической оценки составляет анализ временной серии изображений в цветовой модели RGB. Показано, что соотношение цветов с высокой степенью коррелирует с содержанием определяемых основных растительных пигментов – хлорофиллов и каротиноидов, и с данными спектрофотометрических измерений живых суспензий. Наиболее ярко проявляются изменения синего канала, менее всего – зеленого. Логарифм интенсивности цвета линейно зависит от степени разведения культуры. Разработанный метод оперативного слежения за динамикой развития культуры микроводоросли *D. salina* позволяет строить кривые роста и решать многопараметрические задачи по оптимизации культивирования микроводорослей, в том числе при работе с большими массивами образцов.

**Ключевые слова:** микроводоросли, *Dunaliella salina*, неинвазивный мониторинг, цветиметрия, спектрофотометрия

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке РФ (проект № 19-14-00077-П).

**Для цитирования:** Галицкая А. А., Акопян А. А., Дыкман Л. А., Богатырев В. А. Цветиметрическая система мониторинга роста микроводоросли *Dunaliella salina* в лабораторных условиях // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 104–109. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-104-109>, EDN: DYIHLL

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

### Colormetric system for monitoring the growth of microalgae *Dunaliella salina* under laboratory conditions

A. A. Galitskaya<sup>1,2</sup>✉, A. A. Akopian<sup>1</sup>, L. A. Dykman<sup>2</sup>, V. A. Bogatyrev<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms Federal Research Center "Saratov Scientific Center of the Russian Academy of Sciences" (IBPPM RAS), 13 Entuziastov Ave., Saratov 410049, Russia

Anna A. Galitskaya, [ann.gal@mail.ru](mailto:ann.gal@mail.ru), <http://orcid.org/0000-0002-7364-4726>

Aram A. Akopian, [aram99298@gmail.com](mailto:aram99298@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-1510-6628>

Lev A. Dykman, [dykman\\_l@ibppm.ru](mailto:dykman_l@ibppm.ru), <https://orcid.org/0000-0001-7252-8312>

Vladimir A. Bogatyrev, [bogatyrev\\_v@ibppm.ru](mailto:bogatyrev_v@ibppm.ru), <https://orcid.org/0000-0001-5602-3365>



**Abstract.** The brackish microalgae *Dunaliella salina*, being an extremophilic halophyte, is a promising object for biotechnological production. The aim of this work is to develop a methodology for non-destructive control of the development of a microalgae culture under conditions of balanced growth during periodic cultivation on plates. Before the start of the experiment, the microalgae culture was synchronized. The quantitative content of chlorophylls a and b, as well as carotenoids, was determined spectrophotometrically in alcohol extracts. During cultivation, time-lapse images were recorded on a smartphone camera. The basis of the colorimetric evaluation is the analysis of the time series of images in the RGB color model. It is shown that the ratio of colors correlates to a high degree with the content of the determined main plant pigments – chlorophylls and carotenoids, and with the data of spectrophotometric measurements of live suspensions. The changes in the blue channel are the most pronounced, the least being in the green channel. The logarithm of color intensity is linearly dependent on the degree of dilution of the culture. The developed method for real-time monitoring of the development dynamics of the *D. salina* microalgae culture makes it possible to build growth curves and solve multiparametric problems to optimize the cultivation of microalgae, including when working with large arrays of samples.

**Keywords:** microalgae, *Dunaliella salina*, non-invasive monitoring, colorimetry, spectrophotometry

**Acknowledgements:** This work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 19-14-00077-П).

**For citation:** Galitskaya A. A., Akopian A. A., Dykman L. A., Bogatyrev V. A. Colorimetric system for monitoring the growth of microalgae *Dunaliella salina* under laboratory conditions. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 104–109 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-104-109>, EDN: DYIHLL

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

## Введение

Экстремофильная галофитная микроводоросль *D. salina* является первичным (иногда единственным) продуцентом и составляет основу трофической структуры солоноводных биоценозов [1, 2]. Выживая в условиях гиперсоленых водоемов и повышенной солнечной радиации, дуналиелла накапливает большие количества биотехнологически значимых метаболитов, таких как каротиониды и глицерин. Она имеет значительный потенциал и перспективы использования в фармацевтике, индустрии питания, энергетической биотехнологии [3]. В связи с этим развитие методологии неdestructивного мониторинга развития культур микроводорослей представляется актуальной задачей.

Группу оптических методов всегда относили к наиболее щадящим по отношению к изучаемому объекту способам исследования. Однако живые растения в этом плане представляются достаточно сложными объектами. Поглощение света пигментными комплексами зеленых растений критично зависит от физиологического состояния и условий среды обитания, прежде всего, от освещенности [4] (соотношение окисленных/восстановленных форм хлорофиллов), от молекулярной организации фотосистем в мембранах тилакоидов, структурной организации хлоропластов, клеток и клеточных систем в целом [5, 6]. Коллимированное пропускание света весьма чувствительно к светорассеянию, присущему суспензиям микроорганизмов [7]. Успешные попытки учета вклада светорассеяния в общее ослабление света суспензиями микроводорослей [8], связанные с использованием интегрирующих сфер, мало пригодны для рутинных измерений большого количества образцов. Ранее нами была разработана

система спектрофотометрической оценки скорости роста/отмирания микроводорослей в микропланшетном токсикологическом эксперименте [9]. Однако такая система измерений дает заметные искажения в случае изменения морфологии и, особенно, при оседании клеток. Цель настоящего исследования – разработка системы цветометрической оценки параметров роста (построение кривых роста) культур *D. salina* при планшетном периодическом культивировании. Основная задача метода – нахождение контрольных точек (характерных времен) на кривых роста/отмирания для последующего подробного исследования спектроскопически и цитологическими методами.

## Материалы и методы

**Поддержание культуры микроводорослей.** Культура микроводорослей *D. salina* Теод. IP-PASD-294 была получена из коллекции Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева, Москва (ИФР РАН). Для наращивания биомассы использовали культуральную среду Ben-Amotz [10], включающую в свой состав набор компонентов в следующих концентрациях: NaCl 1,5 М; NaHCO<sub>3</sub> 50 мМ; KNO<sub>3</sub> 25 мМ; MgSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O 5 мМ; CaCl<sub>2</sub>×2H<sub>2</sub>O 0,3 мМ; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2 мМ; ЭДТА 30 мкМ; FeCl<sub>3</sub> 2 мкМ; MnSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O 7 мкМ; CuCl<sub>2</sub> 1 мкМ; ZnSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O 1 мкМ; CoSO<sub>4</sub> 1 мкМ; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> 1 мкМ; pH 8. Непосредственно перед инокуляцией раствор фильтровали через фильтр 0,22 мкм (Millipore, США).

Для экспериментов применяли частично синхронизированную культуру, полученную путем как минимум трех последовательных пересевов в 6 луночных планшетах (Biofilm, Китай) с интервалами 3–4 сут.



**Цейтраферная съемка (таймлапс).** Запись изображений осуществляли на камеру смартфона Андроид с программой Fraimelapse с различными временными интервалами, блокировкой автоматической экспозиции и баланса белого. В программе ImageJ создавали пакет изображений File/Import/Image sequence. Усредненные по выделенной области интересов (изображение лунки) уровни цветности получали с помощью инструмента «гистограмма» во вкладке «анализ». Значения измеряемого канала цвета  $V(r)$ ,  $V(g)$ ,  $V(b)$ , заносили в таблицы Excel и пересчитывали значения по формуле

$$V'(rgb)_i = \ln(V(rgb)_0 / V(rgb)_i), \quad (1)$$

где  $V(rgb)_0$  – значение уровня цветности канала лунки бланка (без водорослей), а  $V(rgb)_i$  – значение того же канала  $i$ -й лунки.

**Определение содержания растительных пигментов.** Для определения содержания растительных пигментов аликвоты (по 200 мкл) суспензий водорослей переносили в 96-луночный планшет с лунками объемом 2 мл либо центрифужные пробирки и добавляли по 1.8 мл 96% этанола. После перемешивания пипетированием планшеты выдерживали 15 мин в ультразвуковой ванне УЗУМИ (Трима, Россия). Пробы центрифугировали при 3000  $g$  15 мин. По 300 мкл супернатанта переносили в лунки стандартного планшета и регистрировали поглощение на спектрофотометрическом ридере BioTek Cytation (Agilent, США) на длинах волн 470, 649 и 665 нм. Содержание пигментов (хлорофиллов  $a$  и  $b$ , каротиноидов) определяли по формулам:

$$\text{Chl } a \text{ (мкг} \times \text{мл}^{-1}) = 12,21 \times A_{665} - 2,81 \times A_{649}, \quad (2)$$

$$\text{Chl } b \text{ (мкг} \times \text{мл}^{-1}) = 20,13 \times A_{649} - 5,03 \times A_{665}, \quad (3)$$

$$\text{Car} \text{ (мкг} \times \text{мл}^{-1}) = \\ = (1000 \times A_{470} - 3,27 \times A_{665} - 104 \times A_{649}) / 227 \quad (4)$$

в соответствии с работой [11].

**Фотометрические измерения и обработка данных.** При посеве и через каждые сутки проводили спектрофотометрические измерения на планшетном ридере BioTek Cytation в режиме регистрации спектров экстинкции 400–800 нм с шагом 4 нм. Для вычисления поглощения хлорофилла *in vivo* в суспензиях культур *D. salina* использовали высоту пика 680 нм, скорректированную на величину неселективного ослабления по значениям ближайших локальных минимумов 640 и 740 нм. Расчет величины поглощения осуществляли по формуле:

$$\tilde{A}_{680} = (E_{680} - E_{740}) - (E_{640} - E_{740}) \times 0,6, \quad (5)$$

где  $E_{680}$ ,  $E_{740}$ ,  $E_{640}$  – регистрируемые значения экстинкции на соответствующих длинах волн.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета прикладных компьютерных программ Microsoft Excel 2007. Полученные данные представлены в виде средней арифметической и ее стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ). О достоверности межгрупповых различий судили по параметрическому критерию Стьюдента ( $t$ -тест) для количественных показателей с нормальным распределением. Проверка статистических гипотез осуществлялась при критическом уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Определение зависимости параметров роста от посевной дозы.** Аликвоту (стандартно 8 мл) накопительной культуры осаждали при 1000  $g$  10 мин и редиспергировали в половинном объеме культуральной среды. В лунки 96-луночного планшета проводили посев в серии разведений от 0 до 100% с шагом 20% в 2 сериях триплицированных рядов. Планшет устанавливали в факторостатный бокс и включали видеозапись в режиме цейтраферной съемки. Ежедневно регистрировали параметр  $\tilde{A}_{680}$ . Через 72 ч экстрагировали и анализировали 1 серию (3 ряда) лунок. Через 2 недели эксперимент завершали экстракцией остальных лунок.

### Результаты и их обсуждение

В аддитивной цветовой модели RGB значения основных цветов (красного, зеленого, синего) записываются в 256-значном формате. При этом белому соответствует значение (255, 255, 255), а черному – (0, 0, 0). Поскольку концентрационная зависимость ослабления света поглощающими суспензиями подчиняется закону Бугера – Ламберта – Бера, логично было предположить, что логарифм цветности будет линейно зависеть от концентрации. Для проверки этого предположения мы оценили изменение каждого канала цветности в ряду последовательных разведений суспензии *D. salina*.

На рис. 1 приведены изображения фрагмента планшета с серией разведений 3-дневной культуры *D. salina*, проведенной с шагом в 20%; оригинальное фото (а), цветометрическая (б) и спектрофотометрическая (в) оценка концентрации культуры.

Сравнение панелей (б) и (в) показывает, что оба способа дают адекватную оценку, поскольку аппроксимируются линейными функциями с очень высокой степенью достоверности.

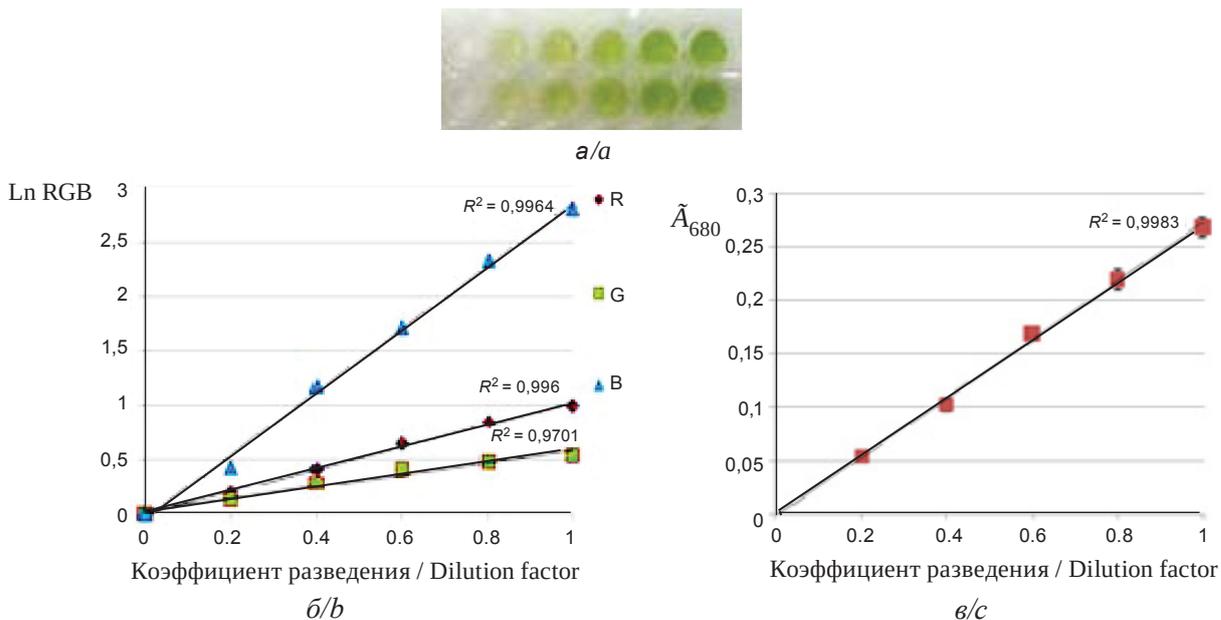


Рис. 1. Цветометрическая и спектрофотометрическая оценка концентрации культуры *D. salina* при разведении в лунках 96-луночного планшета с шагом 20%. Фото фрагмента планшета (а), зависимость значений каналов цветности R, G, B (б) и параметра  $\tilde{A}_{680}$  (в) от разведения. Прямые показывают линейные аппроксимации. Рядом с прямыми указан коэффициент корреляции Пирсона  $R^2$ . Бары показывают стандартные отклонения по трем измерениям

Fig. 1. Colorimetric and spectrophotometric assessment of the concentration of the *D. salina* culture when diluted in the wells of a 96-well plate with a step of 20%. Photo of a fragment of the plate (a), the dependence of the values of the R, G, B color channels (b) and the parameter  $\tilde{A}_{680}$  (c) on the dilution. The straight lines show linear approximations. The Pearson correlation coefficient  $R^2$  is indicated next to the straight lines. Bars show standard deviations across three dimensions

Для уточнения достоверности оценки мы использовали общепринятую стандартную методику определения содержания основных растительных пигментов: хлорофиллов *a*, *b* и

каротиноидов в спиртовых экстрактах по разработанной нами упрощенной процедуре. На рис. 2 приведены графики зависимости концентрации пигментов от разведения культуры.

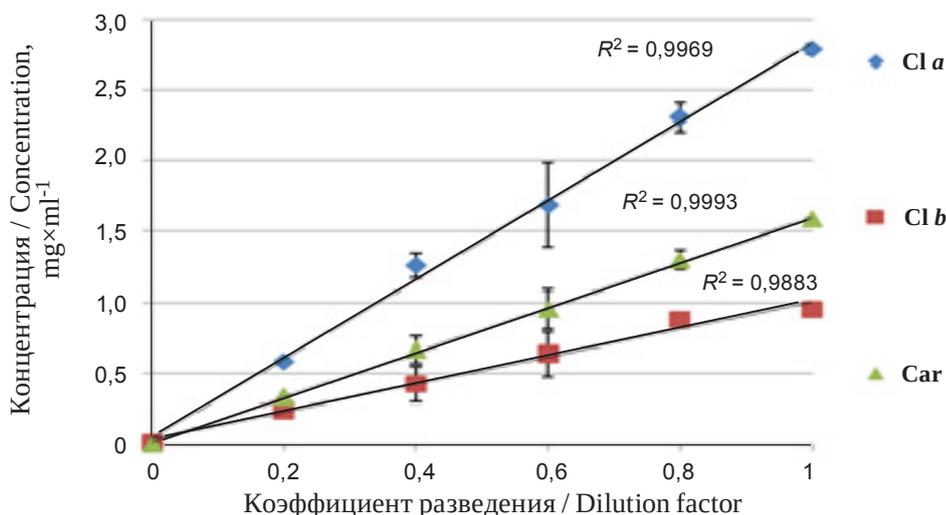


Рис. 2. Зависимость концентрации основных растительных пигментов в спиртовых экстрактах *D. salina* от разведения культуры. Прямые показывают аппроксимационные линейные функции. Над линиями приведены значения достоверности аппроксимации  $R^2$ . Бары показывают стандартные отклонения

Fig. 2. Dependence of the concentration of the main plant pigments in alcoholic extracts of *D. salina* on the dilution of the culture. The straight lines show the approximate linear functions. The values of the approximation reliability  $R^2$  are shown above the lines. Bars show standard deviations



Упрощенная методика позволяет проводить измерения одновременно в нескольких планшетах, при этом общее время анализа занимает не более 1 ч. Корректность измерений подтверждается сохранением соотношения пигментов при разведении. Отношение каротиноидов к общему хлорофиллу постепенно изменяется в процессе роста культуры и особенно заметно при переходе на поздний стационар и в фазу отмирания.

Аналогичные изменения прослеживаются при цветометрических измерениях, что вполне понятно, поскольку цветометрия по сути является колориметрией, освобожденной от искажающего действия светорассеяния.

Динамические показатели популяции, такие как численность, скорость роста/отмирания отражаются на кривой роста, где по оси абсцисс

откладывается время, а по оси ординат – какой-либо биометрический показатель: численность, биомасса, содержание белка, пигментов и др. На рис. 3 приведены зависимость параметра  $\tilde{A}_{680}$  от коэффициента разведения инокуляционной дозы при различных временах культивирования до 72 ч (а) и пример построения кривых по данным цветометрии (R, B) и спектрофотометрии ( $\tilde{A}_{680}$ ) (б) для коэффициента 0,6.

Анализ данных показывает, что коэффициент корреляции для массивов  $\tilde{A}_{680}$  и  $\ln R$  (красного канала) составляет 0,92, а для  $\tilde{A}_{680}$  и  $\ln B$  – 0,8. Этот результат вполне объясним, если принять во внимание, что хлорофиллы имеют два основных максимума поглощения в красной и синей областях спектра видимого диапазона, в то время как каротиноиды – только в синей.

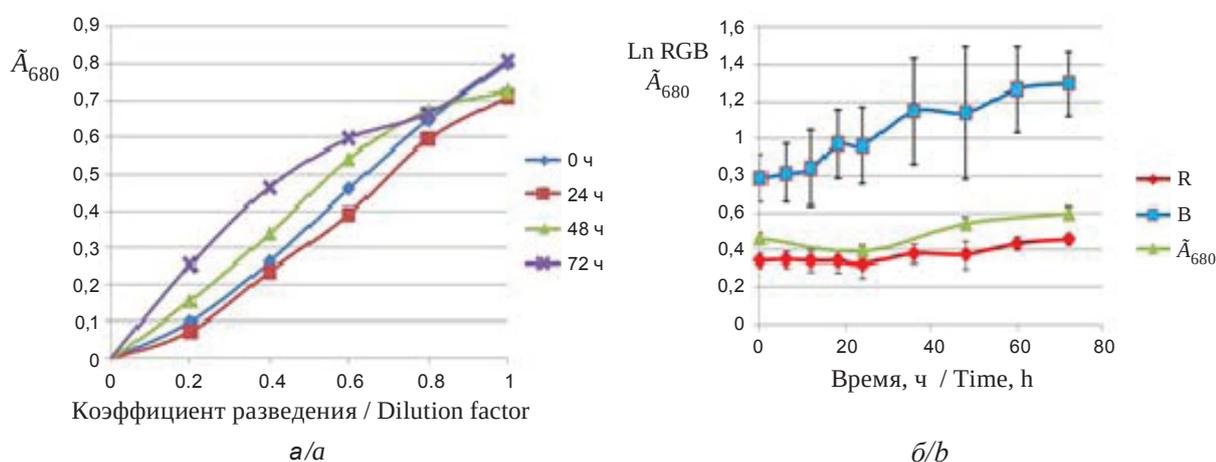


Рис. 3. Зависимость параметра  $\tilde{A}_{680}$  от коэффициента разведения инокуляционной дозы при различных временах культивирования: 0 ч – до 72 ч. Кривые роста культуры *D. salina* по данным цветометрии (R – ромбы, B – квадраты) и спектрофотометрии ( $\tilde{A}_{680}$  – треугольники). Бары показывают стандартные отклонения по трем измерениям (цвет онлайн)

Fig.3. Dependence of the parameter  $\tilde{A}_{680}$  on the dilution factor of the inoculation dose at different cultivation times: 0 h – up to 72 h. Growth curves of the *D. salina* culture according to colorimetry data (R – rhombi, B – squares) and spectrophotometry ( $\tilde{A}_{680}$  – triangles). The bars show the standard deviations of the three dimensions (color online)

### Заключение

Разработанная система цветометрического мониторинга роста и развития микроводоросли *D. salina* предназначена для многофакторного эксперимента, в том числе токсикологического, и позволяет проводить экспрессный предварительный дистанционный неструктивный скрининг больших массивов образцов на предмет изменения содержания основных растительных пигментов. Достоверность оценки подтверждается высокой степенью корреляции ( $R \geq 0.9$ ) с апробированными спектрофотометрическими методами *in vivo* ( $\tilde{A}_{680}$ ) и *in vitro* (органических

экстрактов). Цифровой анализ цветности позволяет преодолевать такие труднопреодолимые осложнения планшетного культивирования, как неравномерность распределения микроводорослей, в связи с образованием флотирующих и бентосных культур, пузырьков газа и т.п.

### Список литературы

1. Масюк Н. П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Teod. и перспективы его практического использования. Киев : Наук. думка, 1973. 245 с.
2. Oren A. The ecology of *Dunaliella* in high-salt environ-



- ments // *J. Biol. Res.* 2014. Vol. 21, № 1. P. 23–31. <https://doi.org/10.1186/s40709-014-0023-y>
3. Arun N., Singh D. P. A review on pharmacological applications of halophilic alga *Dunaliella* // *Indian J. Geo-Mar. Sci.* 2016. Vol. 45, № 3. P. 440–447.
  4. Захожий И. Г., Маталин Д. А., Попова Л. Г., Балнокин Ю. В. Ответные реакции фотосинтетического аппарата галотолерантной микроводоросли *Dunaliella maritima* на гиперосмотический солевой шок // *Физиология растений*. 2012. Т. 59, № 1. С. 48–56.
  5. Рабинович Е. Фотосинтез: в 3 т. Т. 2. М. : Изд-во иностр. лит., 1953. 652 с.
  6. Fujiki T., Taguchi S. Variability in chlorophyll a specific absorption coefficient in marine phytoplankton as a function of cell size and irradiance // *J. Plankton Res.* 2002. Vol. 24, № 9. P. 859–874. <https://doi.org/10.1093/plankt/24.9.859>
  7. Kubín Š. *In vivo* chlorophyll determination in suspensions of chlorococcal algae // *Arch. Protistenkd.* 1991. Vol. 139, № 1–4. P. 111–116. [https://doi.org/10.1016/S0003-9365\(11\)80012-6](https://doi.org/10.1016/S0003-9365(11)80012-6)
  8. Чеканов К. А., Соловченко А. Е. Возможности и ограничения неdestructивного оптического мониторинга культур одноклеточных зеленых водорослей при сбалансированном росте // *Физиология растений*. 2015. Т. 62, № 2. С. 291–300. <https://doi.org/10.7868/S0015330315010030>
  9. Golubev A. A., Prilepskii A. Y., Dykman L. A., Khlebtsov N. G., Bogatyrev V. A. Colorimetric evaluation of the viability of the microalga *Dunaliella salina* as a test tool for nanomaterial toxicity // *Toxicol. Sci.* 2016. Vol. 151, № 1. P. 115–125. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfw023>
  10. Shaish A., Mavron A., Ben-Amotz A. Effect of inhibitors on the formation of stereoisomers in the biosynthesis of  $\beta$ -carotene in *Dunaliella bardawil* // *Plant Cell Physiol.* 1990. Vol. 31, № 5. P. 689–696.
  11. Farhat N., Rabhi M., Falleh H., Jouini J., Abdelly C., Smaoui A. Optimization of salt concentrations for a higher carotenoid production in *Dunaliella salina* (Chlorophyceae)(1) // *J. Phycol.* 2011. Vol. 47, iss. 5. P. 1072–1077. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01036.x>
  12. phology, systematics, ecology, geographical distribution of the genus *Dunaliella* Teod. and the prospects of its practical use]. Kiev, Naukova dumka Publ., 1973. 245 p. (in Russian).
  2. Oren A. The ecology of *Dunaliella* in high-salt environments. *J. Biol. Res.*, 2014, vol. 21, no. 1, pp. 23–31. <https://doi.org/10.1186/s40709-014-0023-y>
  3. Arun N., Singh D. P. A review on pharmacological applications of halophilic alga *Dunaliella*. *Indian J. Geo-Mar. Sci.*, 2016, vol. 45, no. 3, pp. 440–447.
  4. Zahozhij I. G., Matalin D. A., Popova L. G., Balnokin Yu. V. Responses of the photosynthetic apparatus of the halotolerant microalgae *Dunaliella maritima* to hyperosmotic salt shock. *Fiziologija rastenij* [Plant Physiology], 2012, vol. 59, no. 1, pp. 48–56 (in Russian).
  5. Rabinovich E. *Photosynthesis and related processes*: in 3 vols. Vol. 2, part 1. Wiley (Interscience), New York, 1951. 605 p. [Russ. ed.: Rabinovich E. *Fotosintez: v 3 t.* T. 2. Moscow, Izd-vo inostrannoy literatury, 1953. 652 p.]
  6. Fujiki T., Taguchi S. Variability in chlorophyll a specific absorption coefficient in marine phytoplankton as a function of cell size and irradiance. *J. Plankton Res.*, 2002, vol. 24, no. 9, pp. 859–874. <https://doi.org/10.1093/plankt/24.9.859>
  7. Kubín Š. *In vivo* chlorophyll determination in suspensions of chlorococcal algae. *Arch. Protistenkd.*, 1991, vol. 139, no. 1–4, pp. 111–116. [https://doi.org/10.1016/S0003-9365\(11\)80012-6](https://doi.org/10.1016/S0003-9365(11)80012-6)
  8. Chekanov K. A., Solovchenko A. E. Possibilities and limitations of non-destructive optical monitoring of unicellular green algae cultures with balanced growth. *Fiziologija rastenij* [Plant Physiology], 2015, vol. 62, no. 2, pp. 291–300 (in Russian). <https://doi.org/10.7868/S0015330315010030>
  9. Golubev A. A., Prilepskii A. Y., Dykman L. A., Khlebtsov N. G., Bogatyrev V. A. Colorimetric evaluation of the viability of the microalga *Dunaliella salina* as a test tool for nanomaterial toxicity. *Toxicol. Sci.*, 2016, vol. 151, no. 1, pp. 115–125.
  10. Shaish A., Mavron A., Ben-Amotz A. Effect of inhibitors on the formation of stereoisomers in the biosynthesis of  $\beta$ -carotene in *Dunaliella bardawil*. *Plant Cell Physiol.*, 1990, vol. 31, no. 5, pp. 689–696.
  11. Farhat N., Rabhi M., Falleh H., Jouini J., Abdelly C., Smaoui A. Optimization of salt concentrations for a higher carotenoid production in *Dunaliella salina* (Chlorophyceae)(1). *J. Phycol.*, 2011, vol. 47, iss. 5, pp. 1072–1077. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01036.x>

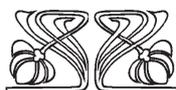
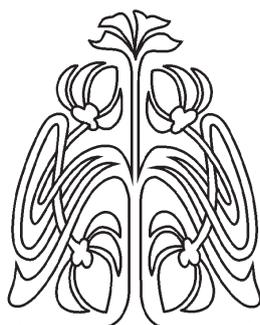
## References

1. Masjuk N. P. *Morfologija, sistematika, jekologija, geograficheskoe rasprostranenie roda Dunaliella Teod. i perspektivy ego prakticheskogo ispol'zovanija* [Mor-

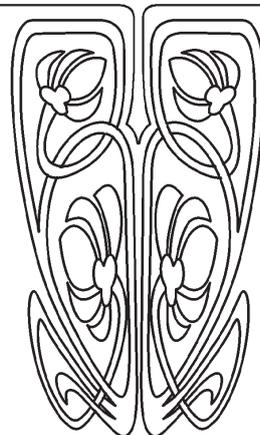
Поступила в редакцию 29.01.23; одобрена после рецензирования 03.02.23; принята к публикации 04.02.23  
The article was submitted 29.01.23; approved after reviewing 03.02.23; accepted for publication 04.02.23



## ЭКОЛОГИЯ



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 110–123

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 110–123

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-110-123>

EDN: FGRCHJ

Article

### The ecological and coenotic features of plant communities containing *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae) in the Lower Volga region

I. V. Shilova, A. S. Kashin ✉, A. S. Parkhomenko,  
A. V. Bogoslov, T. A. Kritskaya, M. Yu. Kasatkin

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Irina V. Shilova, [schiva1952@yandex.ru](mailto:schiva1952@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Alexandr S. Kashin, [kashinas2@yandex.ru](mailto:kashinas2@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Alena S. Parkhomenko, [parkhomenko\\_as@mail.ru](mailto:parkhomenko_as@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Artem V. Bogoslov, [dandelioncave@mail.ru](mailto:dandelioncave@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-2248-1285>

Tatyana A. Kritskaya, [kritckaiata@gmail.com](mailto:kritckaiata@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-0181-3022>

Michail Yu. Kasatkin, [kasatkinmy@info.sgu.ru](mailto:kasatkinmy@info.sgu.ru), <https://orcid.org/0000-0003-1746-850X>

**Abstract.** The article presents a phytocoenotic description of 23 plant communities with *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* studied during the period of mass flowering in 2014–2018. It was found that, across the Lower Volga region, the studied communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* are mostly confined to the slopes of south- and east-facing arroyos and more seldom to the southern and northern hill slopes, plains, arroyo and liman bases, and floodmeadows. During the period of mass flowering, 207 vascular plants were detected in the studied communities. Every community description included 9 to 36 species. Biological diversity was assessed with the Shannon index and polydominance index; the degree of dominance was measured with the Simpson index. The species similarity of the communities was evaluated through pairwise comparison with the Jaccard coefficient. It was revealed that *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* occurs in communities varying in diversity and species composition. The subspecies is not confined to specific phytocoenoses. It usually grows on rich and, more seldom, fairly rich and slightly saline soils. Their alluviality is more often weak rather than moderate. Watering usually corresponds to the dry steppe or semi-desert climate type, rarely to the middle steppe type, being moderately variable and in some cases highly variable. The impact of grazing is usually weak, but it is either moderate or strong in some communities. The communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* are dominated by hemicryptophytes: mostly tap-root, short-rhizome and long-rhizome herbaceous perennials. In phytocoenotic terms, most species belong to the zonal type of vegetation, namely steppe vegetation. The participation of meadow species is prominent. The share of weed species is rather high, which indicates a significant anthropogenic load on the studied communities.

**Keywords:** *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor*, Lower Volga region, plant communities

**For citation:** Shilova I. V., Kashin A. S., Parkhomenko A. S., Bogoslov A. V., Kritskaya T. A., Kasatkin M. Yu. The ecological and coenotic features of plant communities containing *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae) in the Lower Volga region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 110–123 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-110-123>, EDN: FGRCHJ

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)



Научная статья  
УДК 582.572.3+58.002+58.009

**Эколого-ценотическая характеристика растительных сообществ с участием *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae) в Нижнем Поволжье**

И. В. Шилова, А. С. Кашин ✉, А. С. Пархоменко, А. В. Богослов, Т. А. Крицкая, М. Ю. Касаткин

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Шилова Ирина Васильевна, кандидат биологических наук, ведущий биолог отдела биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», schiva1952@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики биологического факультета, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Пархоменко Алёна Сергеевна, кандидат биологических наук, заведующая отделом биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», parkhomenko\_as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Богослов Артём Валерьевич, кандидат биологических наук, ведущий биолог отдела биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», dandelioncave@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2248-1285>

Крицкая Татьяна Алексеевна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии и цитогенетики, УНЦ «Ботанический сад», kriticaiata@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0181-3022>

Касаткин Михаил Юрьевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений, kasatkinmy@info.sgu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1746-850X>

**Аннотация.** В период массового цветения *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* в 2014–2018 гг. сделаны фитоценотические описания 23 сообществ с его участием. Изученные сообщества с *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* в Нижнем Поволжье произрастают чаще всего на склонах балок южной или восточной экспозиции, реже – на южных и северных склонах холмов, равнинных участках, днищах балок и лиманов, заливных пойменных лугах. Во всех сообществах с *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* в период его массового цветения отмечено 207 видов сосудистых растений. На одно описание приходилось от 9 до 36 видов. Биологическое разнообразие оценивали с помощью индексов Шеннона и полидоминантности, а доминирование – с помощью индекса Симпсона. Разнообразие сообществ охарактеризовано с помощью индекса полидоминантности. Для выяснения видového сходства сообществ при попарном сравнении использовали коэффициент Жаккара. Выявлено, что *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* входит в состав довольно разнообразных сообществ, отличающихся по богатству, разнообразию и видовому составу. Подвид не имеет строгой приуроченности к определенным фитоценозам. Произрастает чаще всего на богатых, реже – довольно богатых или слабосолонцеватых почвах. Аллювиальность их чаще слабая, чем умеренная. Чаще увлажнение соответствует сухостепному либо полупустынному типу, редко – среднестепному, являясь умеренно переменным, в некоторых случаях – сильно переменным. Влияние выпаса – слабое, в отдельных сообществах – умеренное и даже сильное. В сообществах с *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* преобладают гемикриптофиты, преимущественно стержнекорневые, короткокорневищные и длиннокорневищные травянистые многолетники. В фитоценотическом отношении большинство видов принадлежит к зональному типу растительности – степному. Заметно участие луговых видов. Весьма велика доля сорных видов, что свидетельствует о большом антропогенном воздействии на сообщества.

**Ключевые слова:** *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor*, Нижнее Поволжье, растительные сообщества

**Для цитирования:** Shilova I. V., Kashin A. S., Parkhomenko A. S., Bogoslov A. V., Kritskaya T. A., Kasatkin M. Yu. The ecological and coenotic features of plant communities containing *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae) in the Lower Volga region [Шилова И. В., Кашин А. С., Пархоменко А. С., Богослов А. В., Крицкая Т. А., Касаткин М. Ю. Эколого-ценотическая характеристика растительных сообществ с участием *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae) в Нижнем Поволжье // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 110–123. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-1-110-123>, EDN: FGRCHJ]

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

## Introduction

*Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Ker Gawl.) K. Perss. is a subspecies listed under the name of *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawler) Spreng. in the Red Book of Russian Federation [1] and the Red Books of all regions where it occurs [2–8]. It is a relic of the post-glacial period of Mediterranean origin with a border of its range passing the territory under study [9, 10]. *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* populations are currently disjunctive; some are declining. Plants usually grow in small groups, where

generative specimens prevail [11]. In some localities, populations of *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* are already completely lost. In the Lower Volga region and the adjacent territories, the decline of the studied subspecies is prominent as well [9, 12]. Considering that insufficient knowledge about ecological and phytocoenotic features of small-size species and subspecies is often an obstacle to their protection and restoration, we propose that the study of ecological and phytocoenotic conditions of the habitat of *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* during its flowering is of particular importance.



## Material and methods

The research was carried out in the period of mass flowering of *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (the middle of April) in 2014–2018. In some years, additional descriptions were made during the period of fruit maturation (the middle of May). The study involved 23 plant communities with

*C. bulbocodium* subsp. *versicolor* located in the Volga Upland, the Oka-Don Lowlands, the Don Ridge, the Kalachyov Ridge and in the south of the Szyrt Plain (Fig. 1, Table 1). The studied territory comprised the eastern part of the subspecies range within the geographical Lower Volga region.

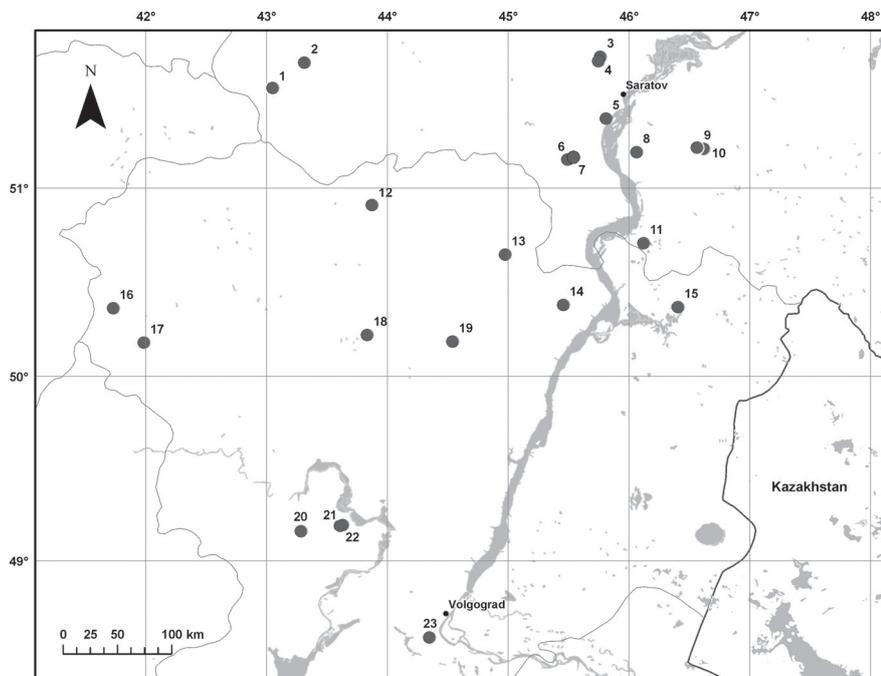


Fig. 1. The localities of the studied plant communities containing *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor*. Here and elsewhere: in Saratov Province: 1 and 2 – Balashovsky District, 3 and 4 – Tatishchevsky District, 5 – Gagarinsky District, 6 and 7 – Krasnoarmeysky District, 8, 9 and 10 – Engelsky District, 11 – Rovensky District; in Volgograd Province: 12 – Elansky District, 13 – Zhirnovsky District, 14 – Kamyshinsky District, 15 – Staropoltavsky District, 16 and 17 – Nehayevsky District, 18 – Danilovsky District, 19 – Kotovsky District, 20 – Kletsky District, 21 and 22 – Ilovinsky District, 23 – Svetloyarsky District

The plant communities were described based on 100 m<sup>2</sup> sample plots. The floristic composition of the communities was revealed. The abundance of species was evaluated with the Drude scale; the distance between specimens was taken into account. The total projective cover (TPC) and the projective cover (PC) of species in the studied communities were measured as well. The total number of descriptions amounted to 102. The descriptions comprised the data on the geographical location, confinement to a particular landscape element, exposition, and immediate neighbors of a community as well as on the negative factors affecting a community as a whole and a population of *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* in particular. The assessment of habitat state and grazing load was performed based on the state of plant cover according to the ecological scales [13, 14] and the supplements

to those scales made for specific regions [15] in the EcoScaleWin software [16, 17]. The descriptions also contained the results of ecomorph spectrum analysis. The subdivision of species into ecomorphs was carried out following the scientific resources [18] and the authors' observations.

The plant nomenclature was provided according to the “Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://www.plantsoftheworldonline.org/> Retrieved 07 February 2023” [19].

The species diversity of the studied communities was assessed with the diversity indices calculated in several ways [20–24]. The species similarity of the communities was evaluated through pairwise comparison with the Jaccard coefficient ( $K_j$ ) [20] and displayed as Terentiev's correlation pleiades



[25]. The similarity of a pair of communities was considered significant when  $K_j$  was 50% and above, while the similarity line in the pleiad was thick. The similarity of a community pair was seen as moderate when  $K_j$  amounted to 30–49% and the line was thin. The similarity was low when  $K_j$  was below 30%, while there was no similarity line in the pleiad. For the calculation of the diversity indices, the projective cover (%) was used as an abundance measure. Biological diversity was assessed with the Shannon index [20] and the index of polydominance [26]. The dominance was evaluated with the Simpson index [27]. The calculations were performed in the GRAPHS software module [25, 28]. All described communities were evaluated with the Koch index of biological dispersion (IBD) [29, 30].

### Results and discussion

Across the Lower Volga region, the studied communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* are mostly confined to the slopes of south- and east-facing arroyos and more seldom to the southern and northern hill slopes, plains, arroyo and liman bases, and floodmeadows. Detailed descriptions of the studied communities are provided in Table 1.

Our analysis of the subspecies habitats based on the plant cover showed that *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* mostly grow on rich and, more seldom, fairly rich and slightly saline soils. Their alluviality is more often weak than moderate. Watering comes in the form of precipitation and sometimes floodwater. Watering usually corresponds to the dry steppe or middle steppe climate type and half as much to the meadow-steppe and dry meadow climate type, being moderately variable and in some cases highly variable. According to Ramensky's scales, in most plant communities, the impact of grazing is moderate and sometimes weak. Some communities were subject to steppe fires and mowing during the years of observation.

In 2014–2018, during the period of mass flowering, the communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* contained 207 vascular plants. Each description included 9 to 36 species (Table 2). In total, in all years of observation, six communities – communities *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 3), *Festuca valesiaca* + *Stipa capillata* + *Artemisia austriaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 4), *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *mh* (no. 5), *F. valesiaca* + *Poa bulbosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 6), *P. bulbosa* + *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 7), *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *graminosa* + *mh* (no. 11) – had 34 to 67 species per community. It was found out that trees and shrubs hardly ever

occur in the communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor*. Community *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *mh* (no. 5) confined to the north-facing hill slope and located in close proximity to thick shrubs and oak forest was the only one which had individual young trees of *Quercus robur* and *Malus* sp. and shrubs of *Acer tataricum*, *Crataegus ambigua*, *Lonicera tatarica*, *Rosa canina*, and *Prunus spinosa*. Communities *F. valesiaca* + *P. bulbosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 6), *Poa angustifolia* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 21) and *Graminosa* + *A. austriaca* + *Galatella villosa* + *mh* (no. 22) had individual specimens of *Spiraea hypericifolia*; community no. 21 also had *Rosa canina*. Dwarf semishrubs were represented by *Astragalus pallescens* in community *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *P. bulbosa* + *A. austriaca* (no. 3), by *A. ucrainicus* in communities *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *mh* (no. 5), *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 13), *Stipa lessingiana* + *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 20) by *A. varius* in community *F. valesiaca* + *S. capillata* + *A. austriaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 4), by *Bassia prostrata* in communities *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *P. bulbosa* + *A. austriaca* (no. 3), *F. valesiaca* + *P. bulbosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 6), *P. bulbosa* + *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 7), *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 9 and 10), *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 13 and 14), *S. lessingiana* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 19), *S. lessingiana* + *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 20), *P. bulbosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *Gagea pusilla* (no. 23), by *Ephedra distachya* in communities *P. bulbosa* + *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 7), *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 13 and 14), *Graminosa* + *A. austriaca* + *G. villosa* + *mh* (no. 22), by *Krascheninnikovia ceratoides* in community *P. bulbosa* + *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 7), and by *Thymus calcareus* in communities *S. capillata* + *F. valesiaca* + *A. austriaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 16) and *P. angustifolia* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 21). The total projective cover of grass and dwarf semishrubs amounted to 45 to 90% in most communities, occasionally declining to 30–45% in some years of observation due to steppe fires, mowing and intensive grazing. In different years, 70–80% of the studied communities were dominated by *C. bulbocodium* subsp. *versicolor*; 50–60% by *Festuca valesiaca*; a slightly smaller portion of the communities were predominated by *Poa bulbosa*, *Stipa capillata*, *Elymus repens*, *Agropyron cristatum*,



Table 1

The geobotanical description of the plant communities containing *Colchicum bulbocodium* ssp. *versicolor* located in the Lower Volga region

№ CP	Coordinates		Phytocoenosis area, ha	Habitat	Exposition / Slope angle, °	Dominant species in the community	TPC, %
	N	E					
1	52°31'31"	43°05'30.9"	0.02	Floodmeadow	–	<i>Alopecurus pratensis</i> , <i>Festuca valesiaca</i> , <i>Galium verum</i> , <i>Plantago urvillei</i> , <i>Poa angustifolia</i> , <i>Rumex acetosa</i>	70–100
2	51°39'21.5"	43°18'25.4"	0.05	Floodmeadow	–	<i>Alopecurus pratensis</i> , <i>Ranunculus ficaria</i> subsp. <i>caltifolius</i> , <i>Colchicum bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , <i>Fritillaria meleagroides</i> , <i>R. acris</i> , ( <i>Poa angustifolia</i> )	100
3	51°41'11.2"	45°45'58.2"	0.25	Hill slope	S / 20–25°	<i>Artemisia austriaca</i> , <i>Colchicum bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , ( <i>P. bulbosa</i> , <i>Festuca valesiaca</i> , <i>Galatella villosa</i> , <i>Potentilla humifusa</i> , <i>Stipa capillata</i> , <i>Draba verna</i> , <i>Gagea pusilla</i> , <i>Artemisia santonica</i> )	45–75
4	51°40'5.3"	45°44'56.9"	1	Smooth hill slope	S–SE / 5°	<i>Festuca valesiaca</i> , <i>S. capillata</i> , <i>A. austriaca</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , ( <i>Poa bulbosa</i> , <i>Valeriana tuberosa</i> , <i>Koeleria pyramidata</i> , <i>D. verna</i> )	75–90
5	51°21'37.9"	45°47'30.8"	1	Hill slope	N / 20–30°	<i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , ( <i>A. austriaca</i> , <i>Bromus riparius</i> , <i>Elymus repens</i> , <i>Euphorbia virgata</i> , <i>Festuca valesiaca</i> , <i>Fragaria viridis</i> , <i>Salvia nemorosa</i> ssp. <i>pseudosylvestris</i> , <i>Verbascum chaixii</i> , <i>Achillea setacea</i> , <i>Jacobaea vulgaris</i> ssp. <i>vulgaris</i> , <i>Plantago urvillei</i> , <i>Poa angustifolia</i> , <i>Seseli libanotis</i> , <i>Solidago virgaurea</i> )	90–100
6	51°09'44.8"	45°29'21.5"	0.021	Base of decrepit dyke	–	<i>Festuca valesiaca</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , ( <i>P. bulbosa</i> , <i>Artemisia austriaca</i> , <i>Koeleria pyramidata</i> , <i>Stipa capillata</i> )	45–90
7	51°09'45.3"	45°29'27.8"	0.035	Arroyo slope	S / 3°	<i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , ( <i>P. bulbosa</i> , <i>S. capillata</i> , <i>Festuca valesiaca</i> , <i>Galatella villosa</i> , <i>A. austriaca</i> , <i>K. pyramidata</i> )	45–90
8	51°11'21.5"	46°03'48.7"	0.031	Base of wide arroyo	–	<i>P. bulbosa</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , ( <i>Agropyron cristatum</i> , <i>Artemisia austriaca</i> , <i>Gagea pusilla</i> , <i>A. marschalliana</i> )	30–90
9	51°12'33.9"	46°33'58.8"	0.042	Plain with micro-depressions	–	<i>F. valesiaca</i> , ( <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , <i>P. bulbosa</i> , <i>Elymus repens</i> , <i>Valeriana tuberosa</i> , <i>A. austriaca</i> , <i>A. santonica</i> , <i>K. pyramidata</i> )	85–90
10	51°12'31.1"	46°37'19.2"	0.15	Plain with micro-elevations	–	<i>F. valesiaca</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , ( <i>Agropyron cristatum</i> , <i>Artemisia austriaca</i> , <i>K. pyramidata</i> , <i>Tulipa sylvestris</i> ssp. <i>australis</i> , <i>P. bulbosa</i> , <i>Klasea erucifolia</i> , <i>Potentilla humifusa</i> , <i>V. tuberosa</i> )	90–95
11	50°42'59.7"	46°03'55.9"	10	Liman micro-depressions	–	<i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , ( <i>E. lolioides</i> , <i>Agropyron cristatum</i> , <i>Poa bulbosa</i> , <i>Allium angulosum</i> , <i>G. pusilla</i> , <i>K. cardunculus</i> , <i>Limonium bungei</i> , <i>V. tuberosa</i> , <i>A. santonica</i> )	60–85
12	50°54'26.1"	43°52'21"	0.25	Floodmeadow	–	<i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , <i>F. valesiaca</i> , <i>Alopecurus pratensis</i> , <i>G. pusilla</i> , ( <i>P. angustifolia</i> , <i>Achillea setacea</i> , <i>Pedicularis dasystachys</i> )	90–100



Continuation of the Table 1

№ CP	Coordinates		Phytocoenosis area, ha	Habitat	Exposition / Slope angle, °	Dominant species in the community	TPC, %
	N	E					
13	50°39'5.4"	44°57'12.5"	0.73	Arroyo slope	S / 5°	<i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , ( <i>Poa bulbosa</i> , <i>Stipa capillata</i> , <i>F. valesiaca</i> , <i>Artemisia austriaca</i> , <i>Galatella villosa</i> )	50–90
14	50°23'1.2"	45°27'20.5"	0.04	Arroyo slope	S / 5°	<i>E. repens</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , <i>P. bulbosa</i> , ( <i>F. valesiaca</i> , <i>Gagea pusilla</i> , <i>A. austriaca</i> , <i>Koeleria pyramidata</i> , <i>Poa angustifolia</i> )	50–90
15	50°21'27.6"	46°23'32.7"	0.36	Floodmeadow	–	<i>F. valesiaca</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , <i>Eryngium planum</i> , ( <i>G. pusilla</i> , <i>Valeriana tuberosa</i> , <i>Artemisia austriaca</i> , <i>A. santonica</i> , <i>Tanacetum achilleifolium</i> )	65–90
16	50°11'0.5"	41°59'0.2"	0.25	Depression in chalk hill	S / 5°	<i>Stipa capillata</i> , <i>F. valesiaca</i> , <i>A. austriaca</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i>	30
17	50°22'2.6"	41°43'47.8"	0.76	Inland plateau	–	<i>S. capillata</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , <i>Centaurea jacea</i> , <i>Poa angustifolia</i> , <i>Potentilla argentea</i>	75
18	50°13'18.7"	43°48'40.8"	1.47	Floodmeadow	–	<i>Colchicum bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , <i>F. valesiaca</i> , <i>Gagea pusilla</i> , <i>P. angustifolia</i> , <i>Alopecurus pratensis</i>	95
19	50°11'14.5"	44°32'17.9"	0.02	Arroyo slope	E / 5°	<i>S. lessingiana</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , ( <i>P. bulbosa</i> , <i>F. valesiaca</i> , <i>G. pusilla</i> , <i>Galatella villosa</i> )	75–90
20	49°10'05"	43°16'41.6"	0.72	Arroyo slope	SW / 5–10°	<i>S. lessingiana</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , ( <i>F. valesiaca</i> , <i>G. villosa</i> )	95
21	49°11'35.6"	43°38'15.2"	0.09	Depression in chalk hill	E–NE / 15–20°	<i>P. angustifolia</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i>	70
22	49°11'18.6"	43°39'19.3"	0.04	Hill slope	NE / 20°	<i>Artemisia austriaca</i> , <i>Stipa capillata</i> , <i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , <i>F. valesiaca</i> , <i>Galatella villosa</i> , <i>Gagea pusilla</i>	70
23	48°34'51.4"	44°20'56.2"	0.5	Arroyo slope	N–NE / 5°	<i>C. bulbocodium</i> ssp. <i>versicolor</i> , <i>Poa bulbosa</i> , <i>G. pusilla</i> , <i>T. achilleifolium</i>	90

Note. Species which were not dominant annually are in brackets.



Table 2

The biodiversity indices of the plant communities containing *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor*

№ CP	Year	Number of species, pcs.	Index		
			Simpson's, <i>D</i>	Polydominance, $1/D$	Shannon's, <i>H</i>
1	2015	26	0.13	<b>7.69</b>	<b>2.21</b>
2	2016	24	0.14	<b>7.21</b>	<b>2.10</b>
	2017	21	0.18	5.64	1.91
3	2014	17	0.28	3.53	1.50
	2015	23	0.20	4.97	1.73
	2016	9	0.15	<b>6.47</b>	1.93
	2017	11	0.20	4.88	1.75
	2018	20	0.15	<b>6.83</b>	<b>2.08</b>
4	2014	12	0.23	4.38	1.63
	2015	23	0.25	3.94	1.59
	2016	15	0.13	<b>7.96</b>	<b>2.17</b>
	2017	14	0.20	5.04	1.77
	2018	15	0.19	5.34	1.93
5	2014	25	<b>0.37</b>	2.67	1.23
	2015	15	0.21	4.68	1.73
	2016	36	0.10	<b>9.80</b>	<b>2.65</b>
	2017	6	0.24	4.11	1.48
	2018	14	0.19	5.16	1.73
6	2014	17	<b>0.49</b>	2.02	1.11
	2015	17	0.28	3.53	1.40
	2016	19	<b>0.35</b>	2.84	1.23
	2017	20	0.18	5.66	1.90
	2018	14	0.25	4.02	1.55
7	2014	18	<b>0.38</b>	2.63	1.36
	2015	19	<b>0.33</b>	3.05	1.38
	2016	25	0.22	4.55	1.71
	2017	27	0.14	<b>7.15</b>	<b>2.25</b>
	2018	23	0.19	5.28	1.96
8	2015	20	0.21	4.74	1.80
	2016	27	0.20	5.12	1.77
	2017	24	0.24	4.12	1.73
	2018	20	0.29	3.43	1.62
9	2014	11	<b>0.49</b>	2.04	1.07
	2015	11	<b>0.37</b>	2.73	1.36
	2016	30	0.23	4.44	1.83
	2017	20	0.24	4.20	1.75
10	2015	18	<b>0.33</b>	3.06	1.27
	2016	28	0.14	<b>6.91</b>	<b>2.12</b>
	2018	21	0.20	4.99	1.89



Continuation of the Table 2

№ CP	Year	Number of species, pcs.	Index		
			Simpson's, <i>D</i>	Polydominance, $1/D$	Shannon's, <i>H</i>
11	2014	17	<b>0.32</b>	3.16	1.56
	2015	20	0.21	4.75	1.68
	2016	17	0.17	5.83	1.89
	2017	10	0.23	4.35	1.73
	2018	12	0.17	<b>6.02</b>	1.89
12	2016	17	0.18	5.56	1.81
	2017	21	0.18	5.43	1.85
13	2015	15	0.30	3.32	1.43
	2016	21	0.15	<b>6.81</b>	<b>2.02</b>
	2018	23	0.24	4.12	1.80
14	2016	30	<i>0.14</i>	<b>6.95</b>	<b>2.06</b>
	2017	29	0.25	4.05	1.69
	2018	12	0.24	4.11	1.54
15	2016	14	0.18	5.62	1.92
	2017	8	0.22	4.63	1.69
	2018	11	<b>0.49</b>	<i>2.03</i>	<i>0.97</i>
16	2018	24	0.24	4.21	1.78
17	2018	15	0.29	3.47	1.59
18	2018	18	0.22	4.49	1.64
19	2016	11	0.21	4.72	1.63
	2017	22	0.22	4.60	1.70
	2018	17	0.30	3.37	1.33
20	2016	26	0.19	5.35	1.89
	2018	17	<b>0.34</b>	2.94	1.30
21	2017	36	0.25	4.03	1.75
	2018	31	<b>0.38</b>	2.63	1.41
22	2016	31	0.17	<b>6.03</b>	1.95
23	2018	18	<b>0.31</b>	3.27	1.53

Note. Minimum index values are in italic: *D* – below 0.15,  $1/D$  – below 3.00, *H* – below 1.3. Maximum index values are in bold: *D* – above 0.30,  $1/D$  – above 6.00, *H* – above 2.00. Designations are the same as in Fig. 1 and Table 1.

*Galatella villosa*, *Artemisia austriaca*; an even smaller share of the communities by *Koeleria pyramidata*, *Gagea pusilla*; and individual communities had up to 30 more grain and herb species as dominant and co-dominant species (Table 1).

It was revealed that the following rare protected species occur alongside *C. bulbocodium* subsp. *versicolor*: *Iris pumila*, *Adonis wolgensis*, *Anemone sylvestris*, *Leuzea altaica*, *Stipa pennata*, *Pedicularis dasystachys*, *Tulipa sylvestris* subsp. *australis*, *Fritillaria meleagroides*, and *Ephedra distachya*.

The values of the Jaccard coefficient ( $K_j$ ) fluctuated from 2.44% to 51.52% (Fig. 2). In most cases, the communities had a moderate similarity in the species composition ( $K_j = 30-49\%$ ). Communities *Graminosa + mh* (no. 1), *Alopecurus pratensis + mh* (no. 2) and *Graminosa + C. bulbocodium* subsp. *versicolor + G. pusilla* (no. 18) had a moderate similarity with one and the same community *C. bulbocodium* subsp. *versicolor + graminosa + mh* (no. 12). Notably, all the four communities grow in floodmeadows.

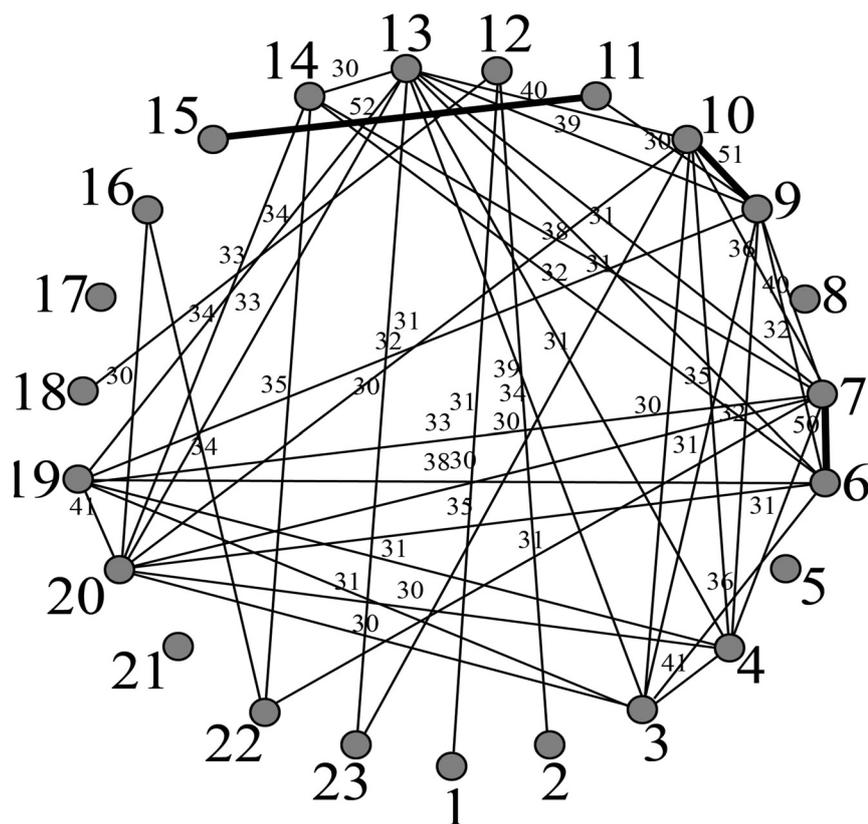


Fig. 2. The similarity of the plant communities containing *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* based on the Jaccard coefficient. The lines with a coefficient above 50 % are thick. Designations are the same as in Fig. 1 and Table 1

The following communities had no similarity with any other community – *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *mh* (no. 5), *P. bulbosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *Agropyron cristatum* (no. 8), *S. capillata* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 17) and *Poa angustifolia* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 21). Community no. 5 is located on the north-facing hill slope and comprises 67 species (from 6 to 36 in different years of observation). Community no. 8 grows on arenosols at the arroyo base and contains 45 species (20–27 species annually). Community no. 17 is confined to the inland plateau and has 15 species. Community no. 21 grows on the chalky north-eastern arroyo slope and is comprised of 47 species (31–36 species in different years of observation).

Only three community pairs had a considerable similarity: communities *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *Eryngium planum* (no. 15) and *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *graminosa* + *mh* (no. 11) growing on saline soils at the liman bases, occasionally submerged by melt water; communities *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 9 and 10) located in the steppe along the bank

of the Nahoy river; and communities *F. valesiaca* + *P. bulbosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 6) and *P. bulbosa* + *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 7) confined to the steppe slope of the same arroyo and growing in close proximity to each other.

The analysis of all communities based on the biological dispersal index *IBD* confirmed that the degree of similarity between the communities is low (*IBD* amounts to 12.41%).

According to the values of the Simpson index, all communities have a high level of dominance (Table 2). The dominance is especially articulated, although in individual years of observation, in communities *F. valesiaca* + *P. bulbosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 6), *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 9) and *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *E. planum* (no. 15); slightly lower degrees of dominance is characteristic of communities *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *mh* (no. 5), *P. bulbosa* + *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 7), *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *graminosa* + *mh* (no. 11), *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor*



(no. 13), *S. lessingiana* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 19), *S. lessingiana* + *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 20), *P. angustifolia* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 21) and *P. bulbosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *G. pusilla* (no. 23). The degree of dominance greatly varied in one and the same communities over the years of observation. The fluctuations of this parameter were particularly obvious in most communities in 2014. The highest variance of dominance was detected in communities no. 5, 6, 9 and 15. Communities *Alopecurus pratensis* + *mh* (no. 2), *Poa bulbosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *Agropyron cristatum* (no. 8) and *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *graminosa* + *mh* (no. 12) were the most stable in terms of the level of dominance which was also rather low; these communities are confined either to the arroyo base and poorly developed soil (community no. 8) or to floodmeadows (no. 2, 12). The lowest level of dominance was identified in communities *Graminosa* + *mh* (no. 1), *Alopecurus pratensis* + *mh* (no. 2), *F. valesiaca* + *S. capillata* + *A. austriaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 4), *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *mh* (no. 5), *P. bulbosa* + *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 7), *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 10) and *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 14), especially in 2016 (Table 2).

Thus, the years 2014 and 2016 were remarkable in terms of the level of dominance: the maximum level of dominance was registered in the former year and the minimum level of dominance in the latter year. The communities growing on poorly developed soils or in floodmeadows were the most stable in terms of the level of dominance.

The polydominance index (1/D) ranged from 2.02 (community *F. valesiaca* + *P. bulbosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* - no. 6, in 2014) to 9.80 (community *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *mh* - no. 5, in 2016) (Table 2). According to the values of 1/D, the highest species diversity was observed in communities *Graminosa* + *mh* (no. 1), *Alopecurus pratensis* + *mh* (no. 2), *Bulbocodium versicolor* + *Poa bulbosa* + *Artemisia austriaca* (no. 3), *F. valesiaca* + *S. capillata* + *A. austriaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 4), *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *mh* (no. 5), *P. bulbosa* + *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 7), *F. valesiaca* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 10), *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* + *graminosa* + *mh* (no. 11), *Graminosa* + *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* (no. 13 and 14) and *Graminosa* + *A. austriaca* + *G. villosa* + *mh*

(no. 22). In most communities, species diversity was the highest in 2016. It was likely due to the warm spring of 2016 (warmest of all years of observation) which facilitated the quick regrowth of many species in the studied communities. Species diversity was the lowest in communities (no. 5), (no. 6), (no. 7), (no. 9), (no. 11), (no. 13), (no. 15), (no. 17), (no. 19), (no. 20), (no. 21) and (no. 23). In five communities (no. 5, 6, 7, 9, 11) the low values of this parameter were detected in 2014, while in other six communities (no. 15, 17, 19–21 and 23) – in 2018. In some of the latter communities, species diversity was low in 2015 and 2016 as well. In 2018, the delay of regrowth of many species was likely due to the cold spring. In other years of observation, the decline in species diversity was apparently linked to other factors. For instance, in 2014, community no. 5 exhibited a strong grassing by root grains which decreased biodiversity despite the abundance of species in the community. In communities no. 9 and 11, in 2014, flood water did not go down for a long time. In 2013, community no. 7 was subject to intensive grazing which damaged species composition both in 2014 and 2015.

Based on the Shannon index, biodiversity in the communities with *B. versicolor* fluctuated from 0.97 (in community no. 15 in 2018) to 2.65 (in community no. 5 in 2016). Communities no. 1–5, 7, 10, 13 and 14 had the highest biodiversity values, especially in 2016. The lowest biodiversity was detected in communities no. 5, 6, 9 and 15, mostly in 2014 (Table 2).

The above presented results indicate that *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* occurs in rather diverse communities which differ in diversity and species composition. Most communities have a merely moderate similarity with others based on the Jaccard index. The similarity of all studied communities is extremely low, which is confirmed by the low value of the biological dispersal index (12.41%). This suggests that the species is not restricted to particular phytocoenoses. Its dispersal is most likely due to accidental drift of seeds or long isolated existence of populations. However, the values of the biodiversity and dominance coefficients greatly vary over the years of observation, and they are clearly affected by the environmental factors, such as temperature in the period of regrowth, watering by melt water, the level of soil development and grassing by root grains, as well as by anthropogenic factors, primarily intensive grazing.

The analysis of flora showed that, based on the biomorphological composition, the communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* in the Lower Volga region are dominated by hemicryptophytes,



which is typical for moderately cold floras of the Holarctic realm (Fig. 3, a). These hemicryptophytes include polycarpic herbs, mostly tap-root (*Artemisia santonica*, order of astragalus, *Centaurea scabiosa*, *Cephalaria uralensis*, *Cichorium intybus*, *Echinops ritro*, *Eryngium planum*, *Jurinea arachnoidea*, *Klasea erucifolia*, *Limonium bungei*, *Medicago falcata*, *Psephellus marschallianus*, *Salvia dumetorum*, *Seseli tortuosum*, *Trifolium pratense* etc.) and long-rhizome plants (*Anthoxanthum repens*, *Artemisia dracunculus*, *Elymus lolioides*, *Galatella sedifolia*, *Galium verum*, *Leymus racemosus*, *Ranunculus illyricus*, *Salvia verticillata*, *Securigera varia* etc.).

The number of cryptophytes is 6.5 smaller than that of hemicryptophytes. Cryptophytes are represented by the following groups: long-rhizome (*Bromus inermis*, *Calamagrostis epigeios*, *Elymus repens*, *Carex praecox*, *C. stenophylla*, *C. supina* etc.), brush-rhizome (*Pedicularis dasystachys*, *Ranunculus pedatus*, *Ranunculus polyrhizos*), tuberous (*Ranunculus ficaria* subsp. *caltifolius*, *Valeriana tuberosa*) and bulbous polycarpic plants (*Allium angulosum*, *A. globosum*, *Allium strictum*, *Bulbocodium versicolor*, *Fritillaria meleagroides*, *Gagea bulbifera*, *Gagea pusilla*, *Ornithogalum fischerianum*, *Tulipa sylvestris* subsp. *australis* etc.). There are also chamephytes:

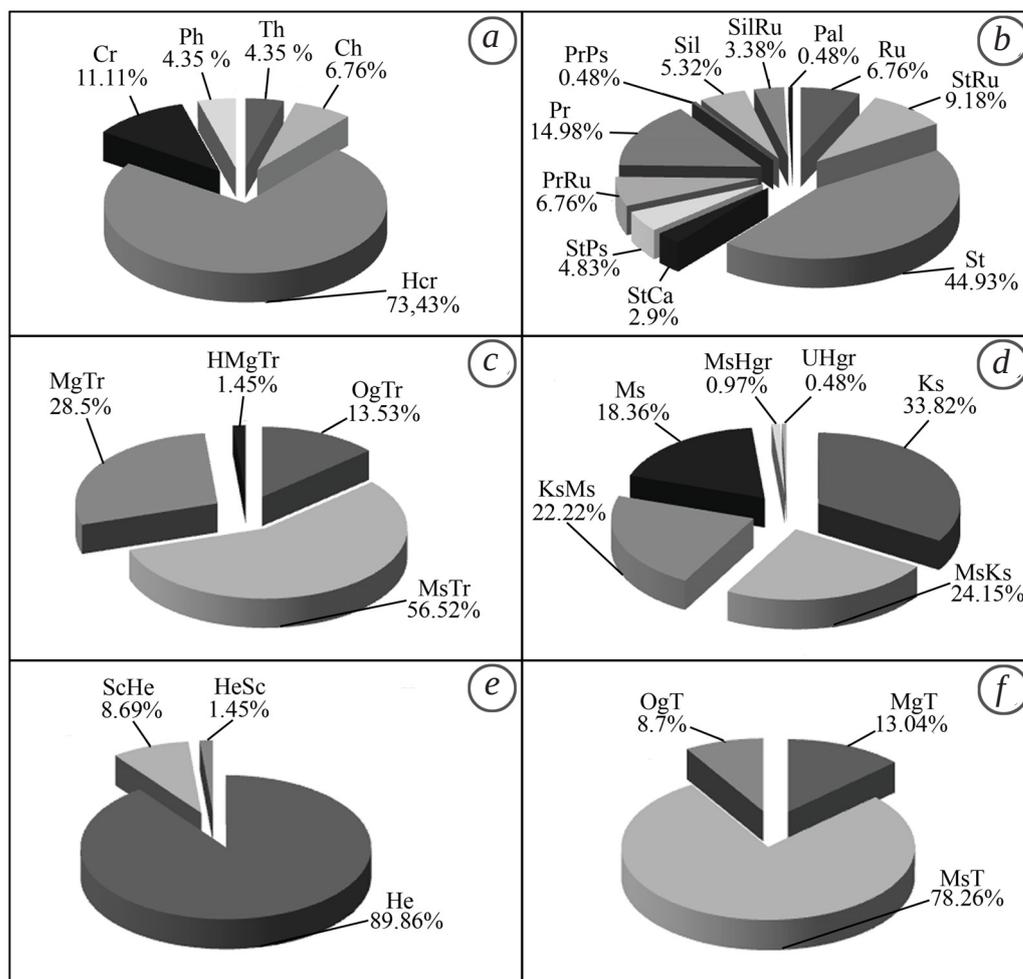


Fig. 3. The ecomorph spectrum in the plant communities containing *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor*. Designations: a – biomorphs: Ph – phanerophytes, Ch – chamephytes, Hcr – hemicryptophytes, Cr – cryptophytes, Th – therophytes; b – cenomorphs: Sil – sylvants, SilRu – sylvant ruderants, Pr – pratents, PrRu – pratent ruderants, St – steppants, StCa – steppant calcephytes, StPs – steppant psammophytes, StRu – steppant ruderants, Ru – ruderants, Pal – paludants, PrPs – pratant psammophytes; c – trophomorphs: OgTr – oligotrophs, MsTr – mesotrophs, MgTr – megatrophs, HMgTr – halomegatrophs; d – hygromorphs: Ks – kserophytes, MsKs – mesoxerophytes, KsMs – xeromesophytes, Ms – mesophytes, MsHgr – mesohygrophytes, UHgr – ultrahygrophytes; e – heliomorphs: He – heliophytes, ScHe – scioheliophytes, HeSc – heliosciophytes; f – thermomorphs: MgT – megatherms, MsT – mesotherms, OgT – oligotherms



semishrubs (*Krascheninnikovia ceratoides*), dwarf subshrubs (*Astragalus pallescens*, *A. ucrainicus*, *Astragalus varius*, *Bassia prostrata*, *Thymus calcareus*, *T. pulegioides* subsp. *pannonicus*), tap-root sucker plants (*Artemisia absinthium*), short-rhizome (*A. marschalliana*), long-rhizome (*Veronica chamaedrys*) and other perennial plants. There is a small number of phanerophytes: trees and shrubs (*Acer tataricum*, *Crataegus ambigua*, *Lonicera tatarica*, *Prunus spinosa*, *Quercus robur*, *Rosa canina*, *Spiraea hypericifolia*), subshrubs (*Ephedra distachya*) – as well as therophytes (*Alyssum desertorum*, *Eragrostis minor*, *Erysimum marschallianum*, *Lepidium ruderales*, *Myosotis micrantha*, *Pulicaria vulgaris*, *Ranunculus falcatifolius*, *Stellaria media*, *Veronica verna*) (Fig. 3, a).

In the cenomorph spectrum, approximately half of the species belong to steppe vegetation; together with steppe weeds, calciphytes (*Cephalaria uralensis*, *Krascheninnikovia ceratoides*, *Linum perenne*, *Teucrium polium*, *Thymus calcareus* etc.) and psammophytes (*Dianthus polymorphus*, *Helichrysum arenarium*, *Jurinea cyanoides*, *Potentilla incana*) this group constitutes over 60% (Fig. 3, b), which is typical of the steppe zone where the studied communities are located. The presence of meadow species is also articulated and amounts, together with meadow weeds, to 20%. Apparently, it is due to the confinement of some coenoses to liman and flood meadows. The group of forest species is small and represented by individual specimens of wood and forest grass species (*Agrimonia eupatoria*, *Anemone sylvestris*, *Fragaria viridis*, *Peucedanum alsaticum* etc.).

We detected one species of the meadow psammophyte group (*Artemisia dracunculoides*) and one species of the swamp psammophyte group (*Carex acuta*). The groups of proper weed plants (*Artemisia absinthium*, *Berteroa incana*, *Bromus squarrosus*, *Carduus uncinatus*, *Cirsium arvense* etc.) and steppe (*Alyssum desertorum*, *Artemisia austriaca*, *Carlina biebersteinii*, *Centaurea scabiosa* etc.), meadow (*Cichorium intybus*, *Elymus repens*, *Eryngium planum*, *Hieracium robustum*, *Pulicaria vulgaris* etc.) and forest weed plants (*Anthriscus sylvestris*, *Galium boreale*, *Geum urbanum*, *Hieracium umbellatum* etc.) comprise 26% of the floristic composition. This fact strongly supports the large anthropogenic load on the communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor*.

The trophomorphic ratio analysis indicates that the communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* grow on soils ranging from poor (low-fertility) soils with a predominance of oligotrophic species to saline soils preferable for halomegatrophytes (Fig. 3, c). However, an obvious predominance of

mesophytes suggests that the communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* are widely spread on fairly rich (medium-fertility) soils. A rather articulate presence of megatrophic species indicates that the communities under study are also widespread on rich (fertile) soils. Poor soils comprise a small share; saline soils make up an insignificant share as well.

The hygromorphic spectrum analysis shows that in the communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor*, the soil watering regime ranges from dry to humid. The dry regime predominates, with a largest proportion of xerophytes; it is followed by the fairly dry regime, with an optimum for mesoxerophytes; fairly humid regime comes next, with an optimum for xeromesophytes; and the humid regime comes last, with an optimum for mesophytes (Fig. 3, d).

The ratio of heliomorphs indicates that heliophytic species, for which the light type of illumination is suitable, prevail (Fig. 3, e). The semi-light and semi-shadow type of illumination are preferable for small-size groups of sciophytes and heliophytes which are comprised of wood-shrubs and forest grass plants present in some communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor*.

The confinement of the communities with *B. versicolor* to open spaces in the temperate zone explains an overwhelming prevalence of mesothermic plants (Fig. 3, f). Mere 13% of megathermic species prefer a warmer environment, whereas 9% develop better in a cooler environment.

To conclude, the communities with *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* are dominated by hemicryptophytes, primarily tap-root, short-rhizome and long-rhizome grass perennials. In phytocoenotic terms, most species belong to the zonal vegetation, namely steppe vegetation. The presence of meadow species is also prominent. The proportion of weed plants is large, which indicates a strong anthropogenic load on the communities. The dry regime predominates, with a largest proportion of xerophytes; it is followed by the fairly dry regime, with an optimum for mesoxerophytes; fairly humid regime comes next, with an optimum for xeromesophytes; and the humid regime comes last, with optimum for mesophytes. The communities are spread over medium-fertility and fertile soils. The light regime of illumination prevails. The predominance of mesothermic plants corresponds to the temperate zone.

## References

1. Tsvelev N. N. *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng. In: *Krasnaya kniga Rossiyskoy Federatsii (rasteniya i griby)* [Red Book of the Russian Federation

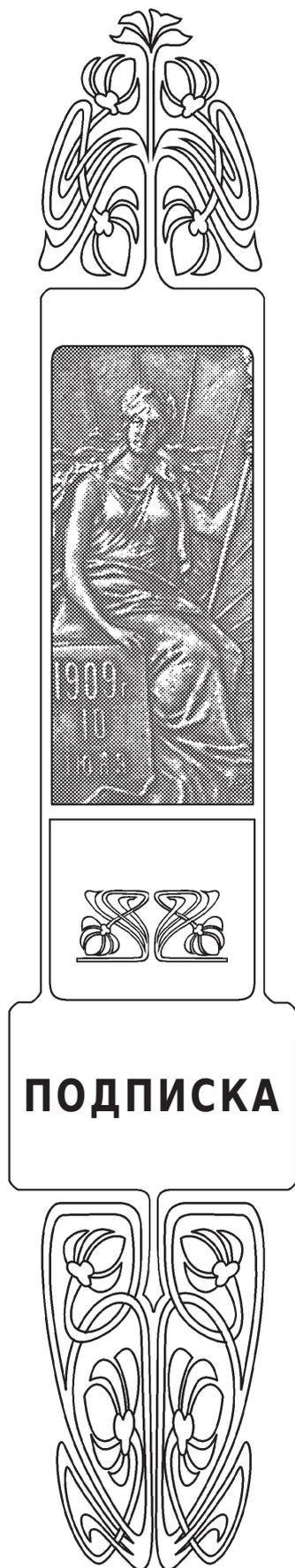


- (plants and fungi)]. Moscow, KMK Scientific Press Ltd., 2008. 339 p. (in Russian).
2. Sokolov A. S., Sokolova L. A. *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng. In: *Krasnaya kniga Tambovskoy oblasti: mkhi, sosudistyye rasteniya, griby, lishayniki* [The Red Book of the Tambov region: Mosses, vascular plants, fungi, lichens]. Tambov, ITs "Tambovpoligrafizdat" Publ., 2002, pp. 79 (in Russian).
  3. *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng. In: *Krasnaya kniga Pridnestrovskoy Moldavskoy Respubliki* [Red Book of the Pridnestrovian Moldavian Republic]. Tiraspol, MPRIEK Publ., 2009, pp. 95 (in Russian).
  4. Agafonov V. A., Kuznetsov B. I. *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng. In: *Krasnaya kniga Voronezhskoy oblasti. T. 1: Rasteniya, lishayniki, griby* [Red Data Book of the Voronezh Region. Vol. 1: Plants, lichens, mushrooms]. Voronezh, MODEK Publ., 2011, pp. 260 (in Russian).
  5. Khlyzova N. Yu., Grigorievskaya A. Ya. *Krasnaya kniga Lipetskoy oblasti. T. 1. Rasteniya, griby, lishayniki* [Red Data Book of the Lipetsk Region, vol. 1. Plants, mushrooms, lichens]. Lipetsk, OOO "Veda sotsium" Publ., 2014, pp. 174 (in Russian).
  6. Zemlyanskaya I. V., Kuvaldina A. I. *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng. In: *Krasnaya kniga Volgogradskoy oblasti. Chast' 2. Rasteniya i drugiy organizmy* [Red Book of the Volgograd region. Part 2. Plants and other organisms]. Volgograd, OOO "Izdat-Print", 2017, pp. 157 (in Russian).
  7. Zolotukhin N. I., Poluyanov A. V., Filatova T. D. *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng. In: *Krasnaya kniga Kurskoy oblasti: redkiye i ischezayushchiye vidy zhivotnykh, rasteniy i gribov* [Red Book of the Kursk region: rare and endangered species of animals, plants and fungi]. Kaliningrad, Kursk, ID ROST-DOAFK Publ., 2017, pp. 164 (in Russian).
  8. Khudyakova L. P. *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng. In: *Krasnaya kniga Saratovskoy oblasti: Griby. Lishayniki. Rasteniya. Zhivotnyye* [Red Book of the Saratov region: Mushrooms, Lichens, Plants, Animals]. Saratov, Papirus Publ., 2021, pp. 167–168 (in Russian).
  9. Sagalayev V. A., Shantser I. A. Seven. 36. Kolchikaseae DK. Colchicaceae. In: *Flora of the Lower Volga region. T. 1* [Flora of the Lower Volga region. Vol. 1]. Moscow, KMK Scientific Press Ltd., 2006, pp. 331–333 (in Russian).
  10. Kuznetsov B. I., Moiseyeva Ye. V., Glazneva O. S. Seed productivity of early spring steppe ephemeroïds by the example of *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng. and *Bellevalia sarmatica* (Pall. Ex Georgi) in natural conditions and in culture. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Geography. Geoecology*. 2011, no. 2, pp. 104–106 (in Russian).
  11. Kashin A. S., Kulikova L. V., Petrova N. A., Shilova I. V., Parkhomenko A. S., Lavrentyev M. V. Ontogenetic structure of *Bulbocodium versicolor* (Melanthiaceae) cenopopulations in the lower Volga Region. *Botanicheskii zhurnal*, 2020, vol. 105, no. 5, pp. 63–80 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S000681362005004X>
  12. Petrova N. A., Shilova I. V., Kashin A. S., Berezutskiy M. A., Serova L. A., Reshetnikova T. B. The location of *Bulbocodium versicolor* in Saratov Region about. *Bulletin of Botanic Garden of Saratov State University*, 2015, iss. 13, pp. 25–31 (in Russian).
  13. Ramenskiy L. G., Tsatsenkin I. A., Chizhikov O. N., Antipin N. A. *Ekologicheskaya otsenka kormovykh ugodiy po rastitel'nomu pokrovu* [Ecological Assessment of Forage Lands by Vegetation Cover]. Moscow, Gos. izd-vo sel'khoz. lit-ry, 1956. 472 p. (in Russian).
  14. Gorbunov V. S., Gorin V. I., Maevsky V. V., Bayakov D. A. *Ekologicheskaya otsenka yestestvennykh kormovykh ugodiy po shkalam L. G. Ramenskogo* [Ecological assessment of natural forage lands using the scales of L. G. Ramenskiy]. Saratov, FGUN RosNIISK "Rossorgo" Publ., 2010. 82 p. (in Russian).
  15. Gorin V. I., Boldyrev V. A. *Rasshireniye shkaly Ramenskogo. Dopolneniye shkal dannymi po ekologii flory Saratovskoy oblasti* [Expansion of the Ramenskiy scales. Supplementing the scales with data on the ecology of the flora of the Saratov region]. Saarbrücken, Deutschland, LAPLAMBERT Academic Publishing, 2013. 66 p.
  16. Grokhlina T. I., Khanina L. G. Automation of processing of geobotanical descriptions on ecological scales. In: *Printsipy i sposoby sokhraneniya bioraznoobraziya: materialy II Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii* [Principles and methods of biodiversity conservation: Proceedings of the II All-Russian Scientific Conference]. Yoshkar-Ola, Maar.gos. un-t Publ., 2006, pp. 87–89 (in Russian).
  17. Zubkova Ye. V., Khanina L. G., Grokhlina T. I., Dorogova Yu. A. *Komp'yuternaia obrabotka geobotanicheskikh opisaniy po ekologicheskim shkalam s pomoshch'yu programmy EcoScaleWin* [Computer processing of geobotanical descriptions on ecological scales using the EcoScaleWin program]. Yoshkar-Ola, MarGU Publ., 2008. 96 p. (in Russian).
  18. Matveyev N. M. *Bioekologicheskii analiz flory i rastitel'nosti (na primere lesostepnoy i stepnoy zon)* [Bioecological analysis of flora and vegetation (on the example of the forest-steppe and steppe zones)]. Samara, Izd-vo Samarskogo un-ta, 2006. 311 p. (in Russian).
  19. POWO (2023). *Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet*. Available at: <http://www.plantsoftheworldonline.org/> (accessed 07 February 2023).
  20. Magurran A. E. *Measuring Biological Diversity*. Oxford, Blackwell Science Ltd., 2004. 256 p.
  21. Ganamé M., Bayen P., Ouédraogo I., Dimobe K., Thiombiano A. Woody species composition, diversity and vegetation structure of two protected areas along a climatic gradient in Burkina Faso (West Africa). *Folia Geobotanica*, 2019, no. 54, pp. 163–175. <https://doi.org/10.1007/s12224-019-09340-9>



22. Filimonova E., Lukina N., Glazyrina M., Borisova G., Tripti K. A., Maleva M. A comparative study of *Epipactis atrorubens* in two different forest communities of the Middle Urals, Russia. *Journal of Forestry Research*, 2020, vol. 31, iss. 6, pp. 2111–2120. <https://doi.org/10.1007/s11676-019-01010-y>
23. Fournier T., Fe`vre J., Carcaillet F., Carcaillet C. For a few years more: reductions in plant diversity 70 years after the last fire in Mediterranean forests. *Plant Ecology*, 2020, vol. 221, pp. 559–576. <https://doi.org/10.1007/s11258-020-01034-z>
24. Hongrui Z., Qingfan M., Yan L., Shengdong L., Shiming L., Yan C. Community diversity of ground-dwelling beetles in secondary oak Forest and its adjacent restored poplar Forest. *Phytoparasitica*, 2020, vol. 48, pp. 727–742. <https://doi.org/10.1007/s12600-020-00838-z>
25. Novakovskiy A. B. A review of the modern programs for the geobotanical analysis. *Vegetation of Russia*, 2006, no. 9, pp. 86–95 (in Russian).
26. Shitikov V. K., Rozenberg G. S., Zinchenko T. D. *Kolichestvennaya gidroekologiya: metody sistemnoy identifikatsii* [Quantitative hydroecology: Methods of systemic identification]. Togliatti, IEVB Publ., 2003. 463 p. (in Russian).
27. Korňan M. Potential negative effects of construction of a high-mountain ski resort in the High Tatras, Slovakia, on breeding bird assemblages. *Community Ecology*, 2020, vol. 21, pp. 213–226. <https://doi.org/10.1007/s42974-020-00018-3>
28. Novakovskiy A. B. Interaction between Excel and statistical package R for ecological data analysis. *Vestnik Instituta biologii Komi NC UrO RAN*, 2016, no. 3 (197), pp. 26–33 (in Russian). [https://doi.org/10.31140/j.vestnikib.2016.3\(197\).4](https://doi.org/10.31140/j.vestnikib.2016.3(197).4)
29. Koch L. F. Index of biotal dispersity. *Samarskaya Luka: Problems of Regional and Global Ecology*, 2013, vol. 22, no. 2, pp. 181–188 (in Russian).
30. Semkin B. I., Gorshkov M. V. On the role of A. P. Shennikov in the development of quantitative evaluation of differentiating diversity of plant communities. *Contemporary Problems of Ecology*, 2014, no. 7, pp. 501–504. <https://doi.org/10.1134/S1995425514050126>

Поступила в редакцию 20.01.23; одобрена после рецензирования 23.01.23; принята к публикации 27.01.23  
The article was submitted 20.01.23; approved after reviewing 23.01.23; accepted for publication 27.01.23



**Подписка на печатную версию**

Подписной индекс издания 36013

Оформить подписку на печатную версию  
можно в интернет-каталоге

ГК «Урал-Пресс» ([ural-press.ru](http://ural-press.ru))

Журнал выходит 4 раза в год

Цена свободная

Электронная версия журнала находится  
в открытом доступе ([ichbe.sgu.ru](http://ichbe.sgu.ru))

**Адрес Издательства**

**Саратовского университета (редакции):**

410012, Саратов, Астраханская, 83

**Тел.:** +7 (845-2) 51-45-49, 52-26-89

**Факс:** +7 (845-2) 27-85-29

**E-mail:** [publ@sgu.ru](mailto:publ@sgu.ru), [izdat@sgu.ru](mailto:izdat@sgu.ru)

**Адрес редколлегии серии:**

410012, Саратов, Астраханская, 83,

СГУ имени Н. Г. Чернышевского,  
биологический факультет

**Тел./факс:** +7 (845-2) 22-51-38

**E-mail:** [ichbe-sgu@yandex.ru](mailto:ichbe-sgu@yandex.ru)

**Website:** <https://ichbe.sgu.ru>

ISSN 1816-9775

23001



9 771816 977503

ISSN 1816-9775 (Print). ISSN 2541-8971 (Online)  
Известия Саратовского университета. Новая серия.  
Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Том 23, выпуск 1

## ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА Новая серия

- Серия: Акмеология образования. Психология развития
- Серия: История. Международные отношения
- Серия: Математика. Механика. Информатика
- Серия: Науки о Земле
- Серия: Социология. Политология
- Серия: Физика
- Серия: Филология. Журналистика
- Серия: Философия. Психология. Педагогика
- Серия: Химия. Биология. Экология**
- Серия: Экономика. Управление. Право

