

TABLE OF CONTENTS

FIRST-PRINCIPLES STUDY OF STRUCTURAL, ELECTRONIC AND PHONON PROPERTIES OF OsSi IN THE B2 STRUCTURE Nihat Arikan	9
STRUCTURAL, ELECTRONIC AND PHONON PROPERTIES OF YPb₃ Nihat Arikan	14
THE EXAMINATION OF PERIPHERAL BLOOD CELLS OF <i>ALBURNOIDES BIPUNCTATUS</i> (BLOCH, 1782) FROM KIZILIRMAK RIVER, TURKEY Muhammet Gaffaroğlu, Aysun Güler Kanter	19
RESEARCH ON THE PERIPHERAL BLOOD CELLS OF <i>CAPOETA BALIKI</i> TURAN, KOTTELAT, EKMEKCI & IMAMOGLU, 2006 FROM KIZILIRMAK RIVER, TURKEY Muhammet Gaffaroğlu, Aysun Güler Kanter	22
C-BANDING PROPERTIES OF <i>PSEUDORASBORA PARVA</i> (TEMMINCK AND SCHLEGEL 1846) (TELEOSTEI: CYPRINIDAE) FROM BURDUR PROVINCE, TURKEY Muhammet Gaffaroğlu, Muradiye Karasu Ayata, Sevgi Ünal	25
THE ANALYSIS OF NUCLEOLUS ORGANIZER REGIONS IN <i>PSEUDORASBORA PARVA</i> (TEMMINCK AND SCHLEGEL 1846) (TELEOSTEI: CYPRINIDAE) FROM BURDUR PROVINCE, TURKEY Muradiye Karasu Ayata, Sevgi Ünal, Muhammet Gaffaroğlu	28
CONSTITUTIVE HETEROCHROMATIN PATTERNS OF <i>SALARIA FLUVIATILIS</i> (ASSO, 1801) (TELEOSTEI: BLENNIDAE) FROM CEYHAN RIVER, OSMANIYE, TURKEY Sevgi Unal, Muradiye Karasu Ayata, Muhammet Gaffaroğlu	31
THE INVESTIGATION OF NUCLEOLUS ORGANIZER REGION IN <i>SALARIA FLUVIATILIS</i> (ASSO, 1801) (TELEOSTEI: BLENNIDAE) FROM CEYHAN RIVER, OSMANIYE, TURKEY Muhammet Gaffaroğlu, Sevgi Unal, Muradiye Karasu Ayata	34
MICROMYCETOUS FUNGI ASSOCIATED WITH ALDER (<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertner subsp. <i>glutinosa</i>) IN ISTRANCA MOUNTAIN (TURKEY – BULGARIAN SIDE) Faruk Selçuk	37
MICROMYCETOUS FUNGI ASSOCIATED WITH LINDEN (<i>Tilia argentea</i> Desf. ex DC.) IN ISTRANCA MOUNTAIN (TURKEY–BULGARIAN SIDE) Faruk Selçuk	41
THE EFFECTS OF PESTICIDE NEEMAZAL ON THE GROWTH HORMONE (GH) AND INSULIN-LIKE GROWTH HORMONE (IGF-1) OF CARP FISH (<i>Cyprinus Carpio</i>, 1758 L.) İbrahim Örün Nuh Korkmaz	45
THERMOELECTRIC COOLING SYSTEM WITH TWO PELTIER MODULES Ivaylo Belovski	54
PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF NEW ALGINIC ACIDS DERIVATIVES Dilyana Murdzheva, Ivelina Vasileva, Nadezhda Petkova, Ivan Ivanov, Mina Todorova, Panteley Denev	59
SELECTIVE ABSORPTION OF H₂S FROM HYDROCARBON GASES – CONSTRUCTIVE AND TECHNOLOGICAL SOLUTIONS TO REDUCE LOSS OF ABSORBENTS Desislava Koleva, Adriana Georgieva, Zhivko Zhelyazkov, Zhivko Ivanov	67
POLYPHENOLICS CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF COMMERCIALY AVAILABLE DATES (<i>PHOENIX DACTYLIFERA</i>) Ivan Ivanov, Nadezhda Petkova, Panteley Denev	75
TRANS FATTY ACIDS, BIOLOGICALLY ACTIVE AND ANTICARCINOGENIC SUBSTANCES IN COW'S MILK AND YOGURT Silviya Ivanova, Ljubomir Angelov, Tzonka Odjakova, Dimitar Gadjev	80

BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN COW'S MILK AND YELLOW CHEESE	83
Silviya Ivanova, Ljubomir Angelov	
EVALUATION OF IN SILICO APPROACH FOR IDENTIFICATION OF ESTROGEN RECEPTOR LIGANDS FROM CHEMICAL INVENTORIES	87
Milen Todorov	
IN SILICO PREDICTION OF THE MUTAGENIC POTENTIAL OF FLAVOR CHEMICALS	94
Milen Todorov	
EVALUATION OF EXTRACTS FROM NETTLE (<i>URTICA DIOICA</i>) ROOTS AND ARTICHOKE FLOWER HEADS (<i>CYNARA SCOLYMUS L.</i>) OBTAINED BY ULTRASOUND AND MICROWAVE IRRADIATION	100
Nadezhda Petkova, Ivan Ivanov, Panteley Denev	
DETERMINATION OF SELENIUM IN ENVIRONMENTAL SAMPLES USING TOLUIDINE BLUE AND SAFRANINE O AS NEW REAGENTS	104
Chand Pasha, Badiadka Narayana, Krasimira Stancheva	
SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF COPPER IN DRINKING WATERS USING FUCHSINE AS NEW REAGENT	110
Krasimira Stancheva, Chand Pasha	
RISK ASSESSMENT OF A PLANT FOR VINERY PRODUCTION „BLACK SEA GOLD”, POMORIE	115
Plamena Atanasova, Sabina Nedkova, Petranka Pipeva, Donka Ruseva	
STUDY OF GASOLINE MIXTURES	122
Yordanka Tasheva, Anton Palichev, Todor Palichev	
IMPLEMENTATION OF ECOLOGICAL DESIGN IN GREEN URBAN CONSTRUCTION	127
Tihomir Dovramadjiev	
CREATION OF ARCHITECTURE - SUSTAINABLE LANDSCAPE DESIGN CONSISTENT WITH URBAN ENVIRONMENT	130
Tihomir Dovramadjiev	
UTILIZATION OF WASTE POLY(ETHYLENE TEREPHTHALATE) AND CRUDE GLYCEROL FOR PREPARATION OF UNSATURATED POLYESTER RESINS	134
Nikola Todorov	
POLYPHENOLIC CONTENT, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF LEAF EXTRACTS FROM DANDELION (<i>TARAXACUM OFFICINALE</i>)	141
Yulian Tumbarski, Nadezhda Petkova, Ivan Ivanov	
STUDY ON DIBROMOBIS(BENZIMIDAZOLE)Co(II) COMPLEX. I. MOLECULAR STRUCTURE AND VIBRATIONAL ANALYSIS	146
Rumyana Yankova	
STUDY ON DIBROMOBIS(BENZIMIDAZOLE) Co(II) COMPLEX. II. NATURAL BOND ORBITAL (NBO) POPULATION ANALYSIS	151
Rumyana Yankova	
DETERMINATION OF EMISSIONS FROM TECHNOLOGICAL EQUIPMENT IN PETROLEUM REFINING	155
Adriana Georgieva, Krasi Panayotova, Desislava Koleva, Jivko Ivanov	
INFLUENCE OF THE NATURE OF ACTIVATION REAGENT AND TEMPERATURE ON THE POROUS STRUCTURE OF RICE HUSKS ASH	162
Lenia Gonsalvesh, Radina Ognyanova, Lyubomir Vlaev	
CONDITION OF THE QUALITY OF THE AIR IN PAZARDJIK AS AN INDICATOR FOR ECOLOGICAL SECURITY	171
Mariya Gyulemetova	
GELATINE COMPOSITES FOR APPLICATION IN REGENERATIVE MEDICINE	176
Tanya Dimova	

STUDY OF AMENDING OF THE SPECIFIC INTERFACIAL AREA BY RECTIFICATION OF A MIXTURES WITH DIFFERENT SURFACE TENSION OF PURE COMPONENTS Zhivko Ivanov, Adriana Georgieva, Dobrin Gerogiev, Krasi Panayotova	188
ANALYZING THE NEED OF AN E-FACILITATOR IN MODERN SOCIETY Desislava Ivanova, Veselina Bureva, Stanislav Simeonov, Radoslav Yoshinov	192
OPTIMIZATION OF THE DIETARY PROPERTIES OF SAUSAGES USING BACTERIAL ENZYME PREPARATION Diana Indzhelieva	201
STABILITY OF POLYETHYLENE, POLYPROPYLENE AND POLYETHYLENE OXIDE FOILS UNDER EXPOSURE TO UV- LIGHT Dimitrina Kiryakova, Atanas Atanassov, Antoniya Ilieva	205
THERMOGRAVIMETRIC ANALYSIS OF POLYETHYLENE OXIDE FILMS IRRADIATED WITH UV LIGHT Mariana Tavlieva, Dimitrina Kiryakova, Atanas Atanassov	210
METHODS FOR DETERMINATION OF DAILY AMOUNT OF TOTAL SOLAR RADIATION Zdravka Nikolaeva	218
QUANTUM CHEMICAL CALCULATION OF TRANSITION METAL COMPLEXES WITH N,N – DIMETHYLBENZYLAMINE Viktoriya Trifonova, Emilya Ivanova, Sevdalina Turmanova, Krassimir Vassilev	226
EFFECT OF TEMPERATURE IN REPUBLIC OF BULGARIA ON THE EMISSION FROM ORGANIC LIQUID STORAGE TANKS Radostin Kutsarov, Ivan Chobanov	232
EFFECT OF WIND SPEED IN REPUBLIC OF BULGARIA ON THE EVAPORATION OF ORGANIC COMPOUNDS FROM WATER SURFACE Radostin Kutsarov, Ivan Chobanov	238
HE STRIPPING - VOLTAMMEETRIC DETERMINATION OF THE HEAVY METALS IN SOILS Dencho Stanev	243

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗСЛЕДВАНЕ СПОРЕД ПЪРВИЯ ПРИНЦИП НА СТРУКТУРНИТЕ, ЕЛЕКТРОННИТЕ И ФОНОННИТЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА OsSi В СТРУКТУРА B2 Нихат Арикан	9
СТРУКТУРНИ, ЕЛЕКТРОННИ И ФОНОННИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА URb₃ Нихат Арикан	14
ИЗСЛЕДВАНЕ НА ПЕРИФЕРНИТЕ КРЪВНИ КЛЕТКИ НА ALBURNOIDES VIPUNCTATUS (BLOCH, 1782) ОТ РЕКА КЪЗЪЛЪРМАК, ТУРЦИЯ Мухамет Гафаролу, Айсун Гюлер Кантер	19
ИЗСЛЕДВАНЕ НА ПЕРИФЕРНИТЕ КРЪВНИ КЛЕТКИ НА SAPOETA BALIKI TURAN, KOTTELAT, ЕКМЕКСИ & ИМАМОГЛУ, 2006 ОТ РЕКА КЪЗЪЛЪРМАК, ТУРЦИЯ Мухамет Гафаролу, Айсун Гюлер Кантер	22
С-ЛЕНТОВИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА PSEUDORASBORA PARVA (TEMMINCK AND SCHLEGEL 1846) (TELEOSTEI: CYPRINIDAE) ОТ ОБЛАСТ БУРДУР, ТУРЦИЯ Мухамет Гафаролу, Мурадией Карасу Ауата, Севги Юнал	25
АНАЛИЗ НА ОБЛАСТИТЕ НА ЯДЕРЦЕВИЯ ОРГАНИЗАТОР НА PSEUDORASBORA PARVA (TEMMINCK AND SCHLEGEL 1846) (TELEOSTEI: CYPRINIDAE) ОТ ОБЛАСТ БУРДУР, ТУРЦИЯ Мурадией Карасу Ауата, Севги Юнал, Мухамет Гафаролу	28
СЪСТАВНИ ХЕТЕРОХРОМАТИННИ СТРУКТУРИ НА SALARIA FLUVIATILIS (ASSO, 1801) (TELEOSTEI: BLENNIIDAE) ОТ РЕКА ДЖЕЙХАН, ОСМАНИЕ, ТУРЦИЯ Севги Юнал, Мурадией Карасу Айата, Мухамет Гафаролу	31
ИЗСЛЕДВАНЕ НА ОБЛАСТТА НА ЯДЕРЦЕВИЯ ОРГАНИЗАТОР НА SALARIA FLUVIATILIS (ASSO, 1801) (TELEOSTEI: BLENNIIDAE) ОТ РЕКА ДЖЕЙХАН, ОСМАНИЕ, ТУРЦИЯ Мухамет Гафаролу, Севги Юнал, Мурадией Карасу Айата	34
MICROMYCETOUS FUNGI СВЪРЗАНИ С ALDER (<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertner subsp. <i>glutinosa</i>) В СТРАНДЖА ПЛАНИНА (ТУРСКО-БЪЛГАРСКИ РЕГИОН) Фарук Селджук	37
MICROMYCETOUS FUNGI СВЪРЗАНИ С LINDEN (<i>Tilia argentea</i> Desf. ex DC.) В СТРАНДЖА ПЛАНИНА (ТУРСКО-БЪЛГАРСКИ РЕГИОН) Фарук Селджук	41
ВЛИЯНИЕ НА ПЕСТИЦИДА НЕЕМАЗАЛ ВЪРХУ ХОРМОНИТЕ НА РАСТЕЖА (GH) И ИНСУЛИНОВИТЕ ХОРМОНИ НА РАСТЕЖА (IGF-1) НА ШАРАНИТЕ (<i>Cyprinus Carpio</i>, 1758 L.) Ибрахим Йорюн, Нух Коркмаз	45
ТЕРМОЕЛЕКТРИЧЕСКА ОХЛАДИТЕЛНА СИСТЕМА С ДВА МОДУЛА НА ПЕЛТИЕ Ивайло Беловски	54
ФИЗИКОХИМИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА НОВИ ДЕРИВАТИ НА АЛГИНОВИТЕ КИСЕЛИНИ Диляна Мурджева, Ивелина Василева, Надежда Петкова, Иван Иванов, Мина Тодорова, Пантелей Денев	59
СЕЛЕКТИВНА АБСОРБЦИЯ НА H₂S ОТ ВЪГЛЕВОДОРОДНИ ГАЗОВЕ – КОНСТРУКТИВНО ТЕХНОЛОГИЧНИ РЕШЕНИЯ ЗА НАМАЛЯВАНЕ НА ЗАГУБИТЕ НА АБСОРБЕНТ Десислава Колева, Адриана Георгиева, Живко Желязков, Живко Иванов	67
ПОЛИФЕНОЛЕН СЪСТАВ И АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНОСТ НА ПЛОДОВЕ ОТ ФИНИКОВА ПАЛМА (<i>PHOENIX DACTYLIFERA</i>), ПРЕДЛАГАНИ В ТЪРГОВСКАТА МРЕЖА Иван Иванов, Надежда Петкова, Пантелей Денев	75
ТРАНС МАСТНИ КИСЕЛИНИ, БИОЛОГИЧНОАКТИВНИ И АНТИКАНЦИРОГЕННИ ВЕЩЕСТВА В КРАВЕ ПРЯСНО И КИСЕЛО МЛЯКО Силвия Иванова, Любомир Ангелов, Цонка Оджакова, Димитър Гаджев	80

БИОЛОГИЧНОАКТИВНИ ВЕЩЕСТВА В КРАВЕ МЛЯКО И КАШКАВАЛ Силвия Иванова, Любомир Ангелов	83
ОЦЕНКА НА КОМПЮТЪРЕН ПОДХОД ЗА ИДЕНТИФИЦИРАНЕ НА ЕСТРОГЕННО АКТИВНИ ЛИГАНДИ ОТ ХИМИЧНИ БАЗИ ДАННИ Милен Тодоров	87
ПРОГНОЗИРАНЕ НА МУТАГЕНЕН ЕФЕКТ НА ОВКУСИТЕЛИ ЧРЕЗ КОМПЮТЪРНИ МЕТОДИ Милен Тодоров	94
ОЦЕНКА НА ЕКСТРАКТИТЕ ОТ КОРЕНИ ОТ КОПРИВА (<i>URTICA DIOICA</i>) И ЦВЕТОВЕ ОТ АРТИШОК (<i>CYNARA SCOLYMUS L.</i>), ПОЛУЧЕНИ ЧРЕЗ УЛТРАЗВУКОВО И МИКРОВЪЛНОВО ОБЛЪЧВАНЕ Надежда Петкова, Иван Иванов, Пантелей Денев	100
ОПРЕДЕЛЯНЕ НА СЕЛЕН В ПРИРОДНИ ОБЕКТИ ИЗПОЛЗВАЙКИ ТОЛУИДИН БЛУ И САФРАНИН О КАТО НОВИ РЕАГЕНТИ Чанд Паша, Бадиадка Нараяна, Красимира Станчева	104
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА МЕД В ПИТЕЙНИ ВОДИ, ИЗПОЛЗВАЙКИ ФУКСИН КАТО НОВ РЕАГЕНТ Красимира Станчева, Чанд Паша	110
ОЦЕНКА НА РИСКА В ЦЕХ ЗА ПЪРВИЧНО ВИНОПРОИЗВОДСТВО „ЧЕРНОМОРСКО ЗЛАТО“ АД, ГР. ПОМОРИЕ Пламена Атанасова, Сабина Недкова, Петранка Пипева, Донка Русева	115
ИЗСЛЕДВАНЕ НА БЕНЗИНОВИ СМЕСИ Йорданка Ташева, Антон Паличев, Тодор Паличев	122
ПРИЛОЖЕНИЕ НА ЕКОЛОГИЧНИЯТ ДИЗАЙН В ЗЕЛЕНОТО ГРАДСКО СТРОИТЕЛСТВО Тихомир Доврамаджиев	127
СЪЗДАВАНЕ НА АРХИТЕКТУРНО - ЛАНДШАФТЕН УСТОЙЧИВ ДИЗАЙН, СЪОБРАЗЕН С ГРАДСКАТА СРЕДА Тихомир Доврамаджиев	130
ОПОЛЗОТВОРЯВАНЕ НА ОТПАДЪЧЕН ПОЛИЕТИЛЕН ТЕРЕФТАЛАТ И СУРОВ ГЛИЦЕРОЛ ПРИ ПОЛУЧАВАНЕТО НА НЕНАСИТЕНИ ПОЛИЕСТЕРИ Никола Тодоров	134
ПОЛИФЕНОЛНО СЪДЪРЖАНИЕ, АНТИОКСИДАНТНИ СВОЙСТВА И АНТИМИКРОБНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ЕКСТРАКТ ОТ ЛИСТА НА ГЛУХАРЧЕ (<i>TARAXACUM OFFICINALE</i>) Юлиан Тумбарски, Надежда Петкова, Иван Иванов	141
ИЗСЛЕДВАНЕ НА ДИБРОМОБИС(БЕНЗИМИДАЗОЛ)СО(II) КОМПЛЕКС I. МОЛЕКУЛНА СТРУКТУРА И ВИБРАЦИОНЕН АНАЛИЗ Румяна Янкова	146
ИЗСЛЕДВАНЕ НА ДИБРОМОБИС(БЕНЗИМИДАЗОЛ)СО(II) КОМПЛЕКС II. АНАЛИЗ НА ЕСТЕСТВЕНИТЕ МОЛЕКУЛНИ ОРБИТАЛИ Румяна Янкова	151
ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЕМИСИИТЕ ОТ ТЕХНОЛОГИЧНОТО ОБОРУДВАНЕ ПРИ НЕФТОПРЕРАБОТКА Адриана Георгиева, Краси Панайотова, Десислава Колева, Живко Иванов	155
ВЛИЯНИЕ НА ПРИРОДАТА НА АКТИВАТОРА И ТЕМПЕРАТУРАТА ВЪРХУ ПОРИСТАТА СТРУКТУРА НА ПЕПЕЛ ОТ ОРИЗОВИ ЛЮСПИ Ления Гонсалвеш, Радина Огнянова, Любомир Влаев	162
СЪСТОЯНИЕ НА КАЧЕСТВО НА ВЪЗДУХА В ГРАД ПАЗАРДЖИК КАТО ИНДИКАТОР ЗА ЕКОЛОГИЧНА СИГУРНОСТ Мария Гюлеметова	171

ЖЕЛАТИНОВИ КОМПОЗИТИ С ПРИЛОЖЕНИЕ В РЕГЕНЕРАТИВНАТА МЕДИЦИНА Таня Димова	176
ИЗСЛЕДВАНЕ ИЗМЕНЕНИЕТО НА СПЕЦИФИЧНАТА МЕЖДУФАЗОВА ПОВЪРХНОСТ ПРИ РЕКТИФИКАЦИЯ НА СМЕСИ С РАЗЛИЧНО ПОВЪРХНОСТНО НАПРЕЖЕНИЕ НА ЧИСТИТЕ КОМПОНЕНТИ Живко Иванов, Адриана Георгиева, Добрин Георгиев, Краси Панайотова	188
АНАЛИЗИРАНЕ НЕОБХОДИМОСТТА ОТ Е-ФАСИЛИТАТОР В СЪВРЕМЕННОТО ОБЩЕСТВО Десислава Иванова, Веселина Бурева, Станислав Симеонов, Радослав Йошинов	192
ОПТИМИЗИРАНЕ НА ДИЕТИЧНИТЕ КАЧЕСТВА НА КОЛБАСИ ЧРЕЗ ИЗПОЛЗВАНЕ НА БАКТЕРИАЛЕН ЕНЗИМЕН ПРЕПАРАТ Диана Инджелиева	201
СТАБИЛНОСТ НА ФОЛИА ОТ ПОЛИЕТИЛЕН, ПОЛИПРОПИЛЕН И ПОЛИЕТИЛЕН ОКСИД ПРИ ЕКСПОЗИЦИЯ С УВ- СВЕТЛИНА Димитрина Кирякова, Атанас Атанасов, Антония Илиева	205
ТЕРМОГРАВИМЕТРИЧЕН АНАЛИЗ НА ФОЛИА ОТ ПОЛИЕТИЛЕН ОКСИД, ОБЛЪЧЕНИ С УЛТРАВИОЛЕТОВА СВЕТЛИНА Мариана Тавлиева, Димитрина Кирякова, Атанас Атанасов	210
МЕТОДИКИ ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ДНЕВНИТЕ СУМИ НА СУМАРНАТА СЛЪНЧЕВА РАДИАЦИЯ Здравка Николаева	218
КВАНТОВО-ХИМИЧНИ ИЗЧИСЛЕНИЯ НА КОМПЛЕКСИ НА ПРЕХОДНИ МЕТАЛИ С <i>N,N</i>-ДИМЕТИЛБЕНЗИЛАМИН Виктория Трифонова, Емилия Иванова, Севдалина Турманова, Красимир Василев	226
ВЛИЯНИЕ НА ТЕМПЕРАТУРАТА В РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ ВЪРХУ ЕМИСИИТЕ ОТДЕЛЯНИ ОТ РЕЗЕРВОАРИ ЗА СЪХРАНЕНИЕ НА ОРГАНИЧНИ ТЕЧНОСТИ Радостин Куцаров, Иван Чобанов	232
ВЛИЯНИЕ НА СКОРОСТТА НА ВЕТРОВЕТЕ В РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ ВЪРХУ ИЗПАРЯВАНЕТО НА ОРГАНИЧНИ ВЕЩЕСТВА ОТ ВОДНА ПОВЪРХНОСТ Радостин Куцаров, Иван Чобанов	238
ИНВЕРСИОННО - ВОЛТАМПЕРОМЕТРИЧНО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ТЕЖКИ МЕТАЛИ В ПОЧВИ Денчо Станев	



FIRST-PRINCIPLES STUDY OF STRUCTURAL, ELECTRONIC AND PHONON PROPERTIES OF OsSi IN THE B2 STRUCTURE

Nihat Arikan

ИЗСЛЕДВАНЕ СПОРЕД ПЪРВИЯ ПРИНЦИП НА СТРУКТУРНИТЕ, ЕЛЕКТРОННИТЕ И ФОНОННИТЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА OsSi В СТРУКТУРА B2

Нихат Арикан

ABSTRACT: Using density functional theory, structural, electronic and phonon properties of OsSi compound in the B2 structure have been reported density functional theory within the generalized gradient approximation. The lattice constant, bulk modulus and its pressure derivative are evaluated and compared with the available experimental and theoretical data. The electronic band structure, electronic total and partial densities of states of OsSi compound is computed and analyzed in comparison with the existing findings. The calculated density of states shows that OsSi in the B2 structure is metallic. A linear-response approach to the density functional theory is used to derive phonon dispersion curves and the total and partial density of states for OsSi in the B2 structure. The high-frequency region of OsSi is mainly due to the vibrations of Si atoms.

Key words: DFT, ab initio, band structure, phonon, intermetallic

1. Introduction

Intermetallic compounds are of interest because of their high melting point, oxidation resistance and strength at high temperatures and their superconducting properties [1, 2]. Osmium is one of hard metal belonging to the platinum group with very low compressibility, high melting temperature and high bulk modulus. Like other elements in the platinum group metal (Rh, Ru, Pd, Pt, Ir), osmium has a high catalytic potential for a variety of chemical reactions. The structural, electronic, elastic, dynamical, transport, thermal and thermodynamic properties of this material in the different structures have been studied using different theoretical and experimental methods [3–11]. The electronic and dynamical properties of OsSi in the FeSi-type (B20) structure have been studied using ABINIT code by Zhao *et al.* [3]. First-principle study of structural, elastic and electronic properties of B20 structure OsSi compound has been studied by Jin *et al.* [4]. Xu and Verstraete [5] have reported transport properties of Os and OsSi in the B20 structure. Holl *et al.* [6] have measured transport properties of RuSi, RuGe and OsSi compounds in the FeSi-type cubic B20 structure using experimental techniques. The structural and electronic properties of RuSi, RuGe and OsSi compounds in the FeSi-type structure have

been investigated using first-principle density functional calculations by Guo-Min *et al.* [7]. The structural stability and enthalpies of formation of OsSi in the Cesium chloride (B2) structure have been investigated using first principles calculation by Xing *at al.* [8]. Minisini *et al.* [9] have carried out first-principle studies of elastic and thermodynamical properties of OsSi, OsSi₂ and Os₂Si₃ using VASP code, with the projected augmented wave method as implemented in the MedeA interface. The first-principle study on structural, elastic, electronic and thermal properties of B2-type structure OsSi compound has been performed using FP-LAPW method by Acharya *et al.* [10]. They indicated that OsSi compound is elastically stable in B2 structure, and the electronic band structures of OsSi shows the metallic character.

The current work focuses on the theoretical study of the structural and electronic properties of OsSi in the B2 phase, with particular emphasis on phonon properties, by employing the DFT.

The phonon properties are necessary for a microscopic understanding of the lattice dynamics.

It is well known that knowledge of the phonon properties of materials is important due to their closely relations with various material properties such as phase transition, thermodynamic stability, transport and thermal properties. The computed results include total energy, lattice

constant, electronic band structure and their density of states, vibrational properties and temperature dependence of the specific heat at constant volume.

The rest of this paper is organized as follows. After this introduction, a brief description of the computational methods and details are given in section 2. The results of our total energy *ab-initio* calculations are presented and discussed in section 3. I then summarize and conclude in section 4.

2. Method

For our calculations, we use the generalized gradient approximation (GGA) in the scheme of Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE) [12] with a plane wave pseudopotential approach, using the implementations in the Quantum-ESPRESSO package [13]. The wave functions were expanded into plane waves with kinetic energies of up to 40 Ryd. Self-consistent solutions of Kohn-Sham equations were obtained by employing a set of 60 k-points within the irreducible part of the Brillouin-zone. Eight dynamical matrices were calculated on a $4 \times 4 \times 4$ q-point mesh obtain full phonon dispersions and vibrational density of states. The dynamical matrices at the arbitrary wave vectors were evaluated using the Fou-

rier deconvolution on this mesh. Temperature dependence of the constant volume specific heat was calculated using the quasi-harmonic approximation (QHA) [14].

3. Results

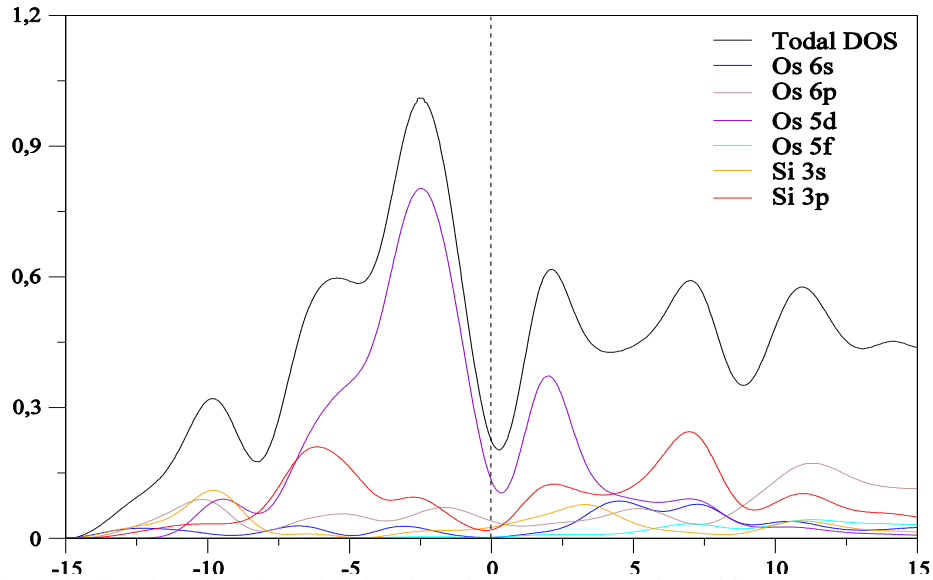
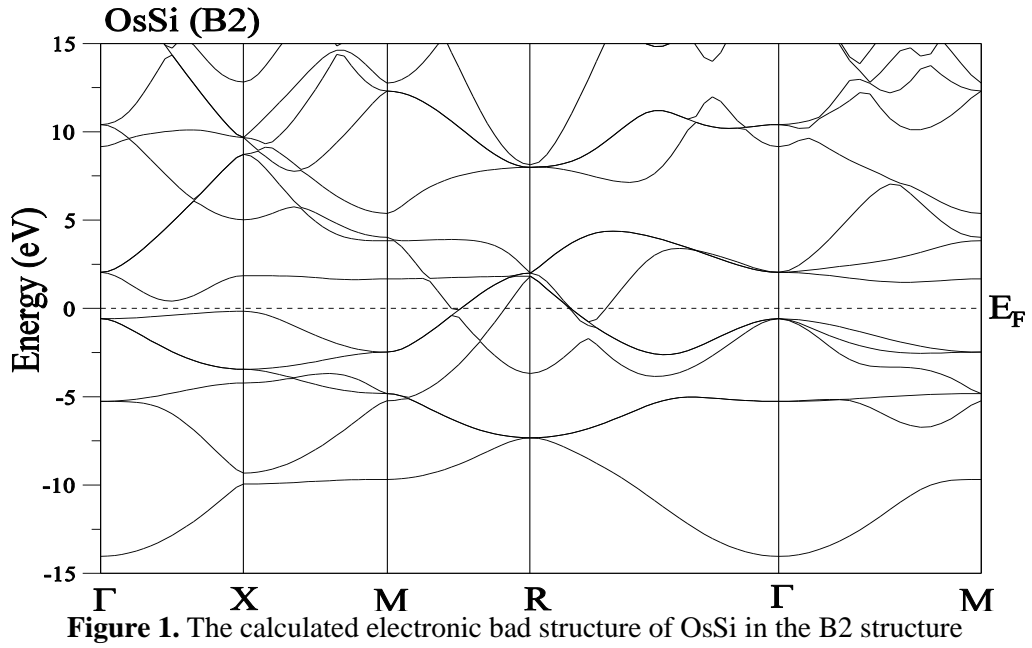
The considered material OsSi compound has been examined in the B2 structure. OsSi is crystallized in the CsCl (B2)-type structure with the Pm3m space group. The primitive cell of OsSi in the B2 structure contains two atoms. The two atoms have coordinates $\tau_{Os} = (0, 0, 0)$ and $\tau_{Si} = (0.5, 0.5, 0.5)$. As the first step, the equilibrium lattice constant has been determined by minimizing the total energy with respect to different values of the lattice constant. Then, the total energy volume data are fitted to the Murnaghan equation of state [15] to obtain the equilibrium lattice constant a_0 , bulk modulus B and first-order pressure derivative of the bulk modulus B' . The computed values of a_0 , B and B' for OsSi compound are summarized in Table 1 along with the existing data for the comparison. For OsSi, the resulting lattice constant, $a = 2.954 \text{ \AA}$, and bulk modulus, $B = 267.3 \text{ GPa}$, agree well with previous theoretical calculation [10, 11].

Table 1. The calculated lattice constant (a_0 , in \AA), bulk modulus (B , in GPa), pressure derivative of the bulk modulus (B') of OsSi in the B2 structure.

Materials	Referances	a_0	B	B'	$N(E_F)$
OsSi	This work	2.954	267.3	6.47	0.225
	FP-LAPW [10]	2.96	281	4.52	0.310
	Others [11]	2.96			

The electronic band structures of the B2 structure of OsSi as well as the high symmetry directions in the simple cubic Brillouin zone (BZ), calculated by using the generalized gradient approximation (GGA), are shown in Figure 1, in which $E_F = 0$ is taken. The general trends of the electronic band structure of the OsSi are consistent with the earlier work [16-18]. The computed electronic band structures show that OsSi has a metallic nature. The character of the band states for OsSi compound has been identified by calculating their total and partial densities of states (DOS) (in Figure 2). It is seen that there is no gap at the Fermi level and the total density of

state (DOS), which is $0.225 \frac{\text{states}}{\text{eV cell}}$ for OsSi. For this compound, the computed value [in ref. 10] has been reported that the $N(E_F)$ was $0.31 \frac{\text{states}}{\text{eV cell}}$. The results indicate that the predominant contributions of the density of states at the Fermi level come from the Os 5d states for OsSi. From the computed total and projected DOS of OsSi, it can be seen that there are three peaks above the Fermi level. These peaks are centered about 2 eV, 7 eV and 11 eV, which are mainly dominated by Os 5d, Si 3p and Os 6p states, respectively.



The phonon dispersion curves and phonon density of states (partial and total) for OsSi the B2 structure are illustrated in Figure 3. There are a total of six phonon modes for the entire wave vectors. However, there are two acoustic and two optical modes along the principal symmetry directions Γ -X and M -R- Γ due to degeneracy of the transverse modes in both acoustic and optical modes. This material for the B2 structure is a dynamically stable because it is not a negative value in all phonon frequencies. There is a band gap between the acoustic and optical branches

for OsSi because of the mass difference between Os and Si atoms. The value of the band gap between the acoustic and optic branches of OsSi is about 0.82 THz at the total density of states (DOS). From the phonon partial density of states for AgMg, we can conclude that the optical frequency region is mainly caused by Si atoms, whereas the acoustic frequency region is mainly caused by Os and small contribution of Si for OsSi. The zone center optical phonon mode for OsSi has been calculated to be 6.81 THz. The phonon properties for this material will be useful for the interpretations of experimental studies.

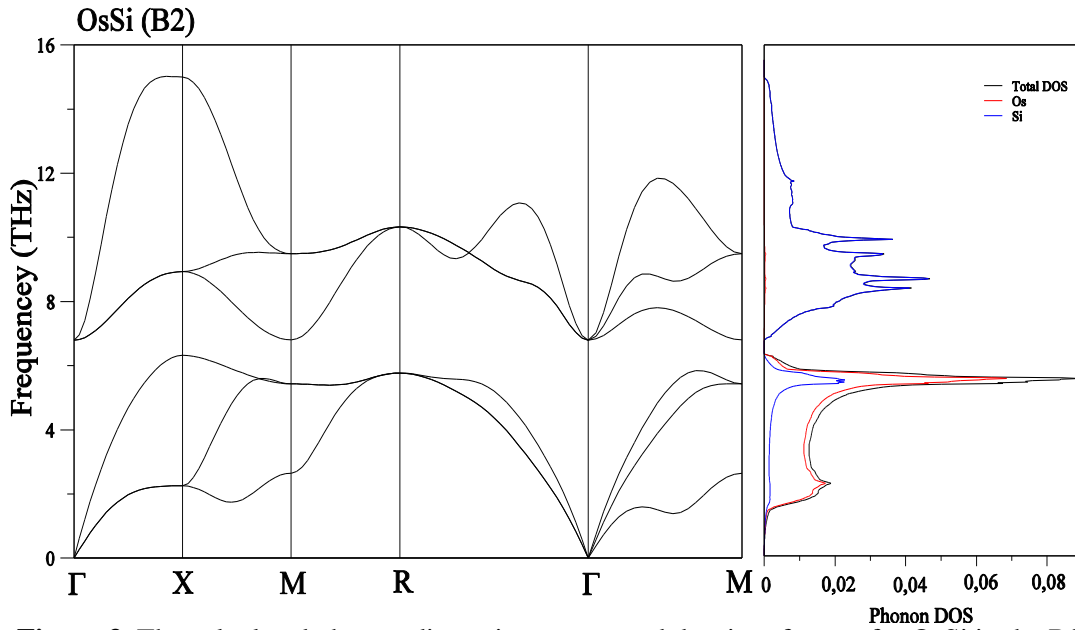


Figure 3. The calculated phonon dispersion curves and density of states for OsSi in the B2 structure.

Figure 4 shows the calculated specific heat capacity at constant volume (C_v) of OsSi compound a function of temperature. The C_v increases rapidly in the range 0–250 K before it starts to saturate. Calculated specific heat capacity C_v is very close to the Dulong–Petit limit [19], which is commonly satisfied with all solids at high

temperatures. For this material, the C_v functions flatten out as the temperature increases above 300K. The optic and acoustic modes have large effects on the heat capacity.

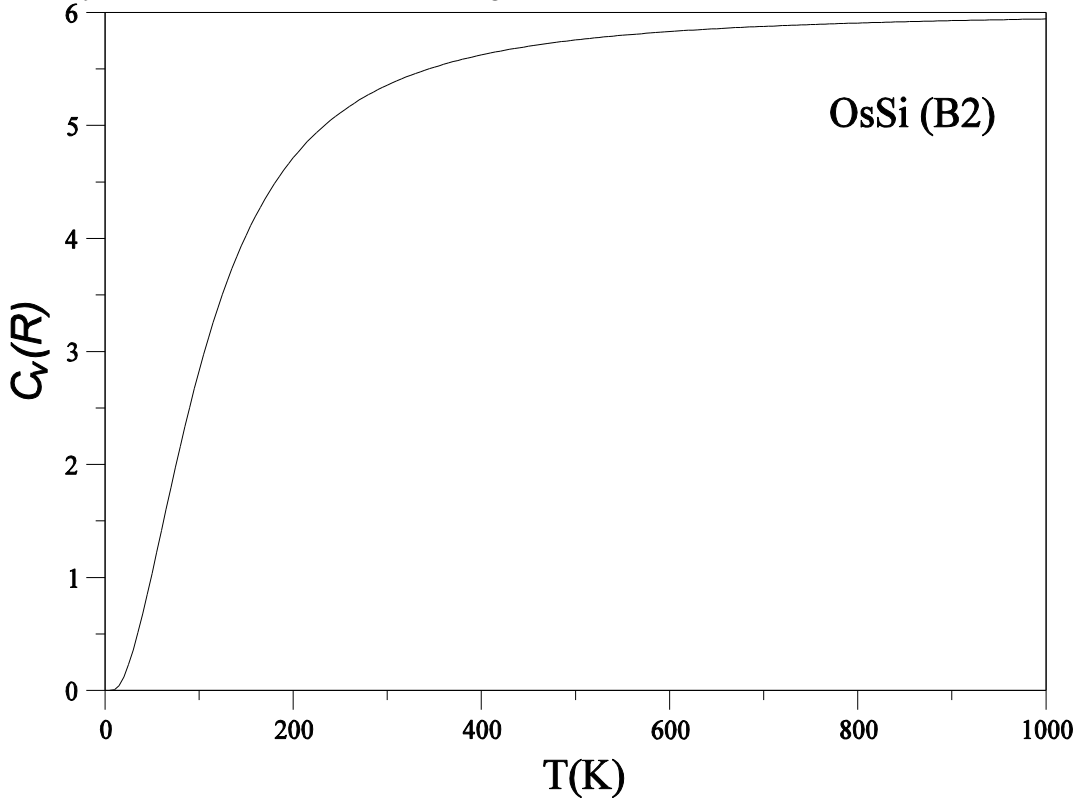


Figure 4. The calculated specific heat capacity at constant volume versus temperature for the OsSi in the B2 structure

4. Conclusion

In this paper, the structural, electronic, and phonon properties of OsSi compound, using the *ab-initio* pseudopotential method within the GGA of the DFT have been studied. The equilibrium lattice constants, bulk modulus, and first-order pressure derivative of the bulk modulus for OsSi in the B2 structure have been calculated and compared with the available literature. In the electronic band structure of B2 structure OsSi, it has been found that the Os 5d states mainly contribute to the density of the states that are very close to the Fermi level. The GGA calculations indicate that OsSi compound has a metallic character for the B2 structure. The phonon-dispersion curves and the density of states (total and partial) of OsSi in the several lines of the high symmetry of the Brillouin-zone have been calculated using the density-functional perturbation theory (DFPT). Finally, using the calculated phonon density of states, the specific heat at constant volume versus temperature was determined with QHA.

Acknowledgments

This work was supported by the Ahi Evran University Research Project Unit under Project no: Pyo-EGF.4001.14.003.

References

1. Darolia R. 1991. "Alloys for high-temperature structural applications" *J. Met.*43 (3), pp. 44–49.
2. Busso E.P. and McClintock F. A 1994. "Mechanisms of cyclic deformation of NiAl single crystals at high temperatures" *Acta Metall. Mater.* 42, pp. 3263–3275.
3. Zhao Y. N., Han H. L., Yu Y., Xue W.H., Gao T. 2009. First principles studies of the electronic and dynamical properties of monosilicides MSi (M=Fe, Ru,Os), *EPL* 85 pp. 47005.
4. Jin L.I., Rong-Feng L., Ze-Jin Y., Yang C., Xiang-Dong Y. 2009. "First principles study of structural, elastic and electronic properties of OsSi*", *Commun. Theo. Phys.*, 52 pp. 701-706.
5. Xu B. and Verstraete M.J. 2013. "First-principles study of transport properties in Os and OsSi", *Physical Review B* 87 p. 134302.
6. Hohl H., Ramirez A.P., Goldmann C., Ernst G., Bucher E., 1998 "Transport properties of RuSi, RuGe, OsSi and quasi-binary alloys of these compounds", *Journal of Alloys and Compounds* 278 pp. 39-43.
7. Guo-Min H.E., Shu-Ping L. I., Mei-Chun H. 2001. "Structural and electronic of RuSi, RuGe and OsSi", *Chin. Phys. Lett.* 18 pp. 1389-1391.
8. Xing W., Chen X-Q., Li D., Li Y., Fu C.L., Mechel S.V., Ding X. 2012. "First principles studies of structural stabilities and enthalpies of formation of refractory intermetallics : TM and TM₃ (T= Ti, Zr, Hf; M=Ru, Rh, Pd, Os, Ir, Pt)", *Intermetallics* 28, pp. 16-24.
9. Minisini B., Roetting J., Tsohnang F. 2008. "Elastic and thermal properties of OsSi, OsSi₂ and Os₂Si₃", *Computational Materials Science* 43, pp. 812-817.
10. Acharya N., Fatima B., Chouhan S. S. and Sanyal S. P. 2014. "First principle on structural, electronic and thermal properties of OsAl and OsSi", *Advanced Materials Research* 1047, pp. 71-77.
11. Bardes E. A., Brook G.B. 1992. 7. Ed. "Smithells Metal Reference Book" Butterworth-Heinemann, Oxford.
12. Perdew P., Burke K., Ernzerhof M. 1996. Generalized Gradient Approximation Made Simple *Phys. Rev. Lett.* 77, pp. 3865-3868.
13. Baroni S., dal Corso A., de Gironcoli S., Giannozzi P., Cavazzoni C., Ballabio G., Scandolo S., Chiarotti G., Focher P., Pasquarello A., Laasonen K., Trave A., Car R., Marzari N., Kokalj A. 2016. "Quantum ESPRESSO code" <<http://www.quantum-espresso.org>>.
14. Isaev E.I. 2003 "QHA project", <<http://qeforge.org/qha>>.
15. Murnaghan F.D. 1944. "The Compressibility of Media under Extreme Pressures" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 30 (9), pp. 244-247.
16. Arıkan N., Uğur Ş. 2010. "Electronic and phonon properties of Sc-TM (TM = Ag, Cu, Pd, Rh, Ru) compounds" 47, pp: 668–671.
17. Arıkan N., Bayhan Ü. 2012. "First-principles study of electronic and dynamic properties of AgMg and AgZn" *Solid State Communications* 152, pp. 891-893.
18. Arıkan, N., Charifi, Z., Baaziz, H., Uğur, Ş., Ünver, H., Uğur, G., "Electronic structure, phase stability, and vibrational properties of Ir-based intermetallic compound IrX (X=Al, Sc, and Ga)", *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 77, pp: 126–132.
19. Petit A.T., Dulong P.L. 1819. " Sur quelques points importants de la Theorie de chaleur", *Ann. Chem. Phys.* 10, pp. 395-413.

Nihat ARIKAN

Science Education Department, Ahi Evran University, 40100 Kırşehir-TURKEY.

e-mail: narikan@ahievran.edu.tr



STRUCTURAL, ELECTRONIC AND PHONON PROPERTIES OF YPb₃

Nihat Arikani

СТРУКТУРНИ, ЕЛЕКТРОННИ И ФОНОННИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА YPb₃

Нихат Арикан

ABSTRACT: Using the first-principle “Quantum-ESPRESSO code” based on density functional theory, structural, electronic and phonon properties of YPb₃ in the L1₂ structure have been investigated. The stability analysis and total energy have been calculated using the generalized gradient approximation. The ground states properties of YPb₃ compound such as the equilibrium lattice constant, bulk modulus and its pressure derivative are calculated and compared with available results. The electronic structure and, total and partial density of states (DOS) of YPb₃ are computed and plotted. The electronic band structure and DOS histogram analysis indicated that the YPb₃ has a metallic character. A linear-response approach to the density functional theory is used to derive phonon dispersion curves and the total and partial density of states for YPb₃. The high-frequency region of YPb₃ is mainly due to the vibrations of Y atoms.

Key words: ab-initio, electronic band structure, intermetallics, phonon.

Introduction

Intermetallic compounds AB₃ crystallizing in a cubic L1₂ (AuCu₃) structure with space group Pm3m (221) have attracted much attention because of their extensive applications in the field of industry and technology. YPb₃ compound has the cubic L1₂ structure with yttrium (Y) atoms located at the corner of cube (0, 0, 0) and the lead (Pb) atoms on the face (1/2, 0, 1/2; 1/2, 1/2, 0; 0, 1/2, 1/2). The YPb₃ compound has been studied both experimentally and theoretically [1-8]. The structural, electronic, elastic, optical, thermal and mechanical properties of YPb₃ compound in L1₂ structure have been investigated using FP-LAPW method by Abraham et al. [1]. Ram et al. [2] have studied the electronic structure, Fermi surface and elastic properties under pressure of YPb₃ compound using FP-LAPW method. The effect of a uniform pressure on the magnetic susceptibility of YPb₃ compound has been measured by Baranovskiy et al. [3]. Aoki et al. [4] have observed the de Haas-van Alphen (dHvA) oscillations in YPb₃ on the basis of FLAPW band calculation. The heat capacity measurements on L1₂ YPb₃ compound have been performed by Bucher et al. [5]. The lattice parameters, inter-atomic distance and superconducting transition temperatures of YPb₃ have been measured by Gambino et al. [6]. Havinga et al. [7, 8] have reported the superconducting transition,

temperature susceptibilities and thermoelectric properties of YPb₃ and LaPb₃ compounds. However, relatively less attention has been paid to the phonon properties of YPb₃. The full phonon-dispersion curves are necessary for a microscopic understanding of the lattice dynamics. The aim of this paper is to study the dynamic properties of YPb₃ compound in their L1₂-structure using the density functional theory (DFT) within the generalized gradient approximation (GGA).

Method

First-principle calculations were performed using Quantum-ESPRESSO package [9]. I have employed a plane-wave pseudopotential method in the framework of the density functional theory (DFT) with the generalized gradient approximation (GGA) using the Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE) [10] parameterization for the exchange correlation potential. The electron-ion interaction was described by ultrasoft pseudopotential [11]. The wave functions were expanded in a plane-wave basis set with a kinetic energy cut-off of 40 Ry. The electronic charge density was evaluated up to the kinetic energy cut-off 400 Ry. Brillouin-zone integrations were performed using a 10x10x10 **k** point mesh. Integration up to the Fermi surface was performed using the smearing technique [12] with smearing parameter $\sigma = 0.02$ Ry. Having obtained self-consistent

solutions of Kohn–Sham equations, the lattice-dynamical properties were calculated within the framework of the self-consistent density functional perturbation theory [13, 14]. To obtain complete phonon dispersions and density of states, eight dynamical matrices were calculated on a $4 \times 4 \times 4$ \mathbf{q} -point mesh. The dynamical matrices at arbitrary wave vectors were evaluated using Fourier deconvolution on this mesh. The ground state of each compound was found by minimizing the total energy as a function of the lattice parameter.

Results

The lattice constant of YPb_3 has been studied using its calculated total energy. The calculated total energies have been fitted to the Murnaghan equation of states [16] to obtain lattice constant, bulk modulus and pressure derivative of bulk modulus (B'). The calculated values of a_0 , B and B' of YPb_3 compound in $L1_2$ structure are presented in Table 1 along with the existing theoretical and experimental data for comparison. The obtained structural parameters of considered compound are in excellent agreement with the experimental and theoretical values. The electronic band structure of YPb_3 is obtained using the generalized gradient approximation (GGA) along the higher symmetry direction, and is shown in Figure 1. The band profile of YPb_3 compound is in good agreement with the earlier works [1, 2]. The character of the band states for

this compound has been identified by calculating their total and partial densities of states (DOS) in Figure 2. It is seen that there is no gap at the Fermi level and the total density of state (DOS), which is $2.35 \frac{\text{states}}{\text{eV cell}}$ for YPb_3 . Abraham et al. [1] reported that the $N(E_F)$ for YPb_3 was $2.49 \frac{\text{states}}{\text{eV cell}}$. The results indicate that the predominant contributions of the density of states at the Fermi level come from the Y 4d and Pb 6p states for YPb_3 . Valance and conduction bands overlap significantly at the Fermi level. Consequently, YPb_3 exhibits a metallic character. This compound has four atoms primitive cubic unit cell: there are a total of 12 phonon branches, due to symmetry, the distinct number of phonon branches is reduced along the principal symmetry direction Γ –X and M –R– Γ in the $L1_2$ structure. The experimental data on the phonon spectra of YPb_3 are not yet available. The phonon-dispersion curves and the density of states (partial and total) curves for YPb_3 in the $L1_2$ structure have been plotted in Figure 3. The phonon spectrum of YPb_3 indicates that this compound is dynamically stable, as phonon frequencies ω along all directions are positive. The optical phonon modes at the Zone centre of YPb_3 were calculated to be 3.899, 4.141 and 5.456 THz, respectively. General trends of YPb_3 phonon dispersion curves are consistent with previous works on ScAl_3 [16] and ScRh_3 [17].

Table 1. The calculated lattice constant, bulk modulus and its pressure derivative of the bulk modulus (B') of YPb_3 in the $L1_2$ structure

Material	References	a (Å)	B (GPa)	B'
YPb_3	This work	4.911	49.4	4.21
	FPLAPW [1]	4.885	51.82	4.58
	FPLAPW [2]	4.76	63	--
	Exp. [8]	4.813	--	--
	Exp. [9]	4.818	--	--
	FP-LMTO [3]	--	53	--

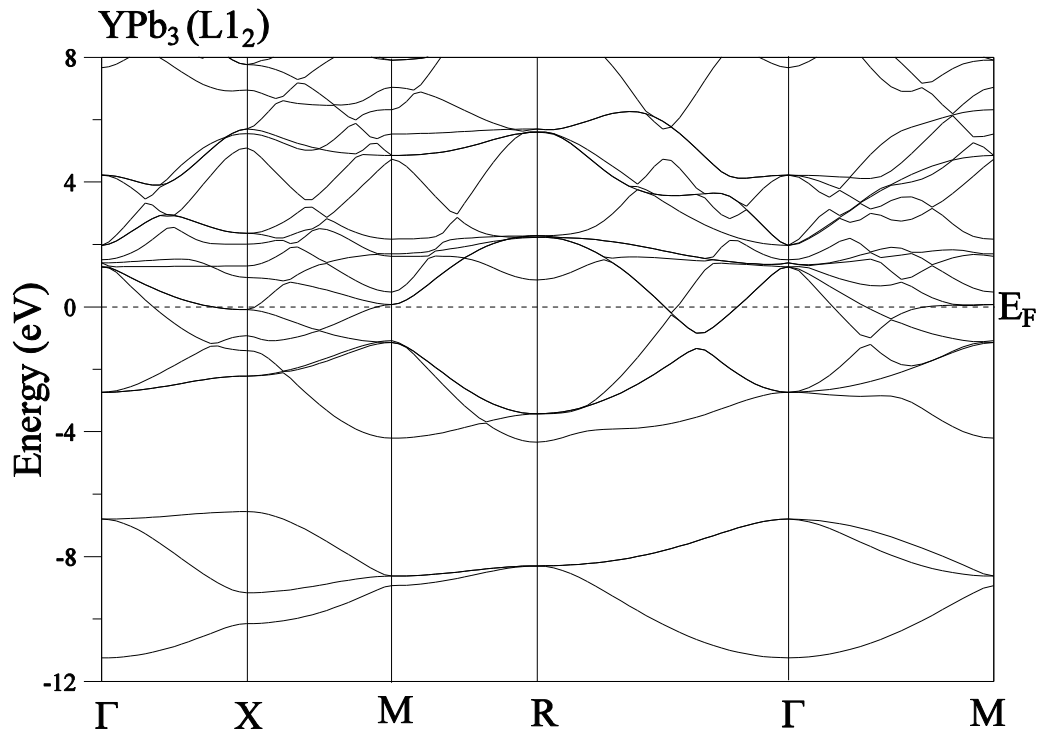


Figure 1. Calculated electronic band structure for YPb₃ in the L1₂ structure along several lines of high symmetry in the Brillouin zone

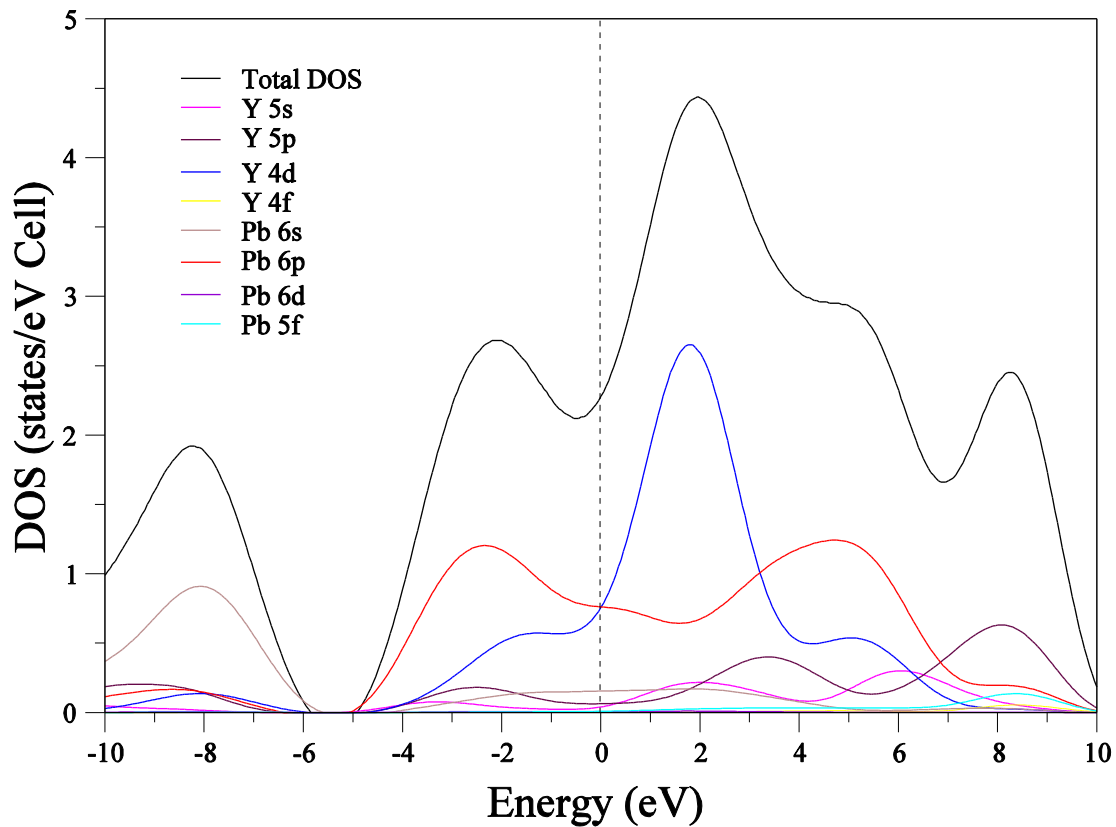


Figure 2. Calculated partial and total DOS YPb₃ in the L1₂ structure

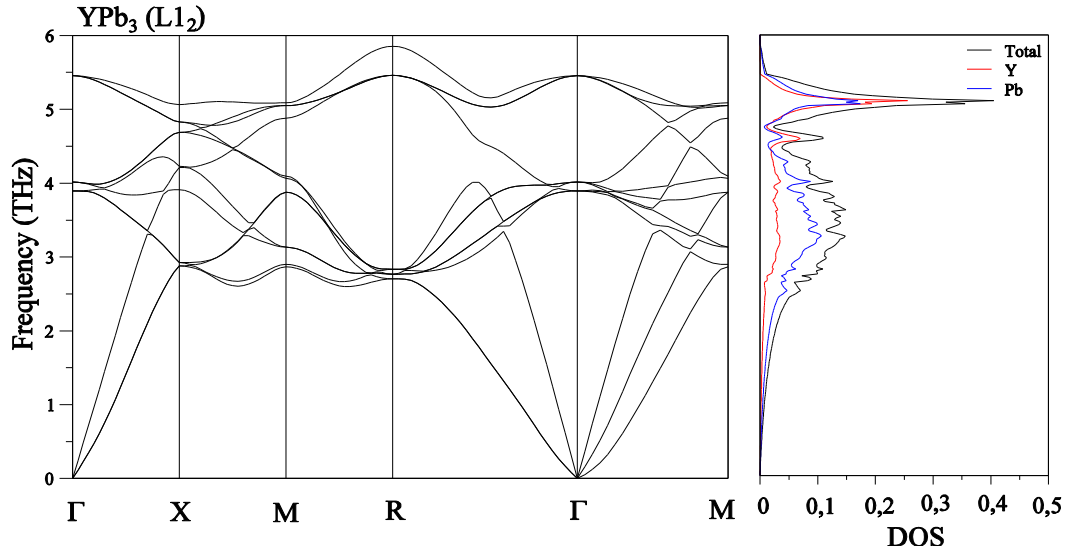


Figure 3. Calculated phonon-dispersion curves and phonon partial and total DOS for YPb_3 in the L_{12} phase along several lines of high symmetry in the Brillouin zone

Conclusion

In this article, the structural, electronic, and phonon properties of YPb_3 have been studied, using the *ab-initio* pseudopotential method, within the GGA of the DFT. Our main results and conclusions can be summarized as the calculated structural properties (equilibrium lattice constant and bulk modulus) in the L_{12} structure, which are in good agreement with the values reported in the literature. The electronic band structures were calculated for this material, in the L_{12} structure. The phonon spectrum and density of states in the L_{12} structure along several lines of high symmetry in the Brillouin zone (BZ) were calculated using the density-functional perturbation theory.

Acknowledgments

This work was supported by the Ahi Evran University Research Project Unit under Project no: FBA-11-29.

References

1. Abraham J. A., Pagare G., Chouhan S. S. and Sanyal S. S. 2015. "Theoretical calculations of structural, electronic, optical, elastic and thermal properties of YX_3 ($X=\text{In, Sn, Tl}$ and Pb) compounds based on density functional theory" *Journal of Material Science*, 50, pp. 542-554.

2. Ram S., Kanchana V., Svane A., Duglade S. B. and Christensen N. E. 2013. "Fermi surface properties of AB_3 ($A=\text{Y, B}=\text{Pb, In, Tl}$) intermetallic compounds under pressure" *Journal of Physics: Condensed Matter*, 25 p.155501 (9 pp).

3. Baranovskiy A. E., Grechnev G. E., Panfilov A.S., Svechkarov I.V., Zogan O., Czopnik A. and Hackemer A. 2008. "Anomalous Diamagnetism of YPb_3 compound: Pressure Effects" *Acta Physica Polonica A*, 113, pp. 243-246.

4. Aoki D., Katayama Y., Nojiri S., Settai R., Inada Y., Sugiyama K., Ōnuki Y., Harima H., Kletowski Z. 1999. "Fermi surface of YPb_3 " *Physica B*, 259-261, pp: 1083-1084.

5. Bucher E., Andres K., Malta J.P. and Hull G.W. 1968. "The heat capacity measurements on the LaSn_3 and LaPb_3 compounds" *Helvetica Chimica Acta*, 41, pp.723-728.

6. Gambino R. J., Stemple N. R. and Toxen A. M. 1968. "Superconductivity of lanthanum intermetallic compounds with the Cu_3Au structure" *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 29 (2), pp. 295-302.

7. Havinga E. E., 1968. "W-like dependence of critical temperature on number of valence electrons in non-transition metal Cu_3Au -type alloys", *Physical Review Letters* 28A (5), pp. 350-351.

8. Havinga E.E. Damsma H. and Van Maaren M.H. 1970. "Oscillatory dependence of superconductive critical temperature on number of valency electrons in Cu_3Au -type alloys"

Journal of Physics and Chemistry of Solids 31, pp: 2653-2662.

9. Baroni S., dal Corso A., de Gironcoli S., Giannozzi P., Cavazzoni C., Ballabio G., Scandolo S., Chiarotti G., Focher P., Pasquarello A., Laasonen K., Trave A., Car R., Marzari N., Kokalj A. 2016. "Quantum ESPRESSO code" <<http://www.quantum-espresso.org>>.

10. Perdew P., Burke K., Ernzerhof M. 1996. "Generalized Gradient Approximation Made Simple" Physical Review Letters, 77, pp. 3865-3868.

11. Vanderbilt D. 1990. "Soft self-consistent pseudopotentials in a generalized eigenvalue formalism" , Physical Review B, 41, p: 7892-7895.

12. Methfessel M., Paxton A.T., 1989. "High-precision sampling for Brillouin-zone integration in metals", Physical Review B, 40, pp: 3616-3622.

13. Baroni S., Giannozzi P., Testa A., 1987. "Green's-function approach to linear response in solids", Physical Review Letters, 58, pp.1861-1864.

14. Baroni S., del Gironcoli S., Dal Corso A., 2001. "Phonons and related crystal properties

from density-functional perturbation theory ", Reviews of Modern Physics, 73, pp.515-562.

15. Murnaghan F.D. 1944. "The Compressibility of Media under Extreme Pressures" Proc. Natl. Acad. Sci. USA 30 (9), pp. 244-247.

16. Arıkan N. 2013. "The first-principles study on Zr_3Al and Sc_3Al in $L1_2$ structure" Journal of Physics and Chemistry of Solids, 74, pp. 794-798.

17. Arıkan N. İyigor A. Candan A., Uğur Ş., Charifi Z., Baaziz H., Uğur G. 2013. "Structural, elastic, electronic and phonon properties of scandium-based compounds ScX_3 ($X = Ir, Pd, Pt$ and Rh): An ab initio study", Computational Materials Science, 79, pp. 703-709.

Nihat ARIKAN

Science Education Department, Ahi Evran University, 40100 Kırşehir-TURKEY.

e-mail: narikan@ahievran.edu.tr



THE EXAMINATION OF PERIPHERAL BLOOD CELLS OF *ALBURNOIDES BIPUNCTATUS* (BLOCH, 1782) FROM KIZILIRMAK RIVER, TURKEY

Muhammet Gaffaroğlu, Aysun Güler Kanter

ИЗСЛЕДВАНЕ НА ПЕРИФЕРНИТЕ КРЪВНИ КЛЕТКИ НА *ALBURNOIDES BIPUNCTATUS* (BLOCH, 1782) ОТ РЕКА КЪЗЪЛЪРМАК, ТУРЦИЯ

Мухамет Гафаролу, Айсун Гюлер Кантер

ABSTRACT: The aim of the present study was obtain a basic knowledge of the hematology of *Alburnoides bipunctatus*. The morphological features of blood cells were described according to the observations made by light microscopy. Erythrocytes, thrombocytes, lymphocytes, monocytes, neutrophils, small lymphocytes and eosinophils were analyzed and characterized. Five adult specimens of *A. bipunctatus* used in this study were captured from Kızılırmak River, Kirsehir, Turkey. This investigation may be contribute to other related fish species.

Key words: Cyprinid, Kızılırmak, *Alburnoides bipunctatus*, blood cells

Introduction

Hematological indices are important parameter for the evaluation of fish physiological status (Hrubec et al. 2001). Blood cells in fishes are very sensitive to variation of their physiological status and stimulus of their environment where the fishes live and also determine the systematic relationships between certain species (Pavlidis et al. 2007; Zhang et al. 2011). They are also important in the immune system condition (Silva et al. 2011).

Changes of the parameters depend on the fish species, age, the cycle of sexual maturity and health condition (Hrubec et al. 2001).

Hematologic changes often are an early indicator of pathologic changes and aid in disease diagnosis. Hematologic data often are not maximally utilized in fish medicine because of the lack of reference intervals and interpretive skills for piscine species (Groff et al. 1999; Rehulka, 1996).

The present study was performed to determine blood cells morphology and diameter dimensions of the erythrocyte cells and their nuclei of *Alburnoides bipunctatus*.

Material and Methods

Five adult specimens of *A. bipunctatus* used in this study were captured from Kızılırmak River, Kirsehir, Turkey (38° 57'N, 34° 11'E).

The collected specimens were transported live to the laboratory. They were kept in well aerated aquaria until analysis. Blood cells were obtained as modified according to Blaxhall and Daisley (1973) and stained with Wright fluid for one minute. Slides were examined on Leica 3000 research microscope. Diameter dimensions of the erythrocyte cells were measured by SPSS 16.0 version.

Results

Erythrocytes, thrombocytes, lymphocytes, monocytes, neutrophils, small lymphocytes and eosinophils were analyzed and characterized (Fig. 1). Cell size and nucleus size of erythrocytes were measured (Table 1). The predominant shape of the erythrocytes was oval, central or nearly central, dark purple-stained nucleus. Monocytes were also oval and nucleus condensed on one side of the cell were either oval, similar to a horseshoe or in the shape of a kidney. Lymphocyte cells were circular. Their nucleus was suitable for the shape of the cells, and they almost covered all the cells. Neutrophils cells were circular in all the specimens examined. There were bilobed nuclei in the cell. Eosinophils cells were circular in all the specimen examined. The nuclei cumulated on one side of the cell. Thrombocyte cells were either oval or circular, and were separated or

cumulated in one region. Their nucleus, which was in the center, covered almost all the cell.

Table 1. Erythrocytes measurements of *A. bipunctatus*

Erythrocytes cell size (length x width; μm^2)	Erythrocytes nucleus size (length 9 width; μm^2)
$(18,43 \pm 1,27) \times (11,85 \pm 1,19)$	$(7,77 \pm 0,71) \times (4,76 \pm 0,48)$

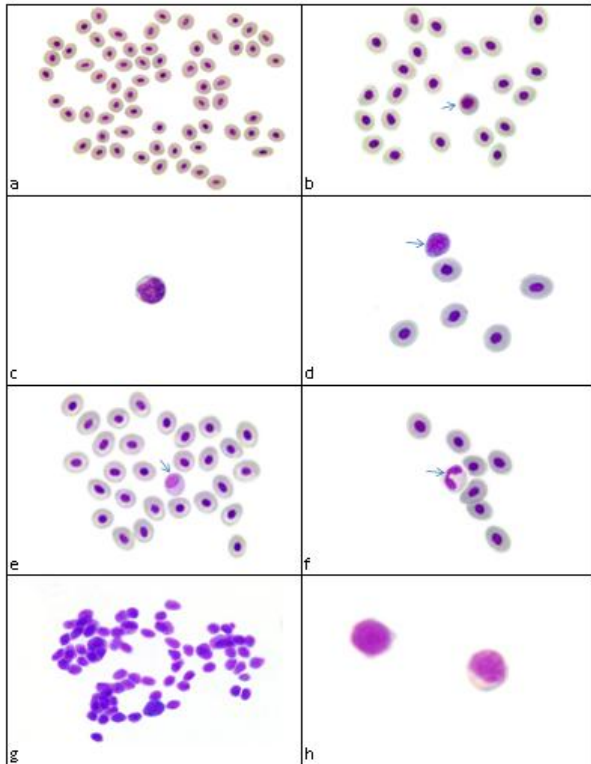


Fig. 1. a. erythrocytes, b. pre-erythrocytes, c. monocytes, d. lymphocytes, e. eosinophils, f. neutrophils, g. thrombocytes, h. small lymphocytes of *A. bipunctatus*

Discussion

Erythrocytes are the dominant cell type in the blood of the vast majority of fish species. It is widely accepted that fishes, like most other vertebrates, have a common leucocyte pattern consisting of granulocytes, monocytes, lymphocytes and thrombocytes (Vazquez and Guerrero, 2007).

In the present study, *A. bipunctatus* blood cell type were characterized microscopically and hematological indices were analyzed. Erythrocytes were the most abundant cells in smears of the peripheral blood of and smaller numbers of leucocytes (lymphocytes, monocytes and neutrophils). Eosinophils were rarely seen.

The mature erythrocytes of *A. bipunctatus* show an average size and morphological features similar to those described for mature erythrocytes of other fish species and, like in all the species examined so far, they are the predominant cell type found in the blood (Örün, 2000; Hrubec, 2001; Vazquez and Guerrero, 2007).

Leucocytes are the most abundant blood cells after erythrocytes (Ueda et al. 1997). Lymphocytes are usually the most common leucocyte type present in the blood of some fish, accounting for as much as 85% of the total leucocyte population, excluding thrombocytes (Groff and Zinkl, 1999). The data of the present study has been supported these results.

Conclusion

The results of our research provide a contribution to the knowledge of the characteristics of blood cells and hematological parameters of *A. bipunctatus*, under the normal conditions performed in this study. This investigation may be contribute to other related fish species.

Acknowledgment

This study was supported by the Ahi Evran University Scientific Research Projects Coordination Unit. Project Number: FEF.E2.16.003.

References

- Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5(6), pp.771-781.
- Fang, J., Chen, K., Cui, H.M., Peng, X., Li, T. and Zuo, Z.C., 2014. Morphological and cytochemical studies of peripheral blood cells of *Schizothorax prenanti*. *Anatomia, histologia, embryologia*, 43(5), 386-394.
- Groff JM, Zinkl JG. 1999. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 2, 741–776.
- Hrubec,T.C., Smith, S.A., Robertson,J.L., 2001. Age related in haematology and chemistry values of hybrid striped bass chrysops Morone saxatilis. *Veterinary Clinical Pathology*, 30 (1), 8–15.

5. Örün, İ. 2000. Karakaya Baraj Gölünde Yaşayan ve Ekonomik Öneme Sahip Bazı Balık Türlerinin [*Acanthobrama marmid* Heckel 1843, *Leuciscus cephalus orientalis* (Nordman 1840), *Chondrostoma regium* (Heckel 1843) ve *Capotea capotea umbla* (Heckel 1843)] Hematolojik Yönden İncelenmesi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 182p. [In Turkish].

6. Pavlidis M. Futter WC. Katharios P. Divanach P. 2007. Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species. *Journal of Applied Ichthyology*, 23, 70–73.

7. Rehulka J. 1996. Blood parameters in common carp with spontaneous spring viremia (SVC). *Aquaculture International*, 4, 175–182.

8. Silva, W.F., Egami, M.I., Santos, A.A., Antoniazzi, M.M., Silva, M., Gutierre, R.C. and Paiva, M.J.R. 2011. Cytochemical, immunocytochemical and ultrastructural observations on leukocytes and thrombocytes of fat snook (*Centropomus parallelus*). *Fish & shellfish immunology*, 31(4), pp.571-577.

9. Ueda, I.K., Egami, M.I., Sasso, W.S., Matushima, E.R., 1997. Estudos hematológicos em *Oreochromis (Tilapia) niloticus*. (Linnaeus, 1758) (Cichlidae, Teleostei)—Part I. *Brazilian*

Journal of Veterinary Research and Animal Science, 34 (5), 270–275.

10. Vazquez, R. G.; Guerrero, G.A. 2007. Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes), *Tissue and Cell*, 39, 151–160.

11. Zhang, H.J., Xie, C.X., Liu, H.P. and Yang, X.F., 2011. Blood cells of a sisorid catfish *Glyptosternum maculatum* (Siluriformes: Sisoridae), in Tibetan Plateau. *Fish physiology and biochemistry*, 37(1), 169-176.

Muhammet Gaffaroğlu

Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey

e-mail: mgaffaroglu@yahoo.com

Aysun Güler Kanter

Department of Biology, Institute of Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey

e-mail: aysunkanter@hotmail.com



**RESEARCH ON THE PERIPHERAL BLOOD CELLS OF *CAPOETA BALIKI* TURAN,
KOTTELAT, ЕКМЕКСІ & ІМАМОГЛУ, 2006 FROM KIZILIRMAK RIVER, TURKEY**

Muhammet Gaffaroğlu, Aysun Güler Kanter

**ИЗСЛЕДВАНЕ НА ПЕРИФЕРНИТЕ КРЪВНИ КЛЕТКИ НА *CAPOETA BALIKI* TURAN,
KOTTELAT, ЕКМЕКСІ & ІМАМОГЛУ, 2006 ОТ РЕКА КЪЗЪЛЪРМАК, ТУРЦИЯ**

Мухамет Гафаролу, Айсун Гюлер Кантер

ABSTRACT: The aim of the the present study is to examine the peripheral blood of *Capoeta baliki* in order to establish hematological baseline values. The morphological features of blood cells were described according to the observations made by light microscopy. In blood cells of *C. baliki*, erythrocytes, thrombocytes, lymphocytes, monocytes, neutrophils, small lymphocytes and eosinophils were analyzed and characterized. Five adult specimens of *C. baliki* used in this study were captured from Kızılırmak River, Kırsehir, Turkey. This research will be provide to contribution about comparison for peripheral blood cells morphologies of other related fish species.

Key words: Cyprinid, Kızılırmak, *Capoeta baliki*, blood cells

Introduction

Hematological parameters have been used to describe the health of fish, monitor stress response and predict systematic relationships and physiological adaptations of animals. They more quickly reflect the poor condition of fish than other commonly measured parameters. Hematological parameters are increasingly used as indicators of the physiological stress response to endogenous or exogenous changes in fish (Atamanalp et al. 2011).

Blood cells as important tissues in fish are very sensitive to variation of their physiological status and stimulus of their environment (Li and Wang, 1995).

That variations exist in a variety of blood cell parameters among the classes and species of the vertebrates has been well documented in descriptive reviews and in comprehensive studies of fish, birds and mammals. However, the hematology of the poikilotherms, on the whole, has not been fully explored (Weinberg et al. 1972). It is the aim of the present study to examine the peripheral blood of *Capoeta baliki* in order to establish hematological baseline values.

Material and Methods

Five adult specimens of *C. baliki* used in this study were captured from Kızılırmak River, Kırsehir, Turkey (38° 57'N, 34° 11'E). The collected specimens were transported live to the laboratory. They were kept in well aerated aquaria until analysis. Blood cells were obtained as modified according to Blaxhall and Daisley (1973) and stained with Wright fluid for one minute. Slides were examined on Leica 3000 research microscope. Diameter dimensions of the erythrocyte cells were measured by SPSS 16.0 version.

Results

In blood cells of *Capoeta baliki*, erythrocytes, thrombocytes, lymphocytes, monocytes, neutrophils, small lymphocytes and eosinophils were analyzed and characterized (Fig. 1). Cell size and nucleus size of erythrocytes were measured (Table 1).

The predominant shape of the erythrocytes was oval, central or nearly central, dark purple-stained nucleus. Monocytes were also oval and nucleus condensed on one side of the cell. Lymphocyte cells were circular. Their nucleus was suitable for the shape of the cells, and they almost covered all the cells. Neutrophils cells were circular in all the specimens examined.

There were bilobed nuclei in the cell. Eosinophils cells were circular in all the specimen examined. The nuclei cumulated on one side of the cell. Thrombocyte cells were either oval or circular, and were separated or cumulated in one region. Their nucleus, which was in the center, covered almost all the cell.

Table 1. Erythrocytes measurements of *C. baliki*

Erythrocytes cell size (length x width; μm^2)	Erythrocytes nucleus size (length 9 width; μm^2)
$(20,77 \pm 1,73) \times (14,20 \pm 0,92)$	$(10,20 \pm 0,68) \times (5,78 \pm 0,64)$

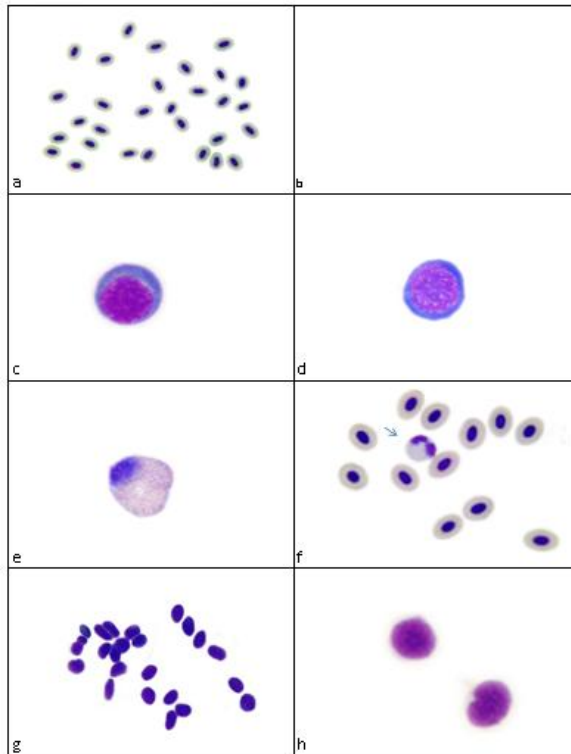


Fig. 1. a. erythrocytes, c. monocytes, d. lymphocytes, e. eosinophils, f. neutrophils, g. thrombocytes, h. small lymphocytes from blood cells of *C. baliki*

Discussion

In fish species, erythrocyte cells are the most abundant cell type in the blood of the extensive amount. Several studies reported that lymphocytes are the dominant cell type after erythrocytes, and eosinophils are smaller number than neutrophils. While basophils are not seen so much (Örün, 2000).

In the present study, *C. baliki* blood cell type were characterized microscopically and hematological indices were analyzed. Erythrocytes were the most abundant cells in the peripheral blood of and smaller numbers of

lymphocytes, monocytes and neutrophils. Eosinophils were rarely seen.

Fish leukocytes have been classified using criteria that primarily apply to mammalian counterparts (Ellis, 2004) and several studies suggested that many fish leukocytes show morphological resemblance and functional similarities with mammalian cells (Groff and Zinkl, 1999). The diversity of fishes is reflected in variable leukocyte morphology (Ravi and Venkatesh, 2008), indicating a need for additional characterization to better classify cell types prior to clinical evaluations and determination of potential for function testing (Palic et al. 2011).

Furthermore, fish species of special concern usually have additional legal restrictions and limited access to reared or wild populations, further reducing opportunity to collect information about their peripheral blood cell characteristics (Palic et al. 2011).

Conclusion

The results of our research provide a contribution to the knowledge of the characteristics of blood cells and hematological parameters of *C. baliki*, under the normal conditions performed in this study. This research will be provide to contribution about comparison for peripheral blood cells morphologies of other related fish species.

References

1. Atamanalp, M., Aksakal, E., Kocaman, E.M., Ucar, A., Şisman, T. and Turkez, H., 2011. The alterations in the hematological parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, exposed to cobalt chloride. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17, pp.S73-S76.
2. Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5(6), pp.771-781.
3. Ellis, A. E., 2001. The immunology of teleosts. R.J. Roberts (Ed.), *Fish pathology* (3rd ed), W. B. Saunders, London/Edinburgh/New York/Philadelphia/St. Louis/Sydney/Toronto, pp. 133–150
4. Groff JM, Zinkl JG. 1999. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 2, 741–776.

5. Li, Y.N. and Wang, Y.P., 1995. Advances in research of fish immunology. *Zool Res*, 16, pp.83-94.

6. Palić, D., Beck, L.S., Palić, J. and Andreasen, C.B., 2011. Use of rapid cytochemical staining to characterize fish blood granulocytes in species of special concern and determine potential for function testing. *Fish & shellfish immunology*, 30(2), pp.646-652.

7. Ravi, V. and Venkatesh, B., 2008. Rapidly evolving fish genomes and teleost diversity. *Current opinion in genetics & development*, 18(6), pp.544-550.

8. Örün, İ. 2000. Karakaya Baraj Gölünde Yaşayan ve Ekonomik Öneme Sahip Bazı Balık Türlerinin [*Acanthobrama marmid* Heckel 1843, *Leuciscus cephalus orientalis* (Nordman 1840), *Chondrostoma regium* (Heckel 1843) ve *Capotea capotea umbla* (Heckel 1843)] Hematolojik Yönünden İncelenmesi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 182p. [In Turkish].

9. Weinberg, S.R., Siegel, C.D. and Gordon, A.S., 1973. Studies on the peripheral blood cell parameters and morphology of the red paradise fish, *Macropodus opercularis*. Effect of food deprivation on erythropoiesis. *The Anatomical Record*, 175(1), pp.7-13.

Muhammet Gaffaroğlu
Department of Biology, Faculty of Arts and
Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir,
Turkey
e-mail: mgaffaroglu@yahoo.com

Aysun Güler Kanter
Department of Biology, Institute of Sciences,
Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey
e-mail: aysunkanter@hotmail.com



C-BANDING PROPERTIES OF *PSEUDORASBORA PARVA* (TEMMINCK AND SCHLEGEL 1846) (TELEOSTEI: CYPRINIDAE) FROM BURDUR PROVINCE, TURKEY

Muhammet Gaffaroğlu, Muradiye Karasu Ayata, Sevgi Ünal

C-ЛЕНТОВИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА *PSEUDORASBORA PARVA* (TEMMINCK AND SCHLEGEL 1846) (TELEOSTEI: CYPRINIDAE) ОТ ОБЛАСТ БУРДУР, ТУРЦИЯ

Мухамет Гафаролу, Мурадийе Карасу Ауата, Севги Юнал

ABSTRACT: The aim of this study is to reveal C-banding properties of *Pseudorasbora parva* (Temminck and Schlegel 1846) from Onaç Dam Lake, Turkey. Metaphase chromosomes were obtained from kidney cells. Sumner (1972)'s C-banding technique was performed to metaphase preparations. C-bands were observed on the centromeres of several chromosomes. Additionally, heterochromatic blocks were determined on the pericentromeres of two chromosome pairs. This study may contribute the chromosomal knowledge of this and related species.

Key words: *Pseudorasbora parva*, cyprinid, chromosome, Turkey

Introduction

The family Cyprinidae is the richest fish family in Turkey. *Pseudorasbora parva* belongs to this family (Kuru et al. 2014). *P. parva*'s original homeland was Far East, but it is invaded to many water system on the earth. This species was introduced accidentally into much European water systems, including the water regions of Turkey. *P. parva* is distributed on the several rivers and lakes of our country (Gaffaroğlu et al. 2009).

Chromosomal studies contribute to fish taxonomy. C-banding is one of the chromosomal band technique that generally performed to fish chromosomes. These bands identify the constitutive heterochromatin regions. These regions contain transcriptionally inactive and highly repetitive DNA sequences (Boron 2000). C-banding technique has been widely used not only for determining the patterns of constitutive heterochromatin regions, but also for identifying homolog chromosomes (Sumner 1972). For this purpose, C-banding is frequently being used in chromosomal studies and is important in evaluating the phylogenetic relationships between the species. These bands are mostly localized in the centromere of the chromosomes. The patterns of these bands can differ between the species (Arslan and Arslan 2007).

The only chromosomal study of this species from Turkey is Gaffaroğlu et al. (2009)'s study.

They were reported the diploid chromosome number and chromosome morphology of *P. parva* from Kızılırmak River, Turkey. However, C-band patterns of this species have not been studied yet.

The aim of this study is to reveal C-band properties of *P. parva* from Turkey.

Material and Methods

Nine specimens (six males, three females) of *P. parva* were collected from Onaç Dam Lake, Burdur, Turkey. The collected specimens were transported live to the laboratory. They were kept in well aerated aquaria until analysis. Metaphase chromosomes were obtained from kidney cells. At least 10 slides were prepared from each specimen. Sumner (1972)'s C-banding technique was performed to metaphase slides. The slides were scanned on Leica DM 3000 microscope and good C-banded metaphases were photographed.

Results

C-bands were observed on the centromeres of several chromosomes of *P. parva*. Additionally, heterochromatic blocks were determined on the pericentromeres of two chromosome pairs (Fig. 1).

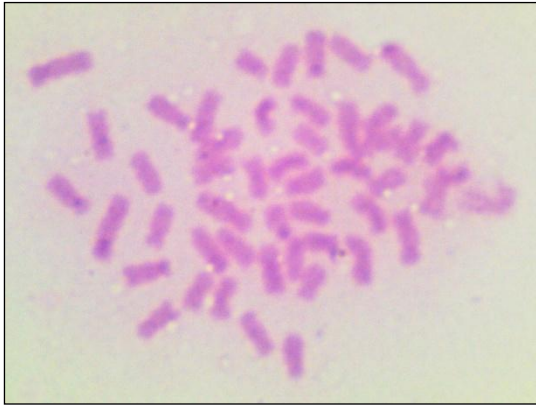


Fig. 1. C-banded metaphase of *P. parva*

Discussion

The diploid chromosome number of *P. parva*, from Turkey's inland waters, was found as $2n = 50$. The karyotype was consisted of seven pairs of metacentric, 10 pairs of submetacentric and eight pairs of subtelocentric chromosomes (Gaffaroğlu et al. 2009). Another chromosomal study has not been carried out on Turkey's populations.

Most species invariably possess C-bands at or around the centromeres (pericentromeric) and, frequently, at the chromosome tips (telomeric). C-bands may also be found along the chromosome arms (interstitial) and as entirely heterochromatic short arms of acrocentric chromosomes (Gold et al. 1986). Fishes with such characteristic C-band patterns mostly belong to Cyprinidae. Therefore, C-band distribution in cyprinids is of great cytotaxonomic interest (Takai and Ojima 1988).

Lots of chromosomal banding studies have been carried out in Anatolian fish species (Gaffaroğlu et al. 2013; Ünal et al. 2014). This study indicates that *P. parva* pose similarities with the other representatives of the family Cyprinidae in terms of the C-band pattern (Gaffaroğlu and Yüksel, 2009; Karasu et al. 2011; Ünal 2011). Otherwise, heterochromatic blocks have been reported on the several cyprinid species (Boron 2001; Gaffaroğlu and Yüksel 2009) as seen in this study.

Conclusion

This study is to first that determines C-band band properties of *P. parva* from Turkey. The obtained results are similar to other studies that carried out in cyprinids. This study may contribute to this and related species' cytogenetics and cytotaxonomy.

Acknowledgment

The authors are thankful to Mr. Ali AYATA for helping in the field.

References

1. Arslan, A. and Arslan, E. 2007. Karyosistematiği de C-bantlama (Konstitütif heterokromatin)'nin önemi. [in Turkish]. *Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 29: 121-126.
2. Boron, A. 2000. Cytogenetic characterization of the loaches of the genera *Sabanejewia*, *Misgurnus* and *Barbatula* (Pisces, Cobitidae). *Folia Zoologica*, 49(Suppl. 1): 37-44.
3. Boron, A. 2001. Comparative chromosomal studies on two minnow fish, *Phoxinus phoxinus* (Linnaeus, 1758) and *Eupallasella perenurus* (Pallas, 1814); an associated cytogenetic-taxonomic considerations. *Genetica*, 111: 387-395.
4. Gaffaroğlu, M., Karasu Ayata, M., Ünal, S. and Arslan, A. 2013. Chromosomal studies of two different populations (Turkey) of *Luciobarbus escherichii* (Steindachner, 1897). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13: 875-879.
5. Gaffaroğlu, M., Yılmaz, M. and Yılmaz, M. 2009. Karyotype of *Pseudorasbora parva* (Temminck and Schlegel 1846) (Pisces, Cyprinidae) in Kızılırmak River, Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(3): 325-327.
6. Gaffaroğlu, M. and Yüksel, E. 2009. Constitutive heterochromatin in *Acanthobrama marmid* and *Cyprinion macrostomus* (Osteichthyes, Cyprinidae). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(2):169-172.
7. Gold, J.R., Amemiya, C.T. and Ellison, J.R. 1986. Chromosomal heterochromatin differentiation in North American cyprinid fishes. *Cytologia*, 51: 557-566.
8. Karasu, M., Yüksel, E. and Gaffaroğlu, M. 2011. Karyotype, NORs, and C-banding analysis of *Pseudophoxinus firati* Bogutskaya, Küçük & Atalay, 2007 (Actinopterygii, Cyprinidae) in the Euphrates River, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 35(6): 865-868.
9. Kuru, M., Yerli, S.V., Mangıt, F., Ünlü, E. and Alp, P. 2014. Fish biodiversity in inland waters of Turkey. *Journal of Academic Documents for Fisheries and Aquaculture*, 3: 93-120.

10. Sumner, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 75: 304-306.

11. Takai, A. and Ojima, Y. 1988. Chromosomal distribution of C-banded heterochromatin in cyprinid fishes. *Proceedings of the Japan Academy*, 64(3): 49-52.

12. Unal, S., Gaffarođlu, M., Ayata, M.K. and Yüksel, E. 2014. Karyotype, C-banding and AgNORs of two endemic leuciscine fish, *Pseudophoxinus crassus* (Ladiges, 1960) and *P. hittitorum* Freyhof & Özulug, 2010 (Teleostei, Cyprinidae). *Comparative Cytogenetics*, 8(4): 249-257.

13. Ünal, S. 2011. *Squalius anatolicus* (Bogutskaya, 1997) (Pisces, Cyprinidae)'un sitogenetik analizi [master's thesis]: Ahi Evran University. [in Turkish].

Muhammet Gaffarođlu
Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey
e-mail: mgaffaroglu@yahoo.com

Muradiye Karasu Ayata
Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey
e-mail: muradiye.karasu@gmail.com

Sevgi Ünal
Department of Biology, Faculty of Science, Gazi University, Ankara, Turkey
e-mail: sevgiunal@ymail.com



THE ANALYSIS OF NUCLEOLUS ORGANIZER REGIONS IN *PSEUDORASBORA PARVA* (TEMMINCK AND SCHLEGEL 1846) (TELEOSTEI: CYPRINIDAE) FROM BURDUR PROVINCE, TURKEY

Muradiye Karasu Ayata, Sevgi Ünal, Muhammet Gaffaroğlu

АНАЛИЗ НА ОБЛАСТИТЕ НА ЯДЕРЦЕВИЯ ОРГАНИЗАТОР НА *PSEUDORASBORA PARVA* (TEMMINCK AND SCHLEGEL 1846) (TELEOSTEI: CYPRINIDAE) ОТ ОБЛАСТ БУРДУР, ТУРЦИЯ

Мурадийе Карасу Ауата, Севги Юнал, Мухамет Гафаролу

ABSTRACT: The aim of this study is to reveal nucleolus organizer regions (NOR) of *Pseudorasbora parva* (Temminck and Schlegel 1846) from Onaç Dam Lake, Turkey. Metaphase chromosomes were obtained from kidney cells. Howell and Black (1980)'s silver staining technique was performed to metaphase preparations. NORs were observed on the short arms of a submeta-subtelocentric chromosome pair. This study may contribute the chromosomal knowledge of this and related species.

Key words: *Pseudorasbora parva*, cyprinid, chromosome, NOR, Turkey

Introduction

The richest fish family in Turkey is the Cyprinidae. *Pseudorasbora parva* belongs to this family (Kuru et al. 2014). *P. parva*'s original homeland was Far East, but it is invaded to many water system on the earth. This species was introduced accidentally into much European water systems, including the water regions of Turkey. *P. parva* is distributed on the several rivers and lakes of our country (Gaffaroğlu et al. 2009).

Chromosomal study is one of the research topics in fish species. These studies have been carried out for many years for solving the taxonomic problems in fishes. However, some difficulties (having small and outnumbered chromosomes) in obtaining chromosomes from fishes reduce the interest in this area. For this purpose, the chromosomal studies in Anatolian fishes have been started in the last years (Ulupınar and Alaş 2002). Silver staining is one of the most common chromosomal technique that applied to fish chromosomes. This method have been developed for staining the nucleolus organizer regions (NORs) (Howell and Black 1980). The number and locations of NORs have been used as a taxonomic character and these characters are useful to fish cytotaxonomy (Boron 1999).

The only chromosomal study of this species from Turkey was carried out by Gaffaroğlu et al. (2009). They were reported the diploid chromo-

some number and chromosome morphology of *P. parva* from Kızılırmak River, Turkey. However, chromosomal band properties of this species have not been studied yet.

The aim of this study is to reveal NOR number and location of *P. parva* from Turkey.

Material and Methods

Nine specimens (six males, three females) of *P. parva* were collected from Onaç Dam Lake, Burdur, Turkey. The collected specimens were transported live to the laboratory. They were kept in well aerated aquaria until analysis. Metaphase chromosomes were obtained from kidney cells. At least 10 slides were prepared from each specimen. Howell and Black (1980)' silver staining technique was performed to metaphase slides. The slides were scanned on Leica DM 3000 microscope and good metaphases with positive NORs were photographed.

Results

NORs were observed on the terminals of the short arms of a middle sized submeta-subtelocentric chromosome pair of *P. parva* (Fig. 1).

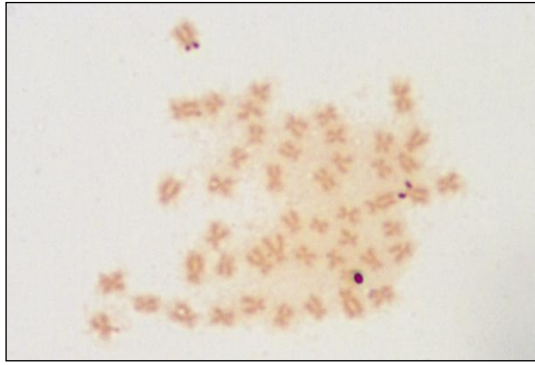


Fig. 1. Silver stained metaphase of *P. parva*

Discussion

The diploid chromosome number of *P. parva*, from Turkey's inland waters, was found as $2n = 50$. The karyotype was consisted of seven pairs of metacentric, 10 pairs of submetacentric and eight pairs of subtelocentric chromosomes (Gaffaroğlu et al. 2009). Another chromosomal study has not been carried out on Turkey's populations. Therefore, this study is to first that determines NOR properties of *P. parva*.

Locations of NORs in the karyotype and NOR phenotypes have proven useful in cyprinid cytotaxonomy (Amemiya and Gold 1988). Most fish species bear a single NOR, while there are also species that possess multiple NORs (Amemiya and Gold 1990). Furthermore, these NORs usually located on the short arms of submetacentric chromosomes as seen in this study. However, sometimes they can be located on the long arms of the submetacentric or subtelo-acrocentric chromosomes (Rab et al. 1990).

Lots of chromosomal banding studies have been carried out in Anatolian fish species (Gaffaroğlu et al. 2006; Karasu et al. 2011). This study indicates that *P. parva* pose similarities with the other representatives of the family Cyprinidae in terms of the NOR pattern (Ünal 2011; Unal et al. 2014). On the other hand, *P. parva* pose differences with some representatives of cyprinids in terms of NOR number (Gaffaroğlu et al. 2006; Karasu et al. 2011).

Conclusion

This study is to first that determines NOR properties of *P. parva* from Turkey. The obtained results are similar to other studies that carried out in cyprinids. This study may contribute

to this and related species' cytogenetics and cytotaxonomy.

Acknowledgment

The authors are thankful to Mr. Ali AYATA for helping in the field. This study was supported by the Ahi Evran University Scientific Research Projects Coordination Unit. Project Number: FEF.E2.16.002.

References

1. Amemiya, C.T. and Gold, J.R. 1988. Chromosomal NORs as taxonomic and systematic characters in North American cyprinid fishes. *Genetica*, 76: 81-90.
2. Amemiya, C.T. and Gold, J.R. 1990. Cytogenetic studies in the North American minnows (Cyprinidae). *Hereditas*, 112: 231-247.
3. Boron, A. 1999. Banded karyotype of spined loach *Cobitis taenia* and triploid *Cobitis* from Poland. *Genetica*, 105: 293-300.
4. Gaffaroğlu, M., Yılmaz, M. and Yılmaz, M. 2009. Karyotype of *Pseudorasbora parva* (Temminck and Schlegel 1846) (Pisces, Cyprinidae) in Kızılırmak River, Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(3): 325-327.
5. Gaffaroğlu, M., Yüksel, E. and Rab, P. 2006. Note on the karyotype and NOR phenotype of leuciscine fish *Acanthobrama marmid* (Osteichthyes, Cyprinidae). *Biologia*, 61(2): 207-209.
6. Howell, W.M. and Black, D.A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36: 1014-1015.
7. Karasu, M., Yüksel, E. and Gaffaroğlu, M. 2011. Karyotype, NORs, and C-banding analysis of *Pseudophoxinus firati* Bogutskaya, Küçük & Atalay, 2007 (Actinopterygii, Cyprinidae) in the Euphrates River, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 35(6): 865-868.
8. Kuru, M., Yerli, S.V., Mangıt, F., Ünlü, E. and Alp, P. 2014. Fish biodiversity in inland waters of Turkey. *Journal of Academic Documents for Fisheries and Aquaculture*, 3: 93-120.
9. Rab, P., Roth, P. and Arefjev, V.A. 1990. Chromosome studies of European leuciscine fishes (Pisces, Cyprinidae) karyotype of *Aspius aspius*. *Caryologia*, 43(3-4): 249-255.
10. Ulupınar, M. and Alaş, A. 2002. Balık sitogenetiği ve laboratuvar teknikleri. Tuğra Matbaası, Isparta. [in Turkish].

11. Unal, S., Gaffarođlu, M., Ayata, M.K. and Yüksel, E. 2014. Karyotype, C-banding and AgNORs of two endemic leuciscine fish, *Pseudophoxinus crassus* (Ladiges, 1960) and *P. hittitorum* Freyhof & Özulug, 2010 (Teleostei, Cyprinidae). *Comparative Cytogenetics*, 8(4): 249-257.

12. Ünal, S. 2011. *Squalius anatolicus* (Bogutskaya, 1997) (Pisces, Cyprinidae)'un sitogenetik analizi [master's thesis]: Ahi Evran University. [in Turkish].

Muradiye Karasu Ayata
Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey
e-mail: muradiye.karasu@gmail.com

Sevgi Ünal
Department of Biology, Faculty of Science, Gazi University, Ankara, Turkey
e-mail: sevgiunal@ymail.com

Muhammet Gaffarođlu
Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey
e-mail: mgaffaroglu@yahoo.com



CONSTITUTIVE HETEROCHROMATIN PATTERNS OF *SALARIA FLUVIATILIS* (ASSO, 1801) (TELEOSTEI: BLENNIIDAE) FROM CEYHAN RIVER, OSMANIYE, TURKEY

Sevgi Unal, Muradiye Karasu Ayata, Muhammet Gaffaroğlu

СЪСТАВНИ ХЕТЕРОХРОМАТИННИ СТРУКТУРИ НА *SALARIA FLUVIATILIS* (ASSO, 1801) (TELEOSTEI: BLENNIIDAE) ОТ РЕКА ДЖЕЙХАН, ОСМАНИЕ, ТУРЦИЯ

Севги Юнал, Мурадийе Карасу Айата, Мухамет Гафаролу

ABSTRACT: This study is indicate constitutive heterochromatin presence and patterns of *Salarias fluviatilis* (Asso, 1801) from Ceyhan River, Osmaniye, Turkey. C-banding technique was carried out to demonstrate constitutive heterochromatin regions according to Sumner (1972). Positive C-bands were seen on the centromeric region for several chromosomes and at the long arm for some chromosomes. In addition pericentromeric heterochromatin blocks were shown on the two chromosome pairs. This results will contribute to documentation of constitutive heterochromatin characterization in fishes.

Key words: *Salarias fluviatilis*, blennidae, C-banding, Ceyhan River, Turkey

Introduction

The family Blennidae includes a great number of small benthic fishes. A thumping majority are marine and occur in tropical regions. Several species are known to enter brackish or freshwaters in Southeast Asia, India, Africa and South America (Kottelat, 2004). The genus *Salarias* Forsskål, 1775 is represented with five species of which *Salarias fluviatilis* (Asso, 1801) (Syn=*Blennius fluviatilis* Asso y del Rio, 1801), *S. basilisca* (Valenciennes, 1836), *S. economidisi* Kottelat, 2004, *S. pavo* (Risso, 1810) and *S. atlantica* Doadrio, Perea & Yahyaoui, 2011 (Doadrio et al. 2011). *S. fluviatilis* has been recorded under a variety of synonyms (e.g., *Blennius vulgaris* Pollini, 1816, *B. cagnota* Valenciennes, 1836) (Kottelat, 2004). Population of *S. fluviatilis* is assessed as least concern (LC). The species has widespread aquatic areas in Turkey (IUCN, 2016).

The several conventional criteria used for the systematics of the complex family Blennidae. The chromosomal characterization of blennies useful for both conventional and cytotaxonomic systematics. In species with similar karyomorphology, banding techniques are discriminate more details of chromosome differences (Garcia et al. 1987). One of the chromosome banding techniques is C-banding. C-banding technique allows to identify constitutive heterochromatin regions and it

involves differential degradation of euchromatic and heterochromatic chromosomal regions (Sumner, 1972). Constitutive heterochromatin represents a substantial portion of the eukaryote genome, and it is mainly composed of tandemly repeated DNA sequences which are also transcriptionally inactive sequences. The distribution pattern of constitutive heterochromatin is a chromosome marker for discriminating (Vicari et al. 2010) populations of *S. fluviatilis*.

C banding technique was performed to some species which are belong to closely relative genus *Blennius* and *Salarias* (Cataudella and Civitelli, 1975; Garcia et al. 1987). However there is no any C-banding study about *S. fluviatilis* Turkey population. So the aim of this study is indicate C-band presence of *S. fluviatilis* Turkey (Ceyhan River) population.

Material and Methods

Five specimens (two female, three male) were collected by electrofishing from Ceyhan River, Osmaniye, Turkey. The specimens were transported as alive to the laboratory and they were preserved well aerated aquaria till analysis. The technique of chromosome obtaining was performed according to Collares-Pereira (1992). C-banding technique was carried out to demonstrate constitutive heterochromatin regions

(Sumner, 1972). All images were photographed by a Leica DM 3000 research microscope.

Results

Positive C-bands were seen on the centromeric region for several chromosomes and at the long arm for some chromosomes (Fig. 1, Fig. 2). In addition pericentromeric heterochromatin blocks were shown on the two chromosome pairs (Fig. 2).

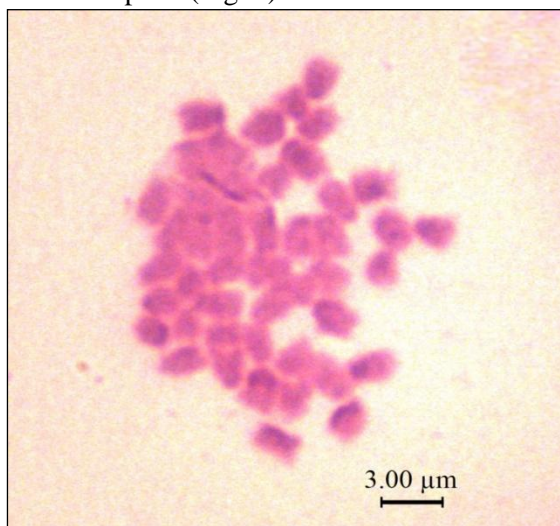


Fig. 1. C-bands on the centromeric region of *S. fluviatilis* chromosomes

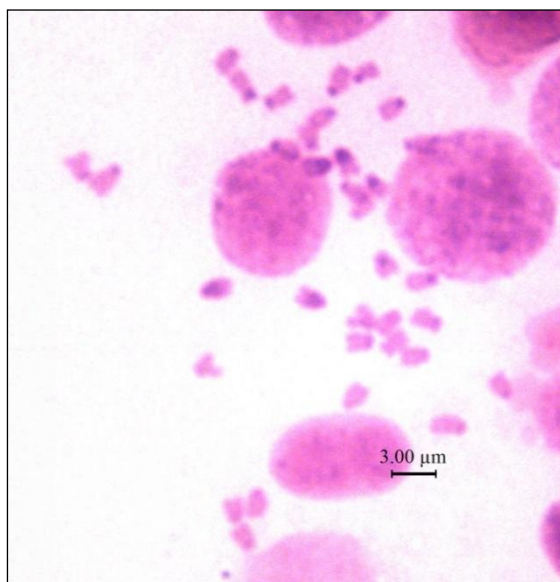


Fig. 2. Pericentromeric heterochromatin blocks of *S. fluviatilis* chromosomes

Discussion

The diploid chromosome number of *S. fluviatilis* was found as $2n=48$ and all of which were consisted acrocentric chromosomes except

for a pair of large acrocentrics with a very short arm (Cataudella and Civitelli, 1975). There is no any information about C-banding characterization of *S. fluviatilis* Ceyhan River population from Turkey.

The chromosome changes supposedly involved in evolutionary trend might be pericentric inversions, translocations, or terminal additions of small heterochromatic segments (Garcia et al. 1987).

Most of the reports on C-banding in fishes reveal the distribution of C-heterochromatin to be of multisite type. In most of fishes, C-heterochromatin is located on the centromeric and telomeric regions. However, intercalary C-bands and whole arm or whole chromosome C-bands have also been reported (Sharma et al. 2002). As in this study, some C-heterochromatin regions were indicated on the centromeric regions, although some C-bands were shown whole long arms of only two chromosomes.

Garcia et al., (1987) pointed out C-bands properties of seven Mediterranean blenniid species that previously known as *Blennius*: *Parablennius gattorugine* (Syn: *Blennius gattorugine*), *Parablennius incognitus* (Syn: *B. ponticus incognitus*), *Salarias pavo* (Syn: *B. pavo*), *Parablennius sanguinolentus* (Syn: *B. sanguinolentus*), *Coryphoblennius galerita* (Syn: *B. galerita*), *Lipophrys pholis* (Syn: *B. pholis*), and *Lipophrys trigloides* (Syn: *B. trigloides*). The distribution of heterochromatin was shown differentiation among blenniids. Two C-banding patterns were described. While *Parablennius gattorugine*, *Parablennius incognitus*, *Salarias pavo* and *Parablennius sanguinolentus* showed a homogeneous distribution of the heterochromatin in paracentromeric and telomeric regions, others such as *Coryphoblennius galerita*, *Lipophrys pholis* and *Lipophrys trigloides* had most of the heterochromatin concentrated on the entire arm of two or three chromosome pairs. The second pattern of C-banding is similar to C-heterochromatin distribution of *S. fluviatilis* that heterochromatin has been shown on the entire arm of two chromosome pairs.

Conclusion

C-banding helps in revealing the distribution of constitutive heterochromatin and also to determine its role in karyotype evolution, speciation and differentiation of sex chromosomes. The C-heterochromatin has been documented for about 125 sps. of fishes spread

over different families with primary emphasis on documenting the existence and location of C-bands on fish chromosomes (Sharma et al. 2002).

The present results indicate the first pattern of C-heterochromatin presence of *S. fluviatilis* Ceyhan River population. Furthermore this results will contribute to documentation of constitutive heterochromatin characterization in fishes.

References

1. Cataudella, S. and Civitelli, M. V., 1975. Cytotaxonomical considerations of the genus *Blennius* (Pisces, Perciformes). *Experientia* 31(2): 167-169.
2. Collares-Pereira, M. J. In vivo direct chromosome preparation (protocol for air drying technique). First International Workshop on Fish Cytogenetic Techniques. 14-24, September 1992, Concarneau, France.
3. Doadrio, I., Perea, S. and Yahyaoui, A. 2011. Morphological and molecular analyses of freshwater blennids: a new species of the genus *Salaria* Forskål, 1775 (Actinopterygii, Blenniidae) in Morocco. *Graellsia*, 67(2), pp.151-173.
4. Garcia, E., Alvarez, M.C. and Thode, G. 1987. Chromosome relationships in the genus *Blennius* (Blenniidae Perciformes) C-banding patterns suggest two karyoevolutional pathways. *Genetica*, 72(1), pp.27-36.
5. IUCN2016
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2006.RLTS.T60764A12407160.en>.
6. Kottelat, M. 2004. *Salaria economidisi*, a new species of freshwater fish from Lake Trichonis, Greece, with comments on variation in *S. fluviatilis* (Teleostei: Blenniidae). *Revue Suisse de Zoologie*, 111(1), pp.121-137.
7. Sharma, O. P., Tripathi, N. K., Sharma, K. K. 2002. A review of chromosome banding in fishes. Some Aspects of Chromosome Structure and Functions, R. C. Sobti et al (Eds), Narosa Publishing House, New Delhi, India. pp 109-122.
8. Sumner, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental cell research*, 75(1), pp.304-306.
9. Vicari, M.R., Nogaroto, V., Noletto, R.B., Cestari, M.M., Cioffi, M.B., Almeida, M.C., Moreira Filho, O., Bertollo, L.A.C. and Artoni, R.F. 2010. Satellite DNA and chromosomes in Neotropical fishes: methods, applications and perspectives. *Journal of Fish Biology*, 76(5), pp.1094-1116.

Sevgi Unal

Department of Biology, Faculty of Science,
Gazi University, Ankara, Turkey
e-mail: sevgiunal@ymail.com

Muradiye Karasu Ayata

Department of Biology, Faculty of Arts and
Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir,
Turkey
e-mail: muradiye.karasu@gmail.com

Muhammet Gaffaroğlu

Department of Biology, Faculty of Arts and
Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir,
Turkey
e-mail: mgaffaroglu@yahoo.com



THE INVESTIGATION OF NUCLEOLUS ORGANIZER REGION IN *SALARIA FLUVIATILIS* (ASSO, 1801) (TELEOSTEI: BLENNIIDAE) FROM CEYHAN RIVER, OSMANIYE, TURKEY

Muhammet Gaffaroğlu, Sevgi Unal, Muradiye Karasu Ayata

ИЗСЛЕДВАНЕ НА ОБЛАСТТА НА ЯДЕРЦЕВИЯ ОРГАНИЗАТОР НА *SALARIA FLUVIATILIS* (ASSO, 1801) (TELEOSTEI: BLENNIIDAE) ОТ РЕКА ДЖЕЙХАН, ОСМАНИЕ, ТУРЦИЯ

Мухамет Гафаролу, Севги Юнал, Мурадийе Карасу Айата

ABSTRACT: This study is reveal nuclear organizer region (NOR) number and distribution of *Salaria fluviatilis* (Asso, 1801) from Ceyhan River, Osmaniye, Turkey. NORs were detected by the techniques of Ag-NOR staining. NORs were observed on the terminal of short arms of one pair chromosome. This results will contribute to documentation of cytogenetics studies in this group.

Key words: *Salaria fluviatilis*, blennidae, nucleolus organizer region (NOR), Ceyhan River, Turkey

Introduction

The genus *Salaria* Forsskål, 1775 has an uncommon ecology in that the five species reported for this genus (Doadrio et al. 2011) of which *Salaria fluviatilis* (Asso, 1801) (Syn=*Blennius fluviatilis* Asso y del Rio, 1801) and *S. economidisi* Kottelat, 2004 are known only from freshwaters (Kottelat, 2004). *S. fluviatilis* has been considered least concern (LC) according to the IUCN Red List. It is present from drainages around northern Mediterranean from Israel to Portugal, Morocco, Algeria, and this species has widespread aquatic areas in Turkey (IUCN, 2016). This species belongs to the family Blennidae, a common family with almost 400 species within Percomorpha (Miya et al. 2005). The species typically prefers moderate flowing stretches of upper course streams with clear waters, aquatic vegetation and gravel bottoms (Doadrio et al. 2011).

The chromosome characterization of blennies needs for more karyological information about this group. In species with similar karyomorphology, banding techniques are discriminate more details of chromosome differences (Garcia et al. 1987). One of the chromosome banding techniques is Silver-Nucleolar Organizer Region (Ag-NOR) technique. NOR bands represent the chromosomal sites of 18s and 28s ribosomal RNA which presumably were actively

transcribed at a preceding interphase (Howell, 1977, 1982). The silver-staining reaction is apparently specific for a NOR-associated, non-histone protein that selectively binds and reduces ionic silver. Moreover NOR-banded phenotypes have been used to solve systematic, population or cytogenetics problems (Amemiya and Gold, 1986). The family of blennidae has been divided several complex genus so this family need cytogenetics features (especially banding characterization) of species for determination its classification.

Ag-NOR staining was carried out to some species which are belong to closely relative genus *Blennius* and *Salaria* (Cataudella and Civitelli, 1975; Garcia et al. 1987). However there is no any NOR-banding study about *S. fluviatilis* Turkey population. In the present study is revealed the mitotic chromosomes of *S. fluviatilis* Turkey (Ceyhan River) population by silver nitrate banding.

Material and Methods

Five specimens (two female, three male) were collected by electrofishing from Ceyhan River, Osmaniye, Turkey. The specimens were transported as alive to the laboratory and they were preserved well aerated aquaria till analysis. The technique of chromosome obtaining was performed according to Collares-Pereira (1992). Nucleolar organizer regions (NORs) were

detected by the techniques of Ag-NOR staining (Howell and Black, 1980). All images were photographed by a Leica DM 3000 research microscope.

Results

Silver stained somatic metaphase for *S. fluviatilis* is displayed in Figure 1, showing only two NORs in terminal position of the short arms of one pair of variable size.



Fig. 1. Silver stained metaphase of *S. fluviatilis*

Discussion

The diploid chromosome number of *S. fluviatilis* was found as $2n=48$ and all of which were consisted acrocentric chromosomes except for a pair of large acrocentrics with a very short arm (Cataudella and Civitelli, 1975). There is no any information about NOR banding characterization of *S. fluviatilis* Ceyhan River population from Turkey.

The visualization of NORs on the chromosomes has now become an important parameter with adding techniques for the cytogenetic characterization in fishes. Sharma et al. (2002) reported that most of fish have only one pair of small NORs on the chromosome. However, some fish have more than two NORs, which may be caused by the translocation between some parts of chromosomes with a having NOR and another chromosome. Moreover, NORs are usually located close to the telomere of the chromosome arm. As in this study, NORs were determined only one pair chromosome and in terminal position of the short arms.

Garcia et al., (1987) pointed out NOR-bands properties of seven Mediterranean blenniid

species that previously known as *Blennius: Parablennius gattorugine* (Syn:*Blennius gattorugine*), *Parablennius incognitus* (Syn: *B. ponticus incognitus*), *Salaria pavo* (Syn: *B. pavo*), *Parablennius sanguinolentus* (Syn: *B. sanguinolentus*), *Coryphoblennius galerita* (Syn: *B. galerita*), *Lipophrys pholis* (Syn: *B. pholis*), and *Lipophrys trigloides* (Syn: *B. trigloides*). Ag-NOR technique applied metaphases all of them showing only two NORs in telomeric domain of one pair chromosome. Silver nitrate study of *S. fluviatilis* Ceyhan River population have shown similarities with Mediterranean blenniid species in terms of number and distribution of active NORs.

Conclusion

Cytogenetic markers are being added to the morphological morphological and morphometric characters in phylogenetic and cytotoxic researches. So NORs have been most frequently used as chromosomal markers in comparative cytogenetics (Bertollo et al. 2004).

The present results indicate that number and distribution of nuclear organizer region of *S. fluviatilis* Ceyhan River population for the first. Furthermore this results will contribute to cytogenetics studies in this group.

References

- 1 Amemiya, C.T. and Gold, J.R., 1986. Chromomycin A 3 stains nucleolus organizer regions of fish chromosomes. *Copeia*, 1986(1), pp.226-231.
- 2 Bertollo, L.A.C., Oliveira, C., Molina, W.F., Margarido, V.P., Fontes, M.S., Pastori, M.C., das N Falcão, J. and Fenocchio, A.S., 2004. Chromosome evolution in the erythrinid fish, *Erythrinus erythrinus* (Teleostei: Characiformes). *Heredity*, 93(2), pp.228-233.
- 3 Cataudella, S. and Civitelli, M. V., 1975. Cytotaxonomical considerations of the genus *Blennius* (Pisces, Perciformes). *Experientia* 31(2): 167-169.
- 4 Collares-Pereira, M. J. *In vivo* direct chromosome preparation (protocol for air drying technique). First International Workshop on Fish Cytogenetic Techniques. 14-24, September 1992, Concarneau, France.
- 5 Doadrio, I., Perea, S. and Yahyaoui, A. 2011. Morphological and molecular analyses of freshwater blennids: a new species of the genus *Salaria* Forskål, 1775 (Actinopterygii,

Blenniidae) in Morocco. *Graellsia*, 67(2), pp.151-173.

6. Garcia, E., Alvarez, M.C. and Thode, G. 1987. Chromosome relationships in the genus *Blennius* (Blenniidae Perciformes) C-banding patterns suggest two karyoevolutional pathways. *Genetica*, 72(1), pp.27-36.

7. Howell, W.M., 1977. Visualization of ribosomal gene activity: silver stains proteins associated with rRNA transcribed from oocyte chromosomes. *Chromosoma*, 62(4), pp.361-367.

8. Howell, W.M. and Black, D.A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36: 1014-1015.

9. Howell, W.M., 1982. Selective staining of nucleolus organizer regions (NORs). *The cell nucleus*, 11, pp.89-142.

10. IUCN2016
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2006.RLTS.T60764A12407160.en>.

11. Kottelat, M. 2004. *Salaria economidisi*, a new species of freshwater fish from Lake Trichonis, Greece, with comments on variation in *S. fluviatilis* (Teleostei: Blenniidae). *Revue Suisse de Zoologie*, 111(1), pp.121-137.

12. Miya, M., Satoh, T. P., Nishida, M., 2005. The phylogenetic position of toadfishes (order Batrachoidiformes) in the higher ray-finned fish as inferred from partitioned Bayesian analysis of 102 whole mitochondrial genome sequences.

Biological Journal of the Linnean Society, 85: 289-306.

13. Sharma, O. P., Tripathi, N. K., Sharma, K. K. 2002. A review of chromosome banding in fishes. Some Aspects of Chromosome Structure and Functions, R. C. Sobti et al (Eds), Narosa Publishing House, New Delhi, India. pp 109-122.

Muhammet Gaffaroğlu
Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey
e-mail: mgaffaroglu@yahoo.com

Sevgi Ünal
Department of Biology, Faculty of Science, Gazi University, Ankara, Turkey
e-mail: sevgiunal@ymail.com

Muradiye Karasu Ayata
Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey
e-mail: muradiye.karasu@gmail.com



MICROMYCETOUS FUNGI ASSOCIATED WITH ALDER (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertner subsp. *glutinosa*) IN ISTRANCA MOUNTAIN (TURKEY – BULGARIAN SIDE)

Faruk Selçuk

MICROMYCETOUS FUNGI СВЪРЗАНИ С ALDER (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertner subsp. *glutinosa*) В СТРАНДЖА ПЛАНИНА (ТУРСКО-БЪЛГАРСКИ РЕГИОН)

Фарук Селджук

ABSTRACT: Materials collected on Alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertner subsp. *glutinosa*) trees from different localities of Istranca Mountains on both Turkish and Bulgarian side. Alder has got important among tree species which from forests in the study area. It shows wide spread constituting mixed and pure communities in the area. At the result of mycological excursions twenty microfungi species composition on Alder were determined. These are: *Annulohyphoxylon cohaerens* (Pers.) Y.M. Ju, J.D. Rogers & H.M. Hsieh, *Coniomela rimiricola* (Rehm) Kirschst., *Cryptosporella suffusa* (Fr.) L.C. Mejia & Castl., *Cytosporella antarctica* Spieg., *Diatrypella decorata* Nitschke, *D. placenta* Rehm, *Discula gloeosporioides* (Sacc. & Roum.) Höhn., *Ditopella fusispora* De Not., *Helminthosporium velutinum* Link, *Hyphoxylon peckianum* Sacc., *Lachnum virgineum* (Batsch) P. Karst., *Melanconium apiocarpum* Link, *M. sphaeroideum* Link, *Melogramma campylosporium* Fr., *Metasphaeria hederiae* (Sawada.) Sacc., *M. nigrovelata* Felten, *Nemania diffusa* (Sowerby) Gray, *Phoma endoleuca* Sacc., *Taeniolella stilbospora* (Corda) S. Hughes, and *Wuestneia farinosa* (Ellis) J. Reid & C. Booth. The most of them are Teleomorphic fungi (55%), and others are Anamorphic fungi (45%).

Key words: Microfungi, Istranca mountain, *Alnus*, consortium.

Introduction

This study which is a product of a Project supported by Bulgarian Academy of Sciences (BAS) and TUBITAK (The Scientific and Technological Research Council of Turkey), and it is carried out in the forest of Istranca Mountains, Turkey – Bulgaria in between 2005–2006. The Istranca Mountains are situated in south-eastern Bulgaria and Turkey which stretches between Bourgas valley, the Black Sea and Eastern Thracia. Its geographical coordinates are 42° 4' 0" North, 27° 0' 0" east. The highest peak on Bulgarian territory is Golyamo Gradishte (700 m a. s. l.), and also on Turkey territory is Mahya mountain (1035 m a. s. l.).

Istranca mountains, in Thrace, also contain productive forests. In this area, beech forest begin at an elevation of 250–300 m and cover densely all the highest parts of the mountain and then they pass towards the southern slopes of the mountain as low as 500 m. Underground shrubs of the region forest are composed of *Rhododendron ponticum* and *Ilex aquifolium*. Tree and shrub elements in the region forests are *Quercus petraea*, *Carpinus betulus*, within valley

Alnus glutinosa, *Cornus mas*, *Carpinus betulus*, *Acer campestre*, *Populus tremula*, *Ulmus campestris*, *Daphne pontica*, *Euphorbia amygdaloides*, *Viole silvatica*, *Rubus fruticosus*, *Fragaria vesca*, *Cistus villosus* and etc. (Atalay, 1994).

The climate in the area is primarily transitional – Mediterranean influenced by the Black Sea. Istranca Nature Park is the biggest protected area in Bulgaria. It occupies 1% (1161 sq km) of the territory and 23.5% of the protected areas in the country.

The picturesque meanders of the two clearest Bulgarian rivers, the Veleka and the border river Rezve are winding through.

The Nature Park occupies one of the first places among the protected territories in Europe in terms of biological diversity. The Istranca mountains have a rich and diverse flora, unique within Europe. For example: 50% of Bulgaria's flora can be observed in Istranca Nature Park and area has 121 habitat types. Of the reason for the abundance of flora in Istranca is the area's geographical location at a bio-geographical crossroad between European and Asian Continents.

Higher plants of study area have been well studied (Uruşak et al. 2013) but the mycobiota has not been extensively investigated and most of the studies deal with macromycetes generally Agaricoid fungi. Only twenty fungi species were provided by Stoykov and Denchev (2007) for Turkey area. The microfungi growth on trees and shrubs have been studied intensively in last two decades in Turkey (Akgül et al. 2015; Braun et al. 2000; Hüseyin and Selçuk 2001, 2014; Hüseyin et al. 2005, 2014; Hüseyinov, and Selçuk 2001; Hüseyinov et al. 2002; Selçuk and Ekici 2014; Selçuk and Hüseyin 2014; Selçuk et al. 2014; Vasighzadeh et al. 2014).

Materials and Methods

Specimens were taken to the laboratory and examined under a leica DM-E compound microscope. Sections were hand cut using a razor blade. The fungi were identified using the relevant literature (Hsieh, Ju, Rogers, 2005; Saccardo 1882 – 1931; Meji'a ve ark., 2008; Smit-skaya et al. 1986; Yaçevskiy, 1913; Mel'nik and Popuşoy, 1992; Naumov, 1964; Ignatavičiūtė and Treigienė 1998; Mel'nik 2000). The author abbreviations of fungi are according to Index fungorum (accessed March 2016). Taxa, its families and author citations were listed according to Cannon and Kirk (2007), Kirk et al. (2008) and Index fungorum (accessed March 2016).

Result and Discussion

In 2005 during field investigations in natural forest ecosystems of Istranca Mountain in Turkey and Bulgaria, at the result of mycological researches twenty micromycetes species have been found on Alder (*Alnus glutinosa* subsp. *glutinosa*) trees. Microfungi are mainly represented by Ascomycota members with twenty species. Sordariomycetes classis of Ascomycota is very rich in terms of genera and species, constitutes 65% of 20 determined species. Another classis Dothideomycetes is represented with five species (25%). Incertae sedis (as classis level) represented only one species of Ascomycota constitute 5% of general total amount. Sordariomycetes's subclassis that have the most species are Sordariomycetidae (8 species), and Xylariomycetidae (5). Among Dothideomycetes classis, Dothideomycetidae (2), Pleosporomycetidae (2), and Incertae sedis (1), subclassis have got species. Orders that distinguish in terms of number of species in Ascomycota divisio are: Di-

aporthales (7 species), Xylariales (5), Dothideales (2), Pleosporales (2), Coniochaetales (1), Helotiales (1), Incertae sedis (1), and Mytiliniales (1).

When mycobiota of study material is analyzed in terms of trophic structure: all species identified that are saprolognoxylothroph. These are: *Annulohypoxylon cohaerens* (Pers.) Y.M. Ju, J.D. Rogers & H.M. Hsieh, *Coniomela rimiricola* (Rehm) Kirschst., *Cryptosporella suffusa* (Fr.) L.C. Mejia & Castl., *Cytosporella antarctica* Speg., *Diatrypella decorata* Nitschke, *D. placenta* Rehm, *Discula gloeosporioides* (Sacc. & Roum.) Höhn., *Ditopella fusispora* De Not., *Helminthosporium velutinum* Link, *Hypoxylon peckianum* Sacc., *Lachnum virgineum* (Batsch) P. Karst., *Melanconium apiocarpum* Link, *M. sphaeroideum* Link, *Melogramma campylosporium* Fr., *Metasphaeria hederiae* (Sawada.) Sacc., *M. nigrovelata* Feltgen, *Nemania diffusa* (Sowerby) Gray, *Phoma endoleuca* Sacc., *Taeniolella stilbospora* (Corda) S. Hughes, and *Wuestneia farinosa* (Ellis) J. Reid & C. Booth. They play a part in the process of cracking of wood destroyer macrofungi and lignins that crack difficulty: in addition this, they constitute organic substances that are the most important natural resources of mould in their life cycles. On the other hand, they probably are effective in natural leaf falling process of trees, especially coniferous ones such as pine, fir, cedar and spruce.

Microfungi, an separable part of ecologic-morphologic structure of phytocoenosis, create their relation with the plants they live on with biocoenosis functional component element, namely through consortiums. When we look at fungus – host consortive relations generally, we see neutral, positive, negative and antagonist relations, but in this study, we observe only positive and neutral relations between fungus with host as given below:

In positive consortive relations, microfungi enable fregmentation of organic component (lignin, pectin and cellulose) until simple mineral components and ensure continuity of energy flow in biocoenosis. Saprothroph microfungi that play an active role in substance cycle by creating a humus-like substance by crumbling wood are in a positive relation with their hosts. For instance: *Annulohypoxylon cohaerens*, *Cryptosporella suffusa*, *Cytosporella antarctica*, *Diatrypella decorata*, *D. placenta*, *Ditopella fusispora*, *Helminthosporium velutinum*, *Lachnum virgineum*, *Melanconium apiocarpum*, *M. sphaeroideum*, *Melo-*

gramma campylosporum, *Metasphaeria hederæ*, *M. nigrovelata*, *Nemania diffusa*, *Phoma endoleuca*, *Taeniolella stilbospora*, and *Wuestneia farinosa*.

Although fungi develop on edicator in neutral consortive relations, host can continue their normal development and seed. For example there is a neutral relation between *Coniomela riminala*, and *Discula gloeosporioides* with *Alnus glutinosa* subsp. *glutinosa*.

On the other hand, some microfungi species were seen on different host species from different families and genera. For example: *Annulohypoxylon cohaerens* registered on dead branches of *Fagus orientalis* Lipsky, and on dead branches of *Carpinus betulus* L.; *Diatrypella decorata*– on dead branches of *Fagus orientalis*, and on dead thick branches of *Tilia argentea* Desf. ex DC.; *Melanconium apiocarpum*– on dead branches of *Carpinus betulus*; *Melogramma campylosporum*– on dead branches of *Carpinus betulus*; *Metasphaeria hederæ*– on bark of dead thin branches of *Ulmus minor* Miller subsp. *minor*.

When results of study are analyzed in terms of locational: *Coniomela riminala*, *Cryptosporella suffusa*, *Cytosporella antarctica*, *Discula gloeosporioides*, *Ditopella fusispora*, *Helminthosporium velutinum*, *Hypoxylon peckianum*, *Lachnum virgineum*, *Melanconium sphaeroideum*, *Metasphaeria hederæ*, *M. nigrovelata*, *Nemania diffusa*, *Phoma endoleuca*, *Taeniolella stilbospora*, and *Wuestneia farinosa* were recorded in the field of Turkey of Istranca mountain. *Annulohypoxylon cohaerens*, *Diatrypella decorata*, *D. placenta*, *Melanconium apiocarpum*, and *Melogramma campylosporum* were recorded in both Turkey and Bulgarian land of Istranca.

Acknowledgement

The Author wish to express their wish to express their thanks for the financial support from TUBITAK (Project no: TBAG – U / 100 (104T 095), National Science Fund, Bulgarian Ministry of Education and Science (Project no: B – 1302), and Ahi Evran University Scientific Project Fund (Prject no: FEF.E2.16.004). Gratefully thanks to Prof.Dr. Elşad Hüseyin (Kırşehir, Turkey) for critical reading and commenting on the manuscript.

References

1. Akgül, H., Ergül, C.C., Yılmazkaya, D., Akata, I., Selçuk, F., and Hüseyin, E. 2015. Diversity of microfungi on fagaceae in Uludağ Forests. *Oxidation Communications*. 38(3): 1529-1538.
2. Atalay İ. 1994. Vegetation Geograpy of Turkey. Ege University press, İzmir, p. 353.
3. Braun, U., Mel'nik, V.A., Hüseyin, H., and Selçuk, F. 2000. *Mycopappus alni* on species *Betula* and *Pyrus* from Turkey. *Mycology and Phytopathology*. 34(6): 1-2.
4. Cannon, P.F. and Kirk, P.M. 2007. *Fungal families of the World*. CABI UK Centre, Egham. 456 pp.
5. Hsieh Huei-Mei, Ju Yu-Ming, Rogers Jack D. 2005. Molecular phylogeny of *Hypoxylon* and closely related genera. *Mycologia*, 97(4): 844-865.
6. Hüseyin, E. Selçuk, F. & Şahin A.(2005). The World's second record of *Neoheteroceras flageoletii* reported from Turkey. *Mycotaxon.*, 94: 241-144.
7. Hüseyin, E.& Selçuk, F. (2001): New and Poorly Known Genera of Microfungi for Turkey. *Turk. J. Bot.* 25(6): 437-438.
8. Hüseyin, E., Selçuk, F., Churakov, B.P. 2014. A new species of *Berkleasmiium* from Ulyanovsk, Russia. *Mycosphere*, 5 (3): 462 –466.
9. Hüseyin,E., and Selçuk, F. 2014. Coelomycetous fungi in several forest ecosystems of Black Sea provinces of Turkey. *Agriculture and Forestry*. 60 (2):19-32.
10. Hüseyinov, E. & Selçuk, F.(2001): Contribution to study of Mycoflora of Turkey.I. Coelomycetes of orders Melanconiales and Sphaeropsidales on forest trees and shrubs in the Black Sea coast (Rize and Trabzon rovinces). *Mikologia i Fitopatologia.*, 35(1): 28-33.
11. Hüseyinov, E., Mel'nik, V.A., and Selçuk, F. 2002. *Ceratophorum helicosporum* - A new for mycoflora of Turkey Genus and Species of Hyphomycetes (Dematiaceae). *Mycology and Phytopathology*. 36(3): 11-13.
12. Ignatavičiūtė M., and Treigienė A. 1998. *Mycota Lithuaniae. Tom. IX. Melanconiales*. —Valstieč iu Laikrastis. Vilnus. 648 pp.
13. Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. and Stalpers, J.A. [eds.]. 2008. *Dictionary of the Fungi*. 10th edn. CAB International, Wallingford. 655 pp.
14. Meji'a L.C., Castlebury L.A., Rossman, A.Y., Sogonov M.V., and White J.F. 2008. Phylogenetic placement and taxonomic review of the

genus *Cryptosporella* and its synonyms *Ophiovalsa* and *Winterella* (Gnomoniaceae, Diaporthales). *Mycological Research*, 112: 23–35.

15. Mel'nik V.A. 2000. *Difinitorium Fungorum Rossiae. Classis Hyphomycetes. Fasc.1. Fam. Dematiaceae.* —Nauka. Petropoli. 371 pp.

16. Mel'nik V.A., Popuşoy İ.S. 1992. *Nesoverşenniye gribi na derevyakh i kustasrnikovikh porodakh.* —Ştiintsa. Kişinev. 362 pp.

17. Naumov N.A. 1964. *Flora gribov Leningradskoy oblasti. Vıpusk 2. Diskomitseti.* —Nauka. Moskova-Leningrad. 257 pp.

19. Rogers J.D., Miller, A.N., and Vasilyeva, L.N. 2008. Pyrenomycetes of the Great Smoky Mountains National Park. VI. Kretzschmaria, Nemanina, Rosellinia and Xylaria (Xylariaceae). *Fungal Diversity*, 29: 107-116.

20. Saccardo, P.A. 1882-1931, 1972. *Sylloge Fungorum Omnium Hucusque Cognitorum. Tom. I-XXV, XXVI.* Pavia. Janson reprint corporation. New York, London.

21. Selçuk, F., and Ekici, K. 2014. A new species of *Manoharachariella* (Hyphomycetes) from Central Anatolia, Turkey. *Mycosphere*, 5(3): 419-423.

22. Selçuk, F., and Hüseyin, E. 2014. New records of microfungi from mountain Strandzha in Turkey (South-Eastern Europe). II. *Mycology and Phytopathology*. 50(1): 202-208.

23. Selçuk, F., Hüseyin, E., Şahin, A., and Cebeci, C.C. 2014. Hyphomycetous fungi in sev-

eral forest ecosystems of Black Sea provinces of Turkey. *Mycosphere*, 5(2): 334-344.

24. Smitskaya M.F., Smik L.V., Merejko T.A. 1986. *Opredelitel' pirenomitsetov USSR.* —Naukova Dumka. Kiev. 364 pp.

25. Uruşak E.A., Özhatay F.N., Güler N., Ersoy H., Başak N., Yeşil Y., Oral D., and Demirci S. 2013. The flora of Yıldız Mountains (Kırklareli) Biosphere Project area. *Turk. J. Bot.*, 37: 225–269.

26. Vasighzadeh, A., Doustmorad, Z., Selçuk, F., Hüseyin, E., Kursat, M., Lutz, M., and Piatek, M. 2014. Discovery of *Thecaphora schwarzmiana* on *Rheum ribes* in Iran and Turkey: implications for the diversity and phylogeny of leaf smuts on rhubarbs. *Mycological Progress*, DOI 10.1007/s11557-014-0972-4. 13 (3): 881-892.

27. Yaçevskiy A.A. 1913. *Opredelitel' gribov. Tom I. Soverşenniye gribi.* St.-Petersburg. 934 pp.

28. www.indexfungorum.org – 2016.

Faruk Selçuk

Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey

e-mail: selcuk_faruk@yahoo.com



**MICROMYCETOUS FUNGI ASSOCIATED WITH LINDEN (*Tilia argentea* Desf. ex DC.) IN
ISTRANCA MOUNTAIN (TURKEY–BULGARIAN SIDE)**

Faruk Selçuk

**MICROMYCETOUS FUNGI СВЪРЗАНИ С LINDEN (*Tilia argentea* Desf. ex DC.) В
СТРАНДЖА ПЛАНИНА (ТУРСКО-БЪЛГАРСКИ РЕГИОН)**

Фарук Селджук

ABSTRACT: Nineteen species of micromycetous fungi identified of *Tilia argentea* Desf. ex DC., the most of them are Anamorphic fungi (90%). These include: *Aposphaeria protea* Peyronel, *Coniothyrium concentricum* (Desm.) Sacc., *Cytospora epixyla* Sacc. & Roum., *Cytospora guttifera* (DC.) Fr., *Diplodia tiliae* Fuckel, *Exosporium tiliae* Link, *Hendersonia sarmentorum* Westend., *Hendersonia tiliae* Lév., *Hercospora tiliae* (Pers.) Tul. & C. Tul. *Melanconium stromaticum* Corda, *Periconia byssoides* Pers., *Phoma microsperma* Preuss, *S. märtensii* (West) Sacc., *Septocylindrium leucum* Bayl. Ell. & O.P. Stansf., *Sphaeropsis guttifera* G.H. Otth, *Sphaeropsis tiliacea* Peck., and *Trichothecium candidum* Wallr. Others are Teleomorphic fungi (10%): *Diatrypella decorata* Nitschke, and *Ophiostoma microsporium* Arx.

Key words: Microfungi, Istranca mountain, *Tilia*, Trophic structure.

Introduction

The Linden (*Tilia argentea* Desf. ex DC.) is generally spread in the western (Marmara and Aegean region) and north-western (western part of Black sea region) Anatolia and constitutes mixed forests with other forest species (*Acer campestre*, *Alnus glutinosa*, *Carpinus betulus*, *Fagus orientalis*, *Populus tremula*, *Quercus petraea*, *Ulmus campestris*, and others). Shrub layers in these forests have been composed of *Cistus villosus*, *Cornus mas*, *Corylus avellana*, *Daphne pontica*, *Fragaria vesca*, *Mespilus germanica*, *Rhododendron luteum*, *R. ponticum*, *Rubus fruticosus*, *Sorbus torminalis*, etc. On the other hand, Turkey is a fifth, all among the world country according to linden produce. At the result of mycological researches nineteen micromycetes species have been found on Linden trees of natural forest ecosystems in Istranca mountain (Turkey and Bulgarian side).

This study which is a product of a Project supported by Bulgarian Academy of Sciences (BAS) and TUBITAK (The Scientific and Technological Research Council of Turkey), and it is carried out in the forest of Istranca Mountains, Turkey – Bulgaria in between 2005–2006. The Istranca Mountains are situated in south-eastern Bulgaria and Turkey which stretches between Bourgas valley, the Black Sea

and Eastern Thracia. Its geographical coordinates are 42° 4' 0'' North, 27° 0' 0'' east. The highest peak on Bulgarian territory is Golyamo Gradishte (700 m a. s. l.), and also on Turkey territory is Mahya mountain (1035 m a. s. l.).

The climate in the area is primarily transitional – Mediterranean influenced by the Black Sea. Istranca Nature Park is the biggest protected area in Bulgaria. It occupies 1% (1161 sq km) of the territory and 23.5% of the protected areas in the country.

The picturesque meanders of the two clearest Bulgarian rivers, the Veleka and the border river Rezve are winding through.

The Nature Park occupies one of the first places among the protected territories in Europe in terms of biological diversity. The Istranca mountains have a rich and diverse flora, unique within Europe. For example: 50% of Bulgaria's flora can be observed in Istranca Nature Park and area has 121 habitat types. Of the reason for the abundance of flora in Istranca is the area's geographical location at a bio-geographical crossroad between European and Asian Continents.

The microfungi growth on trees and shrubs have been studied intensively in last two decades in Turkey (Akgül et al. 2015; Hüseyin and Selçuk 2001, 2002, 2002a; Hüseyin et al 2016; Kabaktepe et al. 2015; Selçuk and Ekici 2014;

Selçuk and Hüseyin 2000, 2014; Selçuk et al. 2002, 2003, 2012, 2014).

Materials and Methods

Specimens were taken to the laboratory and examined under a leica DM-E compound microscope. Sections were hand cut using a razor blade. The fungi were identified using the relevant literature (Ellis and Ellis 1987; Grove 1935, 1937; Ignatavičiūtė and Treigienė 1998; Mel'nik 2000; Merejko 1980; Popuşoy 1971; Saccardo 1882 – 1931; Smitskaya et al. 1986; Upadhyay 1981). The author abbreviations of fungi are according to Index fungorum (accessed March 2016). Taxa, its families and author citations were listed according to Cannon and Kirk (2007), Kirk et al. (2008) and Index fungorum (accessed March 2016).

Result and Discussion

In 2005 during field investigations in natural forest ecosystems of Istranca Mountain in Bulgaria and Turkey, at the result of mycological researches nineteen micromycetes species have been found on Linden (*Tilia argentea*) trees. Microfungi are mainly represented by Anamorphic fungi with seventeen species (90% of total number of identified species on Linden), others only two species belong to Teleomorphic fungi that are *Ophiostoma microsporum* Arx and *Diatrypella decorata* Nitschke.

The identified nineteen species belong to Xylothroph trophic group, but *Septocylindrium leucum* both member to carpotrophic and xylothrophic groups. All species of these groups are members of Ascomycota division. The largest of xylothrophs are saprobic and some species are parasite and pathogens contributing to the drying of trees or development of various necrosis in the bark. The most dangerous of them are *Ophiobolus* and *Cytospora* genera. The seventeen species (90%) of xylothrophs are saprobic. They develop on attached and fallen dead branches and wood. Due to their development becomes possible decomposition of complex organic compounds as lignin, pectin, and fiber, up to simple mineral compounds. In addition, they may contribute to the natural branches litter of trees. Widespread saproxylothrophs are species of *Coniothyrium*, *Diatrypella*, *Diplodia*, *Exosporium*, *Hendersonia*, *Phoma*, *Sphaeropsis* and other genera.

As for Carpothroph; it has not been represented, but *Septocylindrium leucum* is car-

pothroph as another host on cone scale of *Pinus nigra* subsp. *pallasiana*.

Being an integral part of the morphological and ecological structure of phytocoenosis on synusium level, microfungi conduct their interrelations with plant organisms through the elements of the functional structure of biogeocoenosis – consortiums. Four type of consortive relations are registered in the study area: indifferent, positive, negative and antagonistic. The most part of microfungi in forest consortium are positive relations with the host – 63% of total number of species. The portion of species involved in indifferent, negative, and antagonistic relations are 21%, 11%, 5% respectively.

The twelve species of total number of microfungi are positive participants *Tilia argentea* consortium. In the consorts of positive relationships, through the activities of fungi are possible decomposition of complex organic compounds such as lignin, pectin, cellulose down to the simple mineral compounds and provides a continuous flow of energy in biogeocoenosis. Saprobiic microfungi that play an active role in substance gyre by creating a humus – like substance by crumbling wood are in positive relations with their hosts. *Aposphaeria protea* Peyronel, *Coniothyrium concentricum* (Desm.) Sacc., *Diatrypella decorata* Nitschke, *Exosporium tiliae* Link, *Hendersonia sarmentorum* Westend., *Hendersonia tiliae* Lév., *Hercospora tiliae* (Pers.) Tul. & C. Tul., *Melanconium stromaticum* Corda, *Periconia byssoides* Pers., *Phoma microsperma* Preuss, *Septocylindrium leucum* Bayl. Ell. & O.P. Stansf., and *Trichothecium candidum* Wallr. with *Tilia argentea* are in positive relations.

Four of the fungal species that identified on *T. argentea* are indifferent participants of consortiums. All organisms in the forests endure easily the presence of fungi and develop normally. Interrelations between Linden with *Diplodia tiliae* Fuckel, *Sphaeropsis guttifera* G.H. Oth, *S. märzensii* (West) Sacc., and *S. tiliacea* Peck serve an example for indifferent relations.

Fungi consort in negative relations are generally represented by obligate parasites, and sometimes by facultative parasites and pathogens. In negative consortium relations parasitic or pathogen fungi feeding at the expense of host plants, violated them the normal development stage of plants. Negative consortium relations arise with *T. argentea* between *Cytospora epixyla* Sacc. & Roum. and *Cytospora guttifera* (DC.) Fr.

Antagonistic relations uncommon in Linden–Microfungi consortiums. If a negative relation-

ship fungal consort most represented by obligate parasites and less by facultative parasites, whereas in the antagonistic relations facultative parasites dominate over obligate. Development of fungal consort in antagonistic relations has an epiphytotic character. Parasitic microfungi are annihilating impact on phytocoenosis. Affected edificators loss the normal development stage, dry out, and fall out of the phytocoenosis. Antagonistic consortium relations between fungi *Ophiostoma microsporium* Arx and *T. argentea* result in mass destruction of *Tilia* of Mt. Istranca and these plants quite the composition of forest ecosystems.

During the present investigation some fungi were recorded growing together on the same substratum. For example: *Cytospora guttifera* was found developing together with *Sphaeropsis märzensii*.

On the other hand, some microfungi species were seen on different host species from different families and genera. For instance: *Diatrypella decorata* registered on dead branches of *Fagus orientalis* Lipsky and thick dead branches of *Alnus glutinosa* (L.) gaertner subsp. *glutinosa*; *Melanconium stromaticum*— on thin dead branches of *Carpinus betulus* L.; *Septocylindrium leucum*— on cone scale of *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe and on dead naked branches of *Sambucus nigra* L.

When micromycobiota of the study field is analyzed in terms of locational: *Ophiostoma microsporium*, *Coniothyrium concentricum*, *Cytospora epixyla*, *Cytospora guttifera*, *Diplodia tiliae*, *Hendersonia sarmentorum*, *Hendersonia tiliae*, *Hercospora tiliae*, *Periconia byssoides*, *Phoma microsperma*, *Sphaeropsis guttifera*, *Sphaeropsis märzensii*, *Sphaeropsis tiliacea* and *Trichothecium candidum* were recorded in the land of Turkey of Istranca mountain. *Aposphaeria protea*, *Exosporium tiliae* and *Septocylindrium leucum* were recorded in both Turkey and Bulgarian land of Istranca. *Diatrypella decorata* and *Melanconium stromaticum* were recorded in Bulgarian side of Istranca mountain too.

Acknowledgement

The Author wish to express their wish to express their thanks for the financial support from TUBITAK (Project no: TBAG – U / 100 (104T 095), National Science Fund, Bulgarian Ministry of Education and Science (Project no: B – 1302), and Ahi Evran University Scientific Project Fund (Project no: FEF.E2.16.004). Gratefully thanks to

Prof.Dr. Elşad Hüseyin (Kırşehir, Turkey) for critical reading and commenting on the manuscript.

References

1. Akgül, H., Ergül, C.C., Yılmazkaya, D., Akata, I., Selçuk, F., and Hüseyin, E. 2015. Diversity of microfungi on fagaceae in Uludağ Forests. *Oxidation Communications*. 38(3): 1529-1538.
2. Cannon, P.F., and Kirk, P.M. 2007. *Fungal families of the World*. CABI UK Centre, Egham. 456 pp.
3. Ellis, M.B. and Ellis, J.P. 1987. *Microfungi on Land Plants. An identification Handbook*. CROOM HELM. London-Sydney. 818 pp.
4. Grove, W.B. 1935. *British Stem-and Leaf-Fungi. (Coelomycetes). Vol. I. Sphaeropsidales*. Cambridge. at the University Pres. London. 488 pp.
5. Grove, W.B. 1937. *British Stem-and Leaf-Fungi. (Coelomycetes). Vol. II. Sphaeropsidales*. Cambridge. at the University Pres. London. 406 pp.
6. Hüseyin, E. and Selçuk, F. 2001. New and poorly known genera of microfungi for Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 25(6): 437-438.
7. Hüseyin, E. and Selçuk, F. 2002. A new species of *Colletotrichum*. *Israel Journal of Plant Sciences*, 50(2): 161-163.
8. Hüseyin, E. and Selçuk, F. 2002a. *Septoria oleandriicola* sp. nov., a new species from *Nerium oleander* in Turkey. *Pakistan Journal of Botany*, 34(2): 113-115.
9. Hüseyin, E., Selçuk, F., Churakov, B.P., Kornilin, K.E., and Romanova, T.A. 2016. Microfungi on Forest trees and shrubs of Düzce province (Turkey) and Ulyanovsk Region (Russia). *Mikologiya i Fitopatologiya*. 50(1): 35-42.
10. Ignatavičiūtė, M., and Treigienė, A. 1998. *Mycota Lithuaniae. Tom. IX. Melanconiales*. —Valstieč iu Laikrastis. Vilnius. 648 pp.
11. Kabaktepe, Ş., Heluta, V.P., and Akata, I. 2015. Checklist of Powdery mildews (Erysiphales) in Turkey. *Biodicon*, 8(3): 128-146.
12. Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. and Stalpers, J.A. [eds.]. 2008. *Dictionary of the Fungi*. 10th edn. CAB International, Wallingford. 655 pp.
13. Mel'nik, V.A. 2000. *Difinitorium Fungorum Rossiae. Classis Hyphomycetes. Fasc.1. Fam. Dematiaceae*. —Nauka. Petropoli. 371 pp.
14. Merejko, T.A. 1980. *Flora Fungorum RSS Ucrainica. Ordo Sphaeropsidales, familia*

Sphaeropsidaceae (Phaeodidymae). —Naukova Dumka. Kiev. 208 pp.

15. Popuşoy, İ.S. 1971. *Mikoflora plodovikh derev'yevev SSSR*. —Nauka. Moskova. 465 pp.

16. Saccardo, P.A. 1882-1931, 1972. *Sylloge Fungorum Omnium Hucusque Cognitorum. Tom. I-XXV, XXVI*. Pavia. Jonson reprint corporation. New York, London.

17. Selçuk, F. and E. Hüseyin. 2000. *New records of microfungi species for Turkey*. Proceedings of the 2th Balcan Botanical Congress, İstanbul, 337-342.

18. Selçuk, F., Akgül, H., and Hüseyin, E. 2002. *Türkiye Mikobiyotasına Katkılar.II. Fırat Üniversitesi kampüsünde bulunan mikrofunguslar*, XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi.Özetler, Malatya, 131. [in Turkish].

19. Selçuk, F., and Ekici, K. 2014. A new species of *Manoharachariella* (Hyphomycetes) from Central Anatolia, Turkey, *Mycosphere*, 5(3): 419-423.

20. Selçuk, F., and Hüseyin, E. 2014. New records of Microfungi from Mountain Strandzha in Turkey (South – Eastern Europe). II, *Mikologiya i Fitopatologiya*. 48(3): 202-208.

21. Selçuk, F., Hüseyin, E., and Bitmiş, K. 2003. Some materials on mitosporic fungi from Turkey, II. Coelomycetes, [Kai kurie duomenys

apie Turkijos mitosporinius grybus. II. Coelomycetes], *Botanica Lithuanica*, 9(2): 161-170.

22. Selçuk, F., Hüseyin, E., Gündoğan, T., and Özkan, E. 2012. Microfungi of genus *Phyllosticta* Pers. determined in Turkey Ecosystems. *Proceedings of the Ecological Symposium 2012*, 03–05 May, Kilis 7 Aralık University, Kilis, Turkey, 184 [in Turkish].

23. Selçuk, F., Hüseyin, E., Şahin, A., and Cebeci, C.C. 2014. Hyphomycetous fungi in several forest ecosystems of Black Sea provinces of Turkey. *Mycosphere*, 5(2): 334-344.

24. Smitskaya, M.F., Smık, L.V., Merejko, T.A. 1986. *Opredelitel' pirenomitsetov USSR*. —Naukova Dumka. Kiev. 364 pp.

25. Upadhyay, H.P. 1981. *A monograph of Ceratocystis and Ceratocystiopsis*. Univ. Georgia Pres. Athens, 176 pp.

26. www.indexfungorum.org – 2016.

Faruk Selçuk

Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey

e-mail: selcuk_faruk@yahoo.com



THE EFFECTS OF PESTICIDE NEEMAZAL ON THE GROWTH HORMONE (GH) AND INSULIN-LIKE GROWTH HORMONE (IGF-1) OF CARP FISH (*Cyprinus Carpio*, 1758 L.)

Ibrahim Örün Nuh Korkmaz

ВЛИЯНИЕ НА ПЕСТИЦИДА НЕЕМАЗАЛ ВЪРХУ ХОРМОНИТЕ НА РАСТЕЖА (GH) И ИНСУЛИНОВИТЕ ХОРМОНИ НА РАСТЕЖА (IGF-1) НА ШАРАНИТЕ (*Cyprinus Carpio*, 1758 L.)

Ибрахим Йорюн, Нух Коркмаз

ABSTRACT: Many of the pesticides, as well as having synthetic content, are obtained from various plants moreover there are also organic based pesticides. One of them is Neem, *Azadirachta indica*, which is a well-known plant with insecticidal properties and high biological activity levels. Azadirachtin (AZA) is a triterpenoid active compound that exists in the neem plant and its antiviral, antibacterial and antifungal properties have long been known. It can also be utilized commercially from azadirachtin. *NeemAzal T/ S* is a commercial form in the European Union. It has been approved as a pesticide in organic farming and it contains 1% Azadirachtin. This and similar pesticide derivatives, when they are being mixed with the aquatic environment, have had a destructive influence on the aquatic ecosystem directly and on the people indirectly.

That's why in our study we have studied AZA that is used as antibacterial in fish farming and have investigated the impact on the carp (*Cyprinus Carpio*, 1758 L.) using different doses (0, 1.2 and 2.4 ppm AZA) and times (4 and 30 days) and the levels of serum growth hormone (GH) and insulin-Like Growth Factor (IGF-1).

In this study, the control group (based on 0 ppm), in the other dose groups in serum levels GH and IGF-1 a statistically significant reduction has occurred ($p < 0.05$). In the comparison depending on the period, in serum GH levels we have not observed statistically significant differences in acute and chronic (4 and 30 days, respectively) ($p > 0.05$), and in serum IGF-1 levels in 1.2 and 2.4 ppm dose groups the difference between periods has been significant ($p < 0.05$). At the end of the study, it has been determined that the chemicals which are used against fish parasites particularly in fish farming have negative effects on the growth of fish.

Key words: Azadirachtin, carp, GH, IGF-1.

Introduction

In parallel with the rapid increase in world population the competition against food increases as well. There is no possibility of expansion of agricultural areas today. Therefore, to ensure product growth studies are conducted to raise the intensive input use and the amount of product per unit area. The most important of these studies is the use of fertilizers and pesticides [1].

Pesticides are chemicals used to get rid of pests mainly used in agriculture and to ensure product increase [2]. In addition, pesticides can be used to control fish diseases, parasites and other insects in aquatic systems [3]. But pesticides are not always practical and useful. Because fish and other organisms are affected by pesticides flowing from agricultural areas into the natural water environment. These pesticides can damage the aquatic flora and fauna, finding the path into water channel [4].

These pesticides accumulate at high levels in the body of animals and then affect the performance by interfering in the homeostasis [5, 6]. The use of synthetic pesticides and their discharge to the environment have devastating effects on aquatic systems. The use of synthetic pesticides has led to the development of resistant pests. To minimize the damage due to environmental problems arising from the use of synthetic chemicals alternative method of pest control is a growing need [7, 8]. Many plants have been used for insect control [9, 10, 11, 12].

Botanical pesticides are developed from chemical substances by which the plants use for defense mechanisms against phytophagous insects. Plant-derived pesticides are less toxic to fish than synthetic pesticides which are applied as piscicide for cleansing the fish culture pond [13, 14].

Azadirachta indica (Meliaceae family) contains azadirachtin ($C_{35}H_{44}O_{16}$) compound ex-

tracted from the seeds, leaves and other parts of the neem tree and it has the insecticidal active ingredient. This is a naturally occurring organic substance, whose main component is azadirachtin A from the class of tetranortriterpenoids (limonoids). It has been isolated from the seeds of the grain of the neem tree (*Azadirachta indica*) by Butterworth and Morgan [15]. Azadirachtin is now used for the control of pests and vermin [16, 17, 18, 19, 20].

It has been understood and documented that azadirachtin has its impact on the growth and reproduction of insects and antifeedant. The action mechanism of azadirachtin is as follows: effects on chemoreceptors resulting in antifeedant, by blocking the morphogenetic peptide hormones release ecdysteroid effects on juvenile hormone titers and effects on other tissues that cause the insect's loss of overall fitness [21, 22].

Azadirachtin has also been used on the farm for the control of predators feeding on fish parasites and fish fry [18]. Azadirachtin-under ambient conditions- is stable less than a week [23]. Scott and Kaushik [24] gave azadirachtin half-life of 36-48 h in the water which is exposed to sunlight. Azadirachtin has also been utilized commercially [25, 26].

Worldwide there are over 100 commercial neem formulations such as Margosan-O, Bio-neem, Azatin, Neemies, Safer's ENI, Wellgro, RDRrepelin, Neemguard, Neemark and Neemazal. Neem derivatives have been applied to harmful pests as neem oil formulations such as leaf, oil and essence [27].

As in other vertebrate growth hormone (GH) is a pluripotent hormone synthesized in teleost. GH makes its effect connecting with the GH-a passage receptor- transmembrane receptor [28]. GH is involved in many important physiological events like the regulation of ionic and osmotic balance, lipid, protein and carbohydrate metabolism, skeletal and soft tissue growth, reproduction and immune function. Recent studies indicate that GH affects some aspects of the results, including behavior, appetite, food seeking behavior, aggression and escaping from predators [28, 29, 30, 31]. Studies in mammals indicate that; GH/IGF-1 system is an axis and the physiological activities of GH are done via IGF-1 [30, 32].

Carp are especially vivid indicator of the fresh waters. In the domestic market it is frequently consumed by low-income citizens. Since the nutritional value of them is high and are

cheap they are widely used in both hunting and farming.

Studies conducted in recent years focused on the identification of insulin-like growth factors (IGF) in the fish and on the assay of the level in the blood or tissue of IGF-1 peptide or mRNA. They also focused on nutritional status and seasonal expression and the change of IGF-1 in blood and tissue and GH and thyroid hormone and the control of IGF-1 production by other endocrine hormones, such as estrogen [33, 34]. Studies suggest that the structure, regulation and function of IGF-1 are similar in fish and in mammals.

The NeemAzal-T/S that we used in our study, like Emulsion Concentrate (EC), the tropical Neem tree *Azadirachta indica* (A. Juss) obtained from the core of the seed contains the active ingredient "Azadirachtin A" (10g / liter).

In this study, our aim is to examine the effect of Neemazal- a commercial formulation of azadirachtin- on the carp (*Cyprinus carpio* L. 1758) growth hormone (GH) and (IGF-1).

Material and Methods

Animals

The carps used in the experiment have the weight of 60-70g and length of 15-16 cm. The study's Ethics Committee approval was issued by the Faculty of Veterinary, Selcuk University (letter No. 342, dated 29.05. 2015). The fish used in the experiment were transported from Yedikır Fisheries Farm, which is run by the 73rd Branch Office of General Directorate of State Hydraulic Works, Ministry of Forest and Water Affairs, to the laboratory and were fed in 250-L glass aquariums (depending on the specific density of fish 10 g/L) for 15 days, and their adaptation to the environment was ensured. The experiment was carried out with a semi-static system in natural light (12h light-12h dark). During the experiment, fish were nourished with Pinar pellet feed (45% protein, 19% fat, 3% crude fiber) once a day. Twelve h after the last feeding dose, hormone and some serum parameters analyses of the fish were done following the experiment.

Water Quality Criteria

The water to be used in the experiment was first passed through a central water treatment unit in order to fix its total hardness and pH, and from there, it was transferred to glass aquariums. The water quality criteria of aquarium water before and after treatment are given in Table 1.

NeemAzal-T/S

The NeemAzal-T/S that we used in our study is one of the most promising neem products. NeemAzal-T/S like Emulsion Concentrate (EC), the tropical Neem tree *Azadirachta indica* (A. Juss) obtained from the core of the seed contains the active ingredient "Azadirachtin A" (10g/liter).

Experimental Design

Before the application, we have placed 10 pieces of the carp in 250 L glass aquariums. Providing twenty-day average adaptation, we have established an experiment mechanism as shown in Table 2.

At the end of the experiment the blood of fish has been taken. After the administration of anesthetic agents (phenoxyethanol 0.5ppm) the blood has been taken directly from the tail when they are still alive.

About 2-3 ml of blood is collected into a 10 ml glass biochemistry tubes. Within every 5 minutes in the refrigerated centrifuge at 5,000 rpm until the moment when hormonal analysis and serum are obtained we have maintained the blood at -40°C in a deep freezer.

Experimental Analysis

The concentrations of GH and IGF-1 were measured by ELISA (fish GH and IGF-1 hormone kit Cusabio, China).

Statistical Analysis

Statistical analysis was carried out using the SPSS 10.0 statistical program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). All data were expressed as arithmetic means \pm SE. For the analysis of the experimental parameters, one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test was used. Value of $p < 0.05$ was considered to be statistically significant.

Table 1: Water Quality Criteria used in the experiment

Water Quality Criteria	Experimental Groups					
	Control		1.2 ppm AZA		2.4ppm AZA	
	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
Water Temperature (°C)	10.5 \pm 0.1	10.4 \pm 0.1	10.8 \pm 0.3	10.7 \pm 0.2	10.3 \pm 0.2	10.4 \pm 0.1
pH	7.5 \pm 0.1	7.7 \pm 0.1	7.6 \pm 0.2	7.8 \pm 0.1	7.6 \pm 0.1	7.9 \pm 0.2
Dissolved O ₂	7.8 \pm 0.2	7.1 \pm 0.3	7.9 \pm 0.2	7.40.3	7.4 \pm 0.1	7.3 \pm 0.2
Dissolved Suspended Solid (mg/L)	28.1 \pm 1.2	30.6 \pm 1.1	29.0 \pm 0.7	31.26.9	28.5 \pm 0.3	31.250.7
Hardness (CaCO ₃) ^o dH	150.4 \pm 1.1	146.4 \pm 1.0	151.1 \pm 0.8	147.2 \pm 1.1	151.1 \pm 0.8	148.7 \pm 1.5
Ammonium NH ₄ -N (mg/L)	0.11 \pm 0.02	0.15 \pm 0.03	0.12 \pm 0.02	0.16 \pm 0.04	0.12 \pm 0.02	0.15 \pm 0.02

Table 2: Experimental design

Acute Phase (96 hours)	N	Sub-chronic phase (30 days)	N
Group 1: Control Group	10	Group 1: Control Group	10
Group 2: AZA 1.2 ppm 96-LC ₅₀ %1	10	Group 2: AZA 1.2 ppm 96-LC ₅₀ %1	10
Group 3: AZA 2.4 ppm 96-LC ₅₀ %10	10	Group 3: AZA 2.4 ppm 96-LC ₅₀ %10	10

Results

Both in the acute period (4 days) and in the chronic period (30 days) and at different doses (1.2 and 2.4 ppm), according to the control groups, the decreases in the serum GH and IGF-1 levels of the carp, which are exposed to azadirachtin, have been statistically significant (Table 3 and 4).

As a result of the different doses (0, 1.2 and 2.4 ppm) of azadirachtin applied to the carp there has not been a statistically significant difference between serum GH levels in 4 and 30 days in all dose groups. ($p > 0.05$), (Figure 1).

As a result of the different doses (0, 1.2 and 2.4 ppm) of azadirachtin applied to the carp, serum IGF-1 levels have been statistically different, both in 1.2 ppm and in 2.4 ppm dose groups, depending on the period ($p < 0.05$), (Figure 2).

Table 3: The carp that have been exposed to Azadirachtin in acute period and with different doses (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) Serum GH ve IGF-1 Levels

Experimental Groups	GH (pg/mL)	IGF-1 (pg/mL)
Control	832.2±1.76 ^a	688.1±1.05 ^a
AZA 1.2 ppm	794.6±1.52 ^b	656.9±1.20 ^b
AZA 2.4 ppm	784.2±2.01 ^c	590.6±1.34 ^c

[a.b.c]: Indicated by different letters in each column mean ± SE are statistically different from each other (p<0.05), N:13

Table 4: The carp that have been exposed to Azadirachtin in chronic acute period and with different doses (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) Serum GH ve IGF-1 Levels

Experimental Groups	GH (pg/mL)	IGF-1 (pg/mL)
Control	830.6±1.55 ^a	686.0±0.70 ^a
AZA 1.2 ppm	793.7±0.92 ^b	647.6±0.92 ^b
AZA 2.4 ppm	785.6±1.17 ^c	560.4±2.92 ^c

[a.b.c]: Indicated by different letters in each column mean ± SE are statistically different from each other (p<0.05), N: 13

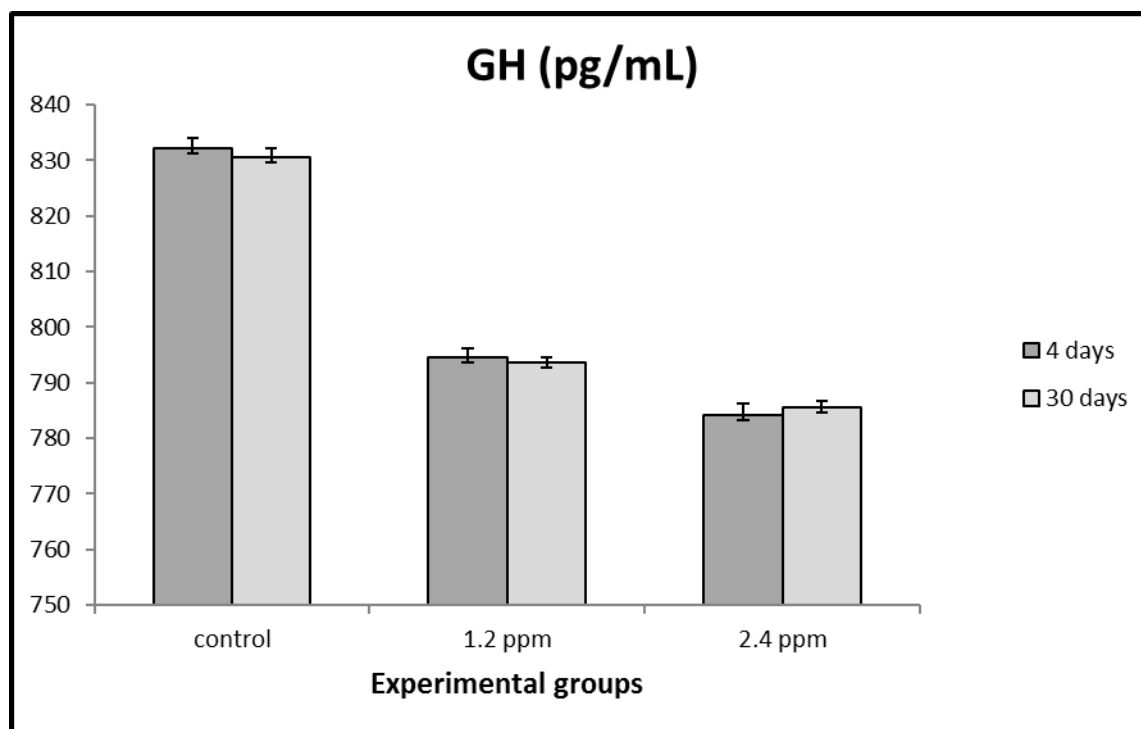
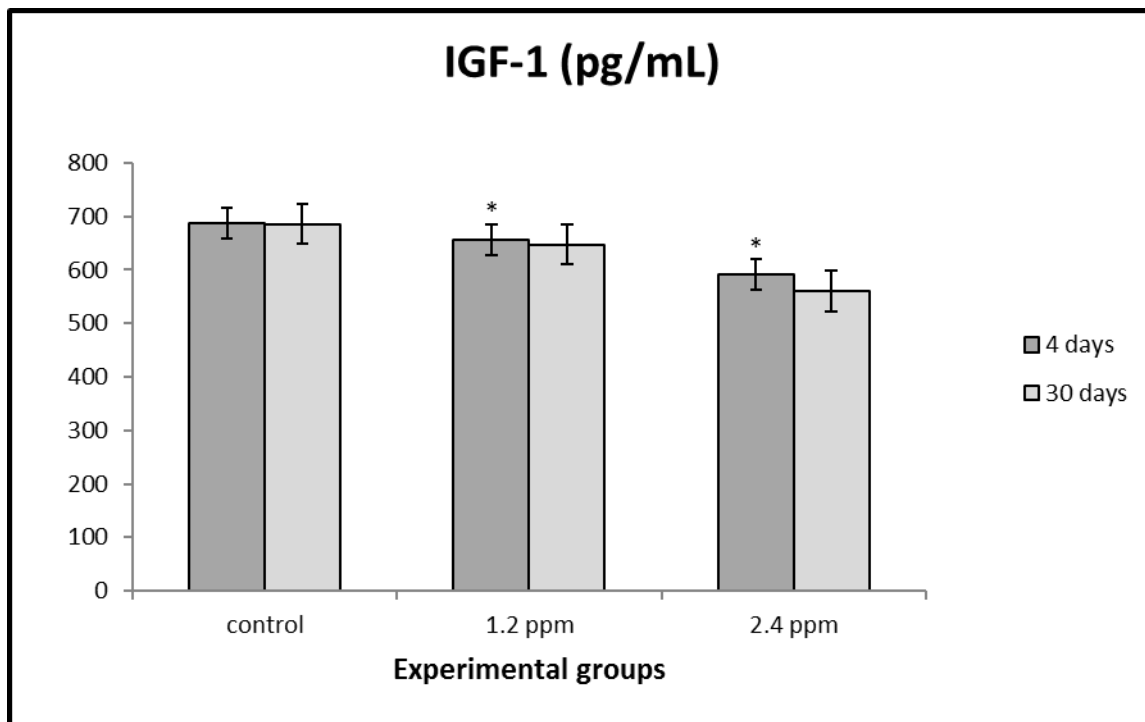


Figure 1: The change of serum GH levels depending on the time (4 and 30 days) in the carp that have been exposed to azadirachtin with different doses.



* Indicates statistical difference depending on time within the same dose group ($p < 0.05$).

Figure 2: The change of serum GH levels depending on the time (4 and 30 days) in the carp that have been exposed to azadirachtin with different doses.

Discussion

The effects on the somatic growth of GH have been carried out in fish with a series of studies [29, 35, 36, 37]. GH growth hormone plays an important role in the development of fish, the reproduction and the osmoregulation as well as in promoting growth [38, 39]. A positive correlation between IGF-1 and growth rate in the circulation has been demonstrated in several studies done on fish [40, 41, 42, 43, 44]. The studies of the effects on the GH/IGF-1 axis—a major regulator of somatic growth axis of pesticides—are restricted to the fish only [45]. Boada et al. [46] indicated that organochlorine pesticides reduce the human serum IGF-1 levels. Lal et al. [47] reported that malathion appears to have no significant effect on food consumption and fish growth during quiescence phase, when the fish are already fasting due to extreme low ambient temperature and maintain only basal metabolic activities to survive.

Malathion might have been metabolized effectively at high temperature into some toxic derivatives that have resulted in cessation of food intake in treated catfish. Its exposure caused disruption in the olfactory sensation and it might conclude in food cessation in food intake as well.

Addition to this, malathion exposure kept the fish away from the source of food. It has been observed earlier that malathion causes closing of taste bud, disintegration of taste hairs and cellular component [48].

It has been reported that 4-nonylphenol, a surfactant, reduces Atlantic salmon serum IGF-1 level and causes the reduction in somatic growth [49]. Studies done with *Oreochromis niloticus*, *Chrysiichthys nigrodigitatus* and *Clarias gariepinus* [50, 51, 52], *Danio rerio* [53], *Oncorhynchus tshawytscha* [54], have reported that pesticides stimulate the growth retardation. Furthermore, Nieves-Puigdoller et al. [55] have reported that the Atlantic salmon when exposed 10 days to hexazinone (HEX) and atrazine (ATZ) herbicide, which are extremely active and widely used along the rivers of the United States, causes a decrease in the growth rate. It is important that this toxic substance has inhibition properties on the GH/IGF-1 axis.

In the study, according to the control groups (0 ppm), the fish which are exposed to 1.2 ppm and 2.4 ppm azadirachtin, the decreases in the serum GH and IGF-1 levels have been statistically significant ($p < 0.05$), (Table 3 and 4). The increase occurred in the 2.4 ppm dose group was higher than the 1.2 ppm dose group ($p < 0.05$). It

suggests that this decline is because many toxic substances such as pesticides may have inhibited on the hypothalamic-pituitary axis.

Also, Eder et al. [56] reports that Chlorpyrifos (Cp) and esfenvalerate (Es) applied to juvenile Chinook salmon for 20 and 60 days shows a significant decrease in IGF-1 transcription in the spleen, thus this indicates that the gene level of GH and IGF-1 synthesis suppressed. In the study we have found similar drops in GH levels of the carp that have been exposed to azadirachtin in acute period ($p > 0.05$) (Figure 1). However, reductions in IGF-1 levels are statistically significant ($p < 0.05$) (Figure 2). O, p'-DDE or heptachlor application increased plasma IGF-1 at a certain time and the average levels were higher according to the control fish. But it had no effect on hepatic IGF-1 gene expression. In contrast o, p'-DDE or heptachlor 100 µg/g does not affect plasma IGF-1 but significantly increases the liver IGF-1 expression. In both experiments the IGF-1 expression and the result of the changes in the inequality in plasma IGF-1 binding protein production may be considered reasonable [57].

Conclusion

Recent studies show that hunger, stress, nutrition conditions, the living environment of the fish and their being exposed to organic or synthetic chemicals all have negative effects on the growth of fish. This study indicates that azadirachtin, which was used against the parasitic diseases of the fish, has created a negative impact on growth of the carp depending on the dose and time.

References

1. Baspinar H., Durmusoğlu E., Yildirim E. 2010 “ Türkiye’de Tarım İlaçları Üretim ve Kullanımı, VII. *Technical Congress of Agriculture Engineering Abstract Book-2*, pp. 1047-1054.
2. Tiryaki O., Canhilal R., Horuz S., 2010. “Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri,” *Erciyes University Journal of the Institute of Science and Technology*, 26 (2), pp.154-169.
3. Davoodi R. (2012). “A 72-hr median lethal concentration (MLC) of Neem for *Cyprinus carpio* Linn. (Cyprinidae) Juvenile,” *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 2, pp. 173–178.
4. Lipika, P. and Patra, A. 2006. “Haematopoietic alterations induced by Carbaryl in *Clarias batrachus* (LINN),” *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 10(3), pp.5-7.
5. Barton B.A. and Iwama G.K., 1991. “Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids,” *Annual Review of Fish Diseases*, 1, pp.3–26
6. WendelaarBonga S.E. 1997. “The stress response in fish,” *Physiological Reviews*, 77, pp. 591–625.
7. Wan MT, Watts RG, Isman MB, Strub R., 1996. “Evaluation of the acute toxicity to juvenile pacific northwest salmon of azadirachtin, neem extract, and neem-based products,” *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 3, pp.432–439.
8. Kumar A, Prasad M, Mishra D, Srivastav SK, Srivastav AK., 2012. “Acute toxicity of azadirachtin to a teleost, *Heteropneustes fossilis*. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 2, pp. 213–216.
9. Komalamisra N., Trongtokit Y., Rongsriyam Y., Apiwathnasorn C., 2005. “Screening for larvicidal activity in some thai plants against four mosquito vector species,” *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 361, pp. 412–422.
10. Rahuman AA., Gopalakrishnan VGP., Geetha K., 2008. “Larvicidal activity of some Euphorbiaceae plant extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae),” *Parasitology Research*, 102, pp. 867–873.
11. Sileshi GW., Nyeko P., Nkunika POY., Sekemate BM., Akinnifesi FK., Ajayi OC., 2009 “Integrating Ethno-ecological and scientific knowledge of termites for sustainable termite management and human welfare in Africa,” *Ecology and Society*. 14:48. www.ecologyandsociety.org/vol14/iss1/art48/
12. Dubey NK., Shukla R., Kumar A., Singh P., Prakash B., 2010. “Prospects of botanical pesticides in sustainable agriculture,” *Current Science*, 98, pp.479–480.
13. Bhat, A., A. Bhat, S. Vishwakarma, A. Verma and G. Saxena, 2012. “A Comparative Study

- on the of a Synthetic Pesticide, Dichlorvos and a Neem based Pesticide, Neem-On to *Labeo rohita* (Hamilton),” *Current World Environment*, 7(1), pp. 157-161.
14. Pratap, B. and A. Singh, 2015. “Comparison between the toxicity of plant origin and synthetic pesticide against fresh water fish *Cirrhinus mrigala*,” *Journal of Biology and Earth Sciences*, 5(1), pp. 10-18.
 15. Butterworth, J.H. and Morgan E.D., 1968, “Isolation of a substance that suppresses feeding in locusts,” *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. pp. 23-24.
 16. Punzo F, Parker M.,2005. “Effects of azadirachtin on mortality, fertilization, and swimming speed in larvae of the cane toad, *Bufo marinus* (Anura: Bufonidae)”. *Journal of Environmental Biology*, 26, pp. 687–691.
 17. Mondal D, Barat S, Mukhopadhyay MK.,2007. “Toxicity of neem pesticides on a fresh water loach, *Lepidocephalichthys guntea* (Hamilton Buchanan) of Darjeeling district in West Bengal,” *Journal of Environmental Biology*, 28, pp.119–122.
 18. Winkaler EU, Santos TR, Machado-Neto JG, Martinez CB. 2007. “Acute lethal and sublethal effects of neem leaf extract on the neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*,” *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 145, pp.236–244.
 19. Senthil Nathan S, Young Choi M, Yul Seo H, Hoon Paik C, Kalaivani K, Duk Kim J.,2008. “Effect of azadirachtin on acetylcholinesterase (AChE) activity and histology of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal),” *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70, pp.244–250.
 20. Shanmugasundaram R, Jeyalakshmi T, Sunil Dutt M, Balakrishna Murthy P.,2008. “Larvicidal activity of neem and karanja oil cakes against mosquito vectors, *Culex quinquefasciatus* (Say), *Aedes aegypti* (L.) and *Anopheles stephensi* (L.),” *Journal of Environmental Biology*, 29, pp.43–45.
 21. Mordue (Luntz) AJ, Blackwell A.,1993. “Azadirachtin: an update,” *Journal of Insect Physiology*, 39, pp.903–924.
 22. Girish K. And Shankara BS.,2008. “Neem – A Green Treasure,” *Electronic Journal of Biology*, 4, pp.102–111.
 23. Sundaram K.M.S.,1996. “Azadirachtin biopesticidal: a review of studies conducted on its analytical chemistry, environmental behavior and biological effects,” *Journal of Environmental Science and Health. Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 31, pp. 913– 948.
 24. Scott I.M. and Kaushik N.K.,2000. “The toxicity of neem insecticides to populations of culicidae and other aquatic invertebrates as assessed in in situ microcosms,” *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39, pp.329–336.
 25. Biswas K., Chattopadhyay I., Banerjee R.K., Bandyopadhyay U.,2002. “Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*),” *Current Science*, 82, pp.336–1345.
 26. Das B.K., Mukherjee S.C., Murjani O.,2002. “Acute toxicity of neem (*Azadirachta indica*) in Indian major carps,” *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 17, pp.23–33.
 27. Hanem FK.,2012. “Prospects of Botanical Biopesticides in Insect Pest Management,” *Research Article*, 3, pp.12.
 28. Pérez-Sánchez, J., Caldach-Giner, J.A., Mingarro, M., Vega-Rubín de Celis, S., Gómez-Requeni, P., Saera-Vila, A., Astola, A., Valdivia, M.M.,2002. “Overview of Fish growth hormone family. New insights in genomic organization and heterogeneity of growth hormone Receptors,” *Fish Physiology and Biochemistry*, 27, pp.243–258.
 29. Björnsson, B.Th.,1997. “The biology of salmon growth hormone: from daylight to dominance,” *Fish Physiology and Biochemistry*, 17, pp.9–24.
 30. Björnsson B.Th., Johansson, V., Benedet, S., Einarsdottir, I.E., Hildahl, J., Agustsson, T., Jönsson, E., 2004. “Growth hormone endocrinology of salmonids: regulatory mechanisms and mode of action. *Fish Physiology and Biochemistry*. In: Plisetskaya, E.M. (Ed.), Special Issue: *Fish Growth and Metabolism. Environmental, Nutritional and Hormonal regulation* (published in 2004), 27, pp. 227–242.
 31. Peter, R.E., Marchant, T.A.,1995. “The endocrinology of growth in carp and related species,” *Aquaculture*, 129, pp. 299–321.
 32. Butler, A.A., Le Roith, D., 2001. “Control of growth by the somatotrophic axis: growth hormone and the insulin-like growth factors have related and independent roles,” *Annual Review of Physiology*, 63, pp.141–164.

33. Schmid, A.C., Lutz, I., Kloas, W., Reinecke, M., 2003. "Thyroid hormone stimulates hepatic IGF-I mRNA expression in a bony fish, the tilapia *Oreochromis mossambicus*, in vitro and in vivo," *General and Comparative Endocrinology*,130, pp. 129–134.
34. Riley, L.G., Hirano, T., Grau, E.G., 2004. "Estradiol-17beta and dihydrotestosterone differentially regulate vitellogenin and insulin-like growth factor-I production in primary hepatocytes of the tilapia *Oreochromis mossambicus*," *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*,138, pp.177–186.
35. Singh, A.K., Lal, B.,2008. "Seasonal and circadian time-dependent dual action of GH on somatic growth and ovarian development in the Asian catfish *Clarias batrachus* (Linn.): role of temperature," *General and Comparative Endocrinology*,159, pp. 98–106.
36. Vera Cruz E.M., Brown C.L., Luckenbanch J.A., Picha M.E., Bolivar R.B., Borski R.J., 2006. "Insulin-like growth factor-I cDNA cloning gene expression and potential use as a growth rate indicator in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*," *Aquaculture*,251, pp. 585–595.
37. G.M. Weber, E.G. Grau, 1999. "Changes in serum concentrations and pituitary content of the two prolactins and growth hormone during the reproductive cycle in female tilapia *Oreochromis mossambicus* compared with changes during fasting," *Comparative biochemistry and physiology. Part C, Pharmacology, toxicology and endocrinology*,124(3), pp.323–335.
38. Reinecke M, Bjornsson BT, Dickhoff WW, McCormick SD, Navarro I, Power DM, Gutierrez J., 2005. "Growth hormone and insulin-like growth factors in fish: Where we are and where to go," *General and Comparative Endocrinology*,142, pp. 20-24.
39. Sakamoto, T. and McCormick, S. D.,2006, "Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation," *General and Comparative Endocrinology*,147, pp. 24–30.
40. Duan, C. and Plisetskaya, E. M.,1993, "Nutritional regulation of insulin-like growth factor-I mRNA expression in salmon tissues," *Journal of Endocrinology*,139, pp. 243–252.
41. Kajimura S, Uchida K, Yada T, Riley LG, Byatt JC, Collier RJ.,2001, "Stimulation of insulin-like growth factor-I production by recombinant bovine growth hormone in Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*," *Fish Physiology and Biochemistry*, 25, pp. 221-230.
42. Larsen D.A., Beckman B.R., Dickoff W.W., 2001, "The effect of low temperature and fasting during the winter on metabolic stores and endocrine physiology (insulin, insulin-like growth factor-I and thyroxine) of coho salmon *Oncorhynchus kisutch*," *General and Comparative Endocrinology*,123, pp. 308–323.
43. Perez-Sanchez J., Marti-Palanca H., Kaushik S.J., 1995, "Ration size and protein intake affect circulating growth hormone concentration, hepatic growth hormone binding and plasma insulin-like growth factor-I immunoactivity in a marine teleost the gilthead seabream *Sparus aurata*," *The Journal of Nutrition*.,125, pp. 546–552.
44. Uchida K., Kajimura S., Riley L.G., Hirano T., Aida K., Grau E.G., 2003, "Effects of fasting on growth hormone/insulin-like growth factor-I axis in the tilapia *Oreochromis mossambicus*," *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*,134A, pp. 429–439.
45. Sumpter J.P., Le Bail P.Y., Pickering A.D., Pottinger T.G., Carragher J.F.,1991, "The effect of starvation on growth and plasma growth hormone concentrations of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*," *General and Comparative Endocrinology*,83 (1), pp. 94–102.
46. Boada L.D., Lara P.C., Alvarez-Leon E.E., Losada A., Zumbado M.L., Liminana-Canal J.M., Apolinario R., Serra-Majem L., Luzardo O.P.,2007, "Serum levels of insulin like growth factor-I in relation to organochlorine pesticides exposure," *Growth Horm. IGF Res.*,17, pp. 506–511.
47. Lal B., Kumar M., Kumar S.P.,2013, "Malathion exposure induces the endocrine disruption and growth retardation in the catfish, *Clarias batrachus* (Linn.)," *General and Comparative Endocrinology*, 181, pp. 139-145.

48. Lal B., Malathion-induced endocrine disruption retards fish growth, in: J.P.N. Singh (Ed.), Proceedings of national conference on Impact of global warming and climate change on diversity: The challenge of conservation of flora and fauna, (in press).
49. Arsenaault J.T.M., Fairchild W.L., MacLatchy D.L., Burrige L., Haya K., Brown S.B., 2004, "Effects of water-borne 4-nonylphenol and 17 β -estradiol exposure during parrismolt transformation on growth and plasma IGF-I of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), *Aquatic Toxicology*, 66, pp. 255–265.
50. Hanson D.K., Dodoo D.K., Essumang D.K., Blay Jr J., Yankson K., 2007, "The effect of some selected pesticides on the growth and reproduction of freshwater *Oreochromis niloticus*, *Chrysichthys nigrodigitatus* and *Clarias gariepinus*," *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79, pp. 544–547.
51. Bose S., Nath S., Sahana S.S., 2011, "Toxic impacts of thiamethoxam on the growth performance and liver protein concentration of a freshwater fish *Oreochromis niloticus* (Trewavas)," *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 1 (4), pp. 274–280.
52. Sweilum M.A., 2006, "Effect of sublethal toxicity of some pesticides on growth parameters, haematological properties and total production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) and water quality of pond," *Aquaculture Research*, 37, pp. 1079–1089.
53. Cook L.W., Paradise C.J., Lom B., 2005, "The pesticide malathion reduces survival and growth in developing zebrafish," *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, (7), pp. 1745–1750.
54. Baldwin D.H., Spromberg J.A., Kolier T.K., Scholz N.L., 2009, "A fish of many scales: extrapolating sublethal pesticide exposure to the productivity of wild salmon population," *Ecological Applications*, 19 (8), pp. 2004–2015.
55. Nieves-Puigdoller, K., Björnsson, B.T., McCormick, S.D., 2007, "Effects of hexazinone and atrazine on the physiology and endocrinology of smolt development in Atlantic salmon." *Aquatic Toxicology*, 84, pp. 27–37.
56. Eder, K.J., Clifford, M.A., Hedrick, R.P., Köhler, Heinz-R, Werner, I., 2008, "Expression of immune-regulatory genes in juvenile Chinook salmon following exposure to pesticides and infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV)," *Fish Shellfish Immunology*, 25, pp. 508–516.
57. Davis, L. K., Visitacion, N., Riley, L. G., Hiramatsu, N., Sullivan, C. V., Hirano, T., and E. G. Grau, 2009, "Effects of o,p'-DDE, heptachlor, and 17 β -estradiol on vitellogenin gene expression and the growth hormone/insulin-like growth factor-I axis in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*," *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology and Pharmacology*, 149C, pp. 507-514.

İbrahim ÖRÜN
Aksaray University
Science and Literature Faculty
Biology Department
Aksaray / TURKEY
e-mail: orunibrahim@gmail.com

Nuh KORKMAZ
Aksaray University
Science and Literature Faculty
Biology Department
Aksaray / TURKEY
e-mail: korkmazhun@gmail.com



ТЕРМОЕЛЕКТРИЧЕСКА ОХЛАДИТЕЛНА СИСТЕМА С ДВА МОДУЛА НА ПЕЛТИЕ

Ивайло Беловски

THERMOELECTRIC COOLING SYSTEM WITH TWO PELTIER MODULES

Ivaylo Belovski

ABSTRACT: In recent years, thermoelectric modules (Peltier modules) are becoming more widely used in industry and everyday life of the people. Used mainly for cooling small volumes by directly convert electrical energy into a temperature difference.

The purpose of this paper is to construct and explore thermoelectric battery (TB) based on two Peltier thermoelectric modules operating in cooling mode and determine their optimum DC operation.

Key words: thermoelectric modules, peltier module, cooling devices.

Въведение

Модулът на Пелтие е термоелектрически преобразувател на енергия, съставен от множество термоелементи (термодвойки) – полупроводници с P и N проводимост, съединени с метална комутационна шина. Тяното действие се основава на ефекта на Пелтие, който се състои в поглъщане и отделяне на топлина в контактите между метала и полупроводниците. В кой край ще се поглъща или отделя топлина, зависи от посоката на тока (Александров, 2012).

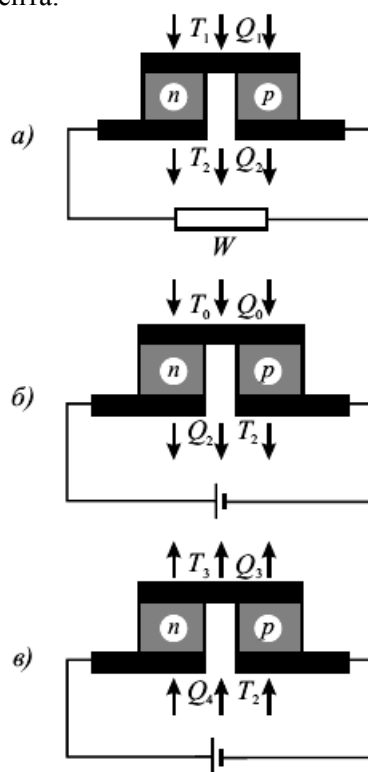
Основните направления, в които намират приложение термоелектрическите елементи са три. Първото е за преобразуване на топлинна енергия в електрическа, второто – за термоелектрическо охлаждане и третото – за термоелектрическо загряване.

Моделите на термоелементите се използват за описание на техните основни режими на работа, съответно: генерация на електродвижещо напрежение, термоелектрическо охлаждане и термоелектрическо загряване. На фиг. 1 са представени три модела на термоелементи, работещи в различни режими:

а) за генерация на термоелектричество, T_1 - температура на горещата страна на термоелемент; T_2 - температура на отсрещната страна, която се поддържа постоянна, чрез термостат или топлообменник; Q_1 – топлина, подадена към термоелемента; Q_2 – топлина, отделена от термоелемента в режим на генерация на Е.Д.Н или охлаждане.

б) за термоелектрическо охлаждане, T_0 - температура на студената страна на термоелемент, $T_0 < T_2$; Q_0 – отнета топлина от охлаждаемия обект.

в) за термоелектрическо загряване, T_3 - температура на горящата страна на термоелемент, $T_2 < T_3$; Q_3 – отделена топлина от термоелемента; Q_4 – погълнатата топлина от термоелемента.



Фиг. 1 Модели на термоелектрически елементи

Към настоящият момент, усилията на многобройните учени и изобретатели са довели до изучаване, в една или друга степен, на по-голямата част от свойствата на термоелементите. Много от тях обаче, притежават специфични свойства, заради които могат да бъдат използвани за решаване на конкретни практически задачи. За съжаление, сведенията за подобни термоелементи не са много, но работата и усилията за изследване, анализирание и прилагане на техните свойства продължава.

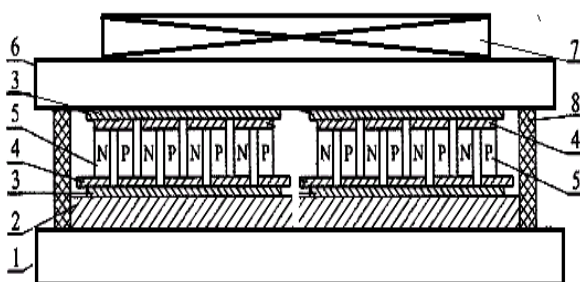
Целта на настоящата разработка е да се конструира и изследва термоелектрическа помпа (ТЕП) на базата на два термоелектрически модула (ТЕМ) на Пелтие и експериментално да се установи оптималния постоянно-токов режим на работа, както на всеки един модул поотделно, така и на двата, свързани електрически паралелно и последователно.

Експеримент

За провеждане на експеримента е конструирана термоелектрическа охладителна система (ТОС), осигуряваща необходимата термостабилизация. Тя се състои от ТЕП и термостатиран съд с работен обем 10 литра, изграден от двойни стени, между които е вграден термоизолационен слой. В съда се разчита единствено на естествената конвекция и липсва допълнителна вентилация.

Основен възел на ТОС е термоелектрическата помпа, в която са вградени два ТЕМ на Пелтие (фиг. 2).

За нормална работа на модулите е необходимо да се осигури ефективен топлообмен между горещата и студената му страна.



Фиг. 2 Термоелектрическа помпа

За тази цел се използват подходящи радиатори 1 и 6 и вентилатор 7 за горещия край. За отвеждане на топлината между радиатора и ТЕМ на Пелтие се използва топлоотводът 2.

Той се монтира към студената страна на модула на Пелтие, поради по-малката плътност на топлинния поток. Теплоизолационният слой 8 служи за намаляване на топлообмена между горещия и студения радиатор на ТЕП.

ТЕМ на Пелтие е изграден от множество термоелектрически елементи, свързани последователно в електрическа и паралелно в топлинна верига. Те са монтирани между две успоредни керамични плочи 3 с висока топлопроводност. Самият термоелемент (най-малката градивна част на ТЕМ на Пелтие) се състои от P и N полупроводници 5 с правоъгълна форма, свързани с метален мост 4.

При анализа на елементарния модел от фиг. 1,б), се отчита ефекта на Пелтие и отделената топлина на Джаул, а ефекта на Томпсън се пренебрегва. В този случай се смята, че половината топлина на Джаул се пренася към студената страна, а другата половина – към горещата.

Топлинната мощност, погълната от студеният край е (Анатъчук, 2003):

$$Q = -\Pi I + 0.5rI^2, \quad (1)$$

където, Π - коефициент на Пелтие, r - съпротивлението на термоелемента, I - токът през него.

Оптималният ток I_{opt} се дава с израза:

$$I_{opt} = \frac{\Pi}{r}, \quad (2)$$

а максималната топлинна мощност:

$$Q_{max} = \frac{\Pi^2}{2r} \quad (3)$$

Максималната температурна разлика е равна на:

$$\Delta T_{max} = \frac{\Pi^2}{2k_0 r}, \quad (4)$$

където,

$$r = l \left(\frac{1}{\sigma_1 s_1} + \frac{1}{\sigma_2 s_2} \right), \quad k_0 = \frac{1}{l} (k_1 s_1 + k_2 s_2) \quad (5)$$

σ_1, σ_2 - коефициенти на електропроводимост на клоновете; k_1, k_2 - коефициенти на топлопроводност.

Работата на ТЕМ на Пелтие като охладящ елемент зависи до голяма степен от термоелектрическата ефективност на материалите (Snyder, Toberer, 2008) и температурната разлика ΔT в двата края на ТЕМ (Вайнер, 1976).

Температурната разлика от своя страна зависи пряко от постояннотоковия режим на работа на ТЕП.

По време на експеримента са изследвани експлоатационните и преобразователни характеристики на синтезираната ТЕП на осно-

вата на два ТЕМ на Пелтие TEC1–12706 PM-40x40-53, производство на фирма STONECOLD (www.tme.eu). Каталогните данни на двата идентични елемента са представени в таблица 1.

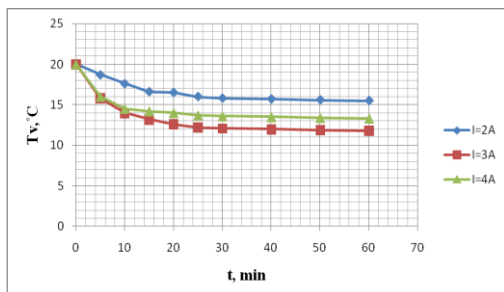
Таблица 1 Каталогни данни на елемент TEC1–12706

ТИП	Брой елементи	U_{\max} (V)	I_{\max} (A)	ΔT_{\max} °C	Q_{\max} (W)	ДхШхВ (mm)	R (Ω)
TEC1-12706	127	14,9	6,4	68	53	40×40×4,6	1,98

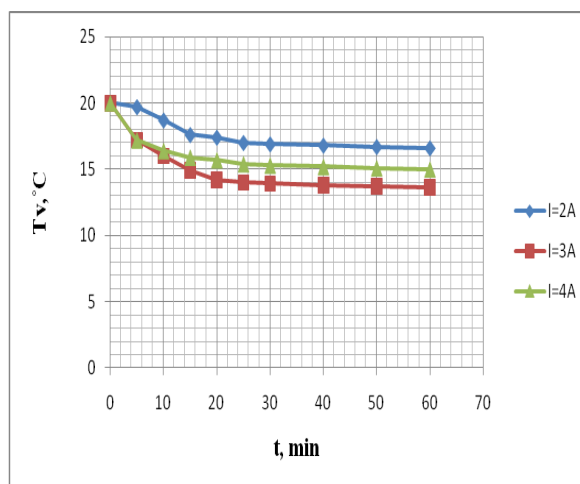
Резултати и обсъждане

Първоначално са изследвани преобразователните характеристики на двата ТЕМ на Пелтие поотделно, а след това и на двата заедно – свързани електрически паралелно и последователно.

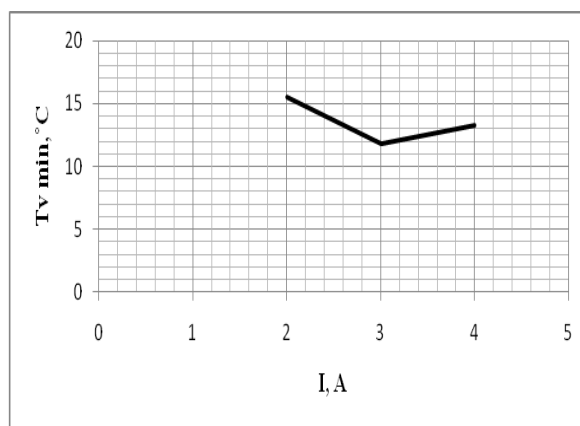
Проведени са редица измервания на температурите на горещата и студената страна на ТЕП - T_2, T_0 и на температурата в обема на ТОС - T_V при различни захранващи токове – от 2 до 4 ампера, с цел намиране на оптималната стойност, при която се постига минимална температура на студената страна $T_{0_{\min}}$ на ТЕП и минимална температура в затворения обем - T_V . Получените резултати са представени в графичен вид. На фиг. 3 и фиг. 4 са представени преобразователните характеристики $T_V = f(t)$, при $I = const$, съответно за ТЕМ 1 и ТЕМ 2, а на фиг. 5 и фиг. 6 (съответно за ТЕМ 1 и ТЕМ 2) са дадени зависимостите на температурата в обема на ТОС във функция от протичащият ток - $T_{V_{\min}} = f(I)$.



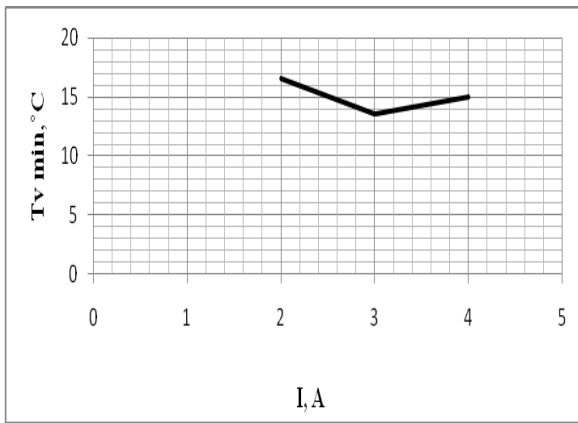
Фиг. 3 Преобразователна характеристика на ТЕМ 1 - $T_V = f(t)$, при $I = const$



Фиг. 4 Преобразователна характеристика на ТЕМ 2 - $T_V = f(t)$, при $I = const$



Фиг. 5 Преобразователна характеристика на ТЕМ 1 - $T_{V_{\min}} = f(I)$



Фиг. 6 Преобразователна характеристика на ТЕМ 2 - $T_{V_{\min}} = f(I)$

От фиг. 5 и фиг. 6 се вижда, че оптималният ток за ТЕМ 1 и ТЕМ 2 е 3А. При ток $I > 3A$, поради топлопроводността на полупроводниците, по – силно се проявява ефекта на Джаул и това води до повишаване на температурата на студената страна на ТЕМ на Пелтие.

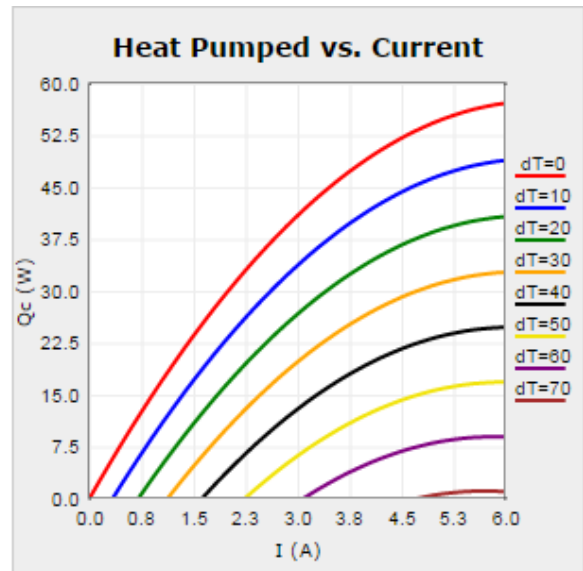
Модулите се захранват чрез регулируем токоизправител, работещ като генератор на ток. При $I = 3A$, напрежението върху ТЕМ 1 се променя в границите $U_{TEM1} = (8 \div 9)V$, а върху ТЕМ 2 – $U_{TEM2} = (8 \div 9,5)V$. Следователно, електрическото съпротивление на ТЕМ 1 се променя в границите $R_{TEM1} = (2,67 \div 3)\Omega$, а за ТЕМ 2 - $R_{TEM2} = (2,67 \div 3,17)\Omega$.

След като двата модула бяха изследвани поотделно, се премина към изследване на съвместната им работа. При паралелно свързване на ТЕМ 1 и ТЕМ 2 към регулируемия захранващ източник, беше избран следния постоянен ток режим: $I = 6A$, $U = (8 \div 9,5)V$ – измерено. Консумираната електрическа мощност в този случай е $P = (48 \div 57)W$, ($P_{cp} = 52,5W$).

Коефициентът на преобразуване на ТЕП е отношението на полезната (изпомпена) мощност Q_0 и консумираната електрическа мощност P , и за конкретния случай е равен на:

$$\eta = \frac{Q_0}{P} = \frac{2.12}{52,5} = 0,46$$

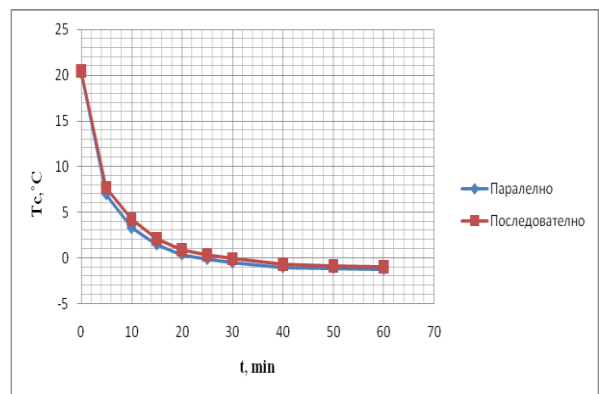
Изпомпената топлинна мощност Q_0 се отчита от графиката на фиг. 7 ($Q_0 = Q_c$), при измерена максимална температурна разлика между топлата и студената страна на ТЕП - $\Delta T = 39,2^{\circ}C$.



Фиг. 7 Графични каталожни данни на елемент TEC1–12706 PM

При последователно свързване на ТЕМ 1 и ТЕМ 2 към регулируемия захранващ източник, постоянен ток режим беше следния: $I = 3A$, $U = (16,8 \div 18,6)V$ – измерено. Консумираната електрическа мощност в този случай е $P = (50,4 \div 55,8)W$, ($P_{cp} = 53,1W$). Коефициентът на преобразуване в този случай е $\eta = 0,45$.

На фиг.8 е представена зависимостта на температурата на студената страна на ТЕП - T_0 в зависимост от времето t , при паралелно и последователно свързване на двата ТЕМ на Пелтие.



Фиг. 8 Преобразователна характеристика $T_0 = f(t)$ при $I = const$

Анализът на получените графични зависимости води до следните изводи:

1. Преобразователните характеристики $T_V = f(t)$ (фиг. 3 и фиг. 4) при различни заранващи токове - и на двата ТЕМ на Пелтие имат нелинейна зависимост. До около десетата минута от началото на експеримента се наблюдава по - рязко спадане на температурата в обема (с около 6 °С), след това процеса е сравнително линеен.

2. Характеристиките от фиг. 5 и фиг. 6 показват, че съществува стойност на тока I_{opt} , при която се достига минимална температура в охлаждаеният обем на ТОС – и за двата ТЕМ това е $I_{opt} = 3A$. Въпреки идентичността на ТЕМ 1 и ТЕМ 2, се наблюдава малка разлика в хладопроизводителността им – с около 1,5°С. Това може да се дължи, както на разлика в термоелектрическите свойства на полупроводниците, от които са изградени термоелектрическите модули на Пелтие, така и на неидеалност на самата конструкция на ТЕП – неравномерно нанасяне на термопроводящата паста, неравномерно натягане на свързващите разглобяеми съединения и др.

3. Графиките от фиг.8 показват, че за постигане на сравнително ниски температури в ограничен затворен обем е необходимо свързване на два или повече ТЕМ на Пелтие електрически последователно или паралелно, или използването на термоелектрически модул с по – висока мощност и хладопроизводителност.

4. Изчислен е коефициентът на преобразуване на ТЕП и в двата режима на работа - последователно и паралелно свързване. Резултатите показват, че за повишаване на ефективността на ТЕП определящо значение има параметъра Q_c , който пряко зависи от температурната разлика ΔT . Начинът на свър-

зване на двата ТЕМ не оказва влияние върху термоелектрическата ефективност на ТЕП.

Заклучение

Получените експериментални резултати показват, че конструираната и изследвана ТОС е подходяща за термостатиране на сравнително малки обеми. За постигане на максимално охлаждане е необходимо експериментално установяване на оптималният постоянен токов режим на ТЕМ на Пелтие.

Получените експериментални резултати могат да бъдат използвани за моделиране на ТОС с един или няколко ТЕМ на Пелтие.

Литература

1. Александров, А. 2012. *Полупроводникови елементи и интегрални схеми*. Габрово, ЕКС-ПРЕС.
2. Анатъчук Л. И. 2003. *Термоелектрическите преобразуватели енергии*. Том 2. Киев, Институт Термоелектричества.
3. Вайнер, А. Л. 1976. *Каскадни термоелектрически източници холода*. Москва,
4. Snyder J. G., and E.S. Toberer. 2008. *Complex Thermoelectric Materials*, Nature Materials 7, pp. 105-114
5. Standard Common Thermoelectric Cooling Module. 2016. [http:// www.tme.eu](http://www.tme.eu)

Маг. инж. Ивайло Райчев Беловски
Университет „Проф. Д-р Ас. Златаров”
Катедра: Електроника, Електротехника и
Машинознание.
Адрес: Бургас, бул. „Проф. Якимов” №1
e-mail: ivbel@abv.bg



PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF NEW ALGINIC ACIDS DERIVATIVES

Dilyana Murdzheva, Ivelina Vasileva, Nadezhda Petkova,
Ivan Ivanov, Mina Todorova, Panteley Denev

ФИЗИКОХИМИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА НОВИ ДЕРИВАТИ НА АЛГИНОВИТЕ КИСЕЛИНИ

Диляна Мурджева, Ивелина Василева, Надежда Петкова, Иван Иванов,
Мина Тодорова, Пантелей Денев

ABSTRACT: Alginic acids are perspective biopolymers with significant application in food technologies and pharmaceuticals. The aim of the current research was to synthesized environment-friendly alginic acid derivatives (methylated and amidated alginic acids with the different ratio of M/G blocks in the polysaccharide backbone) by ultrasound irradiation. The newly synthesized derivatives were characterized by the degree of esterification (DE), degree of amidation (DA) and their structure were elucidated by FT-IR spectroscopy. Their physicochemical properties were also evaluated. Methyl esters of two alginic acids were characterized with DE 49 and 82 % respectively, while their amidated derivatives reached DA to 53 %. The methylated alginic acid with (M/G) ratio: 61:39 showed the promising results future application as a foaming agent. The obtained results showed the significant improvement of rheological properties of methylated alginates with increase of DE, and decrease of emulsifying properties after amidation of alginate methyl esters, respectively.

Key words: alginic acid derivatives, functional properties, foams, emulsions.

Introduction

Alginic acid is a biopolymer produce from brown algae that is composed of (1→4)-β-D-mannuronic acid (M) and α-L-guluronic acid (G) units in the form of a homopolymeric (MM- or GG-blocks) and heteropolymeric sequences (MG- or GM-blocks) (Daemi and Barikani, 2012). Molecular weight (M_w), the ratio of manuronic to guluronic acid (M/G) is important for the selection of the alginate appropriate application. Physico-chemical properties strongly depends on M/G ratio. It is well known that alginate salts are poor emulsifiers. They are mainly used as stabilizers because improve consistency and increase the viscosity of the product. Their use as a powerful thickening agent is explained by their ability to absorb water (Clare, 1993; Manicini et al., 1996; Murdzheva and Denev, 2016). Due to its gelling ability, stabilizing properties and high viscosity, alginate and derivatives are widely used in the food, cosmetics and pharmaceutical industries (Johnson et al., 1997; Ci et al., 1999). Recently has been reported that alginate hydrolysates and their derivatives exhibited many important bioactivities (Daemi and Barikani, 2012).

The aim of the current research is to evaluate the foaming and emulsifying properties of two alginic acids methyl esters and their amidated-methyled derivatives obtained by ultrasound irradiation. In addition, the influence of amidation and degree of esterification on physic-chemical properties were established.

Materials and methods

Materials

Alginic acids (AA1) from brown algae (SIGMA-ALDRICH, 99 % puriss, France), ratio between β-D-mannuronic acid (M) and α-L-guluronic acid (G) residues: 61:39 and alginic acids (AA2) with M/G ratio 37:63 (Manugel DMB, ISP, Germany). All other chemicals used were of analytical grade. De-ionized (Milli-Q) water was used for all experiments.

Ultrasound-assisted esterification

Alginic acids were dried at 40 °C in vacuum oven for 12 h. The dried alginic acid were esterified in the ultrasonic bath (VWR USC 100 TH, power 30 W) under constant ultrasonic frequency at 45 kHz for 1 hour as previously described (Murdzheva and Denev, 2016). The new-synthesized methylated alginates (MAA) were washed three times with 70 % ethanol and then

twice with 95 % ethanol until the neutral reaction. The obtained esters were lyophilised.

Ultrasound-assisted amidation

The amidation reaction was performed as methyl ester of alginic acid powder substance were mixed with 25 % $\text{NH}_3/i\text{-C}_3\text{H}_7\text{OH}$ (in ratio 1:2) and the sample was irradiated in the ultrasonic bath operating at 45 kHz frequency for 1 hour at the temperature 4 °C. The reaction mixture was washed with 5% HCl/70 % $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ to pH = 3.0, and then three times with 70 % ethanol and twice with 95 % ethanol the neutral reaction. The degree of esterification (DE) and amidation of alginic acid derivatives were determined by titration methods described by Food Chemical Codex.

IR-FT spectroscopy IR-FT spectra of newly synthesized alginic acid esters were recorded on a Nicolet FT-IR Avatar Nicolet, (Termo Science, USA) spectrometer using KBr pellets and absorption was reported in wavenumbers (cm^{-1}).

Kinematic viscosity (ν , $\text{mm}^2/\text{s} = \text{c St}$) were measured on a Ubbelohde viscometer (Ref. No. 513 10), Capillary I with constant K printed on the viscometer ($K = 0.01607$) and were calculated by the formula:

$$\nu = K(t - \vartheta) \quad [1]$$

where: K – constant; t – average flow time, s; ϑ – Hagenbach correction for t , s.

Functional properties

Foaming capacity and foam stability of the alginic acid (AA1, AA2), methylated (MAA1 and MAA2) and amidated methylated alginic acids (AAA1, AAA2) solutions was studied by a stirring/shaking method. The concentration of the all solutions was 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 wt%, respectively. All foam tests were performed in duplicate. Reproducibility of the results was typically $\pm 10\%$.

Foam capacity (FC, %) were determined as described by Ivanova et al. (2014) and Cano-Medina A. at al. (2011) with slight modification. An aliquot of 20 ml solution was whipped for 60 s in a graduated cylinder by hand. Foam capacity was determined by volume increase (%) immediately after whipping and was calculated by the formula:

$$FC, \% = (V_2 - V_1)/V_1 \times 100, \quad [2]$$

where V_2 is the volume of AA, MAA and AAA solution immediately after whipping and V_1 is the volume of solution before whipping. The influence of concentration on foam capacity was tested by varying c , wt% (0.5, 1.0, 1.5 and 2.0).

The **foam stability (FS, %)** is characterized by the volume of entrapped air, still remaining in the foam after a certain period of time, $t > 0$. The foam stability was defined as the volume of the foam that remained after 60 min at room temperature (20 °C) and was expressed as a percentage of the initial foam volume. Foam stability was determined as described by Marinova et al. (2009) with some modification. Foam stability was given by the parameter percentage volumetric foam stability, FS % (3):

$$FS\% = (V_{foam}/V_{foam0}) \times 100, \quad [3]$$

where V_{foam0} is the volume of the formed foam; V_{foam} is the volumes of the foam, change with the time t . Stability of the foams over time was visually assessed by measuring the foam volume from 1 to 30 min.

Emulsifying activity and emulsion stability of the model systems of the studied alginic acid and new-synthesized amides of alginic acid were determined as described in Murdzheva at al (2015).

Model emulsion systems. Emulsifying capacity and emulsion stability of the model systems containing the studied AA and AMAA were determined as described by Murdzheva at al. (2015) Cano-Medina at al. (2011). The concentration of the oil phase was 50 wt%. Sunflower oil was purchased from local market.

Twenty milliliters solution (2.0 wt%) was homogenized with 20 ml sunflower oil for 5 min at 1000 rpm by using an homogenizer (Ultra Turrax IKA T18 Basic, Germany).

Centrifugal Test – The emulsion stability was evaluated by centrifugation at $3000 \times g$ (Hettich EBA 20, Germany) for 20 min. The height of the emulsified layer was recorded. The emulsifying activity was calculated as a ratio of the height of the emulsified layer and the height of the total content of the tube and multiplied by 100.

Temperature Test – 5 ml of each emulsion was placed in tubes, which are stored at four different temperatures: – 18 °C (frozen); 4°C (refrigerator temperature); 25°C (room temperature) and 50°C (water bath or thermostat) for 24 hours and 48 hours.

Microscopic Test – To determine the microstructure of the emulsions, according to the re-

spective methods, microscope system (microscope Olympus SC30, Philippines, equipped with a USB camera connected to a personal computer) are used. The drop sizes were observed at $\times 1000$ (Vlaseva et al. 2014)

Turbidimetric method – The emulsifying activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) were determined according to Diniz et al. (2014), with some modifications. Aliquots of the emulsion (1 g) were pipetted from the bottom of the container at 0 and 5 min after homogenization and diluted 100-fold. The absorbance of the diluted solution was measured at 540 nm (Camspec-M 107 spectrophotometer). Absorbance values, measured immediately after agitation stopped (A_0) and 10 min (A_5) after emulsion formation were used to calculate EAI and ESI properties. The emulsifying activity index ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) and emulsion stability index (min) were calculated by Eqs. (4) and (5) (Diniz et al. 2014).

$$EAI = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times D}{c \times l \times (1 - \varphi) \times 1000} \quad [4]$$

$$ESI = \frac{A_0}{A_0 - A_5} \times t \quad [5]$$

where c is the initial AA and AAA concentration, φ is the volume fraction of oil used in the emulsion (0.50), D is the dilution factor used (100), t is 5 min and A_0 and A_5 are the diluted emulsion absorbance at 0 and 5 min.

Results and discussions

Table 1. Characteristics of alginic acids and its derivatives obtained by ultrasound irradiation

Characteristics	AA1	MAA1	AMAA1	AA2	MAA2	AMAA2
Yield, %	–	95.1	91.8	–	78.2	89.2
AUAC ¹ , %	92.8	85.2	80.4	53.7	80.9	82.3
DE ² , %	2.8	49.0	22.1	12.7	82.1	24.5
DA ³ , %	–	–	22.5	–	–	51.6

¹AUAC - anhydrouronic acid content; ²DE – degree of esterification; ³DA- degree of amidation

The successful modification of alginic acids (M/G ratio 37:63) by ultrasound irradiation was confirmed by IR-FT spectroscopy. The obtained spectra of alginic acids, its methyl esters and amide were presented (Fig. 1). The typical bands of alginic acids were assigned 3400 cm^{-1} , hydroxyl O–H stretching; 2850–2960 cm^{-1} , aliphatic C–H stretching. The bands at 1107 and 935 cm^{-1} were attributed to the C–O stretching vibration of pyranosyl ring and the C–O stretching with contributions from C–C–H and

The design of new modified biopolymers with improved biological and physiochemical properties obtained by green chemistry methods as ultrasound irradiation attract attention for future application as a drug carrier and food additives. In this study the synthesized derivatives of alginic acids by ultrasound irradiation revealed great potential as amphiphilic molecules with different water solubility. The results from modifications of alginic acid with different M/G ratio (AA1 and AA2) were presented in Table 1.

The methylated alginic acid (M/G ratio 37:63) possessed the highest DE 82 %. The DE of methyl ester of alginic acid with M/G ratio 61:39 was approximately two times lower – 49%. This could be explained by the model proposed by Smidsrod et al. (1966) for the preferred esterification of guluronic acid residues in alginic acids. From the results obtained was found that the alginic acid containing more L-guluronic acid residues in its backbone was esterified rapidly (Table 1 and Fig 1.). This tendency was reported in our previous investigation on alginic acid esters, with and without application of ultrasonic influence (Murdzheva and Denev, 2016). The methylated alginic acid esters were further amidated. As a result amidated methyl esters of alginic acids were obtained. The highest DA 51% was determinate for alginic acid with M/G ratio 37:63 (Table 1) in accordance with the proposed model of Smidsrod for easier modification of guluronic residues.

C–O–H deformation. The asymmetric stretching vibration of the carboxylate group appears at 1620–1598 cm^{-1} . In the fingerprint region, the homopolymannuronate sample showed a band at 935 cm^{-1} assigned to the C–O stretching vibration of uronic acids with contributions from C–C–H and C–O–H deformation, and a band at 885 cm^{-1} assigned to deformation vibration of β -C1–H. All new synthesized methyl esters of alginic acid were characterized with decreasing at 3446 cm^{-1} , due to the stretching vibrations of

O–H from carboxyl groups. Moreover, the increase in width of the bands at 2960 cm^{-1} and 2930 cm^{-1} was assigned to C–H stretching and asymmetric deformations in CH_2 and CH_3 groups. The presence of new band at 1747 cm^{-1} due to the C=O stretching vibrations of carbonyl methylated ester showed that the esterification process was completed successfully. The obtained results were in accordance with previously reported IR-FT bands (Daemi and Barikani, 2012; Murdzheva and Denev, 2016).

The presence of new band at 1620 cm^{-1} in IR-FT spectra typical for amides confirmed the successful amidation under ultrasonic-assisted irradiation of methyl esters of alginic acids. To the best of our knowledge this is the first report for amidation of alginic acid methyl esters under ultrasonic influence. The incorporation of new functional groups as amide or ester in alginic acid backbone leads to changes of physicochemical properties of this polysaccharide.

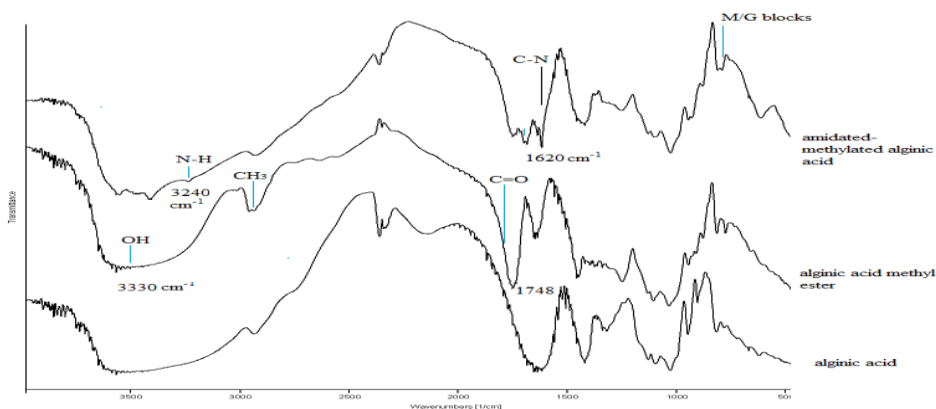


Fig. 1. IR-FT spectra of alginic acid and its derivatives

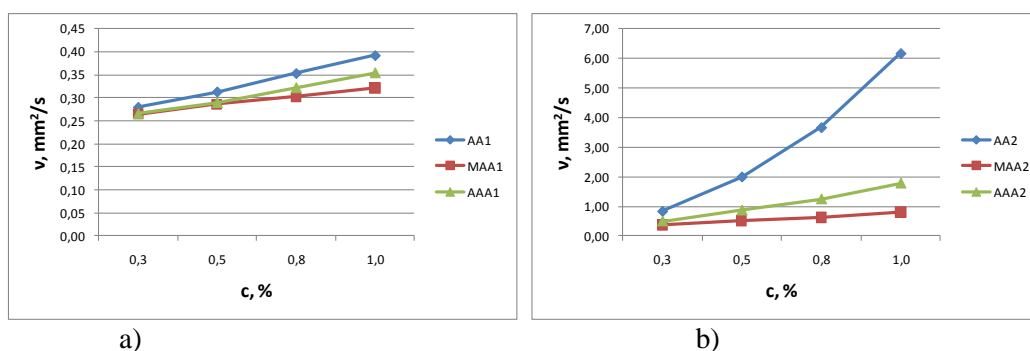


Fig. 2. Kinematic viscosity of alginate solutions, where: a) alginic acids (M/G ratio): 61:39 and b) alginic acids (M/G ratio) 37:63 and their derivatives

Physico-chemical characterization of the studied alginic acid derivatives. The viscosity is an important characteristic of macromolecules that is related directly to their ability to disturb flow and indirectly to their size and shape (Constenla and Lozano, 2003). Therefore, we measured the viscosity of the newly synthesized derivatives of alginic acid and compared them with unmodified polysaccharides. Our results showed that the kinematic viscosity of methylated alginic acids decreased 6 times in comparison with AA2 and about 33% for AA1, respectively. The dropping

of viscosity was due to reducing the amount of hydrogen bonds in the methylated and amidated alginic acids and increasing of intermolecular distances (Fig 2).

Foaming capacity and foam stability

The significant interest for the food, cosmetic and pharmaceutical technology is getting stable foams and emulsions. The foam capacity of alginic acids and their derivatives solutions with concentration 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 % (wt %) was investigated. The results for the foaming ability

and the foam stability were presented in Figure 3 and Table 4. For all studied solutions of AA1, MAA1 and AMAA1 increasing the concentration led to increase of the foaming capacity. The increase of the concentration of solutions of alginic acid with M/G ratio 37:63 (AA2) and their derivatives led to decreases of the foaming capacity. The best foamability capacity showed the solution with MAA1 with concentration 2.0 % – 46.7 %, followed by concentration 1.5 % (33.3 %). The foams formed by alginic acid showed relatively low foaming capacity between 10 – 13.3 % (Fig. 3). Amidated alginic acid derivatives were not showed significant the foaming properties.

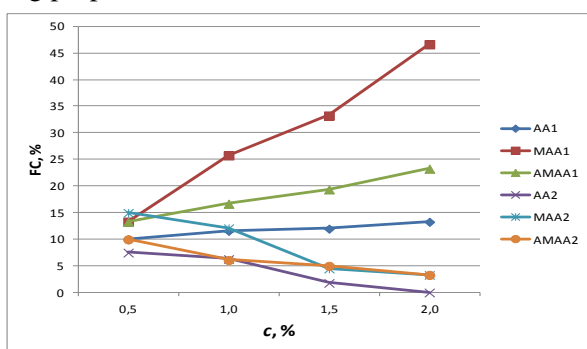


Fig. 3. The foaming capacity (%) as affected by sample concentration

The foam stability was evaluated for the period of 30 min. It was clearly observed that the foam volume quickly began to decrease immediately after the foaming formation. From the obtained results the most stable foam formed methyl esters and amides of alginic acid with M/G ratio 61:39. Therefore, the incorporation of methoxy and amid groups in alginic acid chain and relatively higher mannuronates residue significantly improved the foaming stability (Table 2).

Emulsifying activity and emulsion stability

Emulsions are thermodynamically unstable dispersion systems. The processes of degradation of these systems are flocculation and coalescence leading to phase separation (Kuncheva et al., 2013). The emulsifying properties of the alginic acid (AA1 and AA2) and their derivatives (MAA1, AMAA1, MAA2 and AMAA2) were studied in model systems with 2.0 % (wt) relative to the aqueous medium and 50 % oil phase of the emulsion of the oil/water type.

Table 2. Foaming stability

	1 min				15 min				30 min			
	0.5	1.0	1.5	2.0	0.5	1.0	1.5	2.0	0.5	1.0	1.5	2.0
AA1	66.7	66.7	61.1	60.0	46.7	55.6	55.6	50.0	46.7	55.6	55.6	35.0
MAA1	95.0	77.5	58.0	64.3	55.0	55.0	44.0	44.3	55.0	50.0	38.0	42.9
AMAA1	65.0	64.0	60.0	57.1	40.0	52.0	36.7	45.7	35.0	40.0	36.7	42.9
AA2	93.3	100.0	0.0	0.0	66.7	70.0	0.0	0.0	60.0	20.0	0.0	0.0
MAA2	66.7	75.0	0.0	0.0	40.0	55.0	0.0	0.0	33.3	40.0	0.0	0.0
AMAA2	50.0	70.0	0.0	0.0	45.0	30.0	0.0	0.0	30.0	25.0	0.0	0.0

Table 3. Stability of emulsions of alginic acid (AA1 and AA2) and their derivatives (MAA1, AMAA1, MAA2 and AMAA2)

Type	Centrifugal Test			Turbidimetric method	
	Separated phase, % ±0.1			EAI, m ² g ⁻¹	ESI, min
	Oil	Water	Emulsion		
AA1	4.3	40.4	55.3	12.7	9.1
MAA1	7.5	37.6	54.8	11.6	7.6
AMAA1	8.0	30.0	62.0	6.6	7.0
AA2	6.9	43.1	50.0	18.8	6.1
MAA2	4.0	25.5	70.5	163.5	186.4
AMAA2	7.4	44.4	48.1	11.6	10.4

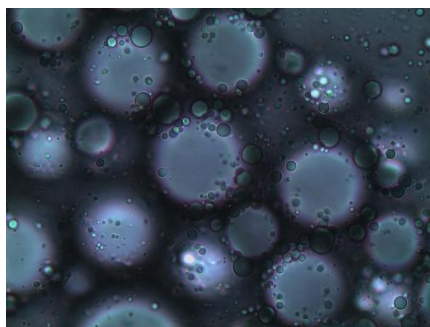
The resulting emulsion was monitored for the dispersity (turbidimetric method) and the stability by centrifugation and evaluation of separated oil and water phases. Comparison of emulsification properties of alginic acid (AA1 and AA2) and their derivatives (MAA1, AMAA1, MAA2 and AMAA2) derivatives were summarized in Table 3. The most stable O/W emulsions were formed by addition of 2% MAA2. The separated emulsion phase was 70.5 %. The above mentioned emulsion showed the highest *EAI* (163.5) and *ESI* (186.4). The incorporation of amide groups in alginic acids methyl esters led to decrease of emulsifying ability and stability. It was established that oil phase separation were the highest

for AMAA1 (8.0 %) and AMAA2 (7.4%), respectively.

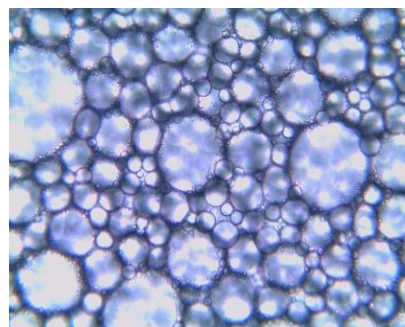
The influence of thermal processing and freezing on the creaming stability of emulsions were also evaluated (Table 4). All prepared emulsions were unstable at -18 and 50 °C for 24 and 48 h, respectively. The more stable were emulsions stored at 5 °C followed by 20 °C. From all investigated O/W emulsions the most stable at all studied temperatures (-18 °C, 5 °C, 20 °C and 50 °C) were methyl ester of alginic acid (M/G 37:63). This statement was confirmed by the presented microscopy images (Fig. 4).

Table 4. Temperature test of emulsions stored for 24 and 48 hours at different temperatures (-18 °C, 5 °C, 20 °C and 50 °C).

	<i>t</i> , °C	after 24 hours			after 48 hours		
		Oil	Emulsion	Water	Oil	Emulsion	Water
AA1	-18	62.9	0.0	37.1	65.7	0.0	34.3
	5	8.3	55.6	36.1	5.6	55.6	38.9
	20	8.3	55.6	36.1	11.1	52.8	36.1
	50	5.3	57.9	36.8	10.5	52.6	36.8
MAA1	-18	66.7	0.0	33.3	57.9	1.8	40.4
	5	10.0	50.0	40.0	12.0	48.0	40.0
	20	15.8	28.9	55.3	18.4	26.3	55.3
	50	6.0	54.0	40.0	8.0	52.0	40.0
AMAA1	-18	56.0	2.0	42.0	62.0	0.0	38.0
	5	12.0	46.0	42.0	16.0	42.0	42.0
	20	6.5	54.3	45.7	6.1	51.0	42.9
	50	10.6	51.1	38.3	10.6	51.1	38.3
AA2	-18	74.1	25.9	0.0	90.7	9.3	0.0
	5	2.0	54.9	43.1	3.9	51.0	45.1
	20	0.0	75.9	24.1	0.0	69.0	31.0
	50	3.8	61.5	34.6	3.8	59.6	36.5
MAA2	-18	0.0	100.0	0.0	2.0	74.5	23.5
	5	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0
	20	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0
	50	0.0	92.2	7.8	0.0	92.2	7.8
AMAA2	-18	72.0	8.0	20.0	92.0	0.0	8.0
	5	5.9	54.9	39.2	11.8	45.1	43.1
	20	1.9	66.7	31.5	1.9	64.8	33.3
	50	4.0	64.0	32.0	6.0	60.0	34.0



a) 5 min after emulsion preparation



b) after 24 day storage

Fig. 4. Microscopy images of the structure of model O/W emulsions prepared with 2 % methyl ester of alginic acid with M/G ratio 37:63 (MAA2)

The stability of prepared emulsions (MAA2) were observed for the period of 1 to 24 day at room temperature (Fig. 4). The separation of oils phase was not found. The microscopy images proved that coalescence process was not observed at all. The particle sizes were homogeneously distributed in all emulsion volume.

Conclusion

The design of new surface-active alginic acids derivatives were obtained by ultrasound-assisted irradiation. The synthesized methyl esters and amides of alginic acids showed promising foaming and emulsifying properties. The best foamability capacity showed 2.0 % solutions of AA1 and their derivatives. The highest foam stability possessed 0.5 % methylated alginic acid with higher ratio of M-block. However, 2.0 % methyl esters of alginic acid with higher ratio of G-block formed stable the most stable emulsions. In addition the presence of amide groups in alginic acid chain decrease the emulsifying and foaming properties. The synthesized methyl esters of alginic acid with higher ratio of G-block were evaluated as emulsifiers and stabilizer of 50 % O/W emulsions. Due to their physicochemical properties, the obtained alginate derivatives could found future application in medicine, cosmetics and food technologies.

References

1. Cano-Medina A., H. Jiménez-Islas, L. Dendooven, R. Patiño Herrera, G. González-Alatorre, El. M. Escamilla-Silva, 2011. "Emulsifying and foaming capacity and emulsion and foam stability of sesame protein concentrates", *Food Research International*, 44, pp. 684–692.
2. Ci, S. X.; Huynh, T. H.; Louie, L. W.; Yong, A.; Beals, B. J.; Ron, N.; Tsang, W. G.; Soon-Shiang, P.; Desai, N. P. 1999. *J. Chromatogr. A*, 864, pp. 199–210.
3. Clare K. 1993. Algin. In *Industrial gums. Polysaccharides and their derivatives* (Third Edition, Eds. Roy Whistler and James BeMiller), Academic Press Inc., 105-143.
4. Constenla D. Lozano J.E. 2003. "Kinetic models of pectin demethylation" *Latin American Applied Research*, 33, pp. 91-96
- Johnson, F. A.; Craig, D. Q.; Mercer, A. D. J. 1997. *Pharm. Pharmacol.*, 49, pp. 639–643.
- Food Chemical Codex V, 2004, Washington DC.: National Academy Press, pp. 321-324.
5. Daemi H., M. Barikani., 2012. "Synthesis and characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopolymannuronate salt and its calcium nanoparticles", *Scientia Iranica F*, 19 (6), pp. 2023–2028.
6. Diniz R. S., J. S. R. Coimbra, A. Vianna et al., 2014. "Production, characterization and foamability of α -lactalbumin/glycomacropeptide supramolecular structures", *Food Research International*, 64, pp.157–165.
7. Ivanova P., V. Chalova, L. Koleva, 2014. „Functional Properties of Proteins Isolated From Industrially Produced Sunflower Meal”, *International Journal of Food Studies*, 3, pp. 203 – 212.
8. Kuncheva, M., I. Panchev, K. Pavlova, Sn. Russinova-Videva, K. Georgieva, St. Dimitrova, 2013. "Functional characteristics of an exopolysaccharide from antarctic yeast strain *Cryptococcus laurentii* AL62", *Food Biotechnology*, pp. 4098 – 4102.
- Manicini M., Moresi, F. Sappino, 1996. *J. Food Eng.*, 28 (3/4), pp. 283-295.
9. Marinova K. G., E. S. Basheva, B. Nenova, M. Temelska, A. Y. Mirarefi, B. Campbell, I. B. Ivanov, 2009. "Physico-chemical factors controlling the foamability and foam stability of milk proteins: Sodium caseinate and whey protein concentrates", *Food Hydrocolloids*, 23, pp. 1864–1876

10. Murdzheva, D. M., I. N. Vasileva, P.P. Denev, 2015. "Physicochemical characteristics of ultrasound-assisted synthesis of new alginic acid derivatives", Agricultural Academy, Food Research & Development Institute, International Scientific-Practical Conference "Food, Technologies & Health", pp. 47 – 52.

11. Murdzheva D., Denev P., 2016. "Chemical Modification of alginic acid by ultrasonic irradiation", *Acta Scientifica Naturalis*, 3 (1), pp. 13-18.

12. Smidsroed, O.; Haug, A.; Larsen, B. *Acta Chemica Scandinavica* (1947-1973), 1966, 20, 1026.

13. Vlaseva R., M. Ivanova, N. Petkova, P. Denev, A. Stoyanova and M. Schreiner 2014 "Obtaining stable food emulsions between milk and corn oil" *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20, pp. 1085-1089

Dilyana MURDZHEVA
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry,
26 Maritza Blvd., 4002, Plovdiv, Bulgaria,

e-mail: diliana1963@abv.bg

Ivelina VASILEVA
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry,
26 Maritza Blvd, 4002, Plovdiv, Bulgaria

e-mail: ivelinavas@abv.bg

Nadezhda PETKOVA
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry,
26 Maritza Blvd, 4002, Plovdiv, Bulgaria

e-mail: petkovanadejda@abv.bg

Ivan IVANOV
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry,
26 Maritza Blvd, 4002, Plovdiv, Bulgaria

e-mail: ivanov_ivan.1979@yahoo.com

Mina TODOROVA
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry,
26 Maritza Blvd, 4002, Plovdiv, Bulgaria

e-mail: mina_todorova79@abv.bg

Panteley DENEV
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry,
26 Maritza Blvd, 4002, Plovdiv, Bulgaria

e-mail: denev57@abv.bg



СЕЛЕКТИВНА АБСОРБЦИЯ НА H₂S ОТ ВЪГЛЕВОДОРОДНИ ГАЗОВЕ – КОНСТРУКТИВНО ТЕХНОЛОГИЧНИ РЕШЕНИЯ ЗА НАМАЛЯВАНЕ НА ЗАГУБИТЕ НА АБСОРБЕНТ

Десислава Колева, Адриана Георгиева, Живко Желязков, Живко Иванов

SELECTIVE ABSORPTION OF H₂S FROM HYDROCARBON GASES – CONSTRUCTIVE AND TECHNOLOGICAL SOLUTIONS TO REDUCE LOSS OF ABSORBENTS

Desislava Koleva, Adriana Georgieva, Zhivko Zhelyazkov, Zhivko Ivanov

ABSTRACT: The process of selective absorption of H₂S from hydrocarbon gases of oil refining companies with amine containing absorbents such as monoethanolamine, methyldiethanolamine, Flexsorb SE and Puratreat are considered in this work. Also examined is the possibility of replacing one with another absorbents and offering constructive technological solutions to reduce losses of absorbent. The place of the separator after absorption column for outgoing stripped of hydrogen sulfide gas was offered. The geometric dimensions of the separator were calculated.

Key words: selective H₂S removal, absorption of H₂S, diethanolamine, monoethanolamine, methyldiethanolamine, amine systems

Въведение

Абсорбцията на многокомпонентни смеси се използва за извличане на индивидуални компоненти или на няколко компонента едновременно. Позната е като селективна или избирателна абсорбция. Селективната абсорбция се използва в частност при извличане на H₂S от промишлени газове, съдържащи H₂S и CO₂, като основната цел е извличане на H₂S и по възможност отсъствието на CO₂ [1, 2]. Поглъщането на група компоненти чрез процеса абсорбция се използва при разделянето на въглеводородни газове от нефтопреработващи инсталации и такива съдържащи, CH₄ и различни въглеводороди, алкени и C₃ въглеводороди, при почистване на отпадни газови смеси с цел извличане на ценните компоненти или обезвреждане на газови замърсители с цел опазване на околната среда [1, 2].

Ефективността на провеждащия се селективен абсорбционен процес зависи от множество фактори като: температура, налягане, физикохимични свойства на газови и течни потоци и не на последно място от конструктивните особености на абсорбционния апарат.

Серните съединения, основно сероводород (H₂S) подлежат на отстраняване от въглево-

дородните газове поради корозионната им активност, отравящото им действие върху скъпите катализатори и замърсяване на околната среда при изгарянето им. Отделеният H₂S се използва за получаването на сяра и сулфиди [1 ÷ 4].

Най-голямо приложение, като абсорбенти при пречистването на въглеводородните газове са намерили водните разтвори на моно- ди- и триетаноламините.

В световната практика, като амин съдържащи абсорбенти за пречистване на газовете от H₂S се използват: моноетаноламин, диетианоламин, дигликоламин, метилдиетаноламин и др., поради високия си абсорбционен капацитет и сравнително лесната регенерация [1 ÷ 8].

В последните години намират приложение високоефективните абсорбенти Flexsorb SE и Puratreat. Тези абсорбенти са по-селективни към H₂S отколкото към CO₂, което представлява предимство спрямо моноетаноламина (MEA). Puratreat представлява аминокиселина и е особено подходящ за почистване на кисели газове, съдържащи кислород и олефини [1 ÷ 8].

Изборът на даден абсорбент се извършва след задълбочен анализ на газовете, които подлежат на аминна очистка и желани

ефект, който трябва да бъде постигнат. Подборът на конкретен абсорбент е строго специфичен и зависи от много фактори като: състав на очиствания газ (съдържание на примеси); наличност и цена на абсорбента; химическа стабилност и селективност на абсорбента по отношение на отделни кисели компоненти, съдържащи се в газа, подлежащ на очистване; корозионна активност; абсорбционен капацитет и др. [1 ÷ 8].

Цел на настоящата работа е да се разгледа процесът на селективна абсорбция на H_2S от въглеродородни газове, да се оцени възможността за подмяната на един абсорбент с друг и предлагане на технологично-конструктивни решения за намаляване на загубите на абсорбент.

Видове абсорбенти при пречистване на газове от H_2S . Предимства и недостатъци.

Водните разтвори на моноетаноламин (МЕА) се използват в продължение на много години за отстраняване на H_2S и CO_2 от природни и синтез газове. Разтворите на МЕА бързо се заменят с други по-ефективни, особено при третиране на природен газ при високо налягане. Въпреки това, МЕА е все още предпочитаният абсорбент при газови смеси, съдържащи относително ниски концентрации на H_2S и CO_2 и липса на замърсители, като COS и CS_2 . Но ако газът съдържа значителни количества от COS и CS_2 се намалява абсорбционната му способност. В сравнение с останалите амини, МЕА е значително по-високо корозионно активен, особено ако концентрацията му надвишава 20 mass %. Недостатък на МЕА е високата топлина на реакцията с CO_2 и H_2S (около 30 % по-висока от тази на диетаноламина), което води до по-високи енергийни разходи за десорбция. Високото налягане на парите на МЕА причинява значителни загуби при изпаряване, особено при абсорбция с ниско налягане. Това може да се предотврати чрез измиване на пречиствения газ с вода [3 ÷ 5].

Смеси на моноетаноламин с ди- или триетиленгликол, са били използвани широко за едновременно третиране на кисели газове и дехидратация на природни газове. Процесът е по-известен като процеса на гликол-амин, позволяващ едновременно пречистване и дехидратация с малко по-нисък разход на пара в сравнение с разтворите във вода. Гликол-аминът може почти напълно да отстрани H_2S

и CO_2 , което води до получаване на третирания газ с изключително висока чистота. Недостатък при абсорбцията с гликол-амин е високата загуба при изпаряване на амина и високата корозионна активност. Процесът гликол-амин се прилага успешно при пречистване на кисел газ за Claus процес, тъй като наличието на въглеводороди с високо молекулно тегло води до бързото дезактивиране на катализатора при производството на техническа сярна [3 ÷ 5].

Водните разтвори на диетаноламин (ДЕА) се използват за пречистване на газове, съдържащи H_2S и CO_2 и минимални количества от COS и CS_2 . Вторичните амини са много по-малко реактивоспособни към COS и CS_2 от първичните амини, като реакционните продукти не са високо корозионно активни. Поради което, диетаноламин и амини от вторичен произход са по-добър избор за третиране на газове, съдържащи COS и CS_2 . Ниското парциално налягане на диетаноламина го прави подходящ при процеси протичащи при ниско налягане, като загубите от изпаряване са незначителни. Диетаноламинът не е подходящ при третиране на газове с високо съдържание на CO_2 , тъй като претърпява многобройни необратими реакции с CO_2 до образуването на корозионни продукти. Разтворът на диетаноламин е по-малко корозионно активен спрямо разтворите на моноетаноламин [3, 8 ÷ 10].

Диизопропаноламинът (ДИПА) се използва в процесите ADIP и Sulfinol, лицензиран от Shell International Petroleum Company (SIPM). В процесът Sulfinol, диизопропаноламин се използва, като физически органичен разтворител за пречиствени газове и течности, които освен H_2S и CO_2 съдържат и COS . Количествата на COS се отстраняват без нежелани ефекти към разтвора [3, 8 ÷ 10].

Допълнителни предимства на диизопропаноламина са ниска консумация на енергия за регенериране и занижена корозионна активност. SIPM прилагат ДИПА в процеса на ADIP за селективна очистка на H_2S от газовите потоци, като и при процеси за селективна абсорбция на H_2S от газове при Клаус процес. SIPM постепенно заменят ДИПА с МДЕА (метилдиетаноламин) в двата процеса [3, 8 ÷ 10].

Основното предимство на МДЕА е селективно поглъщане на сероводород в присъствието на въглероден диоксид, по-специално в случаите, когато съотношението на въглеро-

ден диоксид/ сероводород е много високо. Данните от много изследвания показват, че при точния избор на селективен абсорбент могат да се достигнат концентрации на H_2S по-ниски от 4 ppm в обработения газ и позволяващи, по-голяма част от CO_2 да премине неабсорбиран. Поради ниското си налягане на парите, МДЕА може да се използва в концентрации до 60 mass% във водни разтвори без загубите от изпарение. Освен това МДЕА е високо устойчив на топлинен и химически разпад, ниско корозионно активен и с ниска специфична топлина на реакцията [3, 5 ÷ 10].

Въпреки, че пространствено затруднените амини не са непременно алканоламини техните характеристики, като абсорбиционни агенти за пречистване на газови смеси са сходни с тези на алканоламините. Разтворители на базата на затруднени амини са лицензирани от Exxon Research под името Flexsorb разтворители. Затруднените амини се използват, като промотори в горещи карбонатни системи (Flexsorb HP); като компоненти на органични разтворители в амин системи с характеристики, подобни на Sulfinol (Flexsorb PS) и като агент във водни разтвори за селективна абсорбция на H_2S в присъствието на CO_2 (Flexsorb SE и SE +) [3, 6 ÷ 10].

Технологично приложение намират няколко алкални амин-съдържащи абсорбенти, означени с различни търговски наименования, като най-използвани са МЕА, ДЕА и МДЕА [3 ÷ 10].

МЕА е абсорбент намерил най-широко приложение поради неговата достъпност и ниска цена. МДЕА има най-висока абсорбиционна способност по отношение на H_2S от трите изброени разтворителя и е селективен спрямо него в присъствие на CO_2 .

ДЕА често се избира, когато има в наличност относително малко количество серни съединения, например при втечени нефтени газове (пропан-бутан), тъй като той има най-нисък абсорбиционен капацитет [3, 7 ÷ 10].

Анализът на научната литература и приложението в световната практика показва, че се наблюдава тенденция към замяна на МЕА с по-ефективния абсорбент МДЕА [3, 6 ÷ 10].

МДЕА в сравнение с МЕА е по-ниско корозионно активен, което позволява използването на по-концентрирани разтвори на МДЕА (30 ÷ 50 mass %) в сравнение с МЕА (12 ÷ 18 mass%). Степента на насищане на МЕА е ограничена до величина 0,3 ÷ 0,35 mol H_2S / mol

МЕА, докато за МДЕА тази стойност е 0,8 mol H_2S / mol МДЕА. Това означава, че количеството на циркулиращия разтвор на абсорбента, а следователно и разхода на енергия за неговата циркулация и регенерация е 1,5 пъти по-малко при използване на МДЕА. Използването на МДЕА обезпечава икономия на енергия за сметка на по-малката топлина на хемисорбция на МДЕА в сравнение с МЕА [3, 6 ÷ 10]. Наблюдава се значително понижение на деструкцията на абсорбента при използването на МДЕА в сравнение с МЕА, като в резултат на това се намалява и пенообразуването. При работата с абсорбент на основа на МЕА се констатира загуба на МЕА за сметка на уноса на пари на стадия десорбция, като температурата на потока там достига 115 ÷ 130⁰С. Тъй като температура на кипене на МДЕА е 247⁰С, значително по-висока от тази на МЕА 170⁰С се наблюдава значително понижение на пренасянето (уносът) на амин при регенерация на разтвора [3, 6 ÷ 10]. Това е илюстрирано най-добре в Таблица 1.

Таблица 1. Загуби на абсорбент.

Алканоламин	Загуби, g/1000 m ³ очистен газ
МЕА – 15%	9,18
ДЕА – 30%	0,068
МДЕА – 30%	0,60
МДЕА – 50%	1,04

Разтворимостта на въглеродородите в алканолamina нараства с повишаване на концентрацията на амина в абсорбиционния разтвор и в присъствие на серни съединения, като CO_2 абсорбиционния капацитетът (или разтворимостта) на амините се променя в следния ред: МДЕА < ДЕА < МЕА. Може да се обележи, че разтворите на МДЕА се отличават с почти двойно по-висок вискозитет при една и съща температура в сравнение с разтворите на МЕА [3, 6 ÷ 10].

Независимо от типа на абсорбента навсякъде в технологичните схеми е необходимо използването на система за очистване, поддържане на качеството и кондициониране на циркулиращия разтвор [3, 7 ÷ 11]. Без наличието на такава система замяната на един разтворител с друг няма да доведе до желани ефект. Също така трябва да се има предвид, че замяната на един абсорбент с друг изисква оразмеряване и проектиране на оборудването

(абсорбционни и десорбционни колони) за доказване на неговата пригодност за използването му при работа и с друг абсорбент [3, 7 ÷ 10].

От направеният литературен обзор за състоянието на технологичното оборудване при селективна абсорбция на кисели газове с амин-съдържащи абсорбенти (аминна очистка) прави впечатление, че освен задължителната апаратура необходима за провеждане на процеса – абсорбери, десорбери, топлообменници и т.н. в повечето инсталации, задължително се монтират филтри на всички потоци участващи в процеса [11 ÷ 14]. Филтрите се монтират на пътя на газа на вход в абсорберите, на регенериращия разтвор – химични и физични филтри, на пътя на продуктите на реакцията: отработен аминен разтвор и H_2S [11 ÷ 14].

Налягането на филтруването, като помощен хидромеханичен процес при аминната очистка на газовете в значителна степен благоприятства като цяло подобряването на процеса. Намаляват се замърсяванията в газа на вход в абсорберите, което води до намаляване на пенообразуването на абсорбента и понижаване уноса на разтвор с очистения газ. При десорбцията се намалява възможността за увеличаване на аминен разтвор със H_2S и очистения газ [11 ÷ 14].

При подмяната на МЕА с МДЕА в абсорбционни инсталации е необходимо да се отчете способността на МДЕА да разтваря твърдите отлагания в технологичното оборудване използвано преди при абсорбция с МЕА [6 ÷ 14]. С цел да се предотврати замърсяване на МДЕА и пълното използване на абсорбционния му капацитет се подхожда към промиване на оборудването със специални разтвори. За не се допусне замърсяване на абсорбента при замяната му е необходимо монтиране на филтруваща система на наситения разтвор преди постъпването му в десорбера [6 ÷ 14].

При подмяната на абсорбента от МЕА с МДЕА е необходима проверка на ефективността на контактните устройства в абсорберите за достигане на желаната степен на почистване на газовете. При необходимост за достигане на желаната степен на почистване на газовете е възможна подмяна на съществуващите тарелки в абсорбционните колони с високо ефективни пълнежи [15]. Това би довело до повишаване скоростта на масообменния процес, намаляване на загубите на абсорбент

и намаляване на пенообразуването на абсорбента при контакта му с газа в абсорбера и десорбера. Допълнително в колоните е необходимо монтирането на разпределители на газовите и течните потоци, с цел равномерно разпределение на контактуващите фази на повърхността на пълнежите и какпоуловители за изключване на физическото унасяне на течност (капки) с газовия поток от върха на апарата [15].

Възможни конструктивно-технологични решения за намаляване загубите на абсорбент.

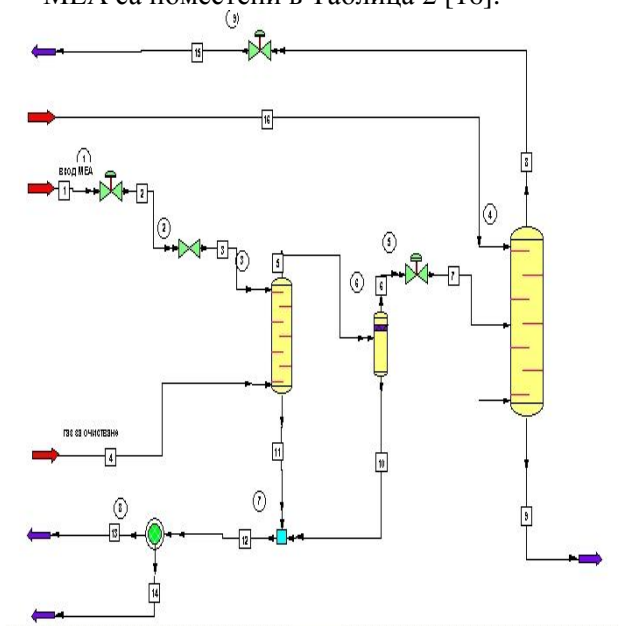
Разгледана е селективна абсорбция на H_2S от въгледородни газове в нефтопреработващи компании с воден разтвор на МЕА с концентрация най-често около 15 mass %. Въгледородните газове, постъпващи в абсорбционната тарелкова колона имат примерно съдържание: водород и метан - 8,7 об%; етан – 17, 8 об%; пропан – 31,7 об%; изобутан – 10,1 об.%; n-бутан – 21,6 об%; изопентан – 5,6 об.%; n-пентан – 3,8 об.% и хексани - 0,7 об.% [16]. Очистеният от H_2S въгледороден газ от върха на първа абсорбционна колона, след редуциране на налягането постъпва на вход във втора абсорбционна колона. В нея като абсорбент се използва фракция пентани, която поглъща по-тежките въгледороди - пропан, бутан, пентан и др., а от върха ѝ се отделя фракция леки въгледороди - H_2 , CH_4 , C_2H_6 . Степеннта на насищане на водния разтвор на МЕА не трябва да превишава $0,30 \div 0,35 \text{ mol/mol}$, поради възможността от интензивна корозия на оборудването.

Недостатък на процеса е високия разход на абсорбент, който води до увеличаване на количеството на финно дисперсни капки в очистения газ, в резултат на процеси, като разпенване и висока летливост на парите на МЕА [1 ÷ 3]. Водният разтвор на МЕА има свойството да се разпенва при контакта с постъпващият в първата абсорбционна колона въгледороден газ, в резултат на което се образуват финни капки от МЕА. Разпенването на абсорбента МЕА се стимулира и от механични замърсявания, получени в резултат от отлаганията и корозия по тръбопроводите. Тези капки МЕА напускат върха на колоната заедно, с очистеният газ и постъпват в следващата колона. Поради тази причина от куба на втората абсорбционна колона се налага да

се отделяне на насъбралото се количество загуби от МЕА.

Това явление е по-ясно изразено при повишаване на натоварването на първата абсорбционна колона с неочистен въглеродороден газ над $2,31 \cdot 10^{-4} \text{ m}^3/\text{s}$, което се обяснява с прекомерното разпенване на абсорбента и задавяне на колоната от образувалата се пяна. При тези условия чувствително се влошава и почистването на газа от сероводорода и се увеличава разхода на абсорбент. В различните абсорбционни инсталации липсват капкоуловители на върха на абсорбционните колони (за разглеждания процес в първа колона) или сепариращи апарати извън тях, което води до допълнителни загуби на абсорбент [16]. В литературата се среща монтиране на сепаратори на газа на вход и изход от абсорберите, служещи за отделяне на увлечените течни и твърди аерозоли във входящия газ, което води до намаляване на замърсяването на амина, образуването на пяна и понижаване на корозията на оборудването [3, 4, 16]. За постигане на по-ефективен абсорбционен процес и намаляване загубите на МЕА се предлага поставянето на сепаратор за напускащия очистен газ преди входа му във втората абсорбционна колона. За симулиране на изследваният процес и изчисляване на предлаганият сепаратор бе използвана програмата CHEMCAD 6.0.1..

На Фиг. 1. е показана технологичната схема изградена от програмата CHEMCAD 6.0.1. [16]. Работните параметри на постъпващия въглеродороден газ, подлежащ на абсорбция в първа колона с 15 mass % воден разтвор на МЕА са поместени в Таблица 2 [16].



Фиг. 1. Технологичната схема изградена от програмата CHEMCAD 6.0.1..

Легенда към Фиг. 1..

1,2,3 - вход на абсорбент (МЕА), 4 – въглеродороден газ за почистване; 5 – изход на очистен газ от колона 1 и вход в сепаратора; 6 – очистен газ на изход от сепаратор; 7 – очистен газ след клапан редуциращ налягането на колона 1 и сепаратора; 8, 15 – изход на леки въглеродородни газове; 9 – изход от колона 2 на тежки въглеродороди $C_3 + C_6$; 10 – изход на отработен МЕА от сепаратор; 11 – изход на отработен МЕА от колона 1; 12 – общ поток отработен МЕА към вход на филтър; 13, 14 – общ поток отработен МЕА за регенерация след изход от филтър; 16 – вход на пентантанова фракция в колона 2

Таблица 2. Работни параметри на потоците.

№	Работно налягане, $\cdot 10^{-4} \text{ Pa}$	Обемен дебит, $\cdot 10^4 \text{ m}^3/\text{s}$	Работна температура, $^{\circ}\text{C}$	
Въглеродороден газ				
1.	156,96	1,61	30	
15 mass% воден разтвор на МЕА				
2.	156,96	16,7	40	
Състав на въглеродородния газ, об. %				
3.	Водород	41,7	Пропанова фракция	21
4.	Метан	14,2	Бутанова фракция	6,2
5.	Етанова фракция	9,3	Сероводород	6,9
6.	Пентанова фракция	0,7		

Използваната налична версия на програмата CHEMCAD 6.0.1.. не ни даде възможност за симулиране на процеса и за частично или пълно оразмеряване на сепаратора. Това се дължи на факта, че в наличната версия на програмата няма заложена възможност за работа с процеса хемисорбция и селективна абсорбция, а е налична само физическа абсорбция.

Програмата Honeywell на база на входни данни за потоците в първа абсорбционна колона изчисли геометричните размери на сепаратора поместени в Таблица 3. Схема на предлагания сепаратор е показана на Фиг. 2 [16].

Таблица 3. Геометрични размери на сепаратора предложени от програмата Honeywell.

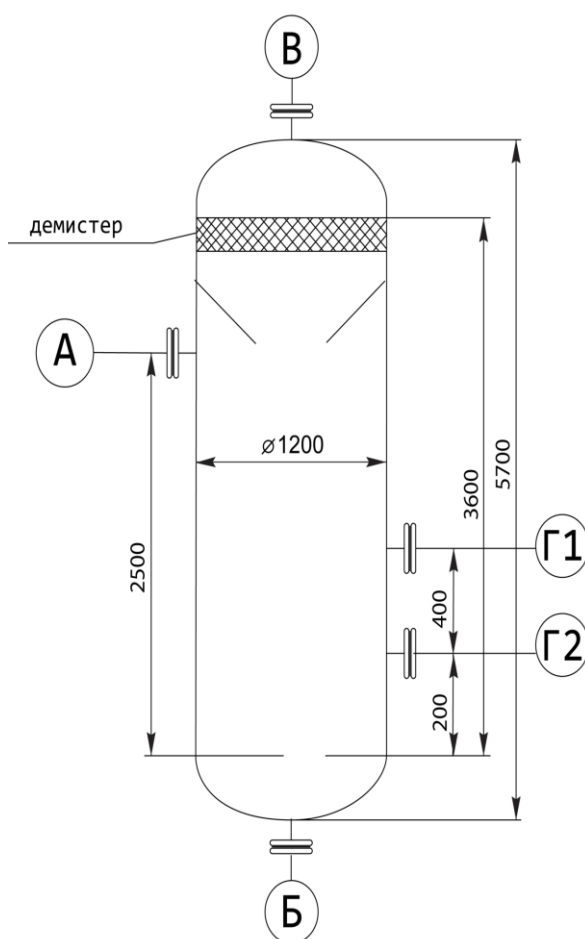
Сепаратор			
Обем	4 m ³		
Налягане, .10 ⁻⁶ Pa	Работно	1,6	
	Изчислено	2,5	
Температура, °C	Работна	33	
	Изчислена	60	
Диаметър, m	1,2		
Височина, m	5,7		
Щуцери			
	брой	Диаметър, m	Налягане, .10 ⁻⁶ Pa
А- вход на очистен газ	1	0,150	2,5
Б – изход на разтвор от МЕА	1	0,100	2,5
В – изход на очистени въглеводородни газове	1	0,020	2,5
Г1, Г2 - щуцер за нивомерна камера	2	0,050	2,5

Както се вижда от технологичната схема показана на Фиг. 1 сепараторът за напускащия очистен газ е поставен преди входа му във втората абсорбционна колона, като е снабден с устройство за округняване и отделяне на финните капки увлечени от газа.

Сепараторът ще позволи минимизиране разпенването на абсорбента. Той е снабден с нивомерна камера, показанията на която са обвързани с регулиращ клапан монтиран на линията за изход на отсепариран разтвор на МЕА. Целта на този клапан е да осигури необходимият хидравличен течностен стълб в сепаратора, който да не бъде изтласкан от газа.

При достигане на определено ниво в сепаратора, клапанът се отваря и количеството отделен МЕА се насочва към линия за отрабо-

тен разтвор на МЕА. След изхода на газа от сепаратора се монтира клапан-регулатор за налягане, който служи за редуциране на налягането на газа във първата абсорбционна колона и сепаратора.



Фиг. 2. Схема на предлагания сепаратор.

За постигане на по-ефективно разделяне в сепаратора в горната му част има капкоуловител (демистер), а в средната част прегради, служещи за предварително отделяне от газа на капките от МЕА.

Заклучение

Моноетаноламинът, диетаноламинът, дигликоламинът, метилдиетаноламинът са амин съдържащи, абсорбенти за пречистване на газовете от H₂S, намерили широко технологично приложение, поради високия си абсорбционен капацитет и сравнително лесната регенерация. В последните години намират приложение и високоефективните абсорбенти Flexsorb SE и Puratreat, които са селективни към H₂S отколкото към CO₂, което е предимството им спрямо моноетанола-

мина (МЕА). Подборът на конкретен абсорбент е строго специфичен и зависи от редица фактори.

Анализът на научната литература и приложението в световната практика показва, че се наблюдава тенденция към замяна на МЕА с по-ефективния абсорбент МДЕА. МДЕА в сравнение с МЕА е: по-ниско корозионно активен; притежава по-висока абсорбционна способност; има по-висока степен на насищане на разтвора, което позволява използването на по-концентриран разтвор; обезпечава икономия на енергия; намалява пенообразуването в следствие на понижената си деструкция.

Замяната на един абсорбент с друг изисква оразмеряване и проектиране на оборудването (абсорбционни и десорбционни колони) за доказване на неговата пригодност за използването му при работа и с друг абсорбент. При подмяната на МЕА с МДЕА в абсорбционни инсталации е необходимо да се отчете способността на МДЕА да разтваря твърдите отлагания в технологичното оборудване използвано преди при абсорбция с МЕА, както и проверка на ефективността на контактните устройства в абсорберите за достигане на желаната степен на почистване на газовете.

В различните абсорбционни инсталации за улавяне на H_2S от въгледородни газове с МЕА, липсват капкоуловители на върха на абсорбционните колони или сепариращи апарати извън тях, което води до допълнителни загуби на абсорбент. Водният разтвор на МЕА има свойството да се разпенва при контакта с постъпващият в абсорбционната колона въгледороден газ, в резултат на което се образуват финни капки от МЕА. Тези капки МЕА напускат върха на колоната заедно с очистеният газ и постъпват в следващият апарат.

За постигане на по-ефективен абсорбционен процес и намаляване загубите на МЕА се предлага следното конструктивно технологично решение - поставянето на сепаратор за напускащия очистен газ. С помощта на програмата Honeywell са изчислени геометричните размери на сепаратора. Предлаганият сепаратор ще позволи минимизиране разпенването на абсорбента и намаляване загубите на моноетаноламин.

Литература

1. Николаев А. Н., А. В. Дмитриев, Д. Н. Латыпов, 2004, *Очистка газовых выбросов*

ТЭС, работающих на твердом и жидком топливе, Казань, ЗАО Новое знание, 2004, стр. 85, 109.

2. Рамм В. М., 1951, *Абсорбционные процессы в химической промышленности*, ГОСХИМЗДАТ, Москва.

3. Cavani F., G. Centi, S. Perathoner, F. Trifiró, 2009, *Sustainable Industrial Processes*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, , pp. 449 – 462.

4. Smith R., 2005, *Chemical Process Design and Integration*, John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England, , pp. 130.

5. Lallemand F., G. Perdu, C. Maretto, C. Weiss, J. Magne-Drisch, A. Lucquin, 2012, Solutions for the treatment of highly sour gases, Process technologies for the cost-effective treatment of natural gas with high and ultra-high acid gas content, *Gas*, www.digitalrefining.com/article/1000356, pp. 1-14.

6. Vorberg G., R. Notz, T. Katz, 2011, A promoter for selective H_2S removal: part I, A new MDEA promoter achieves very low H_2S lean loadings and the option for flexible design of acid gas enrichment units by varying absorber heights, *Gas*, www.digitalrefining.com/article/1000410, pp. 1-9.

7. Hajilary N., A. Ehsani Nejad, S. Sheikhaei, H. Foroughipour, 2011, Amine Gas Sweetening System Problems Arising from Amine Replacement and Solutions to Improve System Performance, *Journal of Petroleum Science and Technology*, Vol.1, No.1, pp. 24 – 30.

8. Katz T., G. Sieder, K. Tanaka, 2014, Process for recovery of carbon dioxide from a fluid stream, in particular from syngas, *United States Patent, Patent NO.: US 8,795,415 B2*.

9. Rameshni M., *State-of-the-Art In Gas Treating*, 2000, Worley Parsons, Resources&energy, 125 West Huntington Drive Arcadia, CA, USA, British Sulphur.

10. Шкляр Р. Л., А. В. Мамаев, С. А. Сиротин, 2015, Неселективная абсорбция кислых газов водным раствором метилдиэтанолamina, Современные технологии переработки и использования газа, *Научно-технический сборник ВЕСТИ ГАЗОВОЙ НАУКИ*, № 1 (21), стр.17- 21.

11. Filter cartridges for oil and gas, 2008, www.sedifilt.com.

12. Kemenade. H. P. V., J. J. H. Brouwers, S. J. M. de Rijke, 2013, Comparing the Volume and Energy Consumption of Sour-Gas Cleaning

by Condensed Rotational Separation and Amine Treatments, *Energy Technology*, 1, pp. 392 – 394.

13. Filtration, separation, solution. Amine systems reliability, 2014, www.pall.com; www.eco-tec.com.

14. Amine Best Practices Manual - Refining Online, 2007, http://refiningonline.com/abpg_kb/ABPG-5.pdf.

15. Weiland R., N. Hatcher, 2012, A new approach to treating shale gases. Shale gas can be challenging to treat, but mass transfer rate-based simulation and appropriate tower internals can make it no harder to treat than other natural gases, *Gas*, ppm. 1 – 7, www.digitalrefining.com/article/1000358.

16. Желязков Ж., 2016, Изследване абсорбцията на H₂S от въглеродородни газове в инсталация абсорбционно—газово фракционирание, *Дипломна работа*, Университет „Проф. д-р Асен Златаров“ Бургас, Катедра „Химично инженерство“, стр. 38-50.

гл. ас. д-р. Десислава Колева
Университет „Проф. д-р Асен Златаров“
Катедра „Химично инженерство“
гр. Бургас, 8010, бул. „Проф. Якимов“ 1
e-mail: desislava_koleva@btu.bg

гл.ас. д-р. Адриана Георгиева
Университет „Проф. д-р Асен Златаров“
Катедра „Химично инженерство“
гр. Бургас, 8010, бул. „Проф. Якимов“ 1
e-mail: adrianaslavova@yahoo.com

ас. д-р. Живко Иванов
Университет „Проф. д-р Асен Златаров“
Катедра „Химично инженерство“
гр. Бургас, 8010, бул. „Проф. Якимов“ 1
e-mail: zh_ivanov@btu.bg



ПОЛИФЕНОЛЕН СЪСТАВ И АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНОСТ НА ПЛОДОВЕ ОТ ФИНИКОВА ПАЛМА (*PHOENIX DACTYLIFERA*), ПРЕДЛАГАНИ В ТЪРГОВСКАТА МРЕЖА

Иван Иванов, Надежда Петкова, Пантелей Денев

POLYPHENOLICS CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF COMMERCIALY AVAILABLE DATES (*PHOENIX DACTYLIFERA*)

Ivan Ivanov, Nadezhda Petkova, Panteley Denev

ABSTRACT: The fruits of *Phoenix dactylifera* L. known as date are rich source of carbohydrates, fiber, vitamins and minerals. Phytochemical studies showed that the fruits contain also significant amounts of anthocyanins, phenols, sterols, carotenoids, flavonoids and procyanidins. Dates find enormous application to treat various diseases in traditional medicine due to their antioxidant, antimutagenic, antimicrobial, anti-inflammatory, hepatoprotective, nephroprotective, anticancer and immunostimulation activities. The current study aims to establish the polyphenol content and antioxidant activity of dried fruit of the commercially available date palm from Bulgarian market. It was found that the total polyphenol content was in range 2.4 - 5.4 mg GAE/g fruits, derivatives of caffeic acid (0.2 - 1.0 mg CAE/g fruits) and condensed tannins (proanthocyanidins) (0.2 - 0.8 mg LE / g fruits), respectively. In vitro antioxidant potential was evaluated by methods for radical scavenging activity (ABTS method 0.2 - 1.0 mmol TE /g fruits) and metal reducing activity (CuPRAC method 39-80 mmol TE / g fruits). The obtained results showed that the commercial dates on Bulgarian market are a valuable source of bioactive phytonutrients with high antioxidant activity, therefore their consumption during the winter period is highly recommended.

Key words: *Phoenix dactylifera*, date, phytochemical compounds

Въведение

Финикова палма (*Phoenix dactylifera* L.) е широко разпространена в топлиите и сухи райони на света, главно в Близкия изток и Северна Африка. От дълбока древност се е използвала, както като основна храна, така също и като суровина за хранително-вкусовата промишленост. Финиковата палма е наричана „дърво на живота” или "хляба на пустинята". През последните години, нараства интересът към фурмите поради многобройните им ползи за здравето. Редица проучвания разкриват потенциала за приложение на плодовете на финиковата палма като ценен източник на фитонутриенти и като здравословна храна за кърмачета, младежи, здрави възрастни, както и при пациенти с хронични заболявания (Valiga et al., 2011).

Плодовете на финиковата палма са богат източник на захари, хранителни вещества и биологично активно вторични метаболити. Дневният прием на фурми предоставя около 315 kkal на 100 g. Те съдържат висок процент на въглехидрати (общи захари, 44-88 %), в

това число и диетични фибри (пектинови вещества) около 6,4 – 11,5 %, както и на мазнини (0,2 – 0,5 %), протеини (2,3 – 5,6 %), и витамини (А, В₁, В₂, В₃, В₅, В₆ и С) (Al Farcy and Lee, 2008). Те са богат източник на минерали като калций, магнезий, фосфор, калий, желязо, цинк, мед, манган, селен. В плодовете на финиковата палма са идентифицирани ненаситените мастни киселини палмит-олеинова, олеинова, линолова и линоленова. Протеинът във фурмите се състои от 23 вида аминокиселини, някои от които не са налични в най-популярните плодове като портокали, ябълки и банани. При сушенето на плодовете на финиковата палма се намалява водното им съдържание и се повишава концентрацията на захари. Поради тази причина срокът на годност на сухите фурми е висок и са подходящи за прием продължителен период от време (Al-Shahib and Marshall, 2003).

Фурмите са богати на фитонутриенти като полифеноли (3,9 %), стероли, каротеноиди, антоцианини, процианини и флавоноиди, които притежават висока антиоксидантна ак-

тивност (80,4 mmol на 100 g) (Al Farcy and Lee, 2008). Съотношението и концентрацията на тези компоненти зависят от сорта, време на събиране на реколтата, също така и от местоположението и почвено-климатичните условия. Тези метаболити допринасят също за хранителните и органолептичните свойства на плодовете и може да са от полза за повишаване на хранителната и функци-оналната стойност на хранителните продукти (Habib and Ibrahim, 2009, Al Farcy et al., 2005). Mansouri et al. (2005) анализират профила на фенолните киселини на седем алжирските вида фурми и откриват, че те съдържат р-кумарова, ферулова и синапена киселини, както и производни на канелената киселина и три различни изомери на хлорогеновата киселина. Изследванията с три сорта омански фурми са показали наличие на свободни (протокатехинова, ванилова, сиринова и ферулинова киселини) и свързаните фенолни киселини (галова киселина, протокатехинова киселина, *p*-хидроксибензоена киселина, ванилова киселина, кафеена киселина, сиринова киселина, *p*-кумарова киселина, ферулова киселина и *o*-кумарова киселина) (Al Farcy et al., 2005). Плодовете на фини-ковата палма са източник и на кондензни танини. При използване на разтворител състоящ се от ацетон-вода-оцетна киселина, Hong et al., (2006) установяват, че про-цианидините във фурмата са от B₂ тип със степен на полимеризация 10. Установено е и флавоноидното съдържание на фурмата. Идентифицирани са тринадесет флавоноидни гликозиди на лутеолина, кверцетина, и апигенина. Също така е установено, че в плодовете на финиковата палма се откриват флавоноидсулфати - метилирана и сулфати-рана форми на лутеолина и кверцетина, присъстват като моно-, ди-, и три гликозилирани конюгати, докато апигенин присъства само като дигликозид (Hong et al., 2006, Chaira et al., 2009)

Настоящото изследване има за цел да се установи полифенолният състав на плодове от финикова палма, предлагани в търговската мрежа и да се оцени антиоксидантният им потенциал, както и да се предложат минимални дневни дози осигуряващи здравословен живот.

Материали и методи

Анализираните плодове от финикова палма са закупени от търговската мрежа на гр. Пловдив през 2015 г. (Таблица 1.)

Таблица 1. Изследвани плодове на финикова палма предлагани в търговската мрежа

№	Наименование на продукта	Консистенция	Произход
1.	QUEEN'S DI-AMOND	сухи	Иран
2.	BAM	месести	Иран
3.	MIAMI	сухи	Иран
4.	MARYAM	месести	Иран

Екстракция

Най-напред костилките на плодовете на финиковата палма се отстраняват. От останалата месеста част на фурмата се претеглят две средни проби от по 20 g. След това пробите се екстрахират с по 50 ml хлороформ за отстраняване на липидните компоненти. Към пробите с хлороформ плодове се добавят 50 ml 70% етанол и колбите се нагриват при кипене на обратен хладник за 1 h. Биомасата се отстранява чрез филтруване през филтърна хартия и получените екстракти се използва за следващите анализи.

Определяне на общи полифеноли

Общо съдържание на фенолни се определят чрез метода на Folin-Ciocalteu. Към 1 ml реагент, разреден пет пъти се добавят 0,2 ml от 70 % етанол екстракт от фурмите и 0,8 ml 7,5 % Na₂CO₃. Реакцията се провежда при стайна температура на тъмно за 20 min. Измерва се адсорбцията на пробата при 765 nm спрямо празна проба, получена по същия начин, но без екстракт, а само с разтворител. Резултатите се изразяват в mg еквиваленти на галовата киселина (GAE) за 100 g плод, според стандартната права построена с галова киселина като стандарт и линейна в диапазона от 0,02 - 0,10 mg.

Определяне на общи деривати на кафеената киселина

Общо съдържание на деривати на кафеената киселина са изразени като хлорогенова киселина като е описано в Европейската Фармакопея (6 изд. 2008). Екстрактът (1 ml) от плодове на финикова палма се прибавя към 2 ml 0,5 mol солна киселина и 2 ml реактив на Arnou (10 g натриев нитрит и 10 g натриев молибдат и обема се довежда до 100 ml с дес-

тилирана вода) 2 ml NaOH (при концентрация от 2.125 mol) и 3 ml дестилирана вода. Всяка проба се сравнява със същата смес, но без реактива на Arnou. Измерва се абсорбцията при 525 nm. Съдържанието на общи деривати на кафеената киселина се изчислява като мг еквиваленти на хлорогеновата киселина (CAE) на g плод.

Определяне на общи проантоцианидини

За анализ на проантоцианидини се използва подкислен бутанол, съгласно метода на Porter. В епруветка се добавят 3 ml от реагента бутанол-HCl (950 ml 1-бутанол с 50 ml концентрирана солна киселина), 0,5 ml екстракт и 0,1 ml от реагент съдържащ 2 % железен амониев сулфат в 2 mol/L солна киселина). Епруветката се разбърква добре, затваря се хлабаво и се поставя в кипяща водна баня в продължение на 15 min. Абсорбцията на образуваното цветно съединение се отчита при 550 nm. Количеството на кондензираните танини се представя като левкоцианидин еквиваленти (LE) на грам плод (Ivanov, 2014).

Анализ на антиоксидантната активност

Анализ на радикал улавящата активност – *ABTS метод*: ABTS радикалът се приготвя чрез смесване в еквимоларни количества ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (7 mmol във H₂O) и калиев персулфат (2,45 mmol във H₂O) и престой за 16 h на тъмно. Преди анализ 2 ml от ABTS радикала се разтварят в метанол в съотношение 1:30 до получаване на крайна адсорбция 1,0÷1,1 при 734 nm. За провеждане на анализа 0,15 ml от изследвания екстракт се смесва с 2,85 ml прясно приготвен разтвор на ABTS радикала. Реакционната смес се инкубира на тъмно за 15 min при 37 °C. Редукцията на адсорбцията се отчита спектрофотометрично при дължина на вълната 734 nm.

Анализ на метал-редуцираща активност – *CUPRAC метод*: Инициирането за протичане на реакцията започва чрез смесване на 1 ml CuCl₂·2H₂O, 1 ml Neocuproin (7,5 mM в метанол), 1 ml 0,1 mol/L амониев ацетатен буфер с pH 7; 0,1 ml от изследвания екстракт и 1 ml д. H₂O. Реакционната смес се инкубира за 20 min при 50 °C на тъмно. След охлаждане на сместа абсорбцията на полученото съединение се отчита при 450 nm.

Резултатите и от двата метода са представени като милимола Trolox еквиваленти (mmol TE/100 g плод). Статистическата обра-

ботка на получените резултати е извършена с програма MS Excel 2010.

Резултати и дискусия

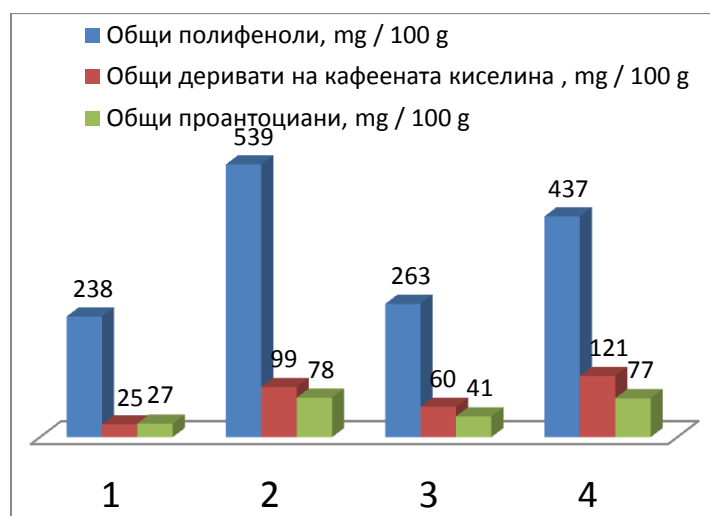
В България не се култивират финикови палми за производство на плодове, а само за декоративни цели. Наличните в търговската мрежа фурми са вносни предимно от Иран и страни от близкия изток. Липсват данни за съдържанието на нискомолекулни биологично активни вещества с антиоксидантна активност в предлаганите на пазара плодове фурми.

Изследвани са четири вида фурми внос от Иран предлагани в търговската мрежа на гр. Пловдив. Установено е съдържанието на общи полифеноли, общи деривати на кафеената киселина и общо процианидини. Данните от количествения анализ на нискомолекулните биологично активни вещества е представен на фигура 1. Продуктите BAM и MARYAM съдържат най-високи количества полифеноли, деривати на кафеената киселина и процианидини – 532 mg GAE/100 g плод, 99 mg CAE/100 g плод и 78 mg LE/100 g плод съответно за партидата BAM и 437 mg GAE/100 g плод, 121 mg CAE/100 g плод и 77 mg LE/100 g плод съответно за партидата MARYAM. Съдържанието на нискомолекулни биологично активни вещества в другите два продукта е около 2 пъти по-ниско съответно – 263 mg GAE/100 g плод, 60 mg CAE/100 g плод и 41 mg LE/100 g плод, а за MIAMI са 238 mg GAE/100 g плод, 25 mg CAE/100 g плод и 27 mg LE/100 g плод съответно за партидата QUEEN'S DIAMOND. Получените резултати са сравними с количеството полифеноли получени от водни и етанолни екстракти на три сорта форми от Саудитска Арабия Ajwa 455,88 - 245 mg GAE/100 g; Sukari 377 - 222 mg GAE /100 g Khalas 238 - 106 mg GAE/100 g, съответно (Saleh et al., 2011).

Получените резултати от антиоксидантната активност на изследваните екстракти от различни партии фурми предлагани в търговската мрежа са представени в таблица 2. Данните показват, че с най-висока радикал-улавяща и метал-редуцираща активност са BAM и MARYAM - 3891 и 3507 mmol TE/100 g плод (ABTS метод) и 8041 и 7367 mmol TE/100 g плод (CuPRAC метод). Антиоксидантният капацитет на плодовете се дължи главно на наличието на водоразтворими съединения, особено полифеноли, деривати на

кафеената киселина, флавоноиди и процианидини. Много фактори допринасят за количеството на антиоксидантите, сред тях са сорта финикова палма, степента на узряване и географския произход. На таблица 2 е показан капацитета на антиоксидантната активност на четирите изследвани марки. Прави впечатление, че плодовете с по-месеста консистенция имат по-високо съдържание на полифеноли и по-висока антиоксидантна активност. Този висок антиоксидантен потенциал се дължи на високото съдържание на полифеноли, деривати на кафеената киселина и общи процианидини в проучваните екстракти.

Ежедневният прием на вещества с антиоксидантно действие е от изключителна важност за здравето. Необходимият прием на един човек на ден е в границите от 5000 до 15000 mmol TE (Огнянов и съавт. 2014) Зависи от вида на физическата му натовареност, степента на замърсеност на околната среда, в която пребивава и др. Препоръчителният прием на плодове от финикова палма според антиоксидантния потенциал на изследваните партиди е между 70-130 грама, като се препоръчват плодовете да не са сухи, а с месеста консистенция (таблица 2.).



Фиг. 1. Общо съдържание на полифеноли, деривати на кафеената киселина и проантоциани в екстракти получени от плодове на финикова палма

Таблица 2. Антиоксидантна активност на екстракти получени от плодове на финикова палма и препоръчителен дневен прием на човек, осигуряващ необходимото количество антиоксиданти на ден

	<i>Радикалулавяща активност</i>		<i>Метал редуцираща активност</i>	<i>Необходим прием на антиоксиданти за ден на човек</i>
	ABTS метод, m mol TE/100 g плод	IC ₅₀ , mg плод	CUPRAC метод, mmol TE/100 g плод	Стандартен прием е в интервала 5000 – 15000 mmol TE на ден, g плод
1.	1602	209	4330	115
2.	3891	86	8041	62
3.	1906	176	3911	127
4.	3507	65	7367	68

Заклучение.

Плодовете на финиковата палма предлагани в търговската мрежа са оценени като богат източник на фитонутриенти (полифеноли, деривати на кафеената киселина и проантоциани) с висока антиоксидантна активност.

Препоръчителните количества, които могат да осигурят необходимото минимално количество от биологично активни вещества с антиоксидантно действие, възлизат на 70 – 130 грама фурми на ден. Този дневен прием на плодвена финикова палма може да доведе

до намаляване на риск от възникване на хронични заболявания от типа на атеросклероза, диабет и др. като осигурява един нормален здравословен статус.

Литература

1. Огнянов М., Георгиев Й., Днев П., Янакиева И., Крачанова М. 2014 „Биологично активни вещества и здравословни ефекти на шипковите плодове” *Наука Диететика*, 3-4, 14-27
2. Al Farsi, M. A., and Lee, C. Y. 2008 “Nutritional and functional properties of dates: A review” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, pp. 877–887.
3. Al-Shahib, W., and Marshall, R. J. 2003 “The fruit of the date palm: Its possible use as the best food for the future” *International Journal of Food Science and Nutrition*, 54, pp. 247–259.
4. Baliga M. S., B.R.V. Baliga, S.M. Kandathil, H.P. Bhat, P. Vayalil 2011 „A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.)” *Food Research International*, 44, pp. 1812–1822
5. Chaira, N., Smaali, M. I., Martinez-Tomé, M., Mrabet, A., Murcia, M. A., Ferchichi, A. 2009 “Simple phenolic composition, flavonoid contents and antioxidant capacities in water–methanol extracts of Tunisian common date cultivars (*Phoenix dactylifera* L.)” *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, pp. 316–329
6. Habib, H. M., and Ibrahim, W. H. 2009 “Nutritional quality evaluation of eighteen date pit varieties” *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, pp. 99–111.
7. Hong, Y. J., Tomas-Barberan, F. A., Kader, A. A., Mitchell, A. E. 2006 “The flavonoid glycosides and procyanidin composition of Deglet Noor dates (*Phoenix dactylifera*)” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, pp. 2405–2411.
8. Ivanov, I. 2014 „Polyphenols content and antioxidant activities of *Taraxacum officinale* FH Wigg (dandelion) leave” *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4), pp. 889-893
9. Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P. 2005 “Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*)” *Food Chemistry*, 89, pp. 411–420.
10. Saleh E.A., Tawfik M.S., Abu-Tarboush H.M. 2011 „Phenolic contents and antioxidant activity of various date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits from Saudi Arabia” *Food and Nutrition Sciences*, 2, pp. 1134-1141

Иван Иванов
Университет по хранителни технологии
Катедра „Органична химия“,
бул. Марица 26, Пловдив, 4002,
e-mail: ivanov_ivan.1979@yahoo.com

Надежда Петкова,
Университет по хранителни технологии
Катедра „Органична химия“,
бул. Марица 26, Пловдив, 4002,
e-mail: petkovanadejda@abv.bg

Пантелей Днев,
Университет по хранителни технологии
Катедра „Органична химия“,
бул. Марица 26, Пловдив, 4002
e-mail:denev57@abv.bg



ТРАНС МАСТНИ КИСЕЛИНИ, БИОЛОГИЧНОАКТИВНИ И АНТИКАНЦИРОГЕННИ ВЕЩЕСТВА В КРАВЕ ПРЯСНО И КИСЕЛО МЛЯКО

Силвия Иванова, Любомир Ангелов, Цонка Оджакова, Димитър Гаджев

TRANS FATTY ACIDS, BIOLOGICALLY ACTIVE AND ANTICARCINOGENIC SUBSTANCES IN COW'S MILK AND YOGURT

Silviya Ivanova, Ljubomir Angelov, Tzonka Odjakova, Dimitar Gadjev

ABSTRACT: Cow's milk and dairy products are the main sources of natural trans fatty acids (TFA) and biologically active and anticarcinogenic fatty acids, which are major components in human and animal nutrition. The purpose of this study was to determine the content of TFA, biologically active and anticarcinogenic components in cow's milk and yogurt. The content of TFA in the analyses cow's milk varies in bulk tank milk from 1,43 to 4,19 g / 100g fat, conditioned by the biologically active components - trans vaccenic acid, which represent between 44 and 61% of the total amount of TFA. Another important representative of TFA in milk is CLA, which ranging from 0,49 to 0,87 g / 100g fat in cow's milk and from 0,37 to 0,85 g / 100g fat in yogurt. Essential fatty acids in cow's milk omega-3 fatty acids varies from 0,42 to 1,07 g / 100g fat, omega- 6 fatty acids- 2,45 to 5,03 g / 100g fat and their ratio- 3, 66 to 7,21, respectively in yogurt: omega-3 fatty acids - 0,46 to 0,58 g / 100g fat, omega- 6 from 2,04 to 2,91 g / 100g fat and the ratio between them- 3,85 to 6,37.

Key words: cow's milk, yogurt, trans fatty acids, CLA, omega-3, omega-6

Въведение

Естествените източници на транс-изомерите на мастни киселини са млечната мазнина и други животински мазнини, получени при биохидрогенирането в стомаха на преживните животни, но те могат да се получават и при каталитично хидрогениране в промишлени условия. Най-разпространената транс мастна киселина в млякото и млечните продукти е ваксенова киселина(C18:1t11) (Fernandez & Rodriguez, 2012).

Съдържанието на транс мастини киселини в млечните мазнини варира в зависимост от сезона, района на отглеждане и различните хранителни практики за отглеждането на животните. Те варират в диапазона от 2 до 8% (Hay et al., 1970, Larque et al., 2001, Mozaffarian et al., 2006)

Florence et al., (2012), в изследванията си при производството на пробиотични млечни продукти от конвенционално и органично краве мляко установяват, че биологичното мляко има по-висока кинетика на подквасване, по-добро култивиране на *Lactobacillus Bulgaricus*. Мастнокиселинния състав на органичните ферментирани млека имат по-висока концентрация на транс октадекановата

киселина с 1,6 пъти (C18:1) и полиненаситени мастни киселини в това число CLA-1,4 пъти и ALA-1,6 пъти в сравнение с конвенционалното кисело мляко. Високото съдържание на trans-C18:1, CLA и ALA в органичните ферментирани млека и ниското съдържание на SFA се смятат за препоръчителни за здравословното хранене.

Краве мляко, получено при изхранването на животните с царевичен силаж над 60% от дажбата, продуцира ниско съдържание на транс ваксеновата киселина от 1.1 до 2.2% и на CLA от 0.4 до 0.6%. Преминаването на кравите от зимно оборно хранене към консумация на тревна смеска води до увеличаване на концентрацията на CLA от 0,5 до 1,7%. Съдържанието на CLA се увеличава при свободно пасищно отглеждане и при използването на различни добавки от растителни масла (Chilliard and Ferlay, 2004). Транс мастните киселини в кравето мляко варират между 3,2 и 6,2% (Aro et al., 1998). Естествено срещаните транс мазнини, включително транс ваксенова киселина (TVA), получена от конюгиран изомер на линоловата киселина (18:2 cis-9,trans-11) и CLA, имат благоприятен ефект върху човешкото здраве. През последните години нараства интереса на потребителите

към хранителните и здравословни качества на хранителните продукти и влиянието им върху здравето на човека. Благоприятният ефект на биологично активни компоненти, които се съдържат в млякото и неговите продукти върху здравословното състояние е добре документирано (Myers, 2007).

Целта на настоящото проучване е да се установи съдържанието на транс мастни киселини, биологичноактивните и антиканцерогенни компоненти в краве мляко и кисело мляко произведено от него.

Материал и методи

Изследвани са сборни крави млека от Българско родопско говедо и произведеното от него кисело мляко за мастнокиселинен състав, за установяване на съдържанието на транс мастни киселини, биологично активни и антиканцерогенни субстанции в мастната фракция. Екстракцията на общи липиди е извършена по метода на Roese- Gottlieb, посредством диетилов и петролеев етер и последващо метилиране с помощта на натриев метилат (CH₃ONa, Merck, Darmstadt) и сушене с NaHSO₄.H₂O. Метилите естери на мастните киселини /FAME/ са анализирани с помощта на газов хроматограф Shimadzu-2010 (Kioto, Japan) снабден с пламъчно-йонизационен детектор и автоматична инжекционна система (AOC-2010i). Анализът е извършен на капилярна колона CP 7420 (100m x 0.25mm i.d., 0.2µm film, Varian Inc., Palo Alto, CA). За носещ газ е използван водород, а като make-up газ - азот. Програмиран е режим на печта на четири стъпки - началната температура на колоната - 80°C/ min, която се поддържа за 15 min, след което нараства с по 12°C/ min до 170°C и се поддържа за 20 min, следва ново повишаване с 4°C/min до 186°C за 19 min и до 220°C с по 4°C/min до приключване на процеса.

Данните са обработени по методите на вариационната статистика посредством статистическия пакет на компютърната програма EXCEL 2010. Достоверността на разликите между изследваните млека е установена чрез t-теста на Стюдент.

Резултати и обсъждане

Изследваните крави млека през периода на свободно пасищно отглеждане дават информация за синтезата на биологично активни компоненти. Общото съдържание на транс мастни киселини за изследвания период е

3,05 g/100g мазнина. Варирането на съдържанието им е в широк диапазон от 1,43 до 4,19 g/100g мазнина. Идентични резултати за краве мляко са получени при преминаването от оборно към пасищно отглеждане от 1,71 до 3,97 g/100g мазнина при Българско родопско говедо в предходни изследвания върху мастнокиселинния състав (Иванова и кол., 2012). Основен представител на транс мастните киселини е ваксеновата киселина, която има и биологично активна роля при храненето на човека. Нейното съдържание варира от 1,20 до 2,13 g/100g мазнина и представлява между 44 и 61 % от общото съдържание на транс мастни киселини в изследваните млека. Олеиновата киселина варира от 14,83 до 20,36 g/100g мазнина в зависимост от хранителния режим. Средното й количество за разглеждания период при прехода от оборно към пасищно хранене е 18,26 g/100g мазнина. Спрегната линолова киселина варира между 0,49 и 0,87 g/100g мазнина, което се определя от хранителния ресурс. Средното съдържание на CLA е 0,61 g/100g мазнина през дойния период (Таблица 1).

Таблица 1. Транс мастни и биологично активни мастни киселини (g/100g мазнина) в краве мляко

FA	X	SD	min	max
C-18:1c9	18,26	2,95	14,83	20,36
C-18:1t4	0,02	0,01	0,01	0,08
C-18:1t5/6/7	0,31	0,08	0,25	0,43
C-18:1t9	0,26	0,12	0,15	0,50
C-18:1t10	0,37	0,08	0,22	0,52
C-18:1t11	1,39	0,69	1,20	2,13
C-18:1t15	0,46	0,14	0,29	0,73
C-18:1t16	0,24	0,11	0,22	0,37
ΣC-18:1TFA	3,05	0,81	1,43	4,19
ΣCLA	0,66	0,13	0,50	1,02
CLA	0,61	0,10	0,49	0,87
Σn-3	0,52	0,16	0,42	1,07
Σ n-6	2,97	0,64	3,00	5,03
Σn-6/Σn-3	5,87	1,24	4,10	7,29

Количеството на биологично активните мастни киселини – омега-3 и омега-6 в анализираниите крави млека да ва основание да смятаме, че имаме ниско съдържание на омега-3 мастни киселини, което варира от 0,42 до 1,07 g/100g мазнина и общо съдържание за периода от 0,52 g/100g мазнина. Съотношението между двете групи мастни киселини е от порядъка на 4,10 до 7,29.

Произведеното кисело мляко запазва общото съдържание на транс мастни киселини след технологичната обработка и варират от 2,06 до 3,81. Количеството на транс ваксеновата киселина намалява в произведените кисели млека и тя варира от 0,83 до 2,19 g/100g мазнина, което представлява между 40 и 60% от общото съдържание на транс мастни киселини в киселото мляко. Олеиновата киселина е със средно съдържание в киселите млека 20,82 g/100g мазнина. Спрегната линолова киселина варира между 0,37 и 0,75 g/100g мазнина в киселото мляко, а средното ѝ съдържание е 0,63 g/100g мазнина през дойния период (Таблица 2).

Таблица 2. Транс мастни и биологично активни мастни киселини (g/100g мазнина) в краве кисело мляко

FA	X	SD	min	max
C-18:1c9	20,82	1,22	18,82	22,52
C-18:1t4	0,00	0,00	0,00	0,00
C-18:1t5/6/7	0,02	0,01	0,01	0,03
C-18:1t9	0,26	0,06	0,16	0,34
C-18:1t10	0,21	0,05	0,16	0,31
C-18:1t11	1,59	0,43	0,83	2,19
C-18:1t15	0,58	0,11	0,47	0,73
C-18:1t16	0,22	0,11	0,05	0,33
ΣC-18:1TFA	3,18	0,63	2,06	3,81
ΣCLA	0,68	0,16	0,37	0,85
CLA	0,63	0,13	0,36	0,75
Σn-3	0,52	0,05	0,46	0,58
Σ n-6	2,66	0,35	2,04	2,91
Σn-6/Σn-3	5,15	1,00	3,85	6,37

Количеството на биологично активните мастни киселини – омега-3 и омега-6 в анализирания краве кисели млека намалява след технологичната обработка и е в диапазона от 0,46 до 0,58 за омега-3 мастните киселини и от 2,04 до 2,91 за омега-6 мастните киселини. Съотношението между двете групи мастни киселини също намалява от 3,85 до 6,37.

Измененията при производството на кисело мляко от сборно краве мляко при групите мастни киселини не са статистически достоверни. Достоверно намаляват отделните транс мастни киселини ($P \leq 0,001$), с изключение на C-18:1t15, която нараства и олеиновата киселина (C-18:1c9) с висока достоверност $P \leq 0,001$.

Заклучение

Съдържанието на транс мастни киселини, биологичноактивни (омега-3 и омега-6 маст-

ни киселини) и антиканцерогенни вещества (CLA) при производството на краве кисело мляко намалява.

Литература

1. Иванова, С., Т. Оджаква, Д. Гаджев, Л. Ангелов, 2012. Мастнокиселинен състав на краве мляко от породата Българско Родопско говедо, при прехода от оборно към пасищно-оборно отглеждане. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 15, 5:1012-1023
2. Aro, A., J.M. Antoine, L. Pizzoferrato, O. Reykdal, G. van Poppel, 1998. Trans Fatty Acids in Dairy and Meat Products from 14 European Countries: The TRANSFAIR Study, *Journal of Food Composition and Analysis*, 11, 2: 150-160
3. Chilliard, Y., A. Ferlay, J. Looor, J. Rouel, B. Martin, 2002. Trans and conjugated fatty acids in milk from cows and goats consuming pasture or receiving vegetable oils or seeds. *Italian Journal of Animal Science*, 1: 243-254
4. Fernandez, R.A.I., A. G. Rodriguez, 2012. Effect of Dietary and Animal Factors on Milk Fatty Acids Composition of Grazing Dairy Cows: A Review. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 2, 2: 97-109
5. Florence, A.C.R., C. Beal, R. C. Silva, C. S.B. Bogsan, A. L. O.S. Pilleggi, L. A. Gioielli, M. N. Oliveira, 2012. Fatty acid profile, trans-octadecenoic, a-linolenic and conjugated linoleic acid contents differing in certified organic and conventional probiotic fermented milks. *Food Chemistry*, 135: 2207–2214
6. Hay, HD, WR. Morrison, 1970. Isomeric monoenoic fatty acids in bovine milk fat. *Biochim Biophys Acta*, 202: 237–43
7. Larque, E., S. Zamora, A. Gil, 2001. Dietary trans fatty acids in early life: a review. *Early Human Development*, 65 : S31–S41
8. Mozaffarian, D., M. B. Katan, A. Ascherio, M. Stampfer, W. Willett, 2006. Trans Fatty Acids and Cardiovascular Disease. *The New England Journal of Medicine*, 354 :1603-1613
9. Myers, D., 2007. Probiotics. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 16, 195–197

Гл. ас. д-р. Силвия Иванова
Проф. дбн Любомир Ангелов
Институт по криобиология и хранителни технологии
София 1407, бул. „Черни връх“ 53

Доц. д-р. Цонка Оджаква
Гл. ас. д-р. Димитър Гаджев
Опитна станция по животновъдство и земеделие
Смолян 4700, „Невестата“ 35
e-mail: sylvia_iv@abv.bg



БИОЛОГИЧНОАКТИВНИ ВЕЩЕСТВА В КРАВЕ МЛЯКО И КАШКАВАЛ

Силвия Иванова, Любомир Ангелов

BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN COW'S MILK AND YELLOW CHEESE

Silviya Ivanova, Ljubomir Angelov

ABSTRACT: Cow's milk and dairy products are the main sources of CLA. Essential fatty acids from groups of ω -3 and ω -6 are a vital component of nutrition for humans and animals. The objective of this study is to identify biologically active and anticancer components in cow's milk and changes in the production of yellow cheese. Saturated fatty acids in yellow cheese production increased due to oxidation processes of technological nature, at the expense of polyunsaturated fatty acids. The CLA content in cow's milk varies and at the end of the period decreased during the lactation similarly establishes variation in yellow cheese, but due the process of evaporating it decreased between 2 and 5 times from yellow cheese to cow's milk. Essential fatty acids also reduce the impact of technological processing.

Key words: cow's milk, yellow cheese, CLA, omega-3, omega-6

Въведение

Млякото е пълноценен и лесноусвоим хранителен продукт, който съдържа вода, белтъчни вещества, мазнини, млечна захар, минерални соли, ензими, витамини, хормони, имунни тела и др. Концентрацията на CLA в кравето мляко нараства чрез промяна в храненето, в частност използването на добавка от полиненаситени мастни киселини (Chilliard et.al, 2000). Причината за нарастване количеството на спрегнатата линолова киселина при пасищно отглеждане на преживните животни все още не е добре проучена. Въпреки това се смята, че пасищата съдържат високо ниво на ПНМК/ PUFA, (полиненаситени мастни киселини) които са източник на CLA и ваксенова киселина. Суплементирането на млечните крави с концентрати при пасищно отглеждане, определя качеството и количеството на млякото. Храненето на паша при изключване на общата смесена дажба (концентратна смеска) води до нарастване нивото на CLA в млечната мазнина (Kelly et al, 1998, Rego et al, 2004). Съдържанието на биологично активни компоненти в млечните продукти зависи от наличието им в суровото мляко и технологичния производствен процес. Краве мляко получено при изхранването на животните с царевичен силаж над 60% от дажбата, продуцира ниско съдържание на транс ваксеновата

киселина от 1.1 до 2.2% и на CLA от 0.4 до 0.6%. Преминаването на кравите от зимно оборно хранене към консумация на тревна смеска води до увеличаване на концентрацията на CLA от 0,5 до 1,7%. Съдържанието на CLA се увеличава при свободно пасищно отглеждане и при използването на различни добавки от растителни масла (Chilliard and Ferlay, 2004). Млякото от крави, хранени със свеж фураж, особено богати на различни видове пасища или фуражни бобови култури е с по висок коефициент на ненаситени спрямо наситени мастни киселини и високо съдържание на важните за храненето транс мастни киселини (CLA и ваксенова киселина) в сравнение с крави хранени с силаж или сено.

Млечните мазнини от крави, хранени с трева или бобови силажи имат по-благоприятен хранителен състав в сравнение с крави хранени с царевичен силаж. Недостатък на първата млечна мазнина е по-лесното окисление. Съставът на млечните мазнини е резултат от сложни взаимодействия на различните видове фуражи, животински фактори и фактори на околната среда, като типа на фуража е само един от елементите влияещи върху качеството на млечните мазнини (Kalač and Samkova, 2010).

Есенциалните мастни киселини от групите ω - 3 и ω - 6 са жизнено важна компонента на храненето при човека и животните. Устано-

вен е значителен дисбаланс между двете групи мастни киселини, при който нивото на ω -3 киселините е много ниско. Линоловата и линоленовата киселина са важни за човека, но не се синтезират в неговия организъм (есенциални мастни киселини). Балансираният прием на ω -6 и ω -3 мастни киселини, може да бъде осъществен само, чрез предварителен подбор на храните и контрол върху състава на постъпващите есенциални мастни киселини в организма (Larsson et al., 2004). Главните функции на ω -3 и ω -6 мастните киселини са свързани с натрупване на енергия в клетката, поддържане на телесната температура, предпазване на кожата от изсушаване, възпроизводство на определени хормони, необходими за клетките, за клетъчната биохимия и за метаболизма на енергията, поддържат сърдечно-съдовата и имунната системи (Buckley et al., 2005, Conog, 2000).

Приемът на хранителни продукти с високо съдържание на наситени мастни киселини води до сърдечно-съдови заболявания, които са основна причина за смъртността в Европа, поради което интерес за науката представляват ненаситените мастни киселини и балансът в храненето между омега-3 мастните киселини с основен представител α -линоленовата киселина и омега-6 мастните киселини с основен представител линоловата киселина (C18:2). Високото съотношение между двете групи мастни киселини е предпоставка за коронарна болест на сърцето и образуване на кръвни съсиреци, водещи до инфаркт, затова е препоръчително съотношението да не надвишава четири единици (Enser et al., 1998, Rajor et al., 2009, Williams, 2000, Wood et al., 2003).

Целта на настоящото проучване е да се установят биологичноактивните и антиканцерогенни компоненти в краве мляко и промените при производството на кашкавал.

Материал и методи

Изследвани са сборни крави млека и получените от тях кашкавали за мастнокиселинен състав на млечната мазнина през периода април-юни. Произведени са кашкавали по БДС 14:2010. Екстракцията на общи липиди е извършена по метода на Roese-Gottlieb, посредством диетилов и петролеев етер и последващо метилиране с помощта на натриев метилат (CH_3ONa , Merck, Darmstadt) и сушене с $\text{NaHSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Метилите естери на мастните

киселини /FAME/ са анализирани с помощта на газов хроматограф Shimadzu-2010 (Kioto, Japan) снабден с пламъчно-йонизационен детектор и автоматична инжекционна система (АОС-2010i). Анализът е извършен на капилярна колона CP 7420 (100m x 0.25mm i.d., 0.2 μm film, Varian Inc., Palo Alto, CA). За носещ газ е използван водород, а като make-up газ - азот. Програмиран е режим на пещта на четири стъпки - началната температура на колоната - 80°C/min, която се поддържа за 15 min, след което нараства с по 12°C/min до 170°C и се поддържа за 20 min, следва ново повишаване с 4°C/min до 186°C за 19 min и до 220°C с по 4°C/min до приключване на процеса.

Данните са обработени по методите на вариационната статистика посредством статистическия пакет на компютърната програма EXCEL 2010. Достоверността на разликите между изследваните групи е установена чрез t-теста на Стюdent.

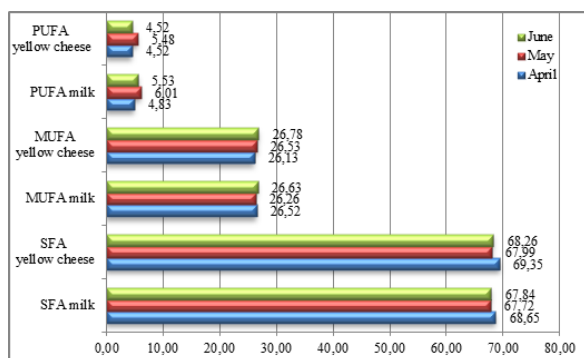
Резултати и обсъждане

Изследваните сборни крави млека през изследвания период от април до юни се характеризират с незначително понижаване на съдържанието на наситените мастни киселини от 68,65 до 67,84 g/100g мазнина. Мононенаситените мастни киселини са сравнително стабилни - от 22,52 до 26,73, докато при полиненаситените мастни киселини се наблюдава вариране с тенденция към нарастване през май до 6,01 g/100g мазнина и отново понижаване през юни до 5,53 g/100g мазнина. При произведените кашкавали наситените мастни киселини нарастват в сравнение с изходното мляко, като е установена достоверност на нарастване през първия период (април $P < 0,01$) при отделните партии кашкавал през месец април и май и април и юни ($P < 0,01$, Фигура 1).

Транс мастните киселини в кравето мляко са най-ниска концентрация през април и с най-ниска през май, аналогични са резултатите за произведения кашкавал от сборните крави млека. Статистически достоверни са измененията при транс мастните киселини киселини през април/май- $P < 0,01$ при млякото и през април/май- $P < 0,001$, април/юни- $P < 0,001$ и май/юни- $P < 0,05$ при кашкавала.

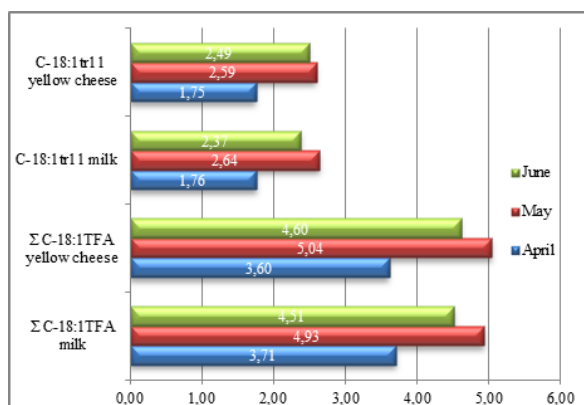
От транс мастните киселини най-важна от биологична гледна точка е транс ваксеновата киселина, която през разглеждания период се

акумулира ($P < 0,001$) и бележи максимална стойност през месец май- 2,64 g/100g мазнина (фиг. 2).



Фиг. 1. Групи мастни киселини в краве мляко и кашкавал, g/100g мазнина

Изследваните кашкавали се характеризират със същата крива на изменение, но с висока достоверност на резултатите между партите от април/май и април/ юни- $P < 0,001$.

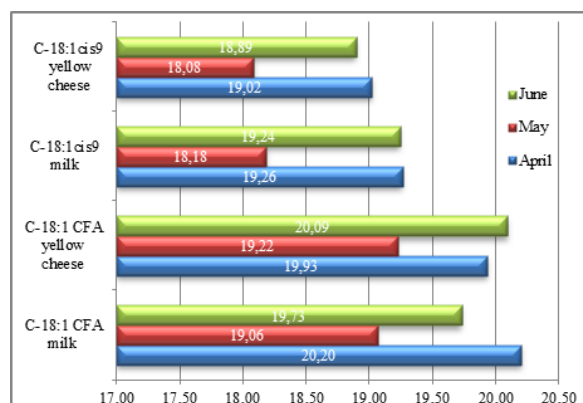


Фиг. 2. Транс мастни киселини в краве мляко и кашкавал, g/100g мазнина

Цис изомерите на олеиновата киселина в кравето мляко са с най-висока концентрация през април месец, понижават се през май, когато се променя храненето на животните от оборна към пасищно и отново нараства през юни. Производството на кашкавал намаляват незначително тяхното количество. Олеиновата киселина (18:1cis9) се синтезира в кравето мляко в най-ниски количества през май- 18,18 g/100g мазнина и се запазва след технологична обработка до кашкавал- 18,08 g/100g мазнина (Фиг. 3).

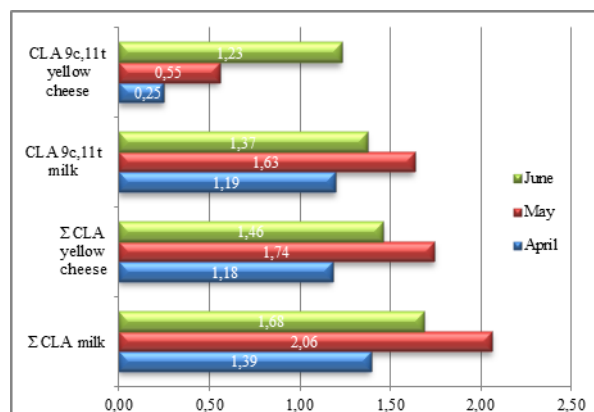
Общото съдържание на спрегнатата линолова киселина в анализираното краве мляко е най-ниско през месец април- 1,39 g/100g мазнина, породено от типа на хранене нараства през май и юни. Измененията през отделните месеци са статистически достоверни, както

следва: април/ май- $P < 0,01$ и май/ юни- $P < 0,05$.



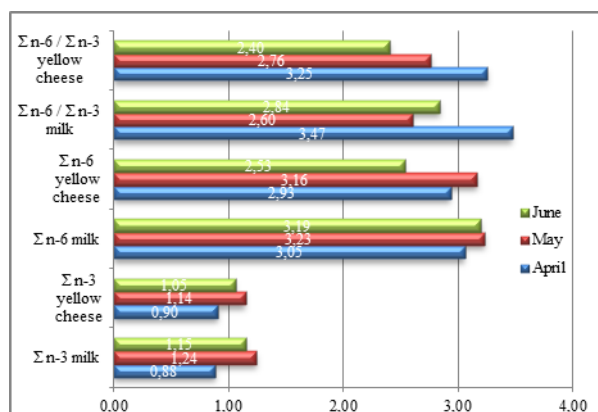
Фиг. 3. Цис мастни киселини в краве мляко и кашкавал, g/100g мазнина

При кашкавалите общото съдържание на CLA намалява аналогично като следва кривата на лактация и достоверни разлики са установени при резултатите получени през април/ май- $P < 0,01$, април/ юни- $P < 0,05$ и май/ юни- $P < 0,001$. Измененията при технологичната обработка на кравето мляко до кашкавал водят до загуба на общото съдържание на CLA в крайния продукт, породени от процесите на изпарване, които предизвикват деструкция на ненаситените мастни киселини и превръщането им в наситени. Спрегнатата линолова киселина в млякото варира от 1,19 до 1,63 g/100g мазнина. Измененията в хода на лактацията са достоверни между април и май- $P < 0,01$, докато при кашкавалите е установена през април/ юни- $P < 0,01$ и май/ юни- $P < 0,001$. Производството на кашкавал води до значителни загуби в концентрацията на CLA от 2 до 5 пъти. Установена е висока статистическа достоверност в резултат на производствения процес- $P < 0,001$.



Фиг. 4. Съдържание на CLA в краве мляко и кашкавал, g/100g мазнина

Количеството на омега-3 мастните киселини в кравето мляко е най-високо през месец май- 1,24 g/100g мазнина, а при производството на кашкавал, те намаляват недостоверно при партидите от април и юни и с достоверност $P < 0,01$ през май. Омега-6 мастните киселини в млякото са с най-висока концентрация през май, като се запазва тенденцията и при кашкавалите, но с значително по-ниски количества в тях спрямо млякото (фиг. 5).



Фиг. 5. Съдържание на биологично активни мастни киселини в краве мляко и кашкавал, g/100g мазнина

Съотношението между двете групи биологично активни мастни киселини в млякото варира от 2,60 до 3,47 в млякото и намалява 3,25 до 2,40 при произведения кашкавал.

Заклучение

Направеното проучване ни дава основание да заключим, че наситените мастни киселини при производството на кашкавал нарастват, поради окислителни процеси от технологичен характер, за сметка на полиненаситените мастни киселини.

Съдържанието на CLA в кравето мляко варира и в края на изследвания период намалява в хода на лактацията, аналогично се установява изменението при кашкавалите, но поради процеса на изпарване тя намалява между 2 и 5 пъти в кашкавала спрямо кравето мляко. Есенциалните мастни киселини намаляват също в резултат на технологичаната обработка.

Литература

1. Buckley, J., S. Burgess, K. Murphy, P. Howe, 2005. Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids on cardiovascular risk, exercise performance and

recovery in Australian Football League (AFL) players. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 14, 1: S57

2. Chilliard, Y., A. Ferlay, R. Mansbridge, M. Doreau, 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated polyunsaturated trans and conjugated fatty acids, *Annales de Zootechnie*, 49:181-205

3. Chilliard, Y., A. Ferlay, 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reproduction Nutrition Development*, EDP Sciences, 44, 5:467-492.

4. Conor, W., 2000. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *American journal of clinical nutrition*, 71:171S-175S

5. Enser, M., K. Hallet, K. Hewett, G. Fursey, J. Wood, G. Harrington. Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition. *Meat Science*, 49: 329-341

6. Kalač, P., E. Samkova, 2010. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. *Czech J. Anim. Sci.*, 55, 12: 521-537

7. Kelly, M., E. Kolver, D Bauman, M. Van Amburgh, L. Muller, 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *Journal of dairy science*, 81:1630-1636

8. Larsson, S., M. Kumlin, M. Ingelman-Sundberg, A. Wolk, 2004. Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms 1-3. *American journal of clinical nutrition*, 79: 935-945

9. Pajor, F., O. Galló, O. Steiber, J. Tasi, P. Póti, 2009. The effect of grazing on the composition of conjugated linoleic acid isomers and other fatty acids of milk and cheese in goats. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 18: 429-439

10. Rego, O., P. Portugal, M. Sousa, H. Rosa, C. Vouzela, A. Borba, R. Bessa, 2004. Effect of diet on the fatty acid pattern of milk from dairy cows. *Animal Research*, 53:231-220

11. Williams, C.M., 2000. Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.*, 49: 165-180

12. Wood, J.D., R.I. Richardson, G.R. Nute, A.V. Fisher, M.M. Campo, E. Kasapidou, P.R. Sheard, M. Enser, 2003. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66: 21-32

Гл. ас. д-р. Силвия Иванова
Проф. дбн Любомир Ангелов
Институт по криобиология и хранителни технологии
София 1407, бул. „Черни връх“ 53
e-mail: sylvia_iv@abv.bg



ОЦЕНКА НА КОМПЮТЪРЕН ПОДХОД ЗА ИДЕНТИФИЦИРАНЕ НА ЕСТРОГЕННО АКТИВНИ ЛИГАНДИ ОТ ХИМИЧНИ БАЗИ ДАННИ

Милен Тодоров

EVALUATION OF IN SILICO APPROACH FOR IDENTIFICATION OF ESTROGEN RECEPTOR LIGANDS FROM CHEMICAL INVENTORIES

Milen Todorov

ABSTRACT: A large number of environmental chemicals, known as endocrine-disrupting chemicals, are suspected of disrupting endocrine functions by mimicking or antagonizing natural hormones, and such chemicals may pose a serious threat to the health of humans and wildlife. From practical point of view it is impossible to perform thorough toxicological tests on all potential xenoestrogens, and thus, alternative approaches should be considered for the estimation of a compound's estrogenic activity. In this respect the task could be accomplished by application of in silico methods such quantitative structure–activity relationships (QSARs). In the present study the estrogenic effect of the high production volume HPV OECD chemicals (4843) have been computationally evaluated by profiling scheme incorporated in non-commercial computer program. It was found that less than 5% of the organic compounds could possess estrogenic effect.

Key words: estrogen binding, QSAR, *in vitro*, OECD, computational tools

Introduction

The endocrine disrupting chemicals (EDCs) have the ability to disrupt the endocrine system by mimicking or inhibiting the endogenous hormones such as estrogens and androgens. In this respect they have a potential to affect development and/or reproductive function in wildlife, experimental animals, and humans [1].

Among the chemicals capable of causing endocrine disruption, environmental estrogens, which are derived from a variety of sources such as pesticides, plastics, combustion byproducts, and plants, that is, phytoestrogens and agricultural products should be all considered. From technical point of view a larger part of them could be identified by experimental tests however, such tests are laborious, time-consuming, and expensive. Thus, it is practically impossible to carry out thorough toxicological tests for all chemicals which are of toxicological concern.

The challenge of evaluating a large number of potential EDCs can be handled at least to a certain degree by the ability to construct models based on quantitative structure–activity relationships (QSARs). Such models have great potential for use in the identification and classification of large number of estrogenic compounds. At the very least, these models could be employed to

establish a prioritization procedure for subsequent *in vitro/in vivo* testing.

Recent findings have proven QSAR's valuable assistance in predicting the estrogenic activity of organic molecules. Models based on different computational methods [2] provide different perspectives on the interactions between the estrogen receptor and its ligands. However, despite the success of QSAR techniques, their limitations must be identified for the regulatory communities to accept them.

In toxicological context, (Q)SAR models represent an effective way of predicting toxicity as a function of molecular structure and they can be used as a computational approach for data-gap filling within the framework of variety national or international research. In this context, a module called “profiler” for identification of estrogen receptor (ER) binders contained within the freely available Organisation for Economic Development (Q)SAR Toolbox (OECD QSAR Toolbox) [3] offers a fast and efficient way for categorizing chemicals on the basis of their ER binding potential.

The aim of the present work is to evaluate the performance of the ER binding profiling scheme implemented within the QSAR Toolbox applied for screening of OECD HPV inventory as integrated database in the system. The results pre-

sented in this article are meant to help a potential user in assessing the uncertainty, which is related to a categorization scheme derived according to the set of rules encoded in the profiler.

Materials and Methods

OECD HPV database

The database has been compiled based upon submissions from member countries including the European Union's high production volume (HPV) chemical list according to EC Regulation 793/93 [4]. This database include all chemicals reported to be produced or imported at levels greater than 1000 tons per year in at least one Member country or in the EU region. The total number of the chemicals is 4843. One of the strategic goals related to this collection is constant addition of toxicological data for each chemical which will allow ultimate evaluation of the whole toxicological profile of the chemicals in the list.

OECD QSAR Tollbox

This is a software tool especially designated for chemical risk assessment [3]. A key part of the system is so called categorization of chemicals. The categorization allows grouping of chemical substances into chemical categories. The chemical category is such a group of substances possessing similar physicochemical, toxicological and ecotoxicological properties or their fate in environmental and occupational surrounding or they behave using the common pattern as a result of chemical similarity.

An important advantage of the system is the large number of built-in profilers for different biological/toxic endpoints. Each profile consist a set of rules related to specific or general criteria associated to the respective endpoint. Another advantage of the system is the opportunity to investigate a chemical with account to its metabolic fate. It is well known that the chemical in its parent form may not exert toxic effect however after metabolism a reactive metabolite can be produced which may damage biological macromolecules. This became extremely important in assessment of mutagenic potential of various types of chemicals.

In the following two sections details will be given for current version of the ER binding profiler and *in vitro* metabolic simulator incorporated in version 3.3 of the Toolbox.

Estrogen binding profile

The ER binding profiler requires only chemical structure information describing the two-dimensional (2D) structure of molecules (for instance coded in SMILES format or directly drawn by the user) as an input. According to the classification scheme, cyclic chemical structures weighting less than 500 Daltons (Da) and bearing an OH and/or an NH₂ group are considered as binders. On the other hand, a chemical is considered as a non-binder if it does not satisfy these rules or if its OH or NH₂ groups are impaired by ortho di-substitutions. This set of criteria was derived on the basis of the findings reported in the scientific literature [5]. Details for each category are given in Table 1.

Table 1. ER binding profiler incorporated in the (Q)SAR Toolbox.

Categories of ER binders	Predictive rule
Very strong binders	200<MW≤500 Daltons (Da) in combination with two non-impaired OH groups attached to two different five or six carbon-atom rings.
Strong binders	Chemicals with at least one 5-or 6-members carbon ring with an unhindered hydroxyl or amino group and 200<MW≤500 Daltons (Da)
Moderate binders	Chemicals with a single five or six-member carbon ring structure with an unhindered hydroxyl-group (-OH) or amino-group (-NH ₂) (one in the para- or meta-position on the ring)
Weak binders	Chemicals with at least one 5-or 6-members carbon ring with an unhindered hydroxy or amino group and MW < 170 Da
Non binders	<ul style="list-style-type: none"> • impaired OH or NH₂ group • no presence of OH or NH₂ group • non-cyclic structure • exceeded upper limit related to molecular weight (MW > 500)

Metabolism simulation

The current *in vitro* rat liver metabolic simulator represents electronically designed set of 509 structurally generalized, hierarchically arranged biotransformation reactions, which are characteristic for the metabolism for *in vitro* experimental systems such as rodent (mostly rat) liver microsomes and S9 fraction. A training set of

647 xenobiotic chemicals of a wide structural diversity, with experimentally observed metabolic reactions and pathways has been built, using published data on their metabolism in rodent liver microsomes and S9 fraction. On the whole, the simulator contains 450 – 470 enzymatic phase I transformations, such as aliphatic C-oxidation, aromatic C-hydroxylation, oxidative N- and O-dealkylation, epoxidation, ester and amide hydrolysis, carbonyl group reduction, nitro and azo group reduction, N-hydroxylation, etc. Additionally, 15 – 20 enzymatic phase II transformations, such as glucuronidation, sulfation, glutathione conjugation, N-acetylation, etc. are included with significantly lower priority than phase I ones. The principal applicability of this simulator is associated with the reproduction as well as the prediction of the metabolic activation reactions and pathways of xenobiotic chemicals, which may elicit diverse array of *in vitro* biological effects.

Results and Discussion

The OECD high production volume (HPV) database was initially investigated in terms of available estrogen binding data. This analysis was performed by retrieving experimental data from a large collection of chemicals with measured estrogen binding affinity incorporated in the Toolbox. It was found that there is information for 116 out of all 4843 (less than 2.5 %) chemicals. In order to assess the performance of the ER profiler it was applied initially for profiling those chemicals with experimental data. The predictions results were analyzed to determine sensitivity and specificity. Sensitivity represents correct predictions for ER binders, whereas specificity reflects correct predictions for non binders. The results are summarized in Table 1.

Table 1. Prediction results for 116 chemicals with available experimental data for relative binding affinity.

ER binding effect	Number of chemicals	Predicted ER binding effect
Positive (RBA*>0)	30	67% Sensitivity
Negative (RBA=0)	86	75% (Specificity)

*RBA – Relative binding affinity

As it can be seen the ER profiler performs well, in terms of both sensitivity and specificity. The obtained results could be interpreted also as an external validation of the profiler and in this respect as additional measure for its reliability. As further step the profiler was applied for predictions of the rest of 4727 OECD HPV chemicals without experimental estrogen binding data.

It should be pointed out that the profiler could be applied for predictions of organic chemicals only. In this respect it was found that 916 chemicals out of the 4727 are inorganics or structures with unknown or variable composition. Thus, the predictions have been generated for a total of 3811 discrete organic compounds. The obtained results are presented in Table 2.

A total number of 173 chemicals are found to be able to bind the estrogen receptor. In addition the ER profiler provides details concerning the binding potency. This information could be successfully used in prioritization of the potential ER binders prior to experimental testing of the selected chemicals.

Table 2. Prediction results for OECD HPV chemicals without experimental data for ER relative binding affinity.

OECD HPV chemicals ER binding data	Predicted ER binding effect	
	Positive	Negative
3811	173	3638

The distribution of the potential ER binders across predefined activity ranges is presented in Table 3.

Table 3. Predictions for ER binding for OECD HPV chemicals segmented by ER binding categories.

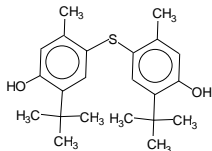
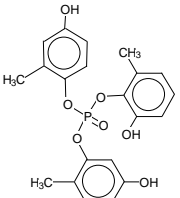
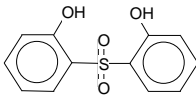
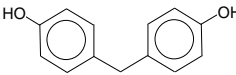
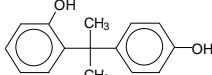
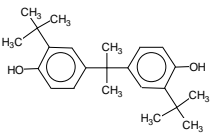
ER binding category	Number of chemicals
Very strong	6
Strong	64
Moderate	20
Weak	83

As it can be seen six chemicals only were predicted to be very strong ER binders. This limited number could be explained by the fact that the ligands which are able to bind the ER should correspond to very specific structural requirements. For example what is known for endogenous ligand *estradiol* is that a specific distance between OH groups at A and D rings in the ste-

roidal skeleton plays an important role for the binding [6]. In this respect additional structural analysis of the selected chemicals could be valuable before final decision which of all chemicals should be experimentally tested.

The structures for all potential very strong binders are presented in Table 4.

Table 4. Chemical structures with predicted very strong ER binding effect.

#	CAS	Name	Structure
1	96-69-5	4,4'-thiobis(6- <i>t</i> -butyl- <i>m</i> -cresol)	
2	1330-78-5	Tricresyl phosphate	
3	25641-61-6	2,2'-sulfonyldiphenol	
4	1333-16-0	Methylenediphenol	
5	837-08-1	2-[2-(4-hydroxyphenyl)propan-2-yl]phenol	
6	79-96-9	4,4'-isopropylidenebis(6- <i>t</i> -butylphenol)	

As it can be seen all potential binders contains two hydroxyl groups in their structures. However, the simple presence of these groups should not always mean ability for ER binding effect. Thus it is of equal importance to analyze the exact distance between them and also to take into account the presence of substituents at ortho or meta positions. Unfortunately, the distance cannot be evaluated in the Toolbox due to the fact that there is no such functionality in the current version of the program. Hence, such analysis could be performed by using other software tool which is an activity scheduled as further step of this study. On the other hand one could analyze

the substituents close to both hydroxyl groups. Based on this criterion it is expected that those structures which contain not crowded OH groups should poses binding affinity to the ER. In this respect chemicals #2, 4 and 5 (Table 4) could be highlighted as most probable targets for next step - *in vitro* test for ultimate decision concerning the binding potential of these chemicals.

While the presence of specific structural features could explain the ER binding effect one should take into account the cases when there is "nothing suspicious" in the parent molecules. Due to the fact that the *in vitro* test for ER binding does not require metabolic activation of the tested compounds many chemicals could be missed as potential binders. For example the prediction results obtained for 4- Methoxybiphenyl (CAS 613-37-6) [7] is a clear case which represents the importance of the metabolic activation. It is known that the 4- Methoxybiphenyl is not an ER binder as parent structure [8]. However, one of the simulated metabolites, which is also experimentally observed *in vitro* [9], is 4-hydroxybiphenyl (CAS 92-69-3). This metabolite is produced as a result of *O-oxidative dealkylation*, a reaction predominantly involved in the activation of chemicals for eliciting ER binding activity. Ultimately, the prediction for ER binding effect is correct, clearly explained by required metabolic activation.

As a result of combined application of the ER profile and the metabolism simulator a total of 213 chemicals were predicted as ER binders. It should be also specified that all of these chemicals were predicted as non binders as parents structures in the preceding analysis. The distribution in terms of binding affinity classes is presented in Table 5.

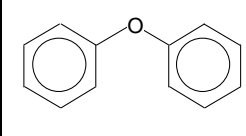
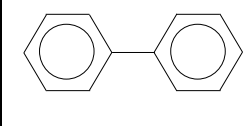
Table 5. Predictions for ER binding affinityfor OECD HPV chemicals with account for metabolic activation.

ER binding category	Number of chemicals
Very strong	16
Strong	101
Moderate	27
Weak	69

As it can be seen, due to the structural specificity related to the highest potent ER binders 16 chemicals only were predicted to possess *very strong* binding effect. Taking in mind that the prediction is based on simulated metabolite(s)

additional consideration of their reliability should be addressed. One of the advantages of the Toolbox is the possibility of investigation of large metabolism database incorporated in the system which is suitable for comparison of observed and simulated metabolic maps. Unfortunately, it was found that there is no documented metabolism for all 16 chemicals. Hence it was decided that such analysis could be performed for those chemicals which were predicted with lower binding affinity. This attempt failed again for all 101 predicted “*Strong*” binders. Finally, two chemicals suitable for metabolism analysis were found in the group of the chemicals predicted as *moderate* ER binders (Table 6).

Table 6. Chemical structures with predicted moderate ER binding effect after metabolic activation.

#	CAS	Name	Structure
1	101-84-8	Diphenyl ether	
2	68409-73-4	Biphenyl	

The observed metabolic map for *Diphenyl ether* which is used as industrial chemical in dye-carrier formulations and perfumes indicates a total number of seven experimentally identified metabolites [10] (Figure 1). As a result of application of the rat *in vitro* metabolic simulator one metabolite only has been successfully generated - *4-phenoxyphenol* (#3 showed in Fig. 1). Apparently, there are specific structural definition(s) which prevent generation of other metabolites. Since there is no option for close inspection of the associated structural requirements it cannot be specified what is needed to be modified in order to reproduce more or even all of the documented metabolites.

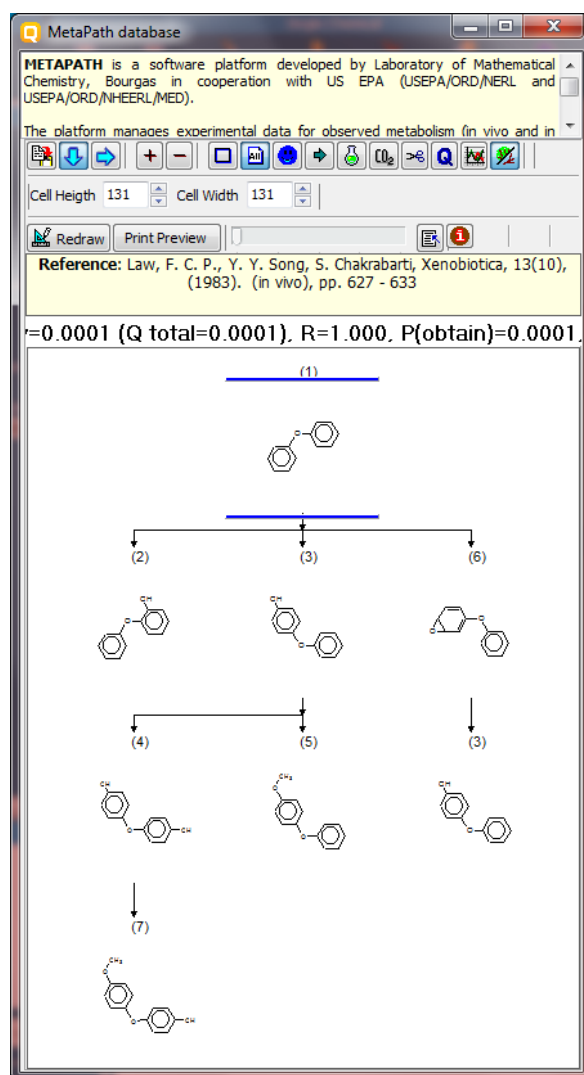


Fig. 3. Documented metabolic map for Diphenyl ether [10]

As a result of separate prediction of the simulated metabolite *4-phenoxyphenol* as parent structure it was classified to be moderate ER binder. It was also found that observed ER binding data exists and it is 0.06 % expressed as relative binding affinity. This finding completely confirms the correctness of the prediction result. Since there is complete information for all observed metabolites of *Diphenyl ether* they could be predicted separately by application of the ER profiler. This additional investigation will bring more important details in the context of the fact that other observed but not simulated metabolites could exert even greater binding potential.

Considering the fact that the ER binding potential strongly depends from presence of hydroxyl groups attached to aromatic ring *4,4'-dihydroxydiphenyl* (metabolite #4, Fig. 3) was only analyzed. After application of the ER pro-

filer this compound was predicted to be very strong binder. In addition it was found that experimental data for ER binding also exists and it is fully consistent with the prediction.

Similar analysis was performed for the other chemical in this group with documented metabolism – *Biphenyl* (CAS: 68409-73-4). Based on study of Billings et al. [11] a total number of five metabolites have been experimentally documented. The metabolic tree of *Biphenyl* is presented in Figure 4.

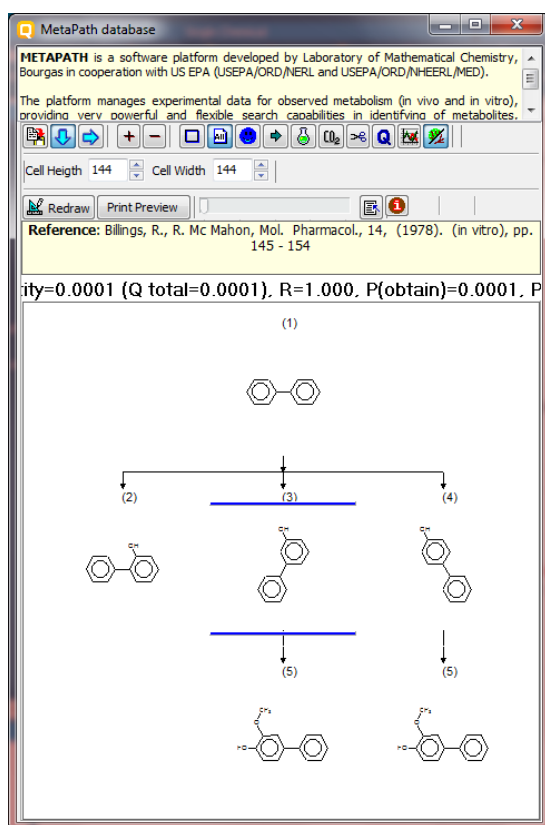


Fig. 4. Documented metabolic map for Biphenyl.

As it can be seen the hydroxylation is the primary transformation reaction which leads to formation of all metabolites. After comparative analysis between documented and simulated metabolites it was found that three metabolites were correctly reproduced – they are #2, 3 and 4 (Fig. 4.) Furthermore it was found that experimental data for those metabolites exists and they are ER binders. Their binding potential expressed in relative binding affinity is shown in Table 7. The prediction results classify all metabolites to be moderate ER binders in agreement with their experimental data.

Table 7. Correctly simulated metabolites for Biphenyl and their respective ER binding affinity.

Metabolite	Name	RBA* [%]
2	Biphenyl-2-ol	0.0006
3	Biphenyl-3-ol	0.002
4	4-phenylphenol	0.005

*RBA- Relative binding affinity is taken from Toolbox ER database.

The presented examples for both chemicals Diphenyl ether and Biphenyl clearly demonstrate the need of assessment of metabolic fate of investigated chemicals when their ER binding potential should be analyzed. The role of metabolism should be always considered during the process of ultimate decision concerning the estrogenic effect of any chemical of practical interest.

Conclusion

In the present study an attempt was made to identify particular chemicals in a set of high production volume OECD chemicals that may have the potential ability to bind to estrogen receptor. The evaluation was performed by application of built-in profiler for estrogen binding incorporated in the non-commercial platform for chemical risk assessment. The obtained results clearly indicate the ability of the system to be used for generation of reliable predictions based on scientific robust prediction rules. In addition, the impact of metabolic activation is considered as required step during the process of ultimate evaluation of the estrogenic potential of various chemical compounds.

In practical perspective the results from this study could be used for further prioritization of chemicals for experimental testing. Among the potential ER binders which were found to be less than 5% in the OECD high production volume database experimental testing will be feasible especially for those chemicals which may be of special interest.

References

1. Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J.P., Giudice, L.C., Hauser, R., Prins, G.S., Soto, A.M., Zoeller, R.T., Gore, A.C., 2009. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society

scientific statement. *Endocr. Rev.* 30, pp. 293–342.

2. Tsakovska, I., Pajeva, I., Alov, P., Worth, A., 2011. Recent advances in the molecular modeling of estrogen receptor-mediated toxicity. *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.*, 85, pp. 217–251.

3. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/theoecdqsartoolbox.htm>

4. <http://webnet.oecd.org/hpv/ui/Default.aspx> (last accessed 03.2016)

5. Schultz T., Sinks G., and Cronin M. 2002. Structure-activity relationships for gene activation oestrogenicity: Evaluation of a diverse set of aromatic compounds, *Environ. Toxicol.*, 17, pp. 14–23.

6. Serafimova R., Todorov M., Nedelcheva D., Pavlov T., Akahori Y., Nakai M. and Mekenyan O. 2007. QSAR and mechanistic interpretation of estrogen receptor binding. *SAR and QSAR in Env. Res.*, 18, (3-4), pp. 389-421.

7. Mekenyan O., Dimitrov S., Pavlov T., Dimitrova G., Todorov M., Petkov P. and Kotov S. Simulation of chemical metabolism for fate and hazard assessment. V. Mammalian hazard assessment. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 23, (5–6), 2012, pp. 553–606

8. Mekenyan O. and Serafimova R., Mechanism based modeling of ER binding affinity: A COREPA implementation, *Endocrine Disruption Modeling*, *CRC Press*, France, 2009, pp. 259–294.

9. P. Paterson and J. Fry, Influence of cytochrome P-450 type on the pattern of conjugation of 4-hydroxybiphenyl generated from biphenyl or 4-methoxybiphenyl, *Xenobiotica*, 15 (6), 1985, pp. 493–502.

10. Law, F. C. P., Y. Y. Song, S. Chakrabarti. Disposition and metabolism of diphenyl ether in rats. *Xenobiotica*, 13 (10), 1983, pp. 627 – 633.

11. Billings, R., R. Mc Mahon, Microsomal Biphenyl Hydroxylation: the Formation of 3-Hydroxybiphenyl and Biphenyl Catechol *Mol. Pharmacol*, 14, 1978, pp. 145 – 154.

Milen Peychev Todorov, PhD
Department of Inorganic Chemistry
“Prof. Dr. Assen Zlatarov” University
“Prof. Yakimov” #1 str., Bourgas
e-mail: mtodorov@btu.bg



ПРОГНОЗИРАНЕ НА МУТАГЕНЕН ЕФЕКТ НА ОБКУСИТЕЛИ ЧРЕЗ КОМПЮТЪРНИ МЕТОДИ

Милен Годоров

IN SILICO PREDICTION OF THE MUTAGENIC POTENTIAL OF FLAVOR CHEMICALS

Milen Todorov

ABSTRACT: *The use of in silico technologies for predicting the mutagenic potential of various chemical compounds has become of high interest in the field of computational toxicology. In the present study the implemented profilers for mutagenicity prediction in non-commercial tool was used for prediction the mutagenic effect of large number flavor chemicals. The obtained results suggest that the tool is equipped with scientific reliable classification rules as well as robust machinery for adequate metabolism simulation. On the other hand some practical limitations and suggestion for improvements are discussed.*

Key words: flavor chemicals, mutagenicity, QSAR, metabolism, *in vitro*, computational tools

Introduction

Nowadays, artificially created flavoring agents are added to a wide variety of food products. Undoubtedly these ingredients increase the taste of the end products, however the health risk in terms of possible harmful biological effects should be also accounted for. Among the efforts to identify dangerous additives to which humans are exposed, the endpoint that has drawn the most concern in recent years is carcinogenicity. The cancer inducing potential would mean a health risk to an entire population. Therefore scientific assessment of flavors genotoxicity which may explain their possible carcinogenic effect is of utmost importance.

Genetic abnormalities arise as a result of mutation at chromosomal level. The genetic damage expressed by Salmonella assay represents a class of DNA damage called gene or point mutation. The use of bioassays is an essential part of the hazard assessment and control procedures for toxic chemicals [1]. The Salmonella assay (Ames test [2]) is based on the premise that bacterial assay systems provide an efficient way to detect agents, which could interact with DNA and cause mutations. Such agents would probably also be capable of causing mutations which ultimately may lead to carcinogenesis.

The challenge of evaluating a large number of flavor chemicals for their mutagenic potential can be handled at least to a certain degree by the

ability to construct models based on quantitative structure–activity relationships (QSARs). Such models have great potential for use in the identification and classification of large number of potential chemical mutagens. At the very least, these models could be employed to establish a prioritization procedure for subsequent *in vitro/in vivo* testing.

Several commercial programs equipped with modules for mutagenicity predictions are available, probably the best known of which are OASIS TIMES [3], DEREK for Windows (DfW) [4], CASETOX [5], TOPKAT [6] and Leadscope model applier [7]. These are generally regarded as “expert systems” since they were developed using a non-congeneric set of chemicals encompassing a number of different biological mechanisms. The performance of each system has been exhaustively investigated and evaluated [8].

In a recent study Ono et al. [9] have performed exhaustive evaluation of the mutagenic potential of flavoring agents based on application of computational tools. A decision on mutagenicity is defined as a result of predictions from three computational programs - Derek for Windows, MultiCase and ADMETWorks. The utility of programs have been assessed by their application for prediction of large number flavor chemicals with available Ames test results. The overall performance of the systems has been found to be low, however some suggestions for improvement of the applied models were proposed.

Beside mentioned commercial programs one should point out the growing use of free or open type in silico platforms for predictions of variety biological endpoints [10, 11, 12]. Currently a larger part of them are accepted and used in many companies, organizations and national authorities for theoretical predictions of endpoints of interest including mutagenicity. Since there are a lot of requirements which should be fulfilled in order to confirm the use of such tools, probably the most important is constant evaluation of their performance by systemic predictions for different types of chemical compounds.

The present article examines the performance of built-in profilers for DNA damages in the most popular free platform – QSAR Toolbox applied for predictions of the mutagenic potential of flavor chemicals.

Materials and Methods

Validation chemical set

A set of 339 flavors with experimentally tested mutagenic effect were taken from a single literature source [9]. Each chemical has assigned positive or negative result based on standard Ames test.

The concept of (Q)SARs

Quantitative structure-activity relationships (QSARs) are relationships between a compound's chemical structure and its biological effects (e.g., mutagenicity, cancer) on living systems. Like genetic toxicity assays, QSAR analyses can help predict the toxicological potential of a compound. A generally accepted method of is the evaluation of a chemical's structure for structural alerts. For example, structural alerts for mutagenicity are features of a chemical's structure (e.g., the presence of isocyanate or nitrosamine functional groups) that contribute to the chemical's potential to damage DNA and thereby cause cancer. Ashby-Tennant structural alerts have been used for many years to predict if a chemical compound may cause genetic mutations, which may cause cancer. Currently, large collections of structural alerts incorporated in various computational programs are a valuable tool in predicting mutagenic potential and, in some cases, carcinogenic potential when the toxicity of a compound is untested and/or unknown.

Ames test for mutagenicity

One of the most important types of toxic response a chemical can produce is mutation. Mu-

tations arise when the DNA in a cell is damaged in such a way that the information contained in the genetic code is altered. The Salmonella reverse mutation test – known as the Ames test [2] has been used for several decades as a useful tool for detection of potentially mutagenic chemicals. Genetically different strains of *S. typhimurium* are used for testing. They all carry some type of defective (mutant) gene that prevents them from synthesizing the amino acid histidine. In the presence of mutagenic chemicals, the defective gene may be mutated back to the functional state, allowing the bacterium to grow on the minimal medium.

Many chemicals are not mutagenic by themselves, but may be metabolized to mutagenic forms. Bacteria and most cultured mammalian cells cannot perform most of the metabolic conversions found in mammals and humans because they do not contain the necessary metabolizing enzyme systems. This limitation has been partially overcome by the development of exogenous metabolic activation systems that can be added to the test procedure. These systems usually consist of homogenates of liver fractions (S9) of rodents, usually rats that had been pretreated with substances to enhance the levels of the preferred metabolic enzymes. A complete in vitro testing protocol includes tests with and without S9 fractions.

OECD QSAR Toolbox

This is a software tool especially designated for chemical risk assessment [10]. A key part of the system is so called categorization of chemicals. The categorization allows grouping of chemical substances into chemical categories. The chemical category is such a group of substances possessing similar physicochemical, toxicological and ecotoxicological properties or their fate in environmental and occupational surrounding or they behave using the common pattern as a result of chemical similarity.

An important advantage of the system is the large number of built-in profilers for different biological/toxic endpoints. Each profile consist a set of rules related to specific or general criteria associated to the respective endpoint. Another advantage of the system is the opportunity to investigate a chemical with account to its metabolic fate. It is well known that the chemical in its parent form may not exert toxic effect however after metabolism a reactive metabolite can be produced which may damage biological macromolecules. This became extremely important in

assessment of mutagenic potential of various type of chemicals.

In the following two sections details will be given for current versions of both profiles associated with DNA damages and *in vitro* metabolic simulator incorporated in version 3.3 of the Toolbox.

Profiling schemes for DNA damages. OASIS DNA v. 1.3 and ISS v.2.3

The profiler *OASIS DNA v. 1.3* is based on Ames mutagenicity model part of OASIS TIMES system [3]. The profiler contains exact definitions of 78 structural alerts responsible for interaction of chemicals with DNA. The scope of this profiler is to investigate the presence of alerts within the target molecules responsible for interaction with DNA, especially related to Ames mutagenicity.

The second *ISS v.2.3 profiler* contains a list of 30 structural alerts (SAs). The SAs for mutagenicity are molecular functional groups or substructures known to be linked to the mutagenic activity of chemicals. As one or more SAs embedded in a molecular structure are recognized, the system flags the potential mutagenicity of the chemical.

In vitro metabolism simulator

The current *in vitro* rat liver metabolic simulator represents electronically designed set of 509 structurally generalized, hierarchically arranged biotransformation reactions, which are characteristic for the metabolism for *in vitro* experimental systems such as rodent (mostly rat) liver microsomes and S9 fraction. A training set of 647 xenobiotic chemicals of a wide structural diversity, with experimentally observed metabolic reactions and pathways has been built, using published data on their metabolism in rodent liver microsomes and S9 fraction. On the whole, the simulator contains 450 – 470 enzymatic phase I transformations, such as aliphatic C-oxidation, aromatic C-hydroxylation, oxidative N- and O-dealkylation, epoxidation, ester and amide hydrolysis, carbonyl group reduction, nitro and azo group reduction, N-hydroxylation, etc. Additionally, 15 – 20 enzymatic phase II transformations, such as glucuronidation, sulfation, glutathione conjugation, N-acetylation, etc. are included with significantly lower priority than phase I ones.

The principal applicability of this simulator is associated with the reproduction as well as the prediction of the metabolic activation reactions and pathways of xenobiotic chemicals, which

may elicit diverse array of *in vitro* biological effects.

Results and Discussion

The validation set which contains 339 chemicals has been assessed by application of the DNA profilers available in the Toolbox. Initially, the mutagenic potential was predicted for parent chemical structures. The obtained results are presented in Table 1.

A total number of 4 out of all 22 mutagenic chemicals were found to have structural alert assigned by OASIS DNA profiler. For non mutagenic chemicals only 3 out of 317 were classified incorrectly as mutagens.

The screening results generated by the second profile - ISS indicate presence of structural alert in 9 mutagenic chemicals. The predictions for non mutagens identify 67 chemicals to be false positives.

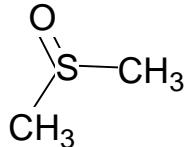
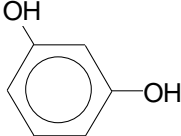
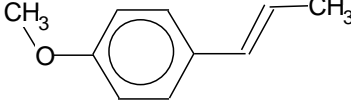
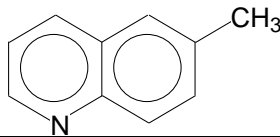
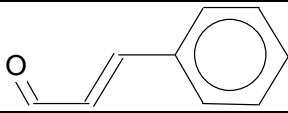
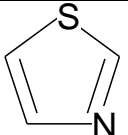
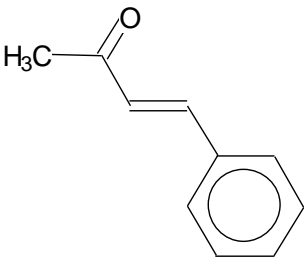
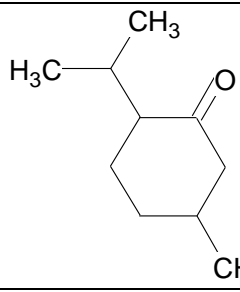
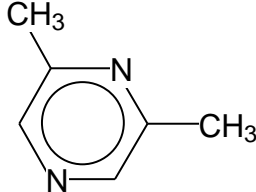
Table 1. Identified DNA structural alerts in parent structures for 339 flavor chemicals.

Ames observed data	Number of chemicals	Identified DNA alerts in # of compounds	
		by OASIS	by ISS
Positive	22	4	9
Negative	317	3	67

As it can be seen the overall performance in terms of correct predictions for mutagenic chemicals is low. In order to explain this result one should assume that there is missing structural information for specific type of mutagenic chemical compounds. On the other hand it should be pointed out that the limited number of mutagens should be also considered (22 chemicals). Lastly, the lack of information whether the metabolic activation is considered for mutagenic compounds should be also discussed.

One should point out that the number of mutagens in the validation set is very limited (22 chemicals) which may bias significantly the obtained prediction results. In this respect additional analysis of the experimental data was performed by retrieving mutagenicity data from the Toolbox databases (Table 2).

Table 2. Flavor chemicals with retrieved experimental mutagenicity data

#	CAS	2D Structure	Name	Ames data	Data source
1	67-68-5		DMSO	-	TB
2	108-46-3		Resorcinol	-	TB
3	4180-23-8		Anethole	-	TB
4	91-62-3		6-methylquinoline	+ (S9)	TB
5	104-55-2		Cinnamaldehyde	-	TB
6	288-47-1		Thiazole	+	TB
7	122-57-6		Benzylidene acetone	+ (S9)	TB
8	89-80-5		Menthone	+	TB
9	108-50-9		2,6-dimethylpyrazine	+	TB

Ames data: + positive; - negative; (S9) metabolic activation; TB - QSAR Toolbox program

It was found that 9 out of all 11 false negative predicted chemicals are available for further

analysis. Based on experimental mutagenicity data four chemicals were found to be non-

mutagens (Table 2; # 1, 2, 3 and 5); two chemicals (#4 and 7) are mutagenic after metabolic activation and three chemicals poses mutagenic effect as parent structures.

The first group is in conflict with the positive mutagenicity data provided by Ono et al. in their study [9]. Such kind of data discrepancy evaluation is out of the scope of this work thus, these chemicals were excluded from further analysis.

The second group which concern those chemicals with mutagenic effect after metabolic activation were analyzed. The chemical *6-methylquinoline* (Table 2 #4) was metabolized in the Toolbox by making use of rat S9 metabolic simulator. A total number of twelve metabolites were generated. As a result of further application of the OASIS DNA profiler one of the metabolites was found to contain structural alert classified as “Epoxides and Aziridines” clearly related to mutagenic effect. Since there is no other measure which could provide assessment of the reliability of simulated metabolites, additional information concerning mutagenic potential of quinoline was investigated. Scharping et al.[13] has confirmed that epoxidation is one of the metabolic transformations associated to quinoline which explain the positive mutagenic effect of *6-methylquinoline*.

Benzylidene acetone is the second chemical analyzed in this group. As it was described in materials and methods section the Toolbox provide very convenient tool for inspection of metabolism based on documented metabolic maps for large number of chemicals. In addition this tool allows the use of variety instruments. Two metabolites of *Benzylidene acetone* are reported in a study performed by Kohno et al. [14]. They could be analyzed via the interface which is presented in Figure 1. Despite of the observed mutagenic effect, the profilers for DNA reactivity return negative result for presence of structural group able to cause DNA damage. One may assume that the mutagenic effect could be a result of formation of other reactive metabolites which are currently not detected. However, such a possibility is currently without experimental support. Another option is additional expert analysis for explanation of the effect that could be associated to the presence of carbonyl moiety in the structure of this chemical.

The third group – chemicals #4 and 7 (Table 2) deserves further attention due to necessity for introducing new definitions for functional groups which may explain the positive mutagenic effect.

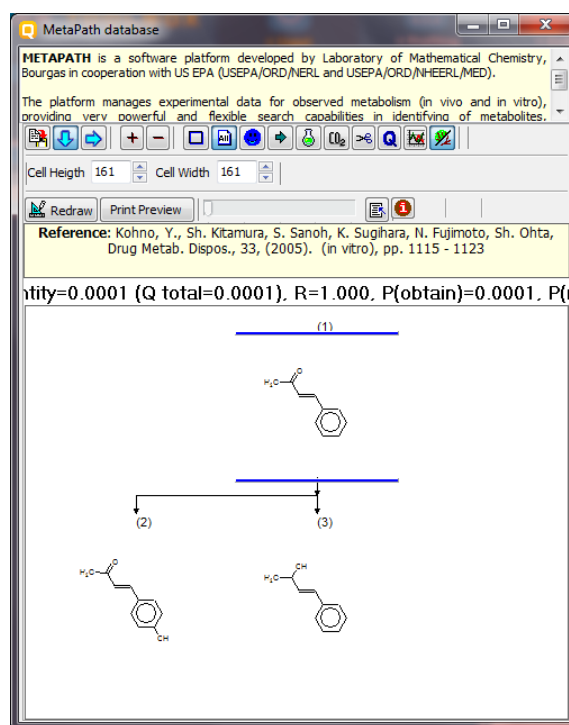


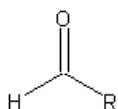
Fig. 1. Representation of the incorporated tool in the Toolbox for analysis of documented metabolic maps applied for *Benzylidene acetone*

The prediction results with account to metabolic activation of all flavor chemicals are presented in Table 3.

Table 3. Prediction results with metabolism simulation of the investigated flavors.

Ames observed data	Number of chemicals	Identified DNA alerts in # of compounds	
		by OASIS	by ISS
Positive	22	7	16
Negative	317	14	188

As it can be expected the number of positive mutagenic predictions is increased. On the other hand, the rate of false predictions for non mutagens is also increased with 4% and 38% for OASIS and ISS profiles respectively. This finding is not surprising due to the fact that the metabolic simulator may produce extra metabolites with potential DNA damaging structural characteristics. In this respect additional analysis was performed aiming to identify the main metabolic transformations and functional groups that are responsible for positive mutagenic predictions. Due to the larger number of the false positives obtained by the ISS profile (188 chemicals) they were only investigated. It was found that 126 out of all 188 chemicals are classified as “*simple aldehydes*”.



R= aliphatic or aromatic carbon

Fig. 2. Definition for *simple aldehydes* in ISS profiler.

As it can be seen *simple aldehydes* (presented in Fig. 2) are defined by very general fragment. Furthermore, it is known that the formation of aldehydes during metabolism could not be associated always with positive mutagenic response. Thus, a further precision of the group of aldehydes is needed in order to be applied more precisely for identification of mutagenic compounds.

In summary, the comparison of overall performance for both profilers – OASIS and ISS - gives significant predominance of the predictions obtained by the first one. However, there is a need for improvements in terms of more specific definitions of the structural alerts as well as addition of more precise transformation reactions in the metabolic simulator.

Conclusion

In the current study the predictive performance of two profilers used for identification of mutagenic compounds which are available in non-commercial software tool have been used to predict the effect of 339 flavor chemicals.

It was found that the results are satisfactory however, the limited number of mutagenic flavors hampers the ultimate decision on the applicability of the profilers. On the other hand some practical limitations was found and discussed. It can be concluded that there is a need of constant improvement of the DNA binding profiling schemes in both directions – expanding the list of structural alerts and metabolic transformation reactions.

References

1. Derelanko M. and Hollinger M. Handbook of Toxicology, Second Edition, *CRC Press* 2001.
2. Ames B., McCann J., and Yamasaki E. 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.* vol. 31, pp.347–364.
3. Mekenyan O., S. Dimitrov, T. Pavlov, Dimitrova G., Todorov M., Petkov P., Kotov S. Simulation of chemical metabolism for fate and hazard assessment. V. Mammalian hazard

assessment. *SAR and QSAR in Environmental Research* (23) (5-6), (2012), p. 553-606.

4. Judson P., S. Stalford and J. Vessey. Assessing confidence in predictions made by knowledge-based systems *Toxicology Research*, (2), 1, (2013), p. 70-79.

5. Chakravarti, S.K., R.D. Saiakhov, and G. Klopman. Optimizing Predictive Performance of CASE Ultra Expert System Models Using the Applicability Domains of Individual Toxicity Alerts. *Journal of Chemical Information and Modeling*, (52), (2012), p. 2609-2618.

6. Benigni R. Computational prediction of drug toxicity: the case of mutagenicity and carcinogenicity. *Drug Discovery Today: Technologies*, (1), 4, (2004), p. 457-463.

7. Valerio, L. G., K. P. Cross. Characterization and validation of an in silico toxicology model to predict the mutagenic potential of drug impurities. *Toxicology and Applied Pharmacology*, (2012), p. 209-221

8. Cronin M., J. Jaworska, J. Walker, M. Comber, C. Watts and A. Worth. Methods for reliability and uncertainty assessment and for applicability evaluations of classification and regression-based QSARs. *Environ. Health Persp.* (111), (2003).

9. Ono A, Takahashi M, Akihiko Hirose, Eiichi Kamata, Tomoko Kawamura, Takeshi Yamazaki, Kyoko Sato, Masami Yamada, Takayuki Fukumoto, Hiroyuki Okamura, Yoshiharu Mirokuji, Masamitsu Honma Validation of the (Q)SAR combination approach for mutagenicity prediction of flavor chemicals, *Food and Chemical Toxicology*, 50 (2012) 1538–1546.

10. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/theoecdqsartoolbox.htm>

11. <http://ambit.sourceforge.net>

12. <http://toxtree.sourceforge.net>

13. Scharping, C.E., C. C. Duke, G. M. Holder, and D. Larden. 1993. The hepatic metabolism of two methylquinolines. *Carcinogenesis* 14(5):1041-1047. Abstract from CAPLUS 1993:643349.

14. Kohno, Y., Sh. Kitamura, S. Sanoh, K. Sugihara, N. Fujimoto, Sh. Ohta, *Drug Metab. Dispos.*, 33, (2005). (in vitro), pp. 1115 - 16.

Milen Peychev Todorov, PhD
Department of Inorganic Chemistry
“Prof. Dr. Assen Zlatarov” University
“Prof. Yakimov” #1 str., Bourgas
e-mail: mtodorov@btu.bg



EVALUATION OF EXTRACTS FROM NETTLE (*URTICA DIOICA*) ROOTS AND ARTICHOKE FLOWER HEADS (*CYNARA SCOLYMUS* L.) OBTAINED BY ULTRASOUND AND MICROWAVE IRRADIATION

Nadezhda Petkova, Ivan Ivanov, Panteley Denev

ОЦЕНКА НА ЕКСТРАКТИТЕ ОТ КОРЕНИ ОТ КОПРИВА (*URTICA DIOICA*) И ЦВЕТОВЕ ОТ АРТИШОК (*CYNARA SCOLYMUS* L.), ПОЛУЧЕНИ ЧРЕЗ УЛТРАЗВУКОВО И МИКРОВОЛНОВО ОБЛЪЧВАНЕ

Надежда Петкова, Иван Иванов, Пантелей Денев

ABSTRACT: The aim of the current study was to evaluate the total phenolic content and radical scavenging activity of water, 70 % ethanol and 95 % ethanol extracts obtained from both plant nettle (*Urtica dioica*) roots and edible artichoke flower heads (*Cynara scolymus* L.) by green chemistry extraction methods (ultrasound and microwave irradiation). *Cynara scolymus* L. 70 % ethanol extracts was evaluated as the richest source of antioxidants and total phenols - 54.7mg GAE/g dw and 174.1mM TE/g dw. Microwave-assisted extraction was established as the most efficient technique for extraction of biologically active substances from both investigated plants.

Key words: nettle roots, *Urtica dioica*, *Cynara scolymus*, total phenolic content, antioxidant activity

Introduction

Medicinal plants contain different classes of organic compounds with high biological activity and well-pronounced antioxidant potential. Their influence on human health and prevention from many diseases attract more attention to different extract obtained from vegetal parts of herbs and spices.

Nettle (*Urtica dioica*) is world widely distributed. Its vegetal parts are used as drug, food, fibrous, dye, and cosmetic from centuries (Ogles and Yalcin, 2012). Nettle plant roots and rhizomes were reported to treat high blood pressure, hand and foot numbness, diabetes, leprosy, weak labor wounds, indigestion, stomach problems and constipation. They can also be used to treat polio sequelae and hernia pain etc. (Quan and Guo, 2007), to reduce menses flow. As a tincture nettle roots can be applied for hypothyroid conditions to increase thyroid function (Bisht et al, 2012). The root extract of nettle has been extensively studied in human clinical trials as a treatment for symptoms of Benign Prostate Hyperplasia (Wilt et al, 2000) and applied in pediatric oncology patients (Gozum et al., 2007).

Nettle roots were reported to contain more than 18 different phenolic components among which ferulic acid 20 µg/g, homovanillyl alcohol

8 µg/g, and p-coumaric acid 5 µg/g) were identified and about 8 different lignan components (Kraus and Spiteller, 1990; Kraushofer and Sontag, 2002). According to Ogles and Yalcin, (2012), there were not any gallic acid, syringic, fumaric, vanillic, isorhamnetin, catechin, caffeic, and chlorogenic acid in the nettle roots samples collected from Mediterranean and Black Sea regions, but the presence of myricetin, rutin, ellagic acid, ferulic, and naringin was found.

Artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.) is commonly consumed vegetable in Mediterranean diets due to its carbohydrate content and phenolic compounds (Garbetta et al., 2014; Aceituno et al., 2016). Its heads were used as treatment of digestion-related illnesses, moderate hyperlipidemia as well as liver and bile diseases (Vamanu et al., 2011). Artichoke heads were evaluated as rich source of chlorogenic acid and 3,5-O-, 1,5-O-dicaffeoylquinic acids and its beneficial effects are linked to their antioxidant activity (Garbetta et al., 2014).

The application of advanced extraction techniques such as ultrasound-assisted (UAE) or microwave assisted extraction (MAE) to obtain plant extracts rich in bioactive compounds is gaining great attention in recent years (Petkova et al., 2014; Ruiz-Aceituno et al., 2016). These techniques generally provide high yields with a

significant reduction of extraction times and solvent volumes as compared with conventional (i.e., non-solvent enhanced) extraction procedures.

The aim of the current study was to evaluate the total phenolic content and radical scavenging activity of water, 70 % ethanol and 95 % ethanol extracts obtained from both plant nettle (*Urtica dioica*) roots and edible artichoke flower heads (*Cynara scolymus* L.) by green chemistry extraction methods (ultrasound and microwave irradiation).

Materials and methods

1. Materials

The dried and cut nettle roots were produced by BILEC Company, m. Lisichi dumpki, 5600 Troyan, Bulgaria. The plant material was purchased from the local drugstore. The flower heads of artichoke was bought from Plovdiv market. The plant material was dried at room temperature and then was finely ground. The artichoke powder was used for further analysis.

1.1. Extraction

The extraction was performed with three different solvents as follows: 95 % (v/v) ethanol; 70 % (v/v) ethanol and distilled water in ratio material: extracting agent (1:20).

Ultrasound-assisted extraction (UAE) was performed in ultrasonic bath with frequency 45 kHz as previously described by Petkova et al., 2014. Microwave-assisted extraction (MAE) of biologically active substances was performed in a microwave oven CROWN with 700 W power and frequency 2450 MHz for 5 min at average power 541 W. The extraction process was carried out in 50 mL centrifuge tubes as previously described by (Petkova et al., 2012). The samples were extracted in duplicate. Then the extracts were filtered and used for further analyses.

2.2. Total phenolic content

The total phenolic content was determined using the Folin–Ciocalteu reagent. Basically, 0.2 mL of each extracts was mixed with 1 mL Folin–Ciocalteu reagent diluted five times and 0.8 mL 7.5% Na₂CO₃. The reaction was performed for 20 min at room temperature in darkness. Then the absorbance was measured at 765 nm against blank sample. The results were expressed in mg equivalent of gallic acid (GAE) per g extract, according to calibration curve; build in range of 0.02 - 0.10 mg/L gallic acid.

2.3. Determination of DPPH radical scavenging capacity

Radical scavenge activity – DPPH assay, mmol TE/g DW (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) was established by the following methodology: 0.15 mL of analyzed ex-tracts were mixed with 2.85 mL freshly prepared 0.1 mmol solution of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) in methanol. The reaction was performed at 37 °C in darkness and the absorption at 517 nm was recorded after exactly 15 min against methanol. The antioxidant activity was expressed as mmol Trolox equivalents (TE) per g extract by using calibration curve, build by 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 mM 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox).

Results and discussion

The total polyphenol content and antioxidant potential of the obtained extracts from nettle roots were summarized in Table 1. From all extracts, 70 % ethanol obtained by MAE and USA showed the highest total polyphenolic content and antioxidant activity. The nettle roots extracts were evaluated as potential source of antioxidants. The highest total polyphenolic content was established in 70 % ethanol extracts from nettle roots obtained by MAE - 9.4±0.4 mg GAE/g dw. The same extract possessed the highest antioxidant activity -23.2±0.1 mmol TE/g dw (DPPH method). In comparison our results for total phenolic content were higher than reported by Hudec, 2007 value for nettle roots extracts- 7.82 mg GAE/g DM and were close to the previous report for 80% menthol nettle roots extracts from Black Sea region (Otlés and Yalcin, 2012).

In accordance to Otlés and Yalcin, (2012) the total polyphenol content in nettle roots collected from Bulgaria were higher than the total phenolic content of nettle tea bag (including all parts of nettle (root, stalk, and leaves) – 2.5 mg GAE/g DM.

According to previous researches nettle leaves were consider as better source of total phenols, especially their ethyl acetate fractions (from 18.7 mg GAE/gdw to 48.3mg GAE/gdw) (Chahardehi et al., 2004; Kais et al., 2013). In other report 80% ethanol extracts from nettle leaves obtained by ultrasonic irradiation (30 Hz) contained 208.37 mg GAE/g dw and also possessed the highest antioxidant activity by DPPH assay (Kukrić et al, 2012).

Table 1. The total polyphenolic content and antioxidant activity of nettle root extracts

Extracts	Extraction technique	Total polyphenolic content, mg GAE/g dw ¹	DPPH radical scavenging activity, mmol TE/g dw
water	UAE	0.6±0.5	n.d. ² ±0.2
70 % ethanol		8.3±0.3	18.5±0.2
95 % ethanol		7.5±0.5	11.9±0.4
water	MAE	3.2±0.2	10,0±0.3
70 % ethanol		9.4±0.4	23.2±0.1
95 % ethanol		8.9±0.5	17.4±0.2

¹dw-dry weight, ²n.d – not determined

Table 2. The total polyphenolic content and antioxidant activity of artichoke flower heads extracts

Extracts	Extraction technique	Total polyphenolic content, mg GAE/g dw ¹	DPPH radical scavenging activity, mmol TE ² /g dw
water	UAE	4.5±0.1	25.3±0.5
70 % ethanol		39.1±0.3	95.0±0.3
95 % ethanol		9.6±0.2	53.6±0.8
water	MAE	6.9±0.4	18.5±0.1
70 % ethanol		54.7±0.5	174.1±0.5
95 % ethanol		12.8±0.5	43.6±0.2

¹dw-dry weight, ²TE - Trolox equivalents

The lowest content of polyphenols in the nettle roots was detected in the water extracts obtained by UAE – 0,6 mg GAE/g. The same extract did not possess any antioxidant activity evaluated by DPPH assay. Therefore, water extracts contained less biologically active substances than the nettle root extracts obtained by extraction with ethanol-water mixtures. The water extract obtained by MAE showed higher results than UAE water extracts. However, all artichoke heads extracts showed higher values of the total phenolic content than the nettle roots extracts (Table 2). The 70 % ethanol artichoke extracts showed the highest content of total polyphenols - 54.7 mg GAE/g dw. These results were approximately four times higher than extracts from flower heads of *Carduus thoermeri* (Petkova et al., 2015). Well-pronounced antioxidant activity possessed 70 % ethanol extracts obtained by MAE -174.1 mmol TE/g dw. The results for the total phenol and antioxidant activity for artichoke extracts in the current study were close to the previous report of Vamanu et al., (2011). The highest polyphenol in MAE extracts of both plants were in accordance to our previous investigations conducted with application of microwave-assisted extractions (Petkova et al., 2012). Therefore, microwave-assisted extrac-

tion technique can be considered as one of the most perspective “green” extraction method, because of reducing the time, improving the efficiency and keeping bioactive substance unchanged.

Conclusion

The presented results revealed the efficiency of different extraction technologies. Microwave irradiation was evaluated as the most proper method for extraction of antioxidants from both investigated plants. This technique shortened the extraction time and significantly reduced the energy for preparation of extracts with improved biological activity. From both investigated plants 70 % ethanol extracts were with highest antioxidant potential. Therefore, they could find possible application in preparation of pharmaceutical and food formulations.

References

1. Bisht S. Bhandari N., S Bisht, 2012. “*Urtica dioica* (L): an undervalued, economically important plant,” *Agricultural Science Research Journals*, 2(5); pp. 250-252.
2. Chahardehi, A M., Ibrahim, D and Sulaman, SF. 2004. “Antioxidant activity and

total phenolic content of some medicinal plants in Urticaceae family,” *Journal of Applied Biological Sciences*, 3(2), pp. 25-24.

3. Garbetta A., I. Capotorto, A. Cardinali, I. D'Antuono, V. Linsalata, F. Pizzi, F. Minervini. 2014. “Antioxidant activity induced by main polyphenols present in edible artichoke heads: influence of in vitro gastro-intestinal digestion,” *Journal of Functional Foods*, (10), pp. 456–464.

4. Gozum, S., Arikan, Duygu, Buyukavci, M., 2007. “Complementary and Alternative Medicine Use in Pediatric Oncology Patients in Eastern Turkey,” *Cancer Nursing*, 30 (1), pp. 38-44

5. Hudec J., M. Burdov'a, L. Kobida et al. 2007. “Antioxidant capacity changes and phenolic profile of Echinacea purpurea, nettle (*Urtica dioica* L.), and dandelion (*Taraxacum officinale*) after application of polyamine and phenolic biosynthesis regulators,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), pp. 5689–5696.

6. Kais K. Ghaima, Noor M. Hashim, Safaa A. Ali., 2013. “Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*),” *J App Pharm Sci.*, 3(05) pp. 096-099.

7. Kraus R. and G. Spiteller, 1990. “Phenolic compounds from roots of *Urtica dioica*,” *Phytochemistry*, 29(5), pp. 1653–1659.

8. Kraushofer T. and G. Sontag, 2002. “Determination of some phenolic compounds in flax seed and nettle roots by HPLC with coulometric electrode array detection,” *European Food Research and Technology*, 215(6), pp. 529–533.

9. Kukrić Z., L. N. Topalić-Trivunović, B. M. Kukavica, S. B. Matoša, S. S. Pavičića, M.M. Borobjab and A. V. Savić 2012. “Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.),” *APTEFF*, 43, pp. 1-342.

10. Otles S. and B. Yalcin, 2012. “Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk, and Leaves of Nettle”, *The Scientific World Journal*, 1-12. doi:10.1100/2012/564367.

11. Petkova N, Ivanov I, Denev P, Pavlov At, 2014. “Bioactive Substance and Free Radical Scavenging Activities of Flour from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Tubers – a Comparative Study,” *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, Special Issue: 2, pp. 1773-1778.

12. Petkova N., Mihaylova D., Denev P., Krastanov A., 2015. “Evaluation of biological active substances in flower heads of *Carduus thoermeri* Weinm,” *Romanian Biotechnological Letters*, 20(4), pp.10592-10599.

13. Petkova N., Vrancheva R., Ivanov I., Denev P., Pavlov A., Aleksieva J., 2012. “Analysis of biologically active substances in tubers of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.)”, 50 years FoodRDI, International Scientific-Practical Conference "Food, Technologies & Health", 49-54.

14. Quan C. L. and C.L. Guo 2007. “Research on hypoglycemic constituents of natural medicines,” *J. Liaoning Med. Univ.* 28(6), pp. 86-88.

15. Ruiz-Aceituno L., M. Jesús García-Sarrió, B. Alonso-Rodriguez, L. Ramos, M. Luz Sanz 2016. “Extraction of bioactive carbohydrates from artichoke (*Cynara scolymus* L.) external bracts using microwave assisted extraction and pressurized liquid extraction,” *Food Chemistry*, 196, pp. 1156–1162.

16. Vamanu E., Vamanu A., Ni, Sultana and S. Colceriu 2011. “Antioxidant and Antimicrobial Activities of Ethanol Extracts of *Cynara Scolymus* (*Cynarae folium*, *Asteraceae* Family),” *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 10 (6) pp. 777-783.

17. Wilt TJ, Ishani A, Rutks I, R MacDonald 2000. “Phytotherapy for benign prostatic hyperplasia,” *Public Health Nutr.*, 3(4A) pp.459-72.

Nadezhda Petkova
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: petkovanadejda@abv.bg

Ivan Ivanov
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: ivanov_ivan.1979@yahoo.com

Panteley Denev
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: denev57@abv.bg



DETERMINATION OF SELENIUM IN ENVIRONMENTAL SAMPLES USING TOLUIDINE BLUE AND SAFRANINE O AS NEW REAGENTS

Chand Pasha, Badiadka Narayana, Krasimira Stancheva

ОПРЕДЕЛЯНЕ НА СЕЛЕН В ПРИРОДНИ ОБЕКТИ ИЗПОЛЗВАЙКИ ТОЛУИДИН БЛУ И САФРАНИН О КАТО НОВИ РЕАГЕНТИ

Чанд Паша, Бадиадка Нараяна, Красимира Станчева

ABSTRACT: A simple, facile and sensitive spectrophotometric method has been developed for the determination of selenium in various environmental samples. The method is based on the reaction of selenium with potassium iodide in an acid medium to liberate iodine. This liberated iodine bleaches the blue color of toluidine blue or pinkish red color of safranin O. The decrease in absorbance at 628 or 532 nm is directly proportional to selenium concentration and obeys Beer's law in the range of 1.0 – 16.0 or 0.8 – 15.4 µg/ml for selenium. The molar absorptivity, sandell's sensitivity, detection limit and quantitation limit of the method using toluidine blue or safranin O were found to be 1.240×10^4 or 1.190×10^4 l/mol cm, 6.37×10^{-3} or 6.63×10^{-3} µg/cm², 0.220 or 0.214 µg/ml, 0.670 or 0.649 µg/ml, respectively. The relative standard deviation for five replicate analyses of 2 µg/ml of selenium using toluidine blue or safranin O were 0.40 or 0.51%. The optimum reaction conditions and other analytical characteristics were evaluated. The effect of interfering ions on the determination is described. The method has been applied for the determination of selenium in various environmental samples.

Key words: Selenium determination, spectrophotometry, toluidine blue, safranin O

Introduction

Selenium is widely distributed in environment in relatively small concentrations in rocks, plants, coal and other fossil fuels. It is an essential nutrient at trace levels but toxic in excess [1]. Selenium play a major role in the life cycle of plants (Cruceferae family), which absorb organoselenium compounds accumulated in the oils of semiarid areas, and may poison livestock that graze on them. It also plays an active role in many biological systems [2] as it has toxicological and physiological effects [3,4]. Selenium enters into natural water through seepage from seleniferous soil and industrial waste. Water drained from such soil may cause severe environmental pollution and wild life toxicity. When selenium is present in animal feeds at a concentration less than 0.1 mg/l, deficiency symptoms develop, but when present at higher concentration, exceeding 5 mg/l, chronic selenosis occurs [5]. Selenium compounds are extensively used in paints, dyes, glass, electricals, rubber, insecticides and many industries [6]. In china selenium deficiency in the soil is associated with Keshan disease

Kaschin Beck disease [7, 8]. The toxicity, availability and environmental mobility of selenium are very much dependent on its chemical form. Selenium is reported to be present in cigarette paper, tobacco [9], and various cosmetic samples [10]. The maximum level of selenium in drinking water should not exceed 0.01 mg/l (1 ppb).

Several analytical techniques have been reported for the determination of selenium [11-14]. Many spectrophotometric methods for the determination of selenium have been reported with some chromogenic reagents such as 3,3-diaminobenzidine [15], 1,1'-dianthrimide [16,17], 2,2'-dianthrimide [18], 4-methyl-o-phenylenediamine [19], diaminochrysazine [20], 3,4-diaminobenzoic acid and 4-bromo-1, 2-phenylenediamine [21], 1,10-phenanthroline and eosin [22], dithiozone [23], 4,5-diamino-2,6-dimercaptopyrimidine [24] 8-hydroxyquinoline [25], 4,5,6-triaminopyrimidine [26], chromotropic acid [27] 1-naphthylamine-7-sulfonic acid [28], leuco crystal violet [29], variamine blue [30], thionin [31], maxilon blue – SG [32], potassium iodide – starch [33], acetylacetone or ethyl acetoacetate [34], leuco

malachite green [35] and azure B [36]. Of these reagents some have been reported to be less selective and sensitive. There is thus a need to develop an entirely new method which would overcome the existing inadequacies in the determination of trace amounts of selenium.

In the present investigation a rapid, selective and sensitive method has been reported for the determination of selenium using toluidine blue or safranin O as a reagent. The developed method has been successfully employed for the determination of selenium in water samples and soil.

Experimental

Apparatus

A Systronics 2201 UV-VIS Double Beam Spectrophotometer with 1 cm quartz cell was used for the absorbance measurements and a WTW pH 330, pH meter was used.

Reagents and Solutions

All chemicals used were of analytical grade and distilled water was used for dilution of reagents and samples. Standard selenium(IV) stock solution (1000 $\mu\text{g/ml}$) was prepared by dissolving 0.1912 g of NaHSeO_3 (Merck Limited, Mumbai) in 100 ml of water. The stock solution was further diluted as needed. Toluidine blue solution (0.02%) or Safranin O solution (0.02%) (S. D. Fine Chem. Limited, Mumbai) was prepared by dissolving 0.02 g of toluidine blue or safranin O in distilled water and made up to 100 ml each with distilled water. Hydrochloric acid (1 mol/l), potassium iodide (2%) and sodium acetate buffer (1 mol/l) (pH = 4.0) were used. Other reagents were prepared by dissolving appropriate amounts of reagents in distilled water.

Procedures

An aliquot of a sample solution containing 1.0 – 16.0 or 0.8 – 15.4 $\mu\text{g/ml}$ of selenium was transferred into a series of 10 ml calibrated flasks. Potassium iodide (2%, 1 ml) and hydrochloric acid (1 mol/l, 1 ml) were added and mixture was gently shaken until the appearance of yellow color indicating the liberation of iodine. Toluidine blue (0.02 %, 0.5 ml) or safranin O (0.02 %, 0.5 ml) was then added and the reaction mixture was shaken for 2 minutes for maintaining pH 4, 2 ml of sodium acetate buffer was added. The contents were diluted to 10 ml with distilled water and mixed well. The absorbance of the resulting solution was measured at 628nm or 532nm against reagent blank.

Determination of selenium in water and soil samples

An aliquot of water sample containing not more than 15 $\mu\text{g/ml}$ of selenium was treated with 0.5 ml of 1 mol/l NaOH and 0.5 ml of 0.2 mol/l EDTA. The solution was mixed and centrifuged to remove any formed precipitate. The centrifugate was transferred to a 10 ml calibrated flask and its selenium content was determined directly according to the general procedure for the determination of selenium. Similarly the soil sludge sample (50 g) was treated with concentrated HCl to convert Se(VI) to Se(IV), followed by 10% NaOH and 5% EDTA solution was added. The made up solution was analyzed according to the general procedure for selenium(IV) (Table 2).

Results and Discussion

This method is based on the reaction of selenium with potassium iodide in acid medium to liberate iodine. This liberated iodine bleaches the blue color of toluidine blue or pinkish red color of safranin O. The decrease in absorbance at 628 or 532nm is directly proportional to selenium concentration. The absorption spectra of the colored species of toluidine blue and safranin O are presented in Figure 1.

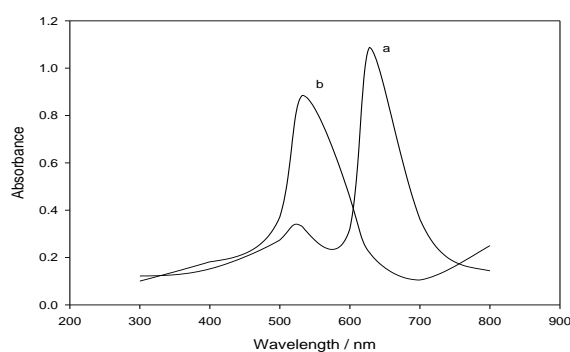


Fig. 1. Absorption spectra of colored species toluidine blue (a) or safranin O (b)

Effect of iodide concentration and acidity

The effect of iodide concentration and acidity on the decolorization was studied with 2 $\mu\text{g/ml}$ of selenium solution. The oxidation of iodide to iodine was effective in the pH range 1.0 to 1.5, which could be maintained by adding 1 ml of 2 mol/l HCl in a final volume of 10 ml. The liberation of iodine from KI in an acidic medium was quantitative. The appearance of yellow color in-

dictates the liberation of iodine. Although any excess of iodide in the solution will not interfere. It was found that 1 ml of 2 % KI and 1 ml of 1 mol/l HCl were sufficient for the liberation of iodine from iodide by selenium and 0.5 ml of 0.02 % toluidine blue or 0.02 % safranin O was used for subsequent decolorization.

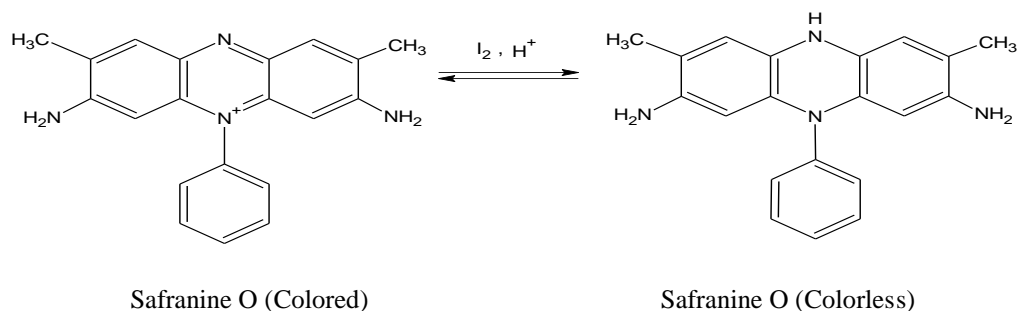
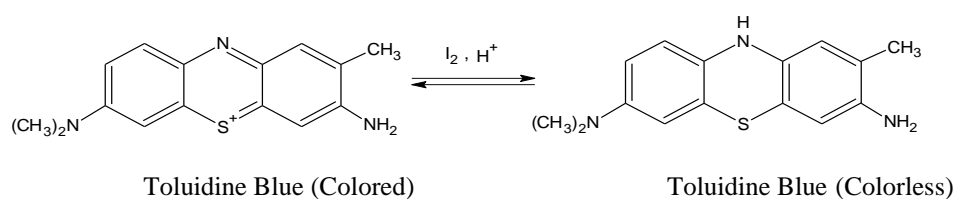
Constant and maximum absorbance values were obtained in the pH = 4 ± 0.2. Hence the pH of the reaction system was maintained at 4 ± 0.2

throughout the study. This could be achieved by the addition of 2 ml of 1 mol/l sodium acetate solution in a total volume of 10 ml.

Proposed reaction mechanism

In acid medium selenium liberate iodine from potassium iodide. This liberated iodine bleaches the blue color of toluidine blue or pinkish red color of safranin O and the reaction system is represented in scheme 1.

Scheme 1.



Analytical Data

A linear calibration graph was obtained for 1.0 – 16.0 µg/ml or 0.8 – 15.4 µg/ml of selenium in a final volume of 10 ml. The molar absorptivity and Sandell's sensitivity for the system was found to be 1.240×10^4 or 1.190×10^4 l/mol cm, 6.37×10^{-3} or 6.63×10^{-3} µg/cm², respectively. The detection limit ($D_L = 3.3\sigma/S$) and quantitation limit ($Q_L = 10\sigma/S$) (where σ is the standard deviation of the reagent blank (n=5) and S is the slope of the calibration curve) for the selenium determination using toluidine blue or safranin O were found to be 0.220 or 0.214 µg/ml and 0.670 or 0.649 µg/ml, respectively. The correlation coefficient and slope of the

calibration graph is 0.9992 or 0.9995 and 0.150 or 0.154 respectively.

Effect of diverse ions

The effect of various ions at µg/ml levels on the determination of selenium(IV) was examined. The tolerance limits of interfering species were established at those concentrations that do not cause more than ±2% error in absorbance values of selenium(IV) at 5 µg/ml. Most of the cations and anions do not interfere. The interference of Fe³⁺ was masked using sodium fluoride. The tolerance limits of various foreign ions are given in Table 1.

Table 1. Effect of interfering ions

Ion	Tolerance limit (mg/l)	
	Toluidine blue	Safranin O
Ni ²⁺	75	75
Cu ²⁺	50	50
Cd ²⁺	100	125
Ba ²⁺	200	200
Fe ^{3+*}	75	50
Bi ³⁺	200	200
Al ³⁺	50	50
Ca ²⁺	200	150
Co ²⁺	75	150
Zn ²⁺	200	150
V ⁵⁺	125	100
Tartarate	500	400
Oxalate	500	400
PO ₄ ³⁻	250	200
Sulfate	50	200
Chromate	200	200
Urea	250	150
Glucose	250	225

Applications

The proposed method was applied to the quantitative determination of selenium in various environmental samples using toluidine blue or safranin O as reagents and the results are presented in Table 2 compare favorably with those with a reference method [30]. The precision of the proposed was evaluated by replicate analysis of samples containing selenium at three different concentrations.

Table 2. Determination of selenium(IV) in environmental samples using toluidine blue and safranin O as new reagents

Toluidine blue				
Samples	Se(IV) added*	Se(IV) found*	Recovery (%)	RSD (%)
^a Tap Water	4.00	3.96	99.00	0.65
	8.00	7.92	99.00	0.75
^a Rain Water	4.00	3.98	99.50	2.50
	8.00	7.96	99.50	0.85
^a Industrial Water	4.00	3.97	99.25	1.51
	8.00	7.95	99.37	0.76
Soil Samples	---	1.35	---	0.74
	4.00	5.36	100.25	1.34
	8.00	9.31	99.50	0.92

*. mg/l

^a. Selenium was not detected in ground water, tap water and industrial water samples.

Safranin O

Samples	Se(IV) added*	Se(IV) found*	Recovery (%)	RSD (%)
^a Tap Water	4.00	3.98	99.50	0.51
	8.00	7.95	99.38	0.88
^a Rain Water	4.00	3.97	99.25	1.81
	8.00	7.98	99.75	0.65
^a Industrial Water	4.00	3.95	98.75	0.58
	8.00	7.97	99.63	1.35
Soil Samples	---	1.32	---	2.03
	4.00	5.28	99.00	1.37
	8.00	9.27	99.37	0.97

*. mg/l

^a. Selenium was not detected in ground water, tap water and industrial water samples.

Conclusions

The proposed method for determination of selenium using toluidine blue or safranin O as new reagents is facile, rapid, sensitive and highly specific and has a wide analytical range without the need for extraction or heating. Moreover, the method is less time consuming compared with other reported methods, and is also more sensitive than some reported methods in the literature. The developed method does not involve any stringent reaction conditions and offers the advantages of high stability of the bleached reaction system (more than 24 hrs). The proposed method has been successfully applied to the determination of trace amounts of selenium in various environmental samples.

References

- Andrews R. W., D. C. John, 1975 "Voltammetric deposition and stripping of selenium(IV) at a rotating gold-disk electrode in 0.1 M perchloric acid" *Analytical Chemistry*, 47, pp. 294-299.
- Odom J. D., W. H. Dawson, P. D. Ellis, 1979 "Selenium-77 relaxation time studies on compounds of biological importance: Dialkyl selenides, dialkyl diselenides, selenols, selenonium compounds, and seleno oxyacids" *Journal of American Chemical Society*, 101, pp. 5815-5822.
- Robberecht H., R. Van Grieken, 1982 "Selenium in environmental waters: Determination, speciation and concentration levels" *Talanta*, 29, pp. 823-844.
- Robberecht H., H. Deelstra, 1984 "Selenium in human urine determination, speciation and concentration levels" *Talanta*, 31, pp. 497-508.

5. Zingaro, R. A., W. C. Cooper, 1974 *Selenium*, "Van Nostrand Reinhold", New York.
6. American Public Health Association. 1995 *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19th ed., Washington.
7. McDowell L. R. 1992 *Minerals in Animals and Human Nutrition*, "Academic Press", New York.
8. Tan J., Y. J. Huang, 1991 "Selenium in geo-ecosystem and its relation to endemic diseases in China" *Water Air Soil Pollution*, 57, pp. 59-68.
9. Shendrikar A. D., P. W. West, 1977 "Air sampling methods for the determination of selenium" *Analytical Chimica Acta*, 89, pp. 403-406.
10. Shapira, J. R. 1971 *Organic Selenium Compounds their Chemistry and Biology*, "Wiley Interscience", New York.
11. Deepa K., Y. Lingappa, 2014 "Spectrophotometric determination of selenium in industrial and environmental samples using vanillin-2-aminonicotinic acid (VANA)" *Der Pharma Chemica*, 6, pp. 52-60.
12. Stewart I. I., A. Chow, 1993 "The separation of tellurium and selenium by polyurethane foam sorbents" *Talanta*, 40, pp. 1345-1352.
13. Hao D. Q., G. H. Xie, Y. M. Zhang, G. J. Tian, 1996 "Determination of serum selenium by hydride generation flame atomic absorption spectrometry" *Talanta*, 43, pp. 595-600.
14. MacLeod F., B. A. McGaw, C. A. 1996 "Shand, Stable isotope dilution-mass spectrometry for determining total selenium levels in plants, soils and sewage sludges" *Talanta*, 43, pp. 1091-1094.
15. Russell B. G., W. V. Lubbe, A. Wilson, E. Jones, J. D. Taylor, T.W. Steele, 1967 "Determination of selenium and tellurium in silver chloride and uranium oxide" *Talanta*, 14, pp. 957-966.
16. Langmyhr F. J., S. H. Omang, 1960 "Spectrophotometric determination of selenium(iv) with 1,1-dianthrimide" *Analytical Chimica Acta*, 23, pp. 565-569.
17. Langmyhr F. J., J. A. Myhrstad, 1966 "Complex formation in concentrated sulfuric acid between selenium(iv) and 1,1'-dianthrimide" *Analytical Chimica Acta*, 35, pp. 212-216.
18. Langmyhr F. J., I. Dahl, 1963 "An investigation of the applicability of 2,2'-dianthrimide in spectrophotometry. The determination of selenium(IV)" *Analytical Chimica Acta*, 29, pp. 377-380.
19. Kawashima T., A. Ueno, 1972 "Spectrophotometric determination of trace amounts of selenium in iron and steel with 4-methyl-phenylenediamine" *Analytical Chimica Acta*, 58, pp. 219-222.
20. Brown R. S., 1975 "Spectrophotometric determination of selenium(IV) with diaminochryszazine" *Analytical Chimica Acta*, 74, pp. 441-445.
21. Kasterka B., 1992 "A study of the reaction of Se(IV) with 3,4-diaminobenzoic acid and 4-bromo-1, 2-phenylenediamine" *Mikrochimica Acta*, 106, pp. 303-318.
22. Idriss K. A., M. M. Seleim, M. S. Abu-Bakr, 1980 "An analytical study of mixed-ligand selenium(IV) complexes - The ternary complex of selenium(IV) with 1,10-phenanthroline and eosin" *Mikrochimica Acta*, 74, pp. 179-186.
23. Campbell A. D., A. H. Yahaya, 1980 "Spectrophotometric determination of selenium with dithizone" *Analytical Chimica Acta*, 119, pp. 171-174.
24. Izquierdo A., Prat, , M. D. L. Aragonés, 1981 "4,5-diamino-2,6-dimercaptopyrimidine as a spectrophotometric reagent for the determination of selenium in semiconductors and animal feeds" *Analyst*, 106, pp. 720-723.
25. Bhatt A., V. K. Gupta, 1982 "Spectrophotometric determination of selenium using 8-hydroxyquinoline as reagent" *Journal of Indian Chemical Society*, 59, pp. 888-891.
26. Bodini M. E., O. E. Alzamora, 1983 "Spectrophotometric determination of trace amounts of selenium with 4,5,6-triaminopyrimidine" *Talanta*, 30, pp. 409-413.
27. Levale S. C., D. Mangla, 1989 "Photometric and amperometric estimation of trace amount of selenium and tellurium. *Journal of Indian Chemical Society*, 66, pp. 914-988.
28. Pyrzynska K. 1997 "Spectrophotometric Determination of Selenium with 1-Naphthylamine-7-sulfonic Acid" *Analytical Science*, 13, pp. 629-632.
29. Agarwal O., G. Sunita, V. K. Gupta, 1998 "A new reagents system for the spectrophotometric determination of selenium in environmental and cosmetic samples" *Journal of Indian Chemical Society*, 75, pp. 151-153.
30. Revanasiddappa H. D., T. N. Kiran Kuma, 2001 "A facile spectrophotometric method for the determination of selenium" *Analytical Science*, 17, pp. 1309-1312.

31. Revanasiddappa H. D., T. N. Kiran Kumar, 2002 "Spectrophotometric determination of selenium by use of thionin" *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 374, pp. 1121-1124.

32. Gurkan R., M. Akcay, 2003 "Kinetic spectrophotometric determination of trace amounts of selenium based on the catalytic reduction of maxilon blue-SG by sulfide" *Microchemical Journal*, 75, pp. 39-49.

33. Narayana B., M. Mathew, N. G. Bhat, N. V. Sreekumar, 2003 "Spectrophotometric determination of selenium using potassium iodide and starch as reagents" *Microchimica Acta*, 141, pp. 175-178.

34. Cherian T., B. Narayana, 2006 "A new system for spectrophotometric determination of trace amounts of selenium" *Indian Journal of Chemical Technology*, 13, pp. 222-225.

35. Revanasiddappa H. D., B. P. Dayananda, 2006 "A new reagent system for the highly sensitive spectrophotometric determination of selenium" *Central European Journal of Analytical Chemistry*, 4, pp. 592-595.

36. Mathew M., B. Narayana, 2006 "An easy spectrophotometric determination of selenium using azure B as a chromogenic agent" *Indian*

Journal of Chemical Technology, 13, pp. 455-458.

Chand Pasha¹, Dr., Badiadka Narayana², Dr., Krasimira Stancheva³, Dr.,

¹ Yanbu Industrial College

Department of General Studies

P. O. Box- 30436, Yanbu – 21477, Kingdom of Saudi Arabia

email : drcpasha@gmail.com

² Mangalore University

Department of Post Graduate Studies and Research in Chemistry

Mangalagangothri 574 199, Karnataka, India.

³ "Prof. Dr. Assen Zlatarov" University

Department of Inorganic and Analytical Chemistry

8010 Bourgas, Bulgaria

e-mail: krasimiraangelova@abv.bg



SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF COPPER IN DRINKING WATERS USING FUCHSINE AS NEW REAGENT

Krasimira Stancheva, Chand Pasha

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА МЕД В ПИТЕЙНИ ВОДИ ИЗПОЛЗВАЙКИ ФУКСИН КАТО НОВ РЕАГЕНТ

Красимира Станчева, Чанд Паша

ABSTRACT: A simple spectrophotometric method has been developed for the determination of copper(II) by using fuchsine as a sensitive and selective analytical reagent. The method is based on the liberation of iodine by the reaction of copper(II) with potassium iodide in acid medium. The liberated iodine, equivalent to the analyte, forms a complex with the indicator fuchsine having an absorption maximum at λ_{max} 560 nm. The method obeys Beer's law in the concentration range of 1.0 -6.0 mg/l with a linear regression 0.9996. The method's detection limit, limit of quantification and molar absorptivity are reported as follows: 0.115 mg/l, 0.350 mg/l, 5.8×10^4 l/mol cm, respectively. Proposed method is successfully applied for the determination of Cu(II) in drinking waters.

Key words: Copper determination, spectrophotometry, fuchsine, drinking waters

Introduction

Copper (Cu, At. mass 63.54) occurs in its compounds in +2 oxidation state, and less often in the +1. The properties of Cu^{+1} are similar to those of Ag^{+1} , Au^{+1} and Tl^{+1} . Cu^{+2} form ammine, cyanide, tartrate, and EDTA complexes [1]. Copper is essential to all living organisms as a trace dietary mineral because it is a key constituent of the respiratory enzyme complex cytochromes oxidase and play a crucial role in the functioning of organs and metabolic processes in human beings [2, 3]. In addition to being an essential nutrient for humans, copper is vital for the health of animals and plants, plays an important role in agriculture. Cu^{+2} ions are widely distributed in biological systems, a significant amount of research has centered on the search for relatively simple Cu^{+2} complexes which may display some of the properties of the metalloproteins [4]. In both humans and animals, the major target organs for copper deficiency are the blood and hematopoietic system, the cardiovascular system, connective tissue and bone, the nervous system and the immune system [5-7]. The excess concentration is harmful to human beings, causes metallic taste, nausea, vomiting, epi-gastric burning and diarrhea. The main areas where copper is found in humans are liver, muscle and bone. Copper compounds are used

as bacteriostatic substances, fungicides, and wood preservatives [8]. The accumulation of copper in the human liver and animals is a characteristic of Wilson's disease which produces neurological and psychiatric defects [9-11]. Copper exists in most of the world's surface water and groundwater, although the actual concentration of copper in natural water varies geographically. Drinking water can comprise 20-25% of dietary copper [12]. The World Health Organization recommends a minimal acceptable intake of approximately 1.3 mg/day [13] and the maximum level of copper in drinking water should not exceed 2 mg/l (2 ppm).

Therefore, it is important to develop a cost-effective, sensitive and rapid analytical method for trace determination of copper.

Several methods have been reported for the determination of copper such as voltametry [14], kinetic spectrophotometry [15] and spectrophotometry [16-20]. Spectrophotometry is essentially a trace analysis technique and is one of the most powerful tools in chemical analysis. It is based on the determination of absorbance of a colored complex formed by the reaction between metal ion and a suitable analytical reagent. Few methods have been reported on the determination of Cu(II) using various ligands by spectrophotometry. Though, the reported spectrophotometric methods [17-20] suffer from one or more dis-

advantages such as reproducibility, less sensitivity, expensive instrumentation and severe interferences etc. (Table 1).

In this work the results obtained in the studies related to the colour reaction between iodine,

equivalent to copper(II), and the reagent fuchsine in acid medium and its analytical utility are presented and discussed.

Table 1. Comparison with the reported methods.

	Reagent Name	λ_{\max}	pH	Beer's law, mg/l	ϵ	Remarks	Ref.
1	3-methoxy-4-hydroxy benzaldehyde-4-bromo phenyl hydrazone	462	4	0.2-4.0	2.052×10^4	i) Extraction ii) Time consuming	17
2	2,5-Dihydroxy acetophenone benzoic hydrazone	400	5	0.3-6.0	1.1×10^4	Poor selectivity, less sensitive and more reagent consumption	18
3	p-Methyl isonitroso aceto phenone phenyl hydrazone	510	7	0.1-1.0	0.628×10^4	Less sensitive	19
4	2,3,4-trihydroxy acetophenone phenyl hydrazone	385	2.5	0.04-0.64	10.053×10^4	More acidic (pH 2.5)	20
5	Fuchsine	560	2.0	1.0-6.0	5.8×10^4		

Experimental

Apparatus

A Thermo Scientific UV-Visible Double Beam Spectrophotometer with 1 cm quartz cell was used for absorbance measurements of the solutions. The pH is measured using an Expert 001, model 3 (0.1) pH meter/potentiometer (Ekoniks-Expert RF) with a glass electrode.

Reagents and Solutions

All chemicals (Merck, Germany, purity >99 %) were of analytical-reagent grade and employed without further purification. Standard copper(II) stock solution of 1 g/l was prepared by dissolving the required amount of copper(II) sulphate (0.3929g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) in 100 ml of distilled water. This stock solution is diluted further, wherever necessary, with distilled water. Sulphuric acid (2N), potassium iodide (2%) and 0.01 % fuchsine ($\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_3 \cdot \text{HCl}$, 4-[(4-aminophenyl)-(4-imino-1-cyclohexa-2,5-dienylidene)methyl]aniline hydro-chloride, M = 337.86 g/mol) were used.

Procedures

Into series of 100 ml calibrated flasks, standard copper sulphate solution equivalent to 1.0-6.0 mg/l of copper(II) was added. Then 10 ml of 2 % potassium iodide solution was added followed by 10 ml of 2N sulphuric acid and the mixture was gently shaken until the appearance of yellow color, indicating the liberation of iodine. 5 ml of 0.01 % fuchsine solution was then added to each flask and the reaction mixture was shaken for 2 minutes. The contents were diluted to 100 ml with distilled water and mixed well. After 15-30 min scanning of the resulting solutions were made and the absorbance was measured at 560 nm against the corresponding reagent blank. Blank was prepared with the same reagents, but without addition of Cu(II) solution and indicator. The amount of the Cu(II) present in the volume taken was computed from the calibration graph equation.

Determination of copper in water samples

Different certified water samples are collected and each filtered water samples (100 ml) is evaporated nearly to dryness with a mixture of

5.0 ml of concentrated H₂SO₄ and 10.0 ml of concentrated HNO₃ in a fume cupboard and then cooled to room temperature. The residue is then heated with 20.0 ml of distilled water, in order to dissolve the salts. The solution is cooled and neutralized with dilute NH₄OH in the presence of 1–2 ml of 0.01% citrate solution to mask iron. The resulting solution is filtered and quantitatively transferred into a 100.0 ml calibrated flask. 10 ml of 2 % potassium iodide solution was added followed by 10 ml of 2N sulphuric acid and the mixture was gently shaken until the appearance of yellow color, indicating the liberation of iodine. 5 ml of 0.01 % fuchsine solution was added to each flask and the reaction mixture was shaken for 2 minutes. The calibrated flask was made up to the mark with distilled water and the absorption was measured at 560 nm against the corresponding reagent blank.

Results and Discussion

Absorption spectra

The proposed method involves the liberation of iodine in acid medium by the reactions:

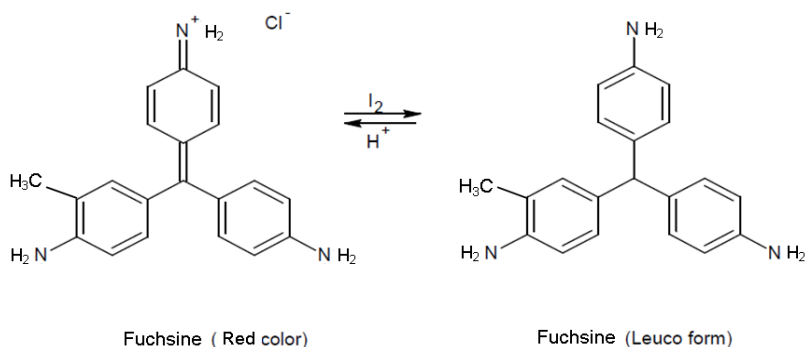


Fig. 2. Reaction scheme of fuchsine - iodine system

Effect of pH and reagent concentration

In the present investigation a cherry-red coloured complex is formed when iodine interacts with fuchsine in an acid medium of pH 2. The effect of iodide concentration and acidity on the reaction system is studied with 2 mg/l copper. The oxidation of iodide to iodine by copper(II) is effective in the pH range 2.0, which can be maintained by adding 10 ml of 2 N H₂SO₄ in a final volume of 100 ml. The liberation of iodine from potassium iodide in an acidic medium is quantitative. It is found that 10 ml of 2 % KI and 10 ml of 2 N H₂SO₄ are sufficient for the liberation of iodine from iodide by copper. 5 ml of 0.01 % fuchsine is used for subsequent decolorization.



The liberated iodine bleaches the magenta red color of fuchsine. The iodine-fuchsine system (cherry-red complex) exhibits its maximum absorbance at 560 nm (Figure 1). The absorbance is directly proportional to the copper(II) concentration. The colour reaction is instantaneous and the intensity of the colour remained constant for several hours from the initial starting time. The reaction of iodine with indicator is presented in Figure 2.

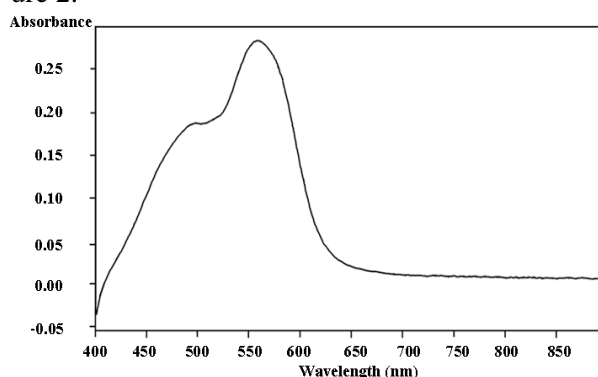


Fig. 1. Absorption spectra of colored species of iodine-fuchsine system (λ_{max} 560 nm)

Adherence to Beer's law

Adherence to Beer's law is studied by measuring the absorbance values of solutions varying copper concentration. Beer's law is obeyed in the range of 1.0–6.0 mg/l of copper(II) (Figures 3 and 4). The molar absorptivity of the system is found to be 5.8×10^4 l/mol cm. The detection limit (LOD = $3.3 \sigma/S$) and quantitation limit (QL = $10\sigma/S$) [where σ is the standard deviation of the reagent blank ($n=5$) and S is the slope of the calibration curve] for copper determination are found to be 0.115 $\mu\text{g/ml}$ and 0.350 $\mu\text{g/ml}$ respectively.

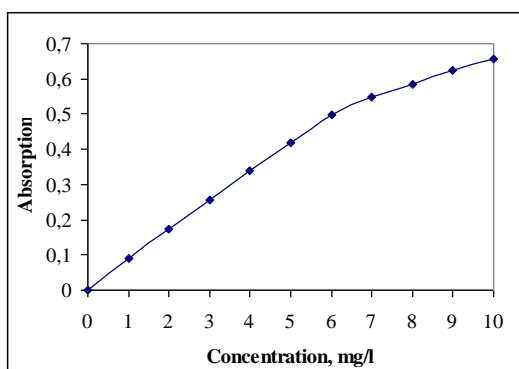


Fig. 3. Graph of ten standard solutions of Cu

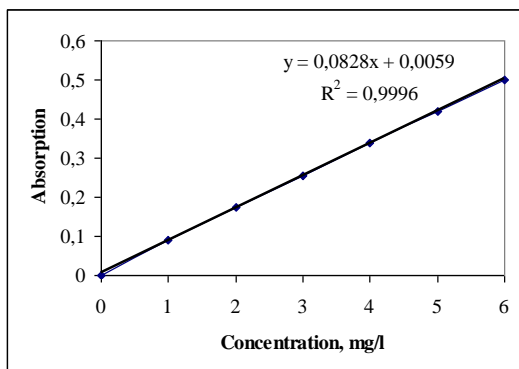


Fig. 4. Calibration graph of six standards

Effect of interfering ions

The selectivity of the proposed method was examined by studying the effect of diverse ions on the absorbance of the experimental solution containing fixed amount (2.0 ppm) of copper. It can be seen that large number of common ions did not interfere in the proposed method. The tolerance limits of various foreign ions are given in Table 2.

Table 2. Effect of interfering ions

Foreign ion	Tolerance limit ($\mu\text{g/ml}$)
Ni ²⁺	55
Cd ²⁺	40
Ba ²⁺	100
Fe ^{3+*}	65
Bi ³⁺	200
Al ³⁺	70
Ca ²⁺	200
Co ²⁺	55
Zn ²⁺	200
Tartarate	300
Oxalate	300
PO ₄ ³⁻	150
Sulfate	50
Chromate	200

Applications

The proposed method was applied to the quantitative determination of copper(II) in drinking waters. The results of the analysis are presented in Table 3.

Table 3. Determination of copper(II) in drinking waters

Samples	Cu(II) found $\bar{x} \pm tS/\sqrt{n}$ (mg/l)	RSD (%)
Table Water	1.446 \pm 0.014	0.62
Mineral Water	1.144 \pm 0.029	1.46
Natural Water	1.374 \pm 0.019	0.77

Number of determination $n=5$; t - Students t -value at 95% probability; S - standard deviation; \bar{x} , an average.

Conclusions

We present a simple, efficient and rapid spectrophotometric method for the determination of Cu(II) using fuchsine as new reagent. The proposed method offers advantages as good sensitivity, selectivity, reliability, reproducibility, less interference and immediate colour development. The method is found to be quantitative comparable to other standard methods. A number of associated elements don't interfere in the determination of copper. The proposed method is used for the spectrophotometric determination of copper contents of drinking water samples.

References

- Marczenko Z., M. Balcerzak, 2000 "Separation, preconcentration and spectrophotometry in inorganic analysis" Elsevier Science, 10, pp. 177-182.
- Freemantle M. H., 1991 Chemistry in Action "Macmillan Education" Ltd, London.
- Sorensen E.B.M., 1991 Metal Poisoning in Fish "CRC Press", Boston.
- Ahmadi R. A., F. Hasanvand, G. Bruno, H. A. Rudbari, S. Amani, 2013 "Synthesis, spectroscopy, and magnetic characterization of copper(II) and cobalt(II) complexes with 2-amino-5-bromopyridine as ligand", Russian J. Coord. Chem., 39, pp. 867-871.
- Ralph A., H. J. McArdle, 2001 Copper metabolism and requirements in the pregnant mother, her fetus, and children, "International Copper Association", New York.
- International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria No. 200,

Copper, 1998, "World Health Organization", Geneva.

7. Danks D. M., 1988 "Copper deficiency in humans", *Annu. Rev. Nutr.*, 8, pp. 235-257.

8. Johnson M. D., E. Larry, 2008 Copper. Merck Manual Home Health Handbook "Merck Sharp & Dohme Corp.", Germany.

9. Agnihotri N. K., V. K. Singh, 1997 "Derivative spectrophotometric determination of copper(II) in non-ionic micellar medium", *Talanta*, 45, pp. 331- 341.

10. Ahmed M. J., T. Zannat, 2012 "A simple spectrophotometric method for the determination of copper in some real, environmental, biological, food and soil samples using salicylaldehyde benzoyl hydrazone", *Pakistan J. Anal. Environ. Chem.*, 13, pp. 22-35.

11. Ratnamala P., R. Sonawane, S. L. Utkrsha, M.Chavan, 2013 "Development of method for extractive spectrophotometric determination of Cu(II) with 2-hydroxy- 1-naphthalene carboxaldehyde phenyl hydrazone as an analytical reagent", *Int. Letts. of Chem, Phy and Astro. ILCPA*, 9, pp. 1-6.

12. Stern B. R., 2007 U-shaped dose-response curve for risk assessment of essential trace elements, Copper as a case study, "John Wiley and Sons", San Francisco.

13. WHO/FAO/IAEA, 1996 Trace Elements in Human Nutrition and Health, "World Health Organization", Geneva.

14. Zhuang J., L. Zhang, W. D. Lu, , R. Zhu, D. Pan, 2011 "Determination of trace copper in water sample by anodic stripping voltammetry at gold microelectrode", *Int. J. Electrochem. Sci.*, 6, pp. 4690-4699.

15. Ulusoy H. I., R. Gurkan, M. Akcay, 2011 "Kinetic spectrophotometric determination of trace copper(II) ions by their catalytic effect on the reduction of brilliant cresyl blue by ascorbic acid", *Turk J. Chem.*,35, pp. 599-612.

16. Ahmed M. J., T. Zannat, 2012 "A simple spectrophotometric method for the determination of copper in some real environmental biological food and soil samples using salicylaldehyde benzoyl hydrazone", *Pak. J. Anal. Environ. Chem.*, 13, pp. 22-35.

17. Rekha D., K.Suvaradhan, K. Suresh Kumar, B. Jayaraj , P. Chiranjeevi, 2007 "Extractive spectrophotometric determination of copper(II) in water and alloy samples with 3-methoxy-4-hydroxy benzaldehyde-4-bromo phenyl hydrazone (3,4-MHBBPH)", *J. Serb. Chem. Soc.*, 72, pp. 299–310.

18. Kudapali Y. S., T. Suresh, 2004 "Spectrophotometric determination of copper (II) with 2,4 – Dihydroxybenzophenone benzoic hydrazone", *Orient. J. Chem.*, 20, pp. 313-316.

19. Lokande R. S., A.S. Jaywant, 1999 "Extractive Spectrophotometric Determination of copper with p-Methylisonitrosoacetophenone-hydrazone", *Asian J. Chem.*, 11, pp. 1040-1042.

20. Skrikova J., A. V. Loseph, S. Balogh, L. Kocurova, L. Nagy, Y. B. Anovel, 2011 "Environmentally friendly dispersive liquid – liquid microextraction procedure for the determination of copper", *Microchem. J.*, 99, pp. 40-45.

Krasimira Stancheva¹, Dr. Chand Pasha², Dr.

¹"Prof. Dr. Assen Zlatarov" University
Department of Inorganic and Analytical
Chemistry
8010 Bourgas, Bulgaria
e-mail: krasimiraangelova@abv.bg

²Yanbu Industrial College
Department of General Studies
P. O. Box- 30436, Yanbu – 21477, Kingdom
of Saudi Arabia
email : drcpasha@gmail.com



ОЦЕНКА НА РИСКА В ЦЕХ ЗА ПЪРВИЧНО ВИНОПРОИЗВОДСТВО „ЧЕРНОМОРСКО ЗЛАТО” АД, ГР. ПОМОРИЕ

Пламена Атанасова, Сабина Недкова, Петранка Пипева, Донка Русева

RISK ASSESSMENT OF A PLANT FOR VINERY PRODUCTION „BLACK SEA GOLD”, POMORIE

Plamena Atanasova, Sabina Nedkova, Petranka Pipeva, Donka Ruseva

ABSTRACT: Risk assessment is one of the instruments which indirectly leads to the protection of life and human health and environment, which is a major task of the society and the state. Since the primary objective of any enterprise or company is the reduction of industrial accidents, elimination of conditions conducive to the emerge and the realization of technological risk, planning and execution of effective actions for risk's minimization and management is quite needed. The purpose of this work is to study the technological risks in the plant for winery producing, using method MOZAR and on this basis to develop appropriate measures for minimization and management of risk, to analyze the professional risk of the employees, working in the plant and to develop a scenario with a fault tree for the most probable accident. As a result of the study was proved that, while working, the employees face variety of danger conditions, which have a significant impact on their safety and security. It was also proved that a large proportion of risks are falling within the unacceptable zone in the diagrams Severity /Probability. There are 26 technological and organizational barriers proposed to minimize and manage the technological risk.

Key words: risk assessment, scenario, barriers, tree of faults

Управлението на риска е процес, който не засяга само търговски корпорации, или обществени организации, но и всяка дейност, независимо от това дали тя се извършва за дълъг или къс период от време. Ползите и възможностите на този процес трябва да се търсят не просто във функционирането на съответната управленска структура сама по себе си, но и в условията на връзка между тази структура и всички различни подизпълнители, които тя повлиява. Оценката на риска е съществена част в цялостния процес по управление на риска [1].

Съгласно изискванията на чл. 16, ал. 1 на Закона за здравословни и безопасни условия на труд, оценката на риска е специфична управленска дейност, осъществявана в дългосрочен план [2]. Тази оценка изисква анализ на организацията и спецификата на труда и работната среда на работещите. Тя включва ергономична оценка на работното място и използваните средства на труд (машини, апарати, оборудване и др.), организацията на труда, използваните суровини и материали и други странични фактори.

Настоящата работа има за цел да анализира професионалния риск на няколко ключови работни места и да направи оценка на риска, чрез метода МОЗАР в цех за първично винопроизводство на „Черноморско злато” АД, гр. Поморие.

За постигането на тази цел бяха поставени следните задачи:

1. Анализ на оценка на професионален риск на ключови работни позиции в цех за първично винопроизводство „Черноморско злато” АД;
2. Оценка на риска по метода МОЗАР;
3. Построяване на дърво на отказите за нежелано събитие и поставяне на организационни и технологични бариери.

За да бъде оценката обективна и всеобхватна са използвани методи на анализ, които да гарантират постигането на поставената цел. Това са: методите за изследване на риска съгласно изискванията на ЗЗБУТ и Наредба № 5 от 1999г., [3] методът на логическите дървета и по-специално дървото на отказите (грешките), полуколичествения метод за оценка на риска от основни опасности на базата на които, оценката на човешкия фактор е

извършена задълбочено и са направени изводи за оценен професионален риск на работещите.

Фирма „Черноморско злато“ АД има основен предмет на дейност производство на алкохолни напитки с продуктова гама според нуждите и вкусовете на своите клиенти. Производството на алкохолни напитки е организирано в промишлената зона на гр. Поморие. Производствената структура на „Черноморско злато“ АД се състои от две винарски изби обособени съответно – едната за червени вина в гр. Поморие и другата за бели вина в гр. Каблешково.

Анализът на професионалния риск е извършен за шест ключови работни позиции в предприятието: Главен технолог, Началник цех, Оператор за оборудване на ферментация, Ръководител група техническа работилница, Монтажник и Шлосер. Работните позиции са избрани така, че реално да представят заетите в работния процес в цеха хора, те включват работни задължения от разнообразен характер и специфични умения. Използвана е методика за оценка на риска, чрез система за относителна градация и изчисляване на риска по формулата:

$$R = P \cdot F \cdot E,$$

където Рискът „R“ е произведение от три параметъра: P - вероятност, F - честота на излагане и E - ефект върху здравето и трудоспособността. В резултат на произведението на тези три фактора се получава число, описващо нивото на риск, което може да бъде причислено към пет степени. Риск от първа степен е напълно приемлив и за него не са необходими специални мерки, а риск от пета степен означава много висок, неприемлив риск, който изисква работата да се прекъсне незабавно.

За сравняване на професионалния риск и определяне на най-рисковата работна позиция е използвана получената при оценка на професионалния риск стойност на риска, въз основа на оценката на пет основни идентифицирани опасности и техните производни:

Механични-подхлъзване, спъване, падане; режещи и пробощащи предмети и елементи; движещи се части на машини и падане от височина;

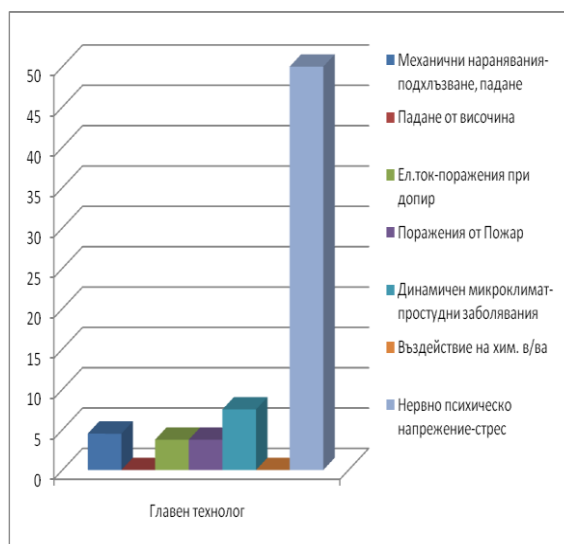
Ел. ток - поражения от ел. ток-индиректен допир;

Пожар - поражения от пожар;

Фактори на работната среда - опасност от динамичен микроклимат;

Фактори на работния процес - нервно психическо напрежение - стрес; физическо натоварване; работна поза. Тези опасности не присъстват изцяло във всички изследвани работни позиции, поради различното естество на работата.

Анализ на професионален риск на Главен технолог/ръководител „Микровинопроизводство“

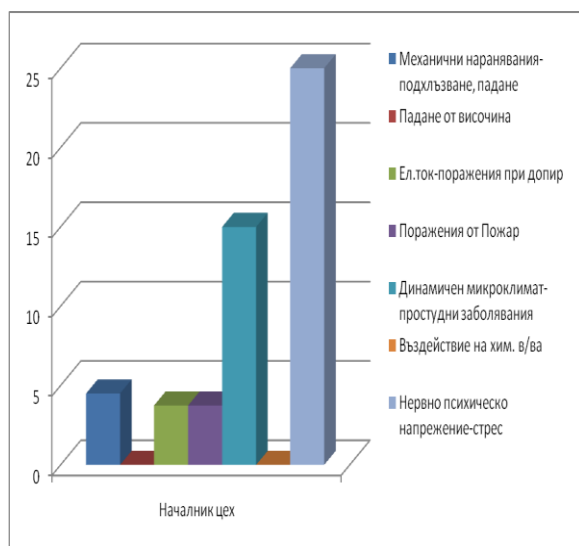


Фигура 1. Графично представяне на опасностите на позиция Главен технолог/ръководител „Микровинопроизводство“.

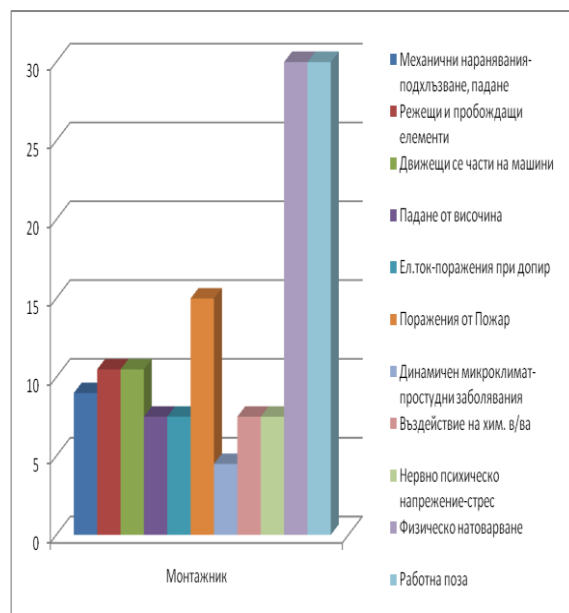
Резултатите, представени на графиката показват, че работната позиция „Главен технолог“ има за повечето опасности **първа степен – незначителен риск** и само една опасност от **степен втора**, в диапазона 20-70, което означава, че **рискът е овладян на едно приемливо ниво**, но може евентуално да се увеличи в бъдеще, което налага внимателно наблюдение за навременна реакция, ако нивото на риска се повиши.

Работната позиция „Началник цех“ има за повечето опасности ниска степен на риск от степен първа и само една от степен втора, в диапазона 20 - 70, което означава, че рискът е овладян на едно приемливо ниво, но може евентуално да се увеличи в бъдеще. Работната позиция „Началник цех“ е със средна стойност на риска, по-ниска от тази на Главния технолог, поради факта, че във фирмената йерархия тази позиция е поставена под позицията на Главен технолог и съответно носи по-малко отговорности и стрес.

Анализ на професионален риск на Началник цех

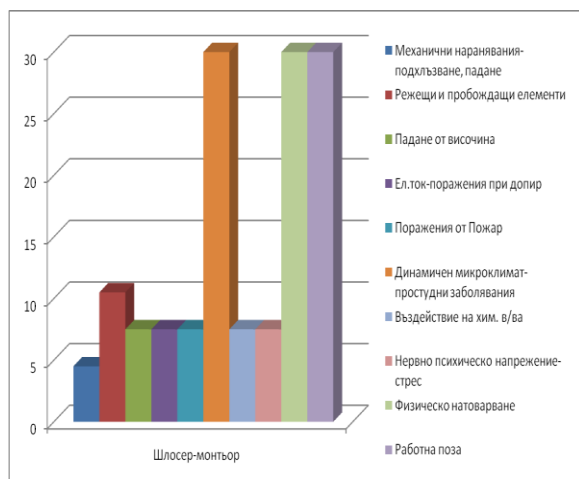


Фигура 2. Графично представяне на опасности на позиция „Началник цех”



Фигура 4. Графично представяне на опасности на позиция „Монтажник”

Анализ на професионален риск на Шлосер



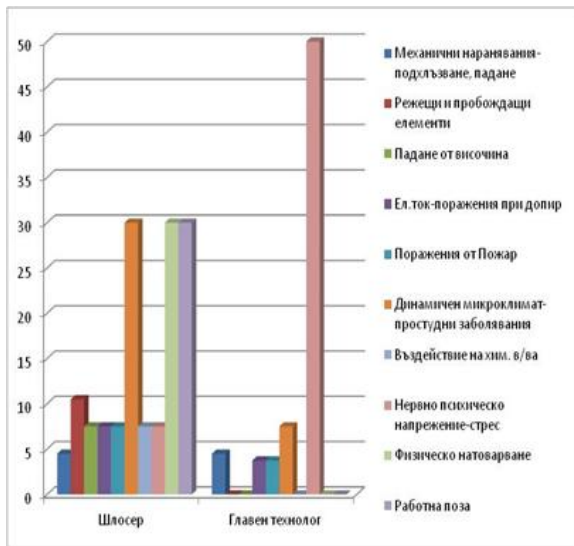
Фигура 3. Графично представяне на опасности на позиция „Шлосер”

Работната позиция „Шлосер” се характеризира с десет опасности, повечето от които са с първа степен на риск отговарящ на **незначителен риск** и три от втора степен на риск, отговаряща на **приемлив риск**. Шлосерът е изложен на много на брой и по-разнообразни по естество опасности, което изисква и повишено внимание към условията на труд, в които той работи.

Анализ на професионален риск на Монтажник

Работната позиция „Монтажник” се характеризира с единадесет опасности, повечето от които са с първа степен на риск отговарящ на **незначителен риск** и две от втора степен на риск, отговаряща на **приемлив риск**. Въпреки ниската отговорност на работната позиция, която се вижда и от ниската стойност на опасност от стрес, монтажникът е изложен на повече на брой и по-разнообразни по естество опасности, което изисква и повишено внимание към условията на труд, в които той работи.

От проведения анализ бе установено, че работните позиции „Монтажник” и „Шлосер” са с най-много на брой и разнообразни по естество опасности. По-високо ръководните позиции като „Началник цех” и „Главен технолог” са описани с опасности по-ниски по стойност и по-малко на брой, с изключение на опасността от стрес, която при „Началник цех” е максималната отчетена - със стойност 50. Прави впечатление, че отговорностите по ръководене на производствения процес изискващи задълбоченото познаване на технологичния цикъл, което е свързано с по-продължителното и специфично обучение на тези две позиции, отразено в работните им възнаграждения, не е обект на оценка на професионалния риск.



Фигура 5. Графично представяне на опасности на позиция Главен технолог/ръководител „Микровинопроиз-водство” и „Шлосер”

За да проведем изследването по метода МОЗАР първичното производството на червено вино се разглежда като система образувана от подсистеми, която се дезинтегрира на базата на функционален признак, в които се извършват операции с еднакъв характер.

Подсистема 1. Приемане на суровините
Електронен кантар; пункт за приемане на грозде, оборудван с приемни корита /гроздомелачки/.

Подсистема 2. Механична обработка
Кашоохладител; преса Willmes; Сепаратор; Филтър.

Подсистема 3. Ферментация
Ферментационни съдове/вертикални и ротавинематик/; дрожди за ферментация танин азот, храни /диамониев фосфат и амониев сулфат/; тангенциален филтър Bucher с NaOH, винена киселина; омекотител за вода; сулфитиране – дозиране на серниста киселина.

Подсистема 4. Стабилизиране
Инсталация за отвеждане на готовия продукт до избата за съхранение и стабилизация; шнекови транспортъри – за отвеждане на вторичните продукти /чепки и джибри/ до пункта за извозване.

За всяка подсистема са съставени списъци на всички източници на опасност при нормално функциониране или при повреда, които биха могли да възникнат. Опасностите могат да бъдат механични, електрически, опас-

ности от неблагоприятни фактори на работната среда или работният процес.

Таблица 1 Мрежа на опасностите в подсистема 1

Опасност	Нормална дейност	Деградирала Дейност	Коментар
A ₃ Движещи се елементи	X	X	Порязване
A ₇ Система от източници от падане от равно	X	X	Подхлъзване, загуба на равновесие
C ₁ Електричество като постоянен ток		X	Късо съединение, изгаряне
G ₁ Грешка в нормална ситуация	X	X	Мускулно неразположение, скелетно увреждане
G ₃ Опасност при работа на подсистемата	X	X	Захващане на дреха
H ₈ Неблагоприятен микроклимат	X	X	Простудни заболявания, охлаждане при продължителна работа на открито

Възможните нежелани инциденти, които могат да настъпят са:

- захващане на дреха от буталните помпи
- удар от куката на телфера
- поражение от ел. ток при незаземени помпи
- отравяне с въглероден диоксид
- подпалване на гликогена при дефект в помпите
- попадане на части от тялото в гроздомелачките

Нежелателният инцидент, който се разглежда в Сценария за нежелателно събитие за фирма „Черноморско злато” АД е инцидент с отравяне от въглероден диоксид. Този сценарий е подробно изследван и е графично представен на дървото на отказите (грешките), (Фигура 6). Определени са бариери и са разположени на дървото.

Направено е сканиране на системите по метода МОЗАР. Мрежата на нежеланите инциденти за Подсистема 1 представена в Таблица 2.

За всяка идентифицирана опасност в подсистемите са определени елементите на риска, като тежест и вероятност. Те са или приемливи, или не приемливи, в зависимост от това в коя страна на рисковата линия попадат. Тази линия показва границата между приемливи и не приемливи рискови събития. Тя е определена след консултация с технолога на фирмата.

Таблица 2 Мрежа на нежеланите събития в подсистема 1

Вид опасност	Източник на опасност	Установяване на нежелани събития
A ₃ Движещи се елементи	Механична сила (ножове)	Порязване
A ₇ Система от източници от падане от равно	Недобро сцепление (хлъзгава повърхност)	Подхлъзване, загуба на равновесие
C ₁ Електричество като постоянен ток	Електрически ток	Късо съединение, изгаряне
G ₁ Грешка в нормална ситуация	Физическо натоварване при извършване на ръчни манипулации	Мускулно неразположение, скелетно увреждане
G ₃ Опасност при работа на подсистемата	Режещи части в гроздомелачката	Захващане на дреха
H ₈ Неблагоприятен микроклимат	Динамичен микроклимат	Простудни заболявания, охлаждане при продължителна работа на открито

Граничната линия може да се измества надясно, когато ръководителят е готов да поеме събития с по-голяма тежест или когато бариерите поставени, за да предотвратят едно събитие изискват повече средства отколкото източника на опасност, за който тези бариери са предвидени, може да предостави чрез произвежданите продукти, т.е. рискът свързан с дейността се явява незначителен в сравнение с изгодата, която носи.

Диаграма 1 Мрежа на риска на Подсистема 1

V ₄						
V ₃						
V ₂						
V ₁						
V ₀						
V/T	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅

Мрежата на риска за подсистема 1 е представена в Таблица 3. Вижда се, че всички подсистеми могат да генерират опасности, които попадат в неприемливата зона на риска.

По метода на Дървото на отказите (грешките) [4], е разработено Дърво на отказите (Фигура 6), в което се изследва достигането до нежелано събитие „Отравяне с въглероден диоксид“. Този сценарий е избран след разговор с ръководителите на отделните звена. За него има данни, че е напълно възможен и вероятен в реална работна обстановка.

Таблица 3 Мрежа Тежест / Вероятност в Подсистема 1

Източник на опасност	Установяване на събитието	Тежест/Вероятност
A ₃ Движещи се елементи	Порязване	T ₃ /B ₂
A ₇ Система от източници от падане от равно	Подхлъзване, загуба на равновесие	T ₃ /B ₂
C ₁ Електричество като постоянен ток	Късо съединение, изгаряне	T ₄ /B ₂
G ₁ Грешка в нормална ситуация	Мускулно неразположение, скелетно увреждане	T ₃ /B ₂
G ₃ Опасност при работа на подсистемата	Захващане на дреха	T ₃ /B ₂
H ₈ Неблагоприятен микроклимат	Простудни заболявания, охлаждане при продължителна работа на открито	T ₃ /B ₄

На базата на така създаденото дърво са планирани и два вида бариери за предотвратяването му – технологични и организационни.

Б-1 – За да не се допусне инцидент с натрупване на опасни концентрации от въглероден диоксид в затворени съдове:

- Повишен контрол от цялостния персонал и отговорните за състоянието на резервоарите;
- Спазване на правилата за безопасна работа в затворени помещения.

Б-2 – Спазване на правилник за безопасна работа

Б-3 – Затворено помещение

- Профилактика на всичко свързано с вентилационната система и уреди работещи с ел. ток
- Поддръжка
- Ремонт
- Спазване на инструкциите

Б-4 – Контролни измервателни уреди

Осигуряване на качествени контролно-измервателни уреди за точно мерене на концентрацията на четирите основни химични съединения-кислород, въглероден диоксид, въглеводороди и метилетилови изпарения.

Б-5 – Климатични условия

- Осигуряване на подходящ микроклимат
- Оборудването да не се влияе от метеорологичните условия

Б-6 – Недостатъчна вентилация

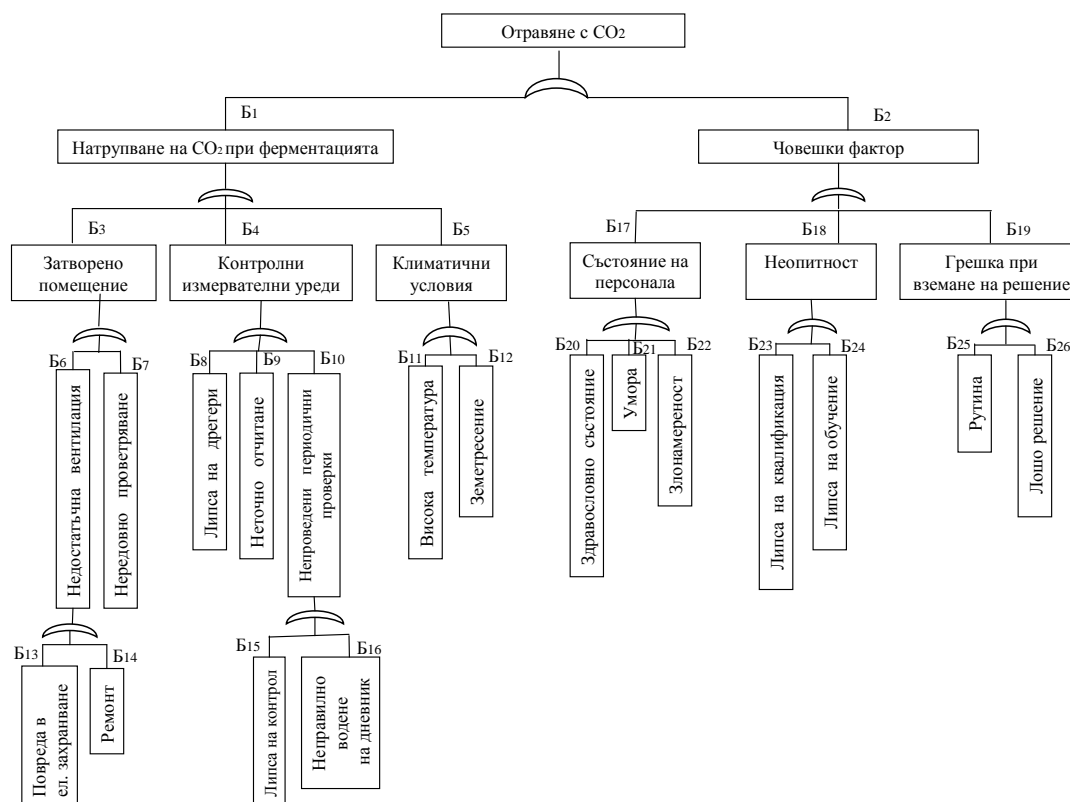
- Спазване на нормативната уредба за осигуряване на проветривост и вентилация.

Б-7 – Нередовно проветряване на помещенията

- Осигуряване на периодичност в извършване на проветряване.
- Контрол от ръководителя

- Б-8** – Липса на дрегери
- Закупуване на необходимата техника
- Б-9** – Неточно отчитане на показанията
- Опит

- Водене на технически дневник
- Ремонт



Фигура 6. Дърво на отказите за нежелано събитие „Отравяне с въглероден диоксид“

- Б-10** – Не проведени периодични проверки
- Спазване на поставени срокове за проверка
- Точността на уредите
- Контрол
- Б-11** – Висока температура
- Осигуряване на охладителна инсталация .
- Следене на показателите на микроклимата.
- Б-12** – Земетресение
- План за евакуация при бедствия и аварии
- Редовно проиграване на плана
- Б-13** – Повреда в електрическата инсталация
- Добра квалификация на персонала, отговарящ за ел. съоръженията и инструментите
- Редовни проверки на ел. инсталацията (заземяване и др.)
- Б-14** – Ремонт
- Своевременно отстраняване на възникнали повреди в електрическата и вентилационната инсталация.

- Б-15** – Липса на контрол
- осъществяване на контрол от отговорника по безопасност за правилното водене на дневника за периодични проверки на уредите
- Б-16** – Неправилно водене на дневника
- обучение на кадрите
- Б-17** – Състояние на персонала
- Периодични прегледи на здравословното състояние на персонала
- Осигуряване на почивки
- Б-18** – Неопитност
- Обучения на персонала
- Спазване на работните инструкции
- контрол
- Б-19** – Грешка при взимане на решенията
- Извършването на действията да не става автоматично
- Концентрацията на отговорното лице да е винаги на високо ниво при всяка извършвана дейност (операция)
- Б-20** - Здравословно състояние

- Следене на здравословното състояние на персонала чрез редовни профилактични прегледи
- Следене на психологическото състояние на персонала
- Да се създаде култура на здравето на персонала
- Следене за изпълнението на тези правила

Б-21 – Умора

- Почивка
- Добро хранене
- Сън

Б-22 – Злонамереност

- Периодични проверки на психологическото състояние на персонала
- Да се подобрят условията и средата на труд

Б-23 – Липса на подходяща квалификация

- Да се правят инструкции за всяка възможна ситуация и да се запознае персонала с нея
- Преди всяка извършена операция персоналят да се инструктира
- Създаване на по-ефективен режим на обучение

Б-24 – Липса на обучение

- Създаване на по-ефективен режим на обучение

Б-25 – Рутина

- Създаване на по-разнообразни действия в работния цикъл (а може би и почести, но кратки почивки)

Б-26 – Лошо решение

- Да се осигури повече обучение за неочичайни и извънредни ситуации

Изводи

В резултат на проведеното изследване и анализа на получените резултати могат да бъдат направени следните изводи:

1. Направен е анализ и оценката на професионалния риск на шест ключови работни позиции и всяка от тях е графично представена в системата: степен на риск-опасност. Отразена и анализирана е степента на риск, която всяка позиция носи. Установено е, че средното ниво на риск за работните позиции е от първа степен-незначителен риск, но има опасности със степен на риск-втора, а именно риск овладян на едно приемливо ниво, който може да се увеличи в бъдеще.

2. Работните позиции „Монтажник” и „Шлосер” са с най много на брой и разнообразни

разни по естество опасности. По-високо ръководните позиции като „Началник цех” и „Главен технолог” са описани с опасности по-ниски по стойност и по-малко на брой, с изключение на опасността от стрес, която при „Началник цех” е максималната отчетена със стойност 50. Прави впечатление, че отговорностите по ръководене на производствения процес изискващи задълбоченото познаване на технологичния цикъл, което е свързано с по-продължителното и специфично обучение на тези две позиции, отразено в работните им възнаграждения, не е обект на оценка на професионалния риск.

3. Идентифицирани и анализирани са рисковете в цех за първично винопроизводство „Черноморско злато” АД чрез системен метод /МОЗАР/. Показани са рисковете в 4-те подсистеми, а именно рисковете свързани с простуда, мускулно нараняване, пожар, стрес и др.

4. Чрез диаграмата „Тежест-Вероятност“ е установено, че всички нежелани за подсистемите събития, попадат в неприемливата зона.

5. Въз основа на разгледания сценарий – „Отравяне с въглероден диоксид” е построено дърво на отказите (грешките) и са определени технологични бариери, водещи до неутрализиране и минимизиране на рисковете в производството.

Литература

1. Маршал, В. А., 1998, Основные опасности химических производств, Москва, Изд. Мир.
2. Закон за здравословни и безопасни условия на труд, 2000 Д.В. бр. 64/4.08.
3. Наредба № 5 за реда, начина и периодичността на извършване на оценка на риска, 1999 / ДВ, бр.47.
4. Дютюи, Н., Ж. Луве, 2003, Основни понятия от теорията на логическите дървета, Първа част.

Доц. д-р инж. Петранка Пипева
 Гл. ас. д-р инж. Пламена Атанасова
 Ас. д-р инж. Сабина Недкова
 Инж. Донка Русева
 Университет „Проф. д-р Асен Златаров”, Бургас
 Катедра: „Основи на химичната технология“
 Бургас, ул. „Проф. Якимов 1”
 E-mail: pl.veleva@abv.bg



ИЗСЛЕДВАНЕ НА БЕНЗИНОВИ СМЕСИ

Йорданка Ташева, Антон Паличев, Тодор Паличев

STUDY OF GASOLINE MIXTURES

Yordanka Tasheva, Anton Palichev, Todor Palichev

ABSTRACT: *The new requirements and standard norms require continuous change in the composition of the components of contemporary gasoline blends. The authors of present article studied various gasoline blends and their exploration properties. It is established the effect of low octane gasoline fraction, MTBE and bioethanol.*

Key words: gasoline, MTBE, bioethanol, gasoline blends

Въведение

Нарастващото използване на горива получавани от преработването на нефта оказва влияние и на неговия качествен състав. Това означава, че находищата с по-леки фракции намаляват и добиването на горива за двигателите с вътрешно горене се извършва все по-трудно. От своя страна пред нефтохимичната промишленост се поставят за решаване все по-тежки проблеми, за да се произведат този тип горива. Поради тези причини в крайна сметка цените на горивата нарастват и се налага използването на алтернативни горива (природен газ, метилов и етилов спирт, растителни масла, водород, и др.). Използването на алтернативните горива се налага и от все по-сериозните норми за опазване на околната среда [1].

В днешно време голямо внимание се отделя на биогоривата и възможностите за тяхното използване за работа на двигателите с вътрешно горене. Основните горива за целта са: биометанола, биоетанола и растителните масла, от които се произвежда биодизел [2].

Трябва да се отбележи, че в Бразилия във всички видове бензин се добавя 24% алкохол, но се вземат мерки относно устойчивостта на елементите на горивната система по отношение агресивното действие на алкохолите. Фирмите Toyota, Citroen и Renault произвеждат автомобили и дават гаранции при използване на горива с добавка на етанол от 5-15% (v/v), като двигателите не са модифицирани. Трябва да се отбележи, че при работа с пови-

шено съдържание на алкохол (над 5% (v/v)) трябва да се използват масла за двигателите, които да имат подобрени характеристики [3].

В последните години фирмата Ford пусна на пазара автомобили „flexible fuel vehicles” (FFVs), които могат да работят с етанол до 85% (v/v). Тези автомобили се експлоатират в САЩ, Бразилия, Швеция, Франция, Англия и други страни, където има изградени и зарядни станции за това гориво. В САЩ държавата стимулира използването на биогорива като дава помощи от 30 000 долара за изграждане на такива станции. В Швеция автомобилите FFVs се продават с 1000 CHF, по-евтино отколкото бензиновия вариант [4].

Сериозен проблем при използването на алкохолите е увеличеното налягане на наситените пари (увеличена изпаряемост) при смесването им с бензин. Вследствие на това се увеличава количеството изпарено гориво и има възможност за образуване на парни обеми в горивните тръбопроводи. Поради тази причина в стандартите за биогорива се поставят изисквания относно налягането на наситените пари. За да се ограничи изпаряването може да се използват базови бензини с по-малка изпаряемост, което ще намали налягането на наситените пари.

Целта на настоящата статия да се изследват бензинови смеси, като се установи влиянието на отделните компоненти – МТБЕ, нискооктанова фракция и биоетанол.

Експериментална част

С цел установяване на влиянието на отделните бензинови компоненти са коумпаундирани 23 /двадесет и три/ бензинови смеси, приблизителният състав на които е представен в таблици от 1 до 24. Методиката на смесване е дадена в [5].

Таблица 1. Състав на бензинова смес 0

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	30,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0

Таблица 2. Състав на бензинова смес 1

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	28,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	1,0
5.	МТБЕ	1,0

Таблица 3. Състав на бензинова смес 2

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	27,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	2,0
5.	МТБЕ	1,0

Таблица 4. Състав на бензинова смес 3

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	26,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	3,0
5.	МТБЕ	1,0

Таблица 5. Състав на бензинова смес 4

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	25,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	4,0
5.	МТБЕ	1,0

Таблица 6. Състав на бензинова смес 5

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	30,0
2.	Каталитичен крекинг	56,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	1,0
5.	МТБЕ	1,0

Таблица 7. Състав на бензинова смес 6

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	30,0
2.	Каталитичен крекинг	55,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	2,0
5.	МТБЕ	1,0

Таблица 8. Състав на бензинова смес 7

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	30,0
2.	Каталитичен крекинг	54,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	3,0
5.	МТБЕ	1,0

Таблица 9. Състав на бензинова смес 8

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	30,0
2.	Каталитичен крекинг	53,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	4,0
5.	МТБЕ	1,0

Таблица 10. Състав на бензинова смес 9

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	30,0
2.	Каталитичен крекинг	57,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Биетанол	1,0

Таблица 11. Състав на бензинова смес 10

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	30,0
2.	Каталитичен крекинг	56,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Биетанол	2,0

Таблица 12. Състав на бензинова смес 11

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	30,0
2.	Каталитичен крекинг	55,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Биетанол	3,0

Таблица 13. Състав на бензинова смес 12

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	30,0
2.	Каталитичен крекинг	54,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Биетанол	4,0

Таблица 14. Състав на бензинова смес 13

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	30,0
2.	Каталитичен крекинг	53,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Биоетанол	5,0

Таблица 15. Състав на бензинова смес 14

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	29,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Биоетанол	1,0

Таблица 16. Състав на бензинова смес 15

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	28,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Биоетанол	2,0

Таблица 17. Състав на бензинова смес 16

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	27,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Биоетанол	3,0

Таблица 18. Състав на бензинова смес 17

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	26,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Биоетанол	4,0

Таблица 19. Състав на бензинова смес 18

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	25,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Биоетанол	5,0

Таблица 20. Състав на бензинова смес 19

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	28,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	1,0
5.	Биоетанол	1,0

Таблица 21. Състав на бензинова смес 20

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	27,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	1,0
5.	Биоетанол	2,0

Таблица 22. Състав на бензинова смес 21

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	26,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	1,0
5.	Биоетанол	3,0

Таблица 23. Състав на бензинова смес 22

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	25,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	1,0
5.	Биоетанол	4,0

Таблица 24. Състав на бензинова смес 23

№	Бензинов компонент	% (v/v)
1.	Каталитичен реформинг	24,0
2.	Каталитичен крекинг	58,0
3.	Алкилилиране	12,0
4.	Нискооктанов компонент	1,0
5.	Биоетанол	5,0

Изследването на бензиновите смеси, както и установяване на влиянието на нискооктановият бензинов компонент, МТБЕ и биоетанол беше извършено чрез определяне на основните физикохимични характеристики и експлоатационни свойства на отделните смеси, а именно дестилационни характеристики, плътност, октаново число по моторен и изследователски метод и не на последно място налягане наноситени пари по Рейд. Определянето на отделните физикохимични и експлоатационни показатели беше извършено по съответните стандарти, като за база на сравнение се използваха нормите, регламентирани в стандарта за технически изисквания на автомобилни бензини БДС EN 228:2013, както и получените експериментални данни по отношение на определяните показатели на базова бензинова смес 0.

Трябва да се отбележи, че преди използване нискооктановият компонент и бензиновият компонент от инсталация „Каталитичен кре-

кинг” бяха предварително подложени на екстракционно почистване от серни съединения с цел постигане на съдържание на сяра – 10 mg/kg.

Всички използвани бензинови компоненти, МТБЕ и биоетанол са охарактеризирани по предварително. Резултатите са представени в [6].

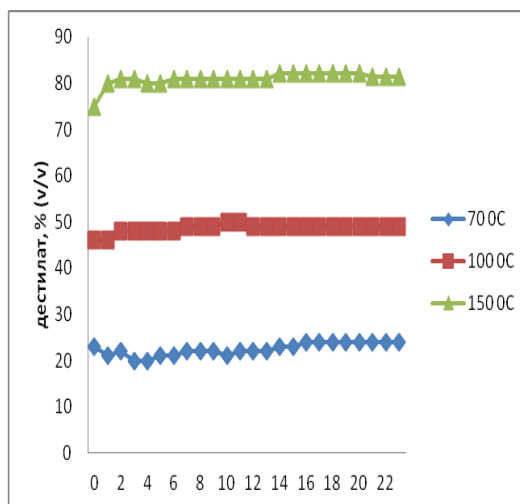
Дестилационните характеристики на бензиновите смеси са определени съгласно БДС EN ISO 3405:2011, плътността - БДС EN ISO 3675:2004, а детонационните характеристики по моторен метод - БДС EN ISO 5163:2014 и по изследователски метод - БДС EN ISO 5164:2014. Налягането на наситени пари беше измерено съгласно БДС EN 13016 - 1:2008. Част от изследванията бяха проведени в лабораторен комплекс “SGS - България” ЕООД-гр. София.

На следващите фигури е представено изменението на отделните физикохимични характеристики.

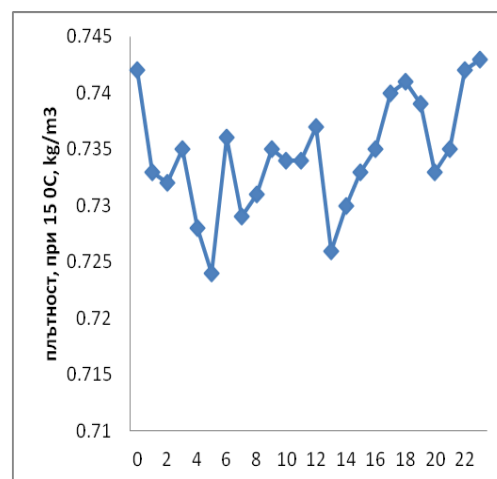
Получените експериментални резултати по отношение на дестилационните характеристики на изследваните от нас бензинови смеси /фиг. 1/ показват, че присъствието в състава на бензиновите смеси на нискооктанов компонент от 1.0 до 4.0 % (v/v), МТБЕ – 1.0% и биоетанол от 1.0 до 5.0 % не дават отражение при фракционирането на смесите, т.е не се наблюдава намаление при дестилирането на всяка отделна бензинова смес до 70 °С, 100 °С и 150 °С. Това най-вероятно се дължи на факта, че процентното отношение на биоетанол е в количество от 1 до 5 % (v/v), т.е влиянието на биоетанола върху дестилационните характеристики е слабо изразено.

Както се наблюдава от фигура 1 по-отчетливо колебание в дестилационните характеристики се открива при изследваните от нас бензинови смеси, съдържащи в по-голямо процентно количество нискооктанов компонент и МТБЕ, най-вече при количеството дестилат, което се отделя при 100 °С.

При изследване на показателя плътност при 15 °С /фиг. 2/ вследствие на по-високият обем на нискооктанов компонент се наблюдава известно понижение на показателя в сравнение с базовата бензинова смес, но трябва да се отбележи, че стандарта за технически изисквания регламентира изменение на плътността при 15 °С – 720-775 kg/m³ т.е изследваните от нас бензинови смеси отговарят на стандартните изисквания по този показател.

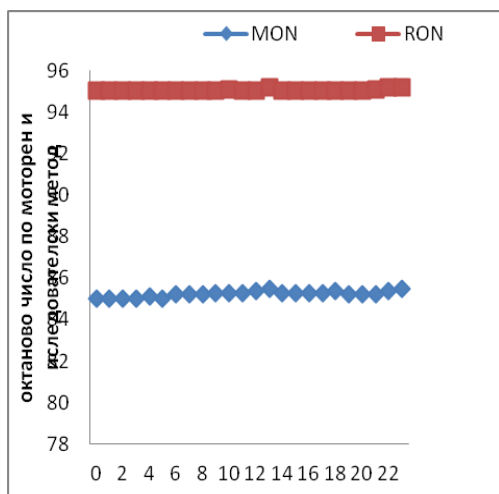


Фиг. 1. Дестилационни характеристики на изследваните бензинови смеси

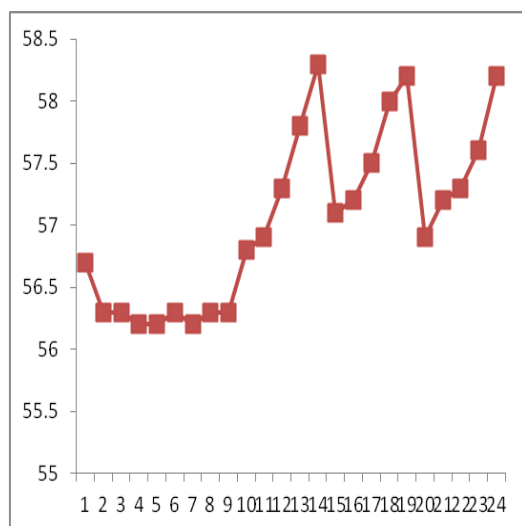


Фиг. 2. Плътност при 15 °С, kg/m³ на изследваните бензинови смеси

По отношение на получените данни за изследваните детонационни характеристики по моторен /MON/ и изследователски метод /RON/ на бензиновите смеси отразени на фиг. 3 може да се заключи, че детонационните характеристики на съставените от нас изследователски бензинови компоненти не се променят рязко и въпреки употребата на нискооктанов компонент са в нормите на стандарта за технически изисквания за автомобилен бензин А-95 Н.



Фиг. 3. Детонационни характеристики по моторен /MON/ и изследователски метод /RON/ на изследваните бензинови смеси



Фиг.4. Налягане на наситени пари по Рейд, кРа

Получените резултати за показателя налягане на наситените пари по Рейд отразени на фиг. 4 показват, че при бензиновите смеси, съдържащи нискооктанов компонент и МТБЕ, почти не се наблюдават отклонения от базовата бензинова смес 0. При бензиновите смеси съдържащи биоетанол, обаче се наблюдават максимуми в стойностите за налягане на наситени пари по Рейд при смеси, съдържащи в състава си биоетанол - 5 % (v/v). Въпреки това стойностите за този показател на изследваните бензинови смеси не надви-

шават нормите за налягане на наситени пари по Рейд.

В заключение трябва да се отбележи, че изследваните бензинови смеси са с различен компонентин и въглеродороден състав и отговарят на стандарта за технически изисквания за автомобилни бензини и Наредбата за изискванията за качеството на течните горива, условията, реда и начина за техния контрол по отношение на изследваните физико-химични показатели, а именно дестилационни характеристики, плътност при 15 °С и детонационни характеристики. Доказано е, че добавянето на биоетанол към бензиновите смеси променя налягането на наситените им пари. Установи се, че изменението на налягането на наситени пари по Рейд на смесите има максимум при съдържание на биетанол - 5 % (v/v).

Литература

- 1.Капустин В.М., Нефтяные и альтернативные топлива с присадками и добавками, Москва, 2008, с.232.
- 2.Карпов, С.А., В. М. Капустин., Старков, А. К. Автомобильные топлива с биетанолом. *М. Колос*, 2007,-216с.
- 3.Карпов, С. А., Автомобильные топлива с биетанолом. *Наука и жизнь*, 2008, №4, с. 131-133.
- 4.Карпов, С. А., Региональные аспекты производства автомобильных бензинов на основе продуктов переработки газового кондензта, *Нефтепереработка и нефтехимия*, 2006, №11, с. 14-19.
- 5.Паличев А., Дисертация за придобиване на научна и образователна степен „Доктор”, Университет „Проф. д-р А.Златаров”- Бургас, 2015

Йорданка Ташева, Антон Паличев, Тодор Паличев
 Университет „Проф. д-р Асен Златаров”- Бургас
 Катедра: „Индустириални технологии и мениджмънт”
 Адрес: 1 бул. „Проф. Якимов”, Бургас
 e-mail:jtasheva_2006@abv.bg



IMPLEMENTATION OF ECOLOGICAL DESIGN IN GREEN URBAN CONSTRUCTION

Tihomir Dovramadjiev

ПРИЛОЖЕНИЕ НА ЕКОЛОГИЧНИЯТ ДИЗАЙН В ЗЕЛЕНОТО ГРАДСКО СТРОИТЕЛСТВО

Тихомир Доврамаджиев

ABSTRACT: Sustainable ecological state of the urban environment is depending on many affecting factors of influence. For better existence of cities it is good to apply ecological design in green urban development. This creates conditions which harmonize health of urban residents and the city as a single living organism. The application of ecological design as a scientific and overall benefit practical tool is a necessity in today's globalization.

Key words: Ecological design, green urban construction, sustainability

Introduction

Essentially the ecological design in different stages of time is present and has been presented in one way or another in shaping of the urban development. Aspiration of the beautiful caused people to use different techniques and applications in shaping the private and the overall vision of cities, as well as the surrounding area. The formulation "ecological design" goes wider in recent years of XX and XXI Century [1-3].

Besides that is purely aesthetic, the implementation of ecological design in practice has its scientific reasoning in terms of protecting the environment, improving quality of life, and settle environmental conditions for this [4-9].

The design of green urban development can categorize direct interaction between ecology and design. Ecology as fully developed science and design as a combination between aesthetic vision and specific design applications and technical resources [10].

Complying urban development with environmental features and design of green areas becomes an individual and conventional principle. Based on individual characteristics, vision and solutions there are various developed concepts which form the design of residing environment. The dimensions of the area of urban functional zoning, and mutual location of the individual zones are essential [11].

The purpose of this work is studying the application of ecological design in green construction focusing on the productive implementation of certain scientific and applied techniques facilitating the building of sustainable urban environment.

Materials and methods

In shaping the image of the city through construction activities setting on the green design is essential. This includes the determination of many factors and aspects in resolving many tasks and challenges facing the design process [12-15].

When creating ecological design in green urban construction it is necessary to provide the following factors of influence: the impact of cities on the environment and environmental impact of the city as a result of climate change; characteristics of the geographical region; type of city (low urban density increases the demand on energy and resources for electricity and transport); implementation of new eco-sustainable technologies; the use of natural historical and architectural sightseeings, shaping the vision and the spiritual atmosphere of the urban environment; innovative, ecological engineering and architectural design; a strong economy, allowing large initial investment; attitude of urban residents and other specific individual and common features (mainly characterized by the region, which the city is located in).

Fig. 1 shows the scheme of environmental design as an essential component in urban development. This leads to some positive real, short-term and long-term changes in the overall appearance and existence of the urban environment, which contributes to good health state of urban residents.

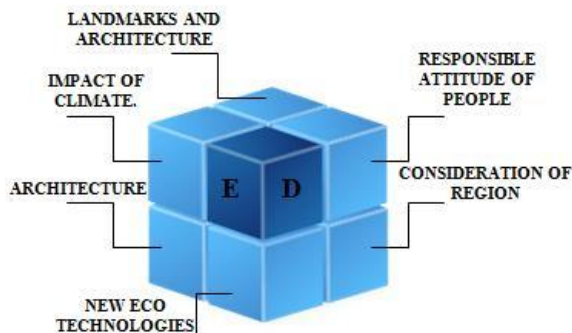


Fig. 1. The environmental design as an essential component in urban development

On the other hand the lack of a clear concept in the creation of ecological design in urban construction or general lack of it leads to: pollution of urban and wild environment; changes in regional climate, which affects human health; in some cases it leads to destruction of nature and landmarks; obstruction of logistics and transport; increased energy costs; neglecting the architectural appearance of the city;

Fig. 2 shows a diagram of a lack of environmental design as an essential component in urban development. Ignoring environmental design as a key component in construction leads to destructive consequences of the urban environment. The inadequate individual or general attitude towards construction activities contributes to the negative image and essence of the city.

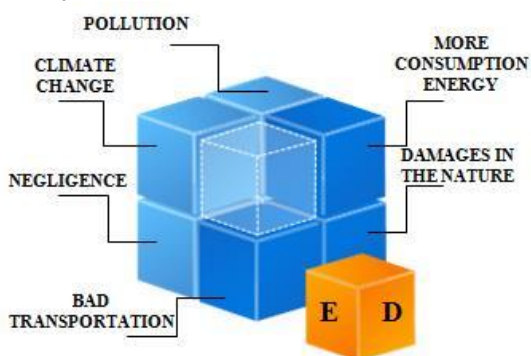


Fig. 2. Lack of environmental design as an essential component in urban development

Improving people's lives depend on well-built urban areas, which are the best possible

interoperable and harmonized with the environment areas.

Fig. 3 shows an example of the application of ecological design optimizing urban areas and environment in harmony.



Fig. 3. Application of ecological design optimizing urban areas and environment in harmony

Optimizing the urban areas and environment is done by taking concrete action through the design practices which cover many areas of science and practical techniques. Environmental protection is a priority that must comply with rapid globalization changes. Achieving an eco-harmonized worldview of people depends on many constantly changing factors and motivation of people.

Conclusion

The environmental design helps to build a harmonious ecological environment in shaping the image of the city and in particular as regards to the structure - the design execution. The environmental design incorporates scientifically proven knowledge, methods, practices, technology concepts and solutions required to solve today's challenges which accompany globalization and change.

The application of ecological design in green urban development is a necessity guaranteeing quality construction of the living environment.

Literature

1. Панкина М.В., Захарова С.В. 2013 Экологический дизайн как направление современного дизайна. Определение понятия, Электронный научный журнал - Современные проблемы науки и образования, ISSN 2070-7428, Россия.
2. Тетиор А.Н. - 2009 Социальные и экологические основы архитектурного

- проектирования (Высшее профессиональное образование), "Академия", УДК 67.23(075.8) ББК 85.11:302я73 Т37, ISBN 978-5-7695-5692-0, Москва, 240с.
3. Тетиор А.Н. 2008 Городская экология, "Академия", 3-е издание, УДК 574(075.8) ББК 20.1я73 Т37, ISBN 978-5-7695-5656-2, Москва, 336с.
4. Горохов В.А. 1991 Городское зеленое строительство, Стройиздат, ISBN 5-274-00737-6, ББК 85.118.7, Г 70 УДК, 712.4(—21)(075.8), Москва, 416с.
5. Bauer M. 2009 "Green building. Guidebook for sustainable architecture", Springer, ISBN 978-3-642-00634-0 e-ISBN 978-3-642-00635-7, Berlin, 208p.
6. Howlett R. J., Jain L.C. Lee. S. H. (Eds.) 2009, "Sustainability in Energy and Buildings", Springer, ISBN 978-3-642-03453-4, e-ISBN 978-3-642-03454-1, DOI 10.1007/978-3-642-03454-1, Berlin, 423p.
7. Маслов Н. В. 2003 Градостроительная экология, Высшая школа, 127994, Москва, 284с.
8. Лунц Л.Б. 1974 Городское зеленое строительство, Стройиздат, 2-е издание, УДК 712,4(-21)(075.8) Москва, 275с.
9. Pankina M. V., Zakharova S. V. 2013 The origins of ecological design, Russian State Vocational Pedagogical University, Yekaterinburg, Russia, UDK 745/749, Russia.
10. Глазачева А.О., Перфилова О.Е. 2012 Экологический дизайн: инструменты и критерии проектирования глобального социокультурного пространства, Вестник МГГУ им. М.А. Шолохова, Россия.
11. Александровская З. И., Букреев Е. М., Медведев Я. В., Юскевич Н. Н., 1984 Благоустройство городов, Стройиздат, ББК 38.9, Б 68, УДК 628.4(-21), Москва.
12. Rynstu S. V. D., Cowan S. 2007 Ecological Design, Island Press, Tenth Anniversary Edition, ISBN-13: 978-1-59726-140-1, ISBN-10: 1-59726-140-8, ISBN-13: 978-1-59726-141-8, ISBN-10: 1-59726-141-6, Washington, DC, 257с.
13. Hammer, S. et al., 2011, "Cities and Green Growth: A Conceptual Framework", OECD Regional Development Working Papers 2011/08, OECD Publishing, Paris.
14. Дубров А. П. 1995 Экология жилища и здоровье человека, Слово, ББК 51.21 Д 79, ISBN 5-87308-075-5, Уфа, 96с.
15. Стольберг Ф.В. 2000 Экология города, Либра, ББК 28.081я7 Э 35 УДК 504.75, ISBN 966-7035-29-8, Киев, 464с.

PhD Tihomir Dovramadjiev
 Technical University of Varna
 Department Industrial Design
 9010 Varna, str. "Studentska" N1

e-mail: tihomir.dovramadjiev@gmail.com



CREATION OF ARCHITECTURE - SUSTAINABLE LANDSCAPE DESIGN CONSISTENT WITH URBAN ENVIRONMENT

Tihomir Dovramadjiev

СЪЗДАВАНЕ НА АРХИТЕКТУРНО - ЛАНДШАФТЕН УСТОЙЧИВ ДИЗАЙН СЪОБРАЗЕН С ГРАДСКАТА СРЕДА

Тихомир Доврамаджиев

ABSTRACT: *The urban environment is made up of many elements and components making up the system of complex relationships that are in constant dynamic state. For proper functional and comfortable state of the urban environment essential role occupy its component elements such as architecture and landscape, which option is better to be synchronized in a creative and reasonable manner. The role of sustainable design in this area occupies an important place in the development of quality modeled urban environment.*

Key words: Sustainability, design, architecture, landscape, urban environment

Introduction

The modern town consists of a complex of buildings with different functions, numerous engineering facilities, roads, squares, open spaces, ponds and green plantations. Thus the city is a combination of an artificial environment and nature. Green plants apart from their visual qualities which contribute to the aesthetic appearance of the city, have a function to improve sanitary - hygienic environment. Green plants reduce wind power, regulate the thermal regime, cleanse and moisturize the air and have a huge positive impact on human health [1-3].

Because of the close relationship of architecture and landscape in the composition of the urban environment using the resources of sustainable design is a necessity. This is a result of the proper configuration of many elements and components for the specific needs of modern urban planning. Creating favorable living conditions often accompanied by high expectations of society, which as a user puts greater demands on the architectural and engineering planning and green bio protection [4-12].

This study aims to identify key conceptual features which define the importance of the sustainability of architecture - landscape design in the composition of the urban environment

Materials and methods

The construction of the urban environment is a responsibility and requires the use of different professional experiences which comply with specific geographic, climatic, natural, social, economic and other specificities and features. Creating architecture - landscape sustainable design which comply with the urban environment is a responsibility, in which the public vision is a leader. Application of certain practices is through individual and common solutions. To be able to successfully implement process of building healthy and vibrant urban environment the potential of architectural - engineering technological solutions and eco bio diversity of green plants is exploited (Fig. 1).

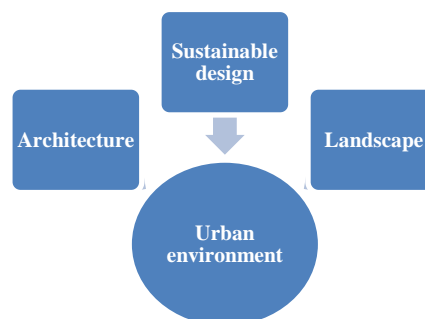


Fig. 1. Creating a strong urban environment, based on architecture - landscape sustainable design

Building architecture - landscape sustainable design complies with multiple branches to be systematized into a common forming group summarized as architectural - construction ecology [13]:

- learning the peculiarities of interaction of the natural and built environment and developing methods that help achieve ecological balance;

- preservation of historical heritage, ethnic architectural features in the introduction of new environmental technologies and solutions;

- creating high-quality, ecologically substantiated internal and external environment, using environmentally friendly materials;

- environmental monitoring (creation of environmental sensors: visual, audible and olfactory);

- approaching urban residents to the natural environment in the buildings;

- maximum use of natural renewable technologies - heating to ventilation and lighting;

- organically compounded buildings;

- utilization of underground space and inconvenient for the common construction sites for storage of natural areas;

- compliance with human ecology in the design of individual buildings, neighborhoods and population;

- bionics and nature similar architecture;

- environmental education and training of urban residents;

- maintaining the architectural development using ecological balance between settlements and nature;

- improving the quality of life and comfort of the environment in urban areas through ecological restoration of the natural environment;

- creating an attractive image of the city through environmental, technological and art resources;

- environmental optimization;

- use of eco bio buildings and facilities, architectural and technological solutions perceived by the natural environment as cognate that helps existence, rehabilitation and development of nature;

- saving resources and their sustainable consumption and regulation of waste and carbon emissions;

- use of natural and similar natural ecological materials;

- forecasting and evaluation of possible negative consequences of the construction activities;

- relevant removal of objects that harm the environment;

- ecological certification and passporting of materials, products, buildings and facilities;

- periodic analysis of sustainable urban development in progress.

Optimizing global urban environment is directly related to many factors, conditions and features.

Fig. 2 shows examples of some of the goods and services various ecosystems can provide for communities [14].

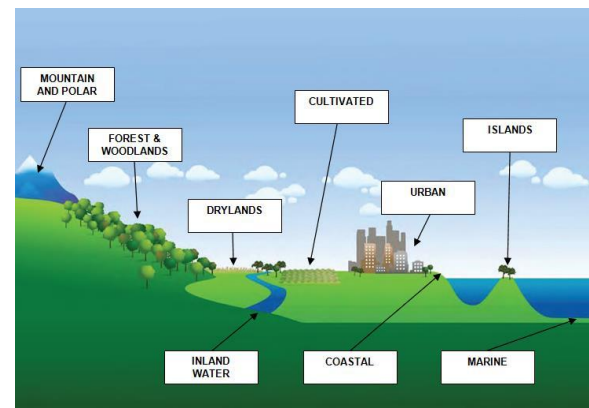


Fig. 2. Examples of some of the goods and services various ecosystems can provide for communities [14]

The location of the city is essential, both for residents and the environment. The specified ecosystem services are: global climate regulation, local climate regulation, air and water cleansing, water supply and regulation, erosion and sediment control, hazard mitigation, pollination, habitat functions, waste decomposition and treatment, food and renewable non-food products, culture benefits.

In particular, many contemporary eco-oriented cities implement and gradually introduce sustainable architecture in buildings where green plants participate equally in design.

Fig. 3 illustrates an exemplary embodiment of the application of sustainable design which builds healthy vibrant eco-system.

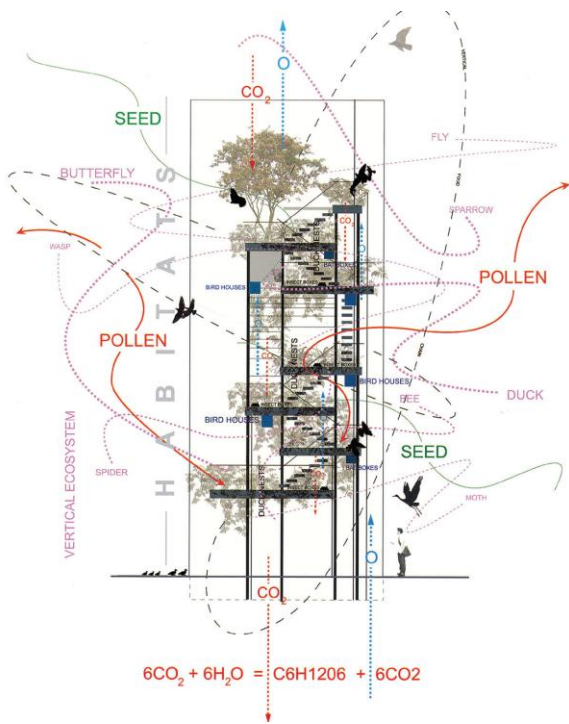


Fig. 3. Vertical Landscapes show the integration of Architecture and Landscape [15]

The role of green plantations makes up the visible part and much of the appearance of the city.

Green plants are rich in biodiversity. With good planning and correct implementation of selection the architectural - landscape design takes shape in durable good solution of ecological tasks. Green plantations affect: the architectural appearance of the city, macro and micro climate, thermal regime, air mobility, composition and purity of the air, and regulate urban noise. Fig. 4 shows the positive role of green areas in urban environments.



Fig. 4. The positive role of green areas in urban environments

The modern world offers many opportunities for planning sustainable urban environment. Technology development and the possibility of optimum use of natural resources are a resource that with careful and responsible management contributes to building a comfortable and vibrant eco urban environment.

Conclusion

The creation of architectural - landscape sustainable design consistent with the urban environment is a necessity for any society that aims at building a modern city. The positive side of this process is important to both the micro and macro regional development.

Literature

1. Лунц Л.Б. 1974 Городское зеленое строительство, Стройиздат, 2-е издание, УДК 712,4(-21)(075.8) Москва, 275с.
2. Тетиор А.Н. - 2009 Социальные и экологические основы архитектурного проектирования (Высшее профессиональное образование), "Академия", УДК 67.23(075.8) ББК 85.11:302я73 Т37, ISBN 978-5-7695-5692-0, Москва, 240с.
3. Тетиор А.Н. 2008 Городская экология, "Академия", 3-е издание, УДК 574(075.8) ББК 20.1я73 Т37, ISBN 978-5-7695-5656-2, Москва, 336с.
4. Саймондс Д.О. 1965 Ландшафт и архитектура, Издательство литературы по строительству, Москва
5. Горохов В.А. 1991 Городское зеленое строительство, Стройиздат, ISBN 5-274-00737-6, ББК 85.118.7, Г 70 УДК, 712.4(—21)(075.8), Москва, 416с.
6. Bauer M. 2009 "Green building. Guidebook for sustainable architecture", Springer, ISBN 978-3-642-00634-0 e-ISBN 978-3-642-00635-7, Berlin, 208p.
7. Маслов Н. В. 2003 Градостроительная экология, Высшая школа, 127994, Москва, 284с.
8. Александровская З. И., Букреев Е. М., Медведев Я. В., Юскевич Н. Н., 1984 Благоустройство городов, Стройиздат, ББК 38.9, Б 68, УДК 628.4(-21), Москва.
8. Rynstu S. V. D., Cowan S. 2007 Ecological Design, Island Press, Tenth Anniversary Edition, ISBN-13: 978-1-59726-140-1, ISBN-10: 1-59726-140-8, ISBN-13: 978-

1-59726-141-8, ISBN-10: 1-59726-141-6, Washington, DC, 257с.

10. Hammer, S. et al., 2011, "Cities and Green Growth: A Conceptual Framework", OECD Regional Development Working Papers 2011/08, OECD Publishing, Paris.

11. Дубров А. П. 1995 Экология жилища и здоровье человека, Слово, ББК 51.21 Д 79, ISBN 5-87308-075-5, Уфа, 96с.

12. Стольберг Ф.В. 2000 Экология города, Либра, ББК 28.081я7 Э 35 УДК 504.75, ISBN 966-7035-29-8, Киев, 464с.

13. Тетиор А.Н. - 2003 Архитектурно-строительна екология. Устойчиво строительство, Тверское книжное изд-во, Тверь, 447с.

14. Cayce B. and Chia-Hui Y.(Mayla) 2009 Standards in sustainable landscape architecture, CSD, Texas, 14p.

15. Margolis L. 2007 Living Systems: Innovative Materials and Technologies for Landscape Architecture, Birkhäuser, Basel, 33.

PhD Tihomir Dovramadjiev
Technical University of Varna
Department Industrial Design
9000 Varna, str. "Studentska" N1

e-mail: tihomir.dovramadjiev@gmail.com



ОПОЛЗОТВОРЯВАНЕ НА ОТПАДЪЧЕН ПОЛИЕТИЛЕН ТЕРЕФТАЛАТ И СУРОВ ГЛИЦЕРОЛ ПРИ ПОЛУЧАВАНЕТО НА НЕНАСИТЕНИ ПОЛИЕСТЕРИ

Никола Тодоров

UTILIZATION OF WASTE POLY(ETHYLENE TEREPHTHALATE) AND CRUDE GLYCEROL FOR PREPARATION OF UNSATURATED POLYESTER RESINS

Nikola Todorov

ABSTRACT: Utilization of waste poly(ethylene terephthalate) and crude glycerol was achieved. Glycolysis of the waste products was carried out in the presence of propylene glycol. The depolymerization was conducted in a microwave reactor at 200°C for 60 min. Water soluble fraction was separated from the obtained mixture. This fraction was used in polycondensation with maleic anhydride. The reaction was conducted by determining the acid number. Structure and thermal characteristics of the synthesized oligomers were studied with the methods of FT-IR and DTA. Compatibility of the unsaturated polyesters with styrene was determined.

Key words: poly(ethylene terephthalate), crude glycerol, recycling, unsaturated polyesters.

ВЪВЕДЕНИЕ

Ненаситените полиестерни смоли /UPER/ намират приложение в корабостроенето, автомобилостроенето, електротехниката и електрониката, строителството, за получаване на спортни, битови и санитарни уреди, мебели, както и за военни приложения. Тези видове смоли се използват при изработката на корита, душ кабинни, лодки, плувни басейни, водни резервоари и т.н. Те са бледо оцветени, доста вискозни течности, състоящи се от разтвор на полиестер и стирен. Търговските ненаситерни полиестерни смоли обикноено се получават от ненаситени полиестери на база пропилен гликол /PG/, малеинов анхидрид /MA/ и фталов анхидрид /PhA/. Когато фталовият анхидрид се замени от терефталова киселина определени свойства, като например термостабилност и химическата устойчивост се подобряват. Въпреки това, прякото използване на терефталова киселина в синтеза на ненаситени полиестери е ограничено поради висока точка на топене на терефталовата киселина и трудности при получаването, произтичащи от сублимация по време на реакцията[1]. С цел премахване на тези недостатъци в редица работи е проведена гликолиза на отпадъци от поли (етилен терефталат) (PET)[1 – 16].

Vaidya и Nadkarni [2,3] са сред първите, които систематично изучили получаването на ненаситени полиестерни смоли от продукти на PET гликолизата. Valiga и Wong [4] прове-

ли гликолиза на PET с етилен гликол в присъствие на различни катализатори. Те установили, че продуктите от гликолизата имат 1-3 повтарящи се звена в зависимост от използвания катализатор.

К. Tahvildari и др.[5] установили, че скоростта на PET гликолизата зависи изключително много от условията на процеса: деполимеризацията на PET се подобрява с увеличаване на количество на гликола/ите и времето на реакцията. Редица автори [6-15] установяват, че видът на гликолите, температурата, продължителността на гликолизата и молното съотношение гликоли/PET имат значение за физико-механичните характеристики на получените втвърдени продукти, получени от съответните полиестери.

Гликолизата на PET отпадъци с гликоли потича в присъствието на подходящи катализатори като например цинков ацетат [4,15], оловен, кобалтов или манганов ацетат [2,4] титанови съединения [16].

В литературата няма данни за провеждане на гликолиза без добавяне на катализатор. В предходни наши публикации ние описахме възможността за провеждане на гликолиза на PET със суров глицерол без да се внася катализатор[17]. Полученият продукт използвахме като изходен за получаването на ненаситени полиестери. При определяне на съвместимостта им със стирен беше установено, че тя е само 20%. Това се отрази неблагоприятно

върху физико-механичните показатели на втвърдените продукти [18].

Настоящата работа е продължение и основната цел е на базата на продукт от гликолизата на PET със суров глицерол и пропилен гликол да се получат ненаситени полиестери с подобрена съвместимост със стирен.

ЕКСПЕРИМЕНТ

Суровини и материали

Полиетилтерефталат - отпадъчен от бутилки за безалкохолни напитки, суров глицерол /CGly/, получен като страничен продукт при производството на биодизел, Фармакопеев глицерол /FGly/, Пропилен гликол, Малеинов анхидрид, Стирен, Тетрахидрофуран /THF/, 0,1n алкохолен разтвор на KOH, индикатор фенолфталеин.

Деполимеризация на PET

Деполимеризацията е проведена в микро-вълнов реактор DAEWOO KOR 6485. Претеглят се на техническа везна 25,6 g (0,133 mol) PET и се поставят в едногърлена колба с плоско дъно. Към тях се прибавят 17,76 g суров глицерол, който съдържа 0,160 mol глицерол и 8,09 g (0,106 mol) пропилен гликол. Получава се хетерогенна смес от твърд PET и течните деполимеризиращи реагенти. Загриването е с микровълни. Поддържа се температура 200°C. Процесът на деполимеризация продължава 60 min. Полученият продукт на гликолиза се етиkira като G PET.

Отделяне на водоразтворима фракция (WSF)

Продуктът на гликолиза G PET се охлажда до температура 100°C и се изсипва в 700 g предварително загрята до 90°C дестилирана вода. Разбърква се добре. Филтрува се на горещо. Филтратът се поставя в хладилник при температура 4°C. След 12 часа от водния разтвор се отделя утайка, която се филтрува, промива се с дестилирана вода с температура 4°C, суши се и се етиkira като WSF.

Синтез на ненаситени полиестери (UPE)

В колба от 500 ml се поставят 108 g WSF и 19,6 g малеинов анхидрид. Температурата се повишава постепенно от 140 до 190° C. За кинетиката на процеса се следи по изменението на киселинното число. На всеки 15 min се вземат проби и се анализират. Полиестерификацията продължава до постигане на киселинно число 50 mg KOH/g.

Получените полиестери се охлаждат до 90 °C и към тях се добавят 37,4 mg (0,045 %) хидрохинон в качеството на инхибитор за предотвратяване на втвърдяването преди употреба. Разбърква се до пълно разтваряне на хидрохинона.

Анализи

- Киселинно число. Определя се по стандарт EN 14104:2003.
- Количествен анализ на CGly. Съдържанието на глицерол, вода и пепел се определят по стандарти EN 14106:2003, EN ISO 12937:2003 и ISO 3987:1999 съответно.

Инструментални методи за анализ

- FT IR спектроскопия. Регистрацията е проведена на спектрофотометър за средната и близката инфрачервена област Nicolet iS 50 FT IR в интервал 3996 -399 см⁻¹ и резолюция 2 във вид на тънък филм върху таблетка от KBr.
- UV -VIS спектроскопия. Спектрите са регистрирани на спектрофотометър Evolution 300 UV VIS в разтвор в тетраhydroфуран в интервал 240-340 nm.
- Диференциална сканираща калориметрия /DSC/. Анализът е проведен на апарат „STA – TG-DSC/DTA F3 JUPITER” на фирмата NETZSTH – Германия в температурен интервал от 20 до 600 °C в азотна атмосфера.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Получените в настоящата работа ненаситени полиестери се различават от предходните [18] по това, че гликолизата на PET протича в присъствие не на един, а на два деполимеризиращи реагенти – суров глицерол, получен като страничен продукт при производството на биодизел и пропилен гликол, за който е известно, че подобрява съвместимостта на ненаситените полиестери със стирен.

Определени са някои основни характеристики на изходните продукти:

PET:

Молекулна маса на 1 звено, g/mol – 192
Плътност, g/cm – 1,29
Агрегатно състояние – твърди люспи
Твстъкляване – 77,8°C
Ттопене - 246,5 °C

Суров Глицерол:

Съдържание на глицерол – 82,7 wt.%
Съдържание на вода – 8,6 wt.%
Съдържание на MONG – 2,4 wt.%

Пепелно съдържание - 6,3 wt.%
Цвят – кафяв
Пропилен Гликол:
Молекулна маса – 76,09 g/mol
Агрегатно състояние – вискозна течност
Плътност – 1,04 g/cm³
Цвят – безцветен
Ткипене – 188,2°C

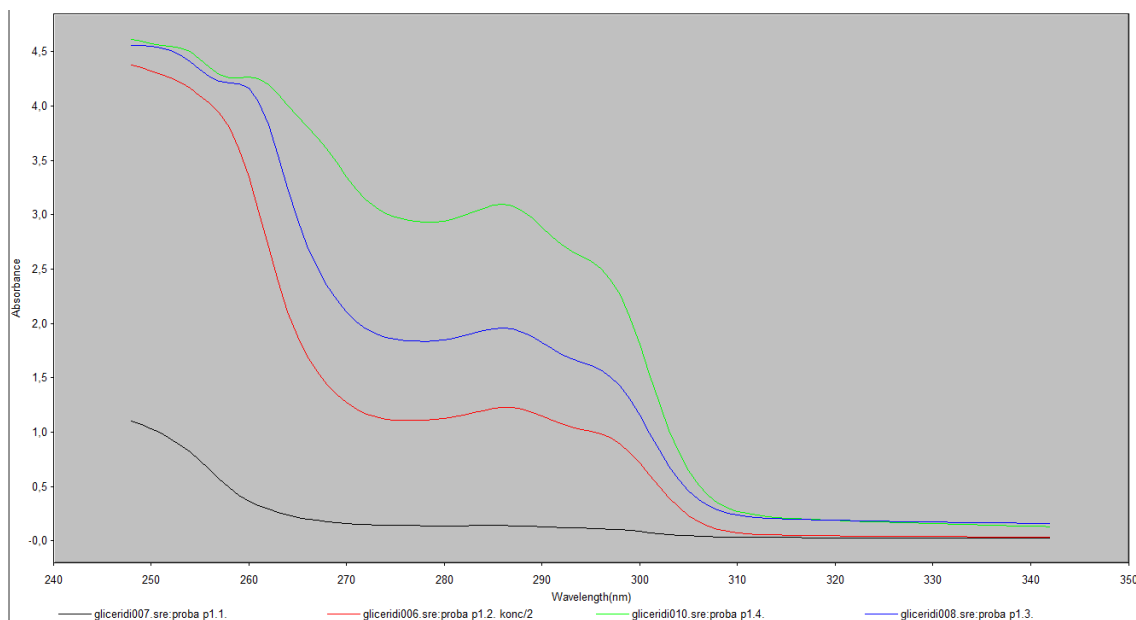
PET е охарактеризиран с метода на DSC. Установено е, че температурите на встъкляване T_g и на топене T_m на отпадъчния PET са при 77,8 и 246,5°C съответно, докато за свежия PET, T_g е при 72°C, а T_m при 253°C. Тези изменения могат да се обяснят с протичане на деструкционни и окислителни процеси в отпадъчния PET.

Суровият глицерол, с който са проведени изследванията е кафяв на цвят. По стандартизирани методи са определени съдържанието на глицерол, вода и пепел, а съдържанието на органичните съединения (без глицерол) - MONG беше изчислено по разликата: (100-(% глицерол+% вода+% пепел)). При анализа на пепелното съдържание беше установено, че това е NaCl.

Гликолизата на отпадъчния PET е проведена по описаната по-горе методика при моларно съотношение CGly/PG=3/2 и съотношение (CGly+PG)/PET=2. За протичането ѝ

онечистващо вещество в глицерола. Освен това по време на целия процес температура се поддържа до 200°C. При тези условия вторичните OH групи на глицерола не са активни.

За хода на процеса на гликолизата се следи с метода на UV-спектроскопията. Това е възможно, защото изходните продукти - отпадъчен глицерол, пропилен гликол и отделияният при гликолизата етиленгликол нямат спектър в интервал 240 до 340 nm. PET не се разтваря в THF и също няма спектър в този интервал. Гликолизата на PET започва в хетерогенна система – твърд PET и течни деполимеризиращи реагенти – суров глицерол и пропилен гликол. При регистрацията на изходната мономерна смес не се получи спектър в интервал 240 до 340 nm/Фиг.1./. С напредване на процеса, дългите молекули на PET се превръщат в по-къси. Когато молекулната маса на деполимеризирания PET стане достатъчно малка (прекурсорни мономери, димери и тримери), молекулите стават разтворими в тетраhydroфуран. В резултат на това в UV-областта се появява спектър/Фиг.1./. Пикът при 287nm (34843 cm⁻¹) съответства на π - π^* прехода на спрегнатите двойни връзки на терефталовите звена дава информация за количеството на разтворените в THF терефталови звена[17].



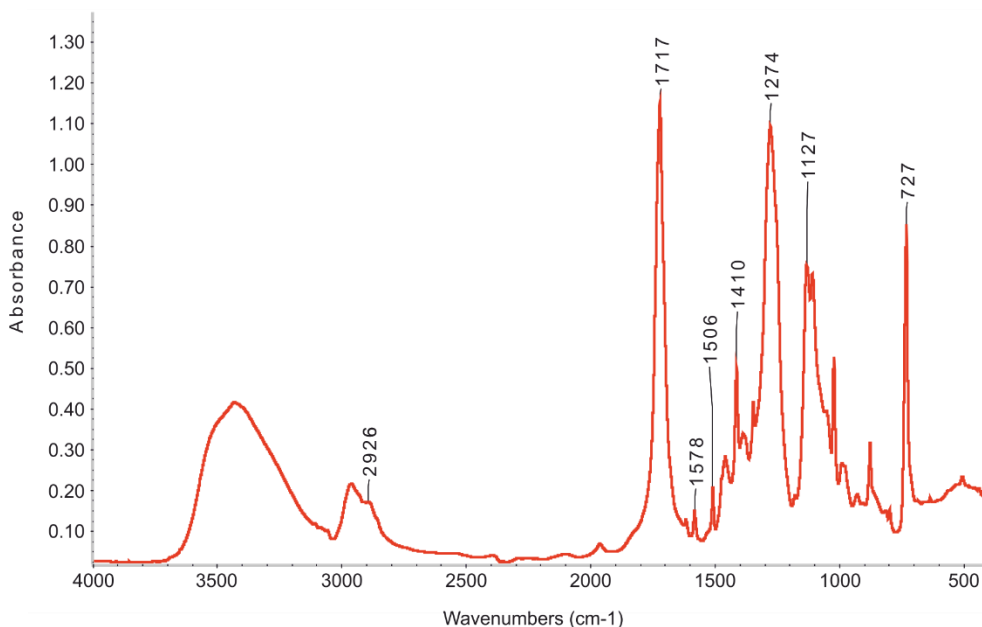
не е прибавен катализатор. В настоящата работа процесът се ускорява от NaCl, който е

Фиг. 1. UV спектри на продукти от гликолизата на PET със (CGly+PG) във 2-та(—), 20-тата(—), 30-тата (—) 50-тата и 60-тата(—) минути.

Методът за получаване на тази информация е бърз и лесен. На всеки 10 минути се вземат проби, подготвя се разтвор на пробата от течната фаза в THF с концентрация $1 \cdot 10^{-3}$ g/l и се регистрира UV спектъра в интервал от 240 до 340 nm.

Вижда се /Фиг.1/, че с напредване на процеса, интензитетът при 287 nm нараства. За целите на изследването се определя светлинната абсорбция A_{287} по метода на базовата линия. Чрез проследяване на измененията на светлинната абсорбция A_{287} във времето, беше получена информация за изменението в молекулната маса на олигомерите в течната фаза по време на гликолизата. Получаването на 2 последователни еднави спектъра е указание, че е настъпило равновесие при разглежданите условия и процесът се преустановява.

Получава се продукт на гликолиза. Той представлява сложна смес от олигомерни продукти, глицерол, пропилен гликол, етилен гликол и онечистванията на глицерола. От него се отделя водоразтворимата фракция/WSF/. За целта цялото съдържание на реактора се излива в гореща дестилирана вода. Разтворът се филтрува на горещо и се охлажда 8 h при 4°C. При тези условия настъпва разслояване – получава се бяла утайка и течна фаза, в която са разтворени невзаимодействащите глицерол и пропиленгликол, онечистванията на суровия глицерол – NaCl и MONG, и получавания в процеса на гликолиза етиленгликол. Утайка се пречиства, суши се при 60°C и се етиkira като WSF. Тя е твърдо вещество с бял цвят, по което значително се различава от продукта на гликолиза, който е кафяв.



Фиг.2. FT IR спектър на WSF, получена при гликолиза на PET със суров глицерол и пропилен гликол

С метода на гел-проникващата хроматография е определено, че средно бройната молекулна маса на WSF е 540. Структурата на WSF е изследвана с метода на IR-спектроскопията /Фиг.2. /Вижда се, че в FT IR спектъра /Фиг.2. / се наблюдават ивици за :

- терефталовите звена:
 - 3100-3030 cm^{-1} –характерно слабо интензивно поглъщава за ν \equiv (C-H)за спрегнати двойни връзки в бензеновите ядра];
 - 1717 cm^{-1} , съответстваща за ν (C=O) връзки, спрегнати с двойни връзки;

- 1578 и 1506 cm^{-1} – ν (C=C) за p-заместени бензенови ядра;
- 1274 cm^{-1} и 1127 cm^{-1} за ν_{as} и ν_{s} на връзката (C-O) в групите (C-O)C и (C-O)-H;
- 727 cm^{-1} за γ (Ar-H) при p-заместени бензенови ядра.

- Глицеролови звена:
 - 2926 cm^{-1} – с характерния слаб интензитет при хетеросъединения за ν_{as} CH_2 ,
 - 1410 cm^{-1} , съответстваща на δCH_2 в групата $\text{CH}_2\text{-O}$.
- Пропиленови звена –
 - 1384 cm^{-1} , съответстваща на δCH_3 ,

Резултатите от FT IR спектъра и гел-проникващата хроматография позволяват процесът на гликолиза да се представи със следната схема.

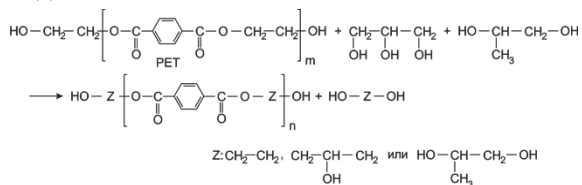


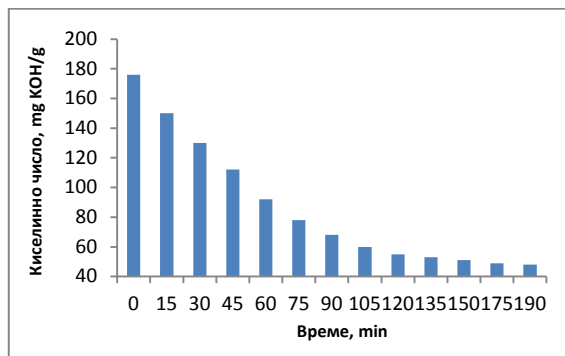
Схема 1. Гликолиза на PET със CGly и PG

Това е опростена схема на всички реакции които протичат (гликолиза, обмен, поликондензация) до постигане на равновесно състояние. На базата на резултатите от гел-проникващата хроматография и IR-спектроскопията може да се пресметне, че WSF е смес от прекурсорни олигомери, в които $n=1-4$.

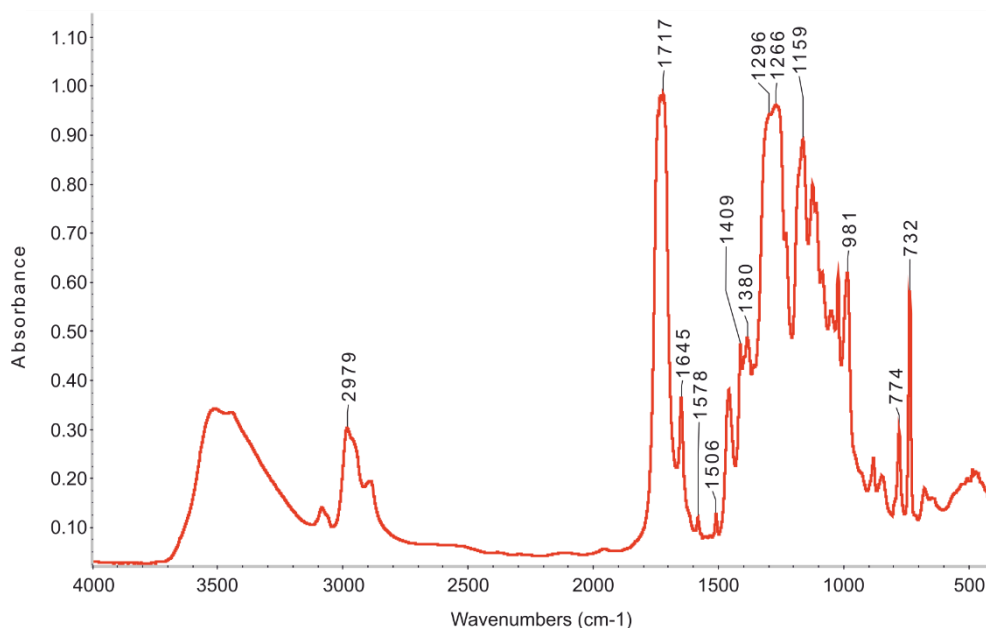
Получената WSF е използвана като изходен продукт при получаването на ненаситени полиестери. За целта е проведена поликондензация с малеинов анхидрид по описаната по-горе методика. Температурата се повишава постепенно от 140 до 190°C и се задържа

при температура 190°C до приключване на полиестерификацията. За кинетиката на процеса се съди по изменението на киселинното число. На всеки 15 min се вземат проби и се определя киселинното число по стандартизирана методика.

Кондензационната реакция се оставя да продължи, докато киселинното число достигне стойност $< 50 \text{ mgKOH/g}$. /Фиг. 3/.



Фиг. 3. Изменение на киселинното число с времето



Фиг.4. FT IR спектър на ненаситените полиестери, получени от WSF и MA

Получава се вискозен продукт със бледожълт цвят. Структурата и термичните му характеристики са изследвани с методите на FT IR/Фиг.4/ и DSC/Фиг.5/. В FT IR -спектъра /Фиг.4/се наблюдават ивици за:

●Терефталови звена:

- 1717 cm^{-1} , съответстваща на за $\nu(\text{C}=\text{O})$, с характерен висок интензитет;

- 1578 и 1506 cm^{-1} за $\nu(\text{C}=\text{C})$ в р-заместени бензенови ядра;
 - 1266 cm^{-1} и 1159 cm^{-1} за $\nu_{\text{as}}\text{C}-\text{O}$ и $\nu_{\text{s}}(\text{C}-\text{O})$ съответно в групите $(\text{C}-\text{O})-\text{C}$ и $(\text{C}-\text{O})-\text{H}$;
 - 732 cm^{-1} $\gamma(\text{Ar}-\text{H})$ за р-заместени бензенови ядра.

●Глицеролови звена:

- 2926 cm^{-1} , характеристична за $\nu_{\text{as}} \text{CH}_2$;

- 1409 cm^{-1} , съответстваща на δCH_2 в групата $\text{CH}_2\text{-O}$.

● Пропиленови звена:

- 2979 cm^{-1} , характеристична на $\nu_{\text{as}} \text{CH}_3$;

- 1380 cm^{-1} , съответстваща на δCH_3 ;

- 1296 и 1162 за $\nu_{\text{as}} \text{C-O}$ и $\nu_{\text{s}}(\text{C-O})$ съответно в групите $(\text{C-O})\text{-C}$.

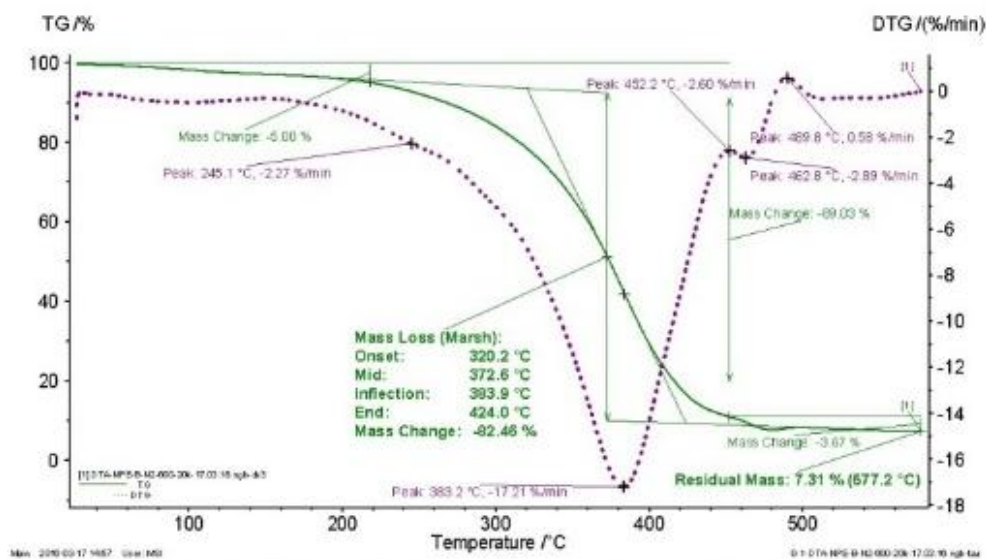
● Звена от взаимодействието на малеинов анхидрид:

- 1645 cm^{-1} , характеристична за $\nu(\text{C}=\text{C})$;

- 981 cm^{-1} и 774 cm^{-1} , съответстващи на $\gamma = (\text{C-H})$ трептения за транс и цис изомерите съответно. От интензитета на ивиците се вижда, че при условията на реакцията по-голямата част от звената са преминали в по-стабилната транс конфигурация.

Методът на IR-спектроскопията потвърждава протичането на процес на поликондензация на WSF и малеиновия анхидрид и получаването на ненаситени полиестери.

Термичните характеристики на UPE са изследвани с метода на DTA /Фиг.5/.



Фиг.5. DTA анализ на ненаситените полиестери, получени от WSF и МА

От Фиг. 5 се вижда, че термостабилността на UPE е характерната за ненаситените полиестери: до 218°C загубите в тегло са само 5%, което се дължи на някои лесно летливи компоненти. В TG кривата се виждат 2 стъпала за загуба на тегло. Първото е с максимална скорост на изгаряне при 382°C, при което се губи 82,46% от масата. Второто стъпало е в интервал 452-490°C с максимална скорост при 462°C, при което се губят 3,67% от масата. До 600°C изгарат 94 % от веществото. От фигура 5 се вижда, че синтезираните ненаситените полиестери имат характерните за ненаситените полиестери термични характеристики.

От особено значение за настоящата работа е съвместимостта на ненаситените полиестери със стирен. Прибавянето на стирен към ненаситените полиестери води до намаляване на вискозитета и улесняване на нанасянето. Освен това той се явява и омрежващ компонент за UPE и може значително да повлияе на свойствата на втвърдените продукти. Малко-

то количество стирен в ненаситените полиестери създава рядка пространствена мрежа. С нарастване на количеството на въведения в смолата стирен се създава възможност за нарастване на плътността на пространствената мрежа. Това от своя страна води до повишаване на твърдостта и водоустойчивостта на получените втвърдени продукти. При изследване на съвместимостта на синтезираните в настоящата работа ненаситените полиестери със стирен беше установено, че тя е 35 wt%. Това е значително повече от съвместимостта на синтезираните от нас полиестери в предходна работа [18], в която полиестерите бяха получени на база PET, CGly и MA. Внасянето на малки количества PG доведе до значително нарастване на съвместимостта със стирен, което създава възможност втвърдените продукти, получени от ненаситените полиестерни смоли да имат подобрени физико-механичните показатели.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получени са ненаситени полиестери на базата на два отпадъчни продукта –PET от бутилки за безалкохолни напитки и суров глицерол, получен като страничен продукт при производството на биодизел. Проведена е гликолиза на PET със смес от суров глицерол и пропилен гликол. Процесът протича успешно при температура 190 °C и продължителност 60 min при загряване в микровълнов реактор без добавяне на катализатор. От получения продукт на гликолиза е отделена водоразтворимата фракция. С методите на гел-проникващата хроматография и IR-спектроскопията е намерено, че са получени полиестерни полиоли със средно бройна молекулна маса 540. Проведена е поликондензация на WSF и малеинов анхидрид. Процесът е проследен с метода на киселинното число и протича за 190 мин, при което се получават ненаситени полиестери с вискозна медообразна консистенция. Важно е да се отбележи, че:

- независимо, че суровият глицерол е с кафяв цвят, синтезираните полиестери са бледо жълти.

- съвместимостта със стирен е 35%, което предполага подобряване на физико-механичните показатели на получените ненаситени полиестерни смоли.

Работата има екологично, научно и икономическо значение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chaeichian S, S. Pourmahdian and F. Taromi, (2008) Synthesis of Unsaturated Polyester Resins from PET Wastes: Effect of a Novel Co-catalytic System on Glycolysis and Polyesterification Reactions, *Designed Monomers and Polymers*, 11, pp.187–199.
2. Vaidya U. R. and V. M. Nadkarni, 1987, Unsaturated polyester resins from poly (ethylene terephthalate) waste 1. Synthesis and characterization, *Ind Eng Chem Res*, 26, pp.194-198.
3. Vaidya U. R. and V. M. Nadkarni, 1987, Unsaturated polyesters from PET waste: kinetics of polycondensation, *J Appl Polym Sci* 34, pp.235-245.
4. Baliga S. and W. Wong, 1989, Depolymerization of poly(ethylene terephthalate) recycled from post-consumer softdrink bottles, *J. Polym. Sci, Part A*, 27, 2071-2082.
5. Tahvildari K., Sh. Mozafari, N. Tarinsun, 2010, Chemical Recycling of Poly Ethylene Terphthalat to Obtain Unsaturated Polyester Resins, *J. Appl. Chem. Res.*, 12, 59-68.

6. Rebeiz K. S., D. W. Fowler and D. R. Paul, 1991, Recycling plastics in polymer concrete systems for engineering applications, *Polym Plast Technol Eng*, 30, pp.809-825.
7. Duque-Ingunza, I., R. López-Fonseca, B.de Rivas, J.I Gutiérrez-Ortiz, 2013, Synthesis of unsaturated polyester resin from glycolysed postconsumer PET wastes, *Journal of Material Cycles and Waste Management*, pp. 1-8.
8. Waigaonkar S., B. J. Babu, A.Rajput, 2011, Studies of unsaturated polyester resin used in FRP products, *Indian Journal of Engineering and Materials Sciences*, 18, pp.31-39.
9. Suh, D. J., O. O. Park, K. H. Yoon, 2000, The Properties of Unsaturated Polyester Based on the Glycolyzed Poly(ethylene Terephthalate) with Various Glycol Compositions *Polymer*, 41 (2): pp. 461 – 466.
10. Farahat M. S., 2002, Mechanical Characteristics of Modified Unsaturated Polyester Resins Derived from Poly(ethylene Terephthalate) Waste *Polymer International*, 51 (2): pp. 183 – 189.
11. Pimpan V., R.Sirisook, S. Chuayjuljit, 2003, Synthesis of Unsaturated Polyester Resin from Postconsumer PET Bottles: Effect of Type of Glycol on Characteristics of Unsaturated Polyester Resin, *Journal of Applied Polymer Science*, 88 (3) , pp. 788 – 792.
12. Ghaemy M. and F. Behzadi, 2002, Unsaturated Polyester from Glycolized PET Recycled from Post consumer Soft-drink Bottles, *Iranian Polymer Journal*, 11, (2), pp.77-83.
13. Viksne A, M. Kalnins, L.Rence and R. Bierzina, 2000, Unsaturated polyester resins based on the PET waste glycolysis products by ethylene, propylene and diethylene glycols and their mixtures, *Polym Recyclp*, 5, pp.15-22.
14. Viksne A, M. Kalnins, L.Rence and R. Bierzina, 2002, Unsaturated polyester resins based on the PET waste glycolysis products by ethylene, propylene and diethylene glycols and their mixtures, *The Arabian Journal for Science and Engineering*, 2, (1C), pp.33-42.
15. Chen J. W., L. W. Chen and W. H. Cheng, 1999, Kinetics of glycolysis of polyethylene terephthalate with zinc catalyst, *Polymer International*, 48 (9), pp. 885–888.
16. Troev K., G. Grancharov, R. Tsevi and I. Gitsov, 2003, A novel catalyst for the glycolysis of poly(ethylene terephthalate), *J Appl Polym Sci*, 90 (4), pp. 1148–1152.
17. Todorov, N., ECO FRIENDLY TECHNOLOGY FOR UTILIZATION OF POLYETHYLENE TEREPHTHALATE WASTES, *Science and Technologies Journal*, 2015, v.5, 4, pp.5-9.
18. Тодоров Н.С., 2015 г., Дисертация за придобиване на ОНС „доктор“.



POLYPHENOLIC CONTENT, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF LEAF EXTRACTS FROM DANDELION (*TARAXACUM OFFICINALE*)

Yulian Tumbarski, Nadezhda Petkova, Ivan Ivanov

ПОЛИФЕНОЛНО СЪДЪРЖАНИЕ, АНТИОКСИДАНТНИ СВОЙСТВА И АНТИМИКРОБНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ЕКСТРАКТ ОТ ЛИСТА НА ГЛУХАРЧЕ (*TARAXACUM OFFICINALE*)

Юлиан Тумбарски, Надежда Петкова, Иван Иванов

ABSTRACT: *Taraxacum officinale* Weber ex F.H. Wigg (dandelion) is a perennial and medicinal plant of the family Asteraceae. This herb grows in the temperate regions of the world and its leaves and roots are used as infusions and decoctions. In addition, young leaves are commonly consumed freshly as a salad. The dandelion plant has been traditionally used for improving digestion, against water retention and for curing liver diseases. Although, the antimicrobial and antioxidant properties of the various crude extracts from root of *T. officinale* have been reported, the biological activity of 50% ethanol extracts obtained from dandelion leaves were not completely investigated. Thus, the aim of the current study was to investigate the *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of 50% ethanol extracts obtained from dandelion leaves collected during the different vegetative stages. The highest radical scavenging activities possessed the polyphenolic extract obtained from *T. officinale* leaves harvest after flowering period – 1652.0 ± 19.9 mmol TE/g extract. The results from antibacterial assay showed that the ethyl acetate fraction extracted from 50% ethanol extracts inhibited the growth of some food borne pathogenic bacteria - *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. However, these extracts did not possess inhibitory effect against *Candida albicans* and *Fusarium sp.* Therefore, the current study revealed the potential of future application of dandelion leaf extracts in functional food formulation and improvement of biological activity of some food, pharmaceutical and cosmetic products.

Key words: polyphenols, antioxidant activity, antimicrobial activity, dandelion leaves, *Taraxacum officinale*.

Introduction

The medical plants have been widely used by people of all cultures to treat various diseases since ancient times. The herbs with their active compounds are still used as a source of medicine by most of the world's population (mainly in developing countries) for primary health care because of better cultural acceptability, better compatibility with the human body and fewer side effects as compared to conventional drugs.

Taraxacum officinale is an herbaceous perennial plant of the family Asteraceae, commonly called dandelion. The plant grows in temperate regions of the world, on roadsides, in lawns, on disturbed banks and shores of water ways and other areas with moist soils (Abdul Kadir et al. 2012).

Traditionally, *Taraxacum* leaves are used for food in various forms, while roots are often used as a coffee substitute. The leaves can be eaten cooked or raw for preparation of salads, tea or soups, which are recommended as a natural

source of vitamin C in the early spring. Dandelion water extract has anti-tumor and immunomodulation activity attributed to polysaccharides. The most important biologically active compounds are sesquiterpene lactones, biotin, inositol, vitamins B, D, E and phosphorous (P). The leaves possess a higher content of β -carotene than the carrots and more iron (Fe) and calcium (Ca) levels than spinach, along with macro- and microelements (Hudec et al. 2007; Abdul Kadir et al. 2012). Flavonoids and coumaric acid derivatives were also identified from dandelion flowers (Kitts et al. 2005).

In traditional medicine the plant *T. officinale* has been used for poor digestion, water retention and against liver diseases including hepatitis (due to its hepatoprotective effect). Dandelion has been used in herbal medicine as a mild laxative, for increasing of appetite and for improving of digestion. Its milky latex has been used as a mosquito repellent (Sohail et al. 2014). *T. officinale* serves mainly as a diuretic and at the same time as a cleanser of the blood and liver.

Active substances of dandelion reduce serum cholesterol and triglycerides because they intensify bile secretion. Dandelion improves the function of liver, pancreas and stomach. It is used to treat anemia, cirrhosis of the liver, hepatitis and rheumatism; possess anti-inflammatory, anti-oxidative, anti-carcinogenic, analgesic, anti-hyperglycemic, anti-coagulatory and prebiotic effects (Abdul Kadir et al. 2012).

T. officinale leaves and roots extracts have been used for hundreds of years to treat gallbladder, kidney disorders and joint problems. In some communities, *T. officinale* is used for ailments as varied as eczema and cancer. It has also been used in ancient Chinese culture to cure bacterial infections and ailments, as well. In Ghana, however, *T. officinale* is often regarded as weed and has seen very little attention in the scientific community (Lateef and Issah, 2012). The therapeutic effect of *T. officinale* and many other plant spices suggests the presence of antioxidative and antimicrobial constituents in their tissues. Antioxidants such as flavonoids, phenolic acids and terpenoids can protect the body from the formation and the disposal of free radicals and their pathological effects (Ghaima et al. 2013; Amin et al 2013). The classes of biologically active compounds of the herbs include also alkaloids, tannins, and glycosides etc., which have been established to have in vitro antimicrobial properties (Rodino et al. 2015).

In the present study, we investigate the total polyphenolic content, antioxidant activity and antimicrobial properties against some food borne pathogenic bacteria, yeasts and fungi of 50 % ethanol extracts derived from dandelion leaves (*Taraxacum officinale*).

Materials and methods

1. Materials

1.1. Extracts

Plant material: aerial parts (leaves) of wild growing population of dandelion (*Taraxacum officinale*) in Plovdiv region, Bulgaria were randomly collected during different vegetative stages: before flowering (sample 1), during flowering (sample 2) and after flowering (sample 3).

1.2. Test microorganisms

The following microorganisms from the collection of the Department of Microbiology at University of Food Technologies, Plovdiv, Bulgaria, were used: *Escherichia coli* ATCC 8739;

Bacillus subtilis ATCC 6633; *Candida albicans* (clinical isolate) and *Fusarium* sp. (plant isolate).

1.3. Culture media

1.3.1. LBG-agar medium

This agar medium was used for cultivation of the test microorganisms *E. coli*, *B. subtilis* and *C. albicans*, and for the implementation of the agar well diffusion method. For this purpose we prepared LBG medium (10 g tryptone, 5 g yeast extract, 10 g NaCl and 10 g glucose dissolved in 1L of deionized water). PH was corrected to 7.5 and then 15 g/L agar before autoclaving (for 20 min at 121°C) was added.

1.3.2. Malt extract agar (MEA)

This medium was used for cultivation of the fungus (*Fusarium* sp.). Ingredients (per 1L of deionized water): 20 g malt extract, 20 g dextrose, 6 g peptone and 15 g agar. The final pH was corrected to 5.5 and the medium was autoclaved for 10 - 15 min at 121 °C.

2. Methods

2.1. Extraction procedure

Dandelion leaves desiccated in the lab at room temperature were pulverized in a laboratory homogenizer. The powder of finely ground samples (20 g) was carefully extracted with 100 mL of n-hexane in triplicate. The dry biomass after n-hexane fractionation was extracted 3 times with 100 mL of 50% ethanol. The combined 50% ethanol extracts were evaporated to water phase and then re-extracted by addition of 100 mL ethyl acetate to obtained only polyphenolic fraction. The ethyl acetate fractions were evaporated to dryness.

2.2. Total phenolic content

Dry extract was diluted with methanol to concentration 1 mg/mL. The total phenolic content was determined using the Folin–Ciocalteu reagent. Basically, 0.2 mL extract was mixed with 1 mL Folin–Ciocalteu reagent diluted five times and 0.8 mL 7.5 % Na₂CO₃. The reaction was performed for 20 min at room temperature in darkness. Then the absorbance was measured at 765 nm against blank sample. The results were expressed in mg equivalent of gallic acid (GAE) per g extract, according to calibration curve; build in range of 0.02 - 0.10 mg/L gallic acid.

2.3. Determination of DPPH radical scavenging capacity

Radical scavenge activity – DPPH assay, mmol TE/g DW (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) was established by the following methodology: 0.15 mL of analyzed extracts were mixed with 2.85 mL freshly prepared 0.1 mmol solution of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) in methanol. The reaction was performed at 37 °C in darkness and the absorption at 517 nm was recorded after exactly 15 min against methanol. The antioxidant activity was expressed as mmol Trolox equivalents (TE) per g extract by using calibration curve, build by 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 mM 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox).

2.4. Antimicrobial assay

The antimicrobial activity of the leaf extracts from dandelion was determined by the standard agar well diffusion method.

The test bacteria and yeasts were cultured on LBG agar medium for 24 hours at 30 °C, excepting *E. coli* which was cultured at 37 °C. The fungus *Fusarium* sp. was grown on MEA at room temperature for 7 days or until sporulation.

The suspensions of test microorganisms were prepared by addition of sterile 0.5% NaCl into the tubes and vigorous shaking. After this, suspensions were collected and fungal suspension was preliminarily filtered. The concentration of the viable cells and spores in the suspensions was determined by using a Thoma's haemocytometer. The final concentration of the viable cells and spores in the suspensions for inoculation was adjusted to 1.0×10^5 cfu/mL (for fungal spores) and 1.0×10^9 cfu/mL (for bacterial and yeast's cells). Then the suspensions were inoculated in a preliminarily melted and tempered to 45-48°C LBG-agar media. The inoculated LBG-agar media were transferred in quantity of 20 mL in sterilized Petri dishes (d=10 cm) and allowed to solidify. After this, six wells (d=6 mm) per dish were cut.

The tested leaf extracts (samples) from dandelion were pipetted in quantity of 50 µL into the

agar wells in two replicates. For positive controls were used the antibiotics Ampicillin (10 µg/mL) against *E. coli* and *B. subtilis*, and Nystatin (40 µg/mL) against *C. albicans* and *Fusarium* sp. After 72 hours of incubation at the relevant conditions, the antimicrobial activity was determined by measuring the diameter of the zones of inhibition around the wells.

Microorganisms with inhibition zones of 18 mm or more were considered as sensitive; moderately sensitive were those in which the zones were from 12 to 18 mm; resistant were those microorganisms where the inhibition zones were up to 12 mm or completely missing (Todorova and Kozhuharova, 2010).

Results and discussion

In the present study traditional solvent 50% ethanol was used to extract the phytochemicals in dandelion leaves, because the values of total phenolic content and radical scavenging activity were the highest. The chlorogenic, caffeic, p-coumaric, sinapic, ferulic and chicoric acid in 50% ethanol extracts were identified in dandelion leaves. As a main component chicoric acid in concentration 3.1 g/100 g dw was evaluated (Ivanov, 2014). The results obtained for the yield of this extract, the total phenolic content and anti-radical scavenging activity measured by DPPH assay were presented in Table 1. The amount of total polyphenols ranged from 54.2 to 276.4 mg GAE/g extract. The highest total polyphenolic content and antioxidant activity were registered in extract obtain from plant collected after flowering stage (Sample 3) 276.4 ± 12.0 mg GAE/g extract and 1652.0 ± 19.9 mmol TE/g extract, respectively) (Table 1). The results showed that the amount of polyphenols in the leaf extracts of dandelion were the highest in the period after flowering, therefore, this period is considered as the most suitable for plant collection from its natural habitats and its use as a medical herb.

Table 1. The total polyphenolic content and antioxidant activity of 50 % ethanol extracts from dandelion leaves (*T. officinale*).

Sample	Yield of extract, mg /100 g	Total polyphenolic content, mg GAE/g extract	DPPH radical scavenging activity, mmol TE/g extract
1	440.0 ± 10.3	54.2 ± 2.0	204.1 ± 4.0
2	800.0 ± 12.4	147.8 ± 8.1	722.9 ± 16.6
3	960.0 ± 14.0	276.4 ± 12.0	1652.0 ± 19.9

Legend: Sample 1 – before flowering; Sample 2 - during flowering; Sample 3 – after flowering.

As seen from the results in Table 2, the leaf extracts from dandelion (*Taraxacum officinale*) collected during different vegetative stages (concentration 1 mg/mL), possessed from low to the moderate antimicrobial activity against the test microorganisms *E. coli* and *B. subtilis*. The inhibitory effect of the three leaf extracts and chicoric acid was stronger against the Gram-positive *B. subtilis*, than against the Gram-negative bacteria *E. coli*. In addition, the extracts obtained during the third vegetative period – after flowering (Sample 3) demonstrated the highest antimicrobial activity against both test microorganisms *E. coli* and *B. subtilis*. This corresponded to the highest polyphenolic content and antioxidant activity of the same dandelion extracts. The other test microorganisms - *C. albicans* and *Fusarium* sp. remained unaffected. Both positive controls (Ampicillin and Nystatin) demonstrated the greatest inhibitory activities against the tested bacteria, yeasts and fungi.

The antimicrobial activity of dandelion has also been described from some other authors. Sohail et al. (2014) reported for low to moderate antimicrobial activity of leaf extracts against the test microorganisms *E. coli* and *B. subtilis* (with zones of inhibition of 10 ± 1.2 mm and 9 ± 0.4 mm respectively), which was comparable to our results. Tetey et al. (2014) reported for a similar antimicrobial effect of three dandelion extracts (butanol, ethyl acetate and methylene chloride)

with concentration 50 mg/mL against *E. coli*, *B. subtilis* and *C. albicans*, which showed the inhibition zones ranging between 12 ± 0.5 mm and 15 ± 0.5 mm for *E. coli*, 11 ± 0.0 mm ÷ 19 ± 0.5 mm for *B. subtilis* and 14 ± 0.5 mm ÷ 20 ± 0.0 mm for *C. albicans*, as well. By carrying out a screening for antimicrobial activity of dandelion leaf extracts, Lateef and Issah (2012) found that the ethanol leaf extracts in concentration of 50, 100 and 200 mg/mL possessed moderate to strong antimicrobial effect against *E. coli* (with zones of inhibition 10.50 ± 1.00 mm, 16.00 ± 2.83 mm and 23.50 ± 1.00 mm), while the aqueous leaf extracts (in the same concentrations) demonstrated low or no effect against the same test microorganism (with zones of inhibition 00.00 ± 0.00 mm, 5.25 ± 2.83 mm and 7.50 ± 1.00 mm). The data presented in these studies showed that the higher concentrations of the ethanol extracts from dandelion (*T. officinale*) had a stronger antimicrobial effect. However, Woods-Panzaru et al. (2009) reported for the lack of antimicrobial activity of aqueous leaf and root extracts of dandelion (concentrations 130 mg/mL and 200 mg/mL, respectively) against *B. subtilis*, *E. coli*, *C. albicans* and some fungal species. This data were to confirm the limited or missing bactericidal activity of the aqueous extracts.

Table 2. Antimicrobial activity of ethanol extracts from leaves of dandelion (*T. officinale*).

Sample, 1 mg/mL	Inhibition zones, mm			
	<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>C. albicans</i>	<i>Fusarium</i> sp.
1	8.0	10.0	-	-
2	9.0	12.0	-	-
3	11.0	13.0	-	-
Chicoric acid	8.0	10.0	-	-
Ampicillin, 10 µg/mL	18.0	30.0	-	-
Nystatin, 40 µg/mL	-	-	13.0	18.0

Legend: **Sample 1** – before flowering; **Sample 2** - during flowering; **Sample 3** – after flowering; $d_{well} = 6$ mm; „-“ – no inhibition.

Conclusion

The current study revealed the great potential for utilization of *T. officinale* leaf extracts as a natural source of biologically active substance and antioxidants. In addition, their health benefits could be improved with the demonstrated moderate antibacterial activity of dandelion. The obtained results demonstrated a broad spectrum

of bioactivity of this herb. Our results showed that the amount of polyphenols, antioxidant activity and inhibitory effect against different microorganisms were the highest in the period after dandelion flowering. Therefore, this vegetative stage can be considered as the most suitable for plant collection from its natural habitats and its further use as a medical herb for human nutrition.

References

1. Abdul Kadir M. Jassim N., Farhan S. A. and Noori O. M. 2012. "Identification of Dandelion *Taraxacum officinale* Leaves Components and Study Its Extracts Effect on Different Microorganisms." *Journal of Al-Nahrain University*, 15 (3), pp. 7 – 14.
2. Amin M. M., Sawhney S.S. and Jassal M. S. 2013. "Comparative Antioxidant Power Determination of *Taraxacum officinale* by FRAP and DTPH Method". *Pharmaceutica Analytica Acta*, 4 (3), pp. 1 – 5.
3. Ghaima K. K., Hashim N. M. and Ali S. A. 2013. "Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*)." *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3 (5), pp. 096–099.
4. Hudec J., Burdova M., Komora L., Macho V., Kogan G., Turianca I., Kochanova R., Lozek O., Haban M. and Chlebo P. 2007. "Antioxidant Capacity Changes and Phenolic Profile of *Echinacea purpurea*, Nettle (*Urtica dioica* L.), and Dandelion (*Taraxacum officinale*) After Application of Polyamine and Phenolic Biosynthesis Regulators." *J. Agric. Food Chem.*, 55, pp. 5689 - 5696.
5. Ivanov I. G. 2014. "Polyphenols Content and Antioxidant Activities of *Taraxacum officinale* F.H. Wigg (Dandelion) Leaves." *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6 (4), pp. 889 – 893.
6. Kitts D. and Hu C. 2005. "Dandelion (*Taraxacum officinale*) Flower Extract Suppresses Both Reaction Oxygen Species and Nitric Oxide and Prevents Lipid Oxidation *in vitro*." *Phytomedicine*, 12, pp. 588 - 597.
7. Lateef O. A. and Issah Y. 2012. "Screening ethanolic and aqueous leaf extracts of *Taraxacum officinale* for *in vitro* bacteria growth inhibition." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 20 (20), pp. 1 – 4.
8. Rodino S., Butu A., Butu M., Cornea P. C. 2015. "Comparative studies on antibacterial activity of Licorice, Elderberry and Dandelion". *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 10 (3), pp. 947 – 955.
9. Sohail, Iqbal Z., Afzal M., Afzal A., Ur Rahman I., Shad S., Ahmed B., Anjum N., Qureshi K., Bibi A. 2014. "In vitro antibacterial study of *Taraxacum officinale* leaves extracts against different bacterial pathogenic strains." *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3 (2), pp. 15 – 17.
10. Tettey C.O., Ocloo A., Nagajyothi P.C.N. and Lee K.D. 2014. "An *in vitro* analysis of antiproliferative and antimicrobial activities of solvent fractions of *Taraxacum officinale* (Dandelion) leaf". *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4 (03), pp. 041 – 045.
11. Todorova S. and Kozhuharova L. 2010. "Characteristics and antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* strains isolated from soil." *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 26, pp. 1207 – 1216.
12. Woods-Panzaru S., Nelson D., McCollum G., Ballard L. M., Cherie Millar B., Maeda Y., Goldsmith C. E., Rooney P. J., Loughrey A., Rao J. R., Moore J. E. 2009. "An examination of antibacterial and antifungal properties of constituents described in traditional Ulster cures and remedies." *Ulster Med J.*, 78 (1), pp. 13 – 15.

Yulian Tumbariski
University of Food Technologies,
Department of Microbiology,
26 Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: tumbariski@abv.bg

Nadezhda Petkova
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: petkovanadejda@abv.bg

Ivan Ivanov
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: ivanov_ivan.1979@yahoo.com



ИЗСЛЕДВАНЕ НА ДИБРОМОБИС(БЕНЗИМИДАЗОЛ)СО(II) КОМПЛЕКС
I. МОЛЕКУЛНА СТРУКТУРА И ВИБРАЦИОНЕН АНАЛИЗ

Румяна Янкова

STUDY ON DIBROMOBIS (BENZIMIDAZOLE)Co(II) COMPLEX.
I. MOLECULAR STRUCTURE AND VIBRATIONAL ANALYSIS

Rumyana Yankova

ABSTRACT: The dibromobis(benzimidazole)Co(II) complex was obtained. The equilibrium geometry, harmonic vibrational frequencies and infrared intensities were calculated by density functional B3LYP method with the 6-31G(d,p) basis set. The experimental infrared spectrum was compared with calculated and complete vibrational assignment was provided. The scaled theoretical wavenumbers showed very good agreement with the experimental values.

Key words: dibromobis(benzimidazole)Co(II) complex, Density Functional Theory, vibrational spectra

Introduction

Benzimidazole is a bicyclic heterocycle system consisting of two nitrogen atoms and fused phenyl ring shows wide range of biological activities. Benzimidazole possess wide spectrum of biological activities like including antibacterial, antifungal, antiviral, anti-inflammatory, anticonvulsant, antidepressant, antihypertensive, analgesic, and hypoglycemic properties. The most prominent benzimidazole compound in nature is *N*-ribosyl-dimethylbenzimidazole, which serves as an axial ligand for cobalt in vitamin B₁₂ [1]. Benzimidazole derivatives exhibit a wide variety of pharmacological properties including antitumor activity [2] and inhibition of nucleic acid synthesis [3]. The complex of [Co(benzimidazole)₂Br₂] was reported [4].

The aims of this study is to calculate optimal molecular geometry, vibrational wavenumbers and various normal modes associated with of [Co(benzimidazole)₂Br₂] complex and provide complete vibrational assignment for the IR spectra.

Density functional theory calculations are reported to provide excellent vibrational frequencies of organic compounds if the calculated frequencies are scaled to compensate for the approximate treatment of electron correlation, for basis set deficiencies and for the anharmonicity [5-10].

Experimental

The [Co(benzimidazole)₂Br₂] complex was prepared according to the method outlined by Goodgame [11]. The infrared spectra were recorded on a Bruker Tensor 27 FT-IR spectrometer in the 4000 – 400 cm⁻¹ range, with the samples embedded in KBr matrixes.

Computational Methods

The full optimization of [Co(benzimidazole)₂Br₂] was carried out by Density Functional Theories (DFT) method using Gaussian 03 software [12]. It was used Becke's three parameter hybrid exchange functional with Lee–Yang–Parr correlation functional (B3LYP) [13-15] with added polarization functions– 6-31G(d,p). All calculations were converged to 10⁻⁸ a.u. The optimized structural parameters were used in the vibrational frequency calculations at the DFT level to characterize all stationary points as minima. Vibrational analysis was performed at each stationary point found, that confirm its identity as an energy minimum.

Results and Discussion

1. Geometry Optimization

It is well known that DFT methods work better for systems containing transition metal atoms. For these reasons, it was decided to use the

B3LYP level sets for analysis of [Co(benzimidazole)₂Br₂] complex.

The visualization of the optimized geometrical structure and atomic labeling of dibromobis(benzimidazole)Co(II) complex are presented in Figure 1. The optimized geometry is shown in Table 1.

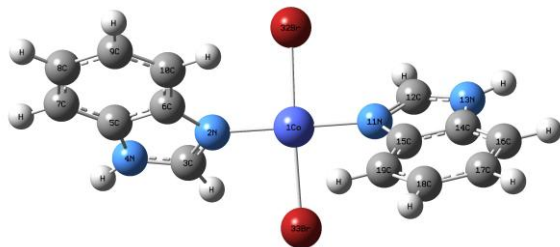


Figure 1. Optimized geometrical structure and atomic labeling of [Co(benzimidazole)₂Br₂]

Since the crystal structure of the title compound is not available till now, the optimized structure can only be compared with other similar systems for which the crystal structures have been solved. For example, the optimized bond lengths of C–C in phenyl ring fall in the range from 1.391 to 1.410 Å for B3LYP/6-31G(d,p) method which are in good agreement with those in crystal structure of aniline (1.380 – 1.403 Å) [16].

As can be seen from Figure 1, the Co atom is coordinated square-planar by two Br⁻ anions and two benzimidazole ligands. The average Co–Br and Co–N distances of 2.345(Å) and 1.923(Å) respectively are not much longer than the average corresponding distances reported for similar metal complex [17]. Also the bond distances and angles within the benzimidazole molecules are comparable to those obtained earlier for the free benzimidazole [18].

Table 1. Optimized geometrical parameters of [Co(benzimidazole)₂Br₂]

Parameters		Parameters	
Bond length (Å)		Bond angle (degree)	
Co–N ²⁽¹¹⁾	1.923	N ²⁽¹¹⁾ –C ³⁽¹²⁾ –N ⁴⁽¹³⁾	112.0
Co–Br ³²⁽³³⁾	2.345	C ³⁽¹²⁾ –N ⁴⁽¹³⁾ –C ⁵⁽¹⁴⁾	107.8
N ²⁽¹¹⁾ –C ³⁽¹²⁾	1.317	N ⁴⁽¹³⁾ –C ⁵⁽¹⁴⁾ –C ⁶⁽¹⁵⁾	105.0
C ³⁽¹²⁾ –N ⁴⁽¹³⁾	1.359	C ⁵⁽¹⁴⁾ –C ⁶⁽¹⁵⁾ –N ²⁽¹¹⁾	108.8
N ⁴⁽¹³⁾ –C ⁵⁽¹⁴⁾	1.388	C ⁶⁽¹⁵⁾ –N ²⁽¹¹⁾ –C ³⁽¹²⁾	106.3
N ²⁽¹¹⁾ –C ⁶⁽¹⁵⁾	1.395	C ⁵⁽¹⁴⁾ –C ⁷⁽¹⁶⁾ –C ⁸⁽¹⁷⁾	116.6
C ⁵⁽¹⁴⁾ –C ⁶⁽¹⁵⁾	1.410	C ⁷⁽¹⁶⁾ –C ⁸⁽¹⁷⁾ –C ⁹⁽¹⁸⁾	121.5
C ⁵⁽¹⁴⁾ –C ⁷⁽¹⁶⁾	1.396	C ⁸⁽¹⁷⁾ –C ⁹⁽¹⁸⁾ –C ¹⁰⁽¹⁹⁾	121.7
C ⁷⁽¹⁶⁾ –C ⁸⁽¹⁷⁾	1.391	C ⁹⁽¹⁸⁾ –C ¹⁰⁽¹⁹⁾ –C ⁶⁽¹⁵⁾	117.5
C ⁸⁽¹⁷⁾ –C ⁹⁽¹⁸⁾	1.410	C ¹⁰⁽¹⁹⁾ –C ⁶⁽¹⁵⁾ –C ⁵⁽¹⁴⁾	120.3
C ⁹⁽¹⁸⁾ –C ¹⁰⁽¹⁹⁾	1.389	C ⁶⁽¹⁵⁾ –C ⁵⁽¹⁴⁾ –C ⁷⁽¹⁶⁾	122.5
C ¹⁰⁽¹⁹⁾ –C ⁶⁽¹⁵⁾	1.399	N ² –Br ³² –N ¹¹ –Br ³³	11.0
Bond angle (degree)		C ³⁽¹²⁾ –N ²⁽¹¹⁾ –Co–N ¹¹⁽²⁾	-147.2
Br ³² –Co–Br ³³	167.9	C ¹⁰⁽¹⁹⁾ –C ⁶⁽¹⁵⁾ –N ²⁽¹¹⁾ –Co	-0.6
N ² –Co–N ¹¹	177.5	C ⁶ –N ² –N ¹¹ –C ¹⁵	64.6
Co–N ²⁽¹¹⁾ –C ⁶⁽¹⁵⁾	128.6	C ⁶ –N ² –N ¹¹ –C ¹²	-114.3

2. Vibrational Spectral Analysis

The vibrational spectra of [Co(benzimidazole)₂Br₂] was calculated by DFT with B3LYP functional having extended basis sets 6-31G (d,p). Frequencies recorded experimentally for [Co(benzimidazole)₂Br₂] are compared with the calculated obtained by DFT (Figure 2).

It is well known that the harmonic frequencies by DFT calculations are usually higher than the corresponding experimental quantities due to the facts of the electron correlation approximate treatment, the anharmonicity effect and basis set deficiency, etc. [19]. In order to improve the calculated values in agreement with the experimental values, it is necessary to scale down the calculated harmonic frequencies. After scaling,

the theoretical frequencies match well with the experimental ones. The experimental assignments of IR for vibrations, IR theoretical and relative intensities were reported in Table 2.

These assignments are important to understand the molecular structure of the title molecule. Any discrepancies noted between the observed and the calculated wavenumbers due to the fact that the calculations were actually performed on single (isolated) molecules in the gaseous state. Thus some reasonable deviations from the experimental values seem to be justified.

C–H vibrations: The frequency of the C–H stretching vibrations of the present case are observed at 3257 and 3140 cm⁻¹ and they are in good agreement with August et al. [20] and Bai-

ley et al. [21] The theoretically computed values for C–H stretching vibrations assigned to aromatic C–H stretch ($3212\text{--}3201\text{ cm}^{-1}$) are in excellent agreement with experimental assignments. The frequencies 1269 , 1155 , 1136 and 973 cm^{-1} are assigned to C–H in-plane bending vibrations. The theoretically calculated C–H in-plane bending vibrations are assigned in the region $1283\text{--}996\text{ cm}^{-1}$ coincides exactly with literature data [22,23]. Hence the bands at 755 , 649 and 601 cm^{-1} are assigned to give C–H out-of-plane bending vibration. The calculated C–H out-of-plane bending vibrations are assigned in the region $750\text{--}585\text{ cm}^{-1}$ also coincides exactly with literature data.

N–H vibrations: Tsuboi [24] reported the N–H stretching frequency at 3481 cm^{-1} in aniline. In the present work (N–H) stretching is assigned to the band at 3320 cm^{-1} . The theoretically calculated value by B3LYP/6-31G(d,p) at 3682 cm^{-1} shows good agreement with experimentally. The N–H in-plane bending and N–H out-of-plane bending are assigned to the bands at 1589 and 483 cm^{-1} which agrees well with Venkateswaran and Pandya [25] and Evans [26]. The calculated values for N–H in-plane bending and N–H out-of-plane bending are 1562 and 483 cm^{-1} .

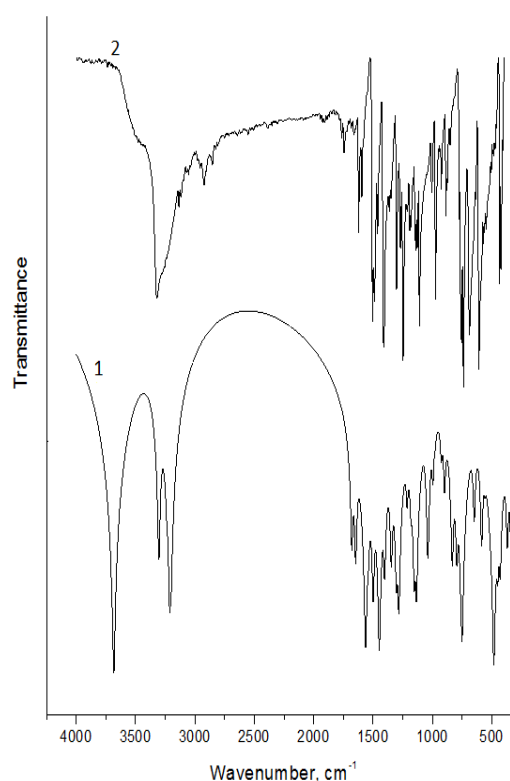


Figure 2. IR spectrum of $[\text{Co}(\text{benzimidazole})_2\text{Br}_2]$, 1 – calculated, 2 – experimental

Table 2. Some experimental and calculated characteristic frequencies (cm^{-1}), IR intensity and probable assignments of $[\text{Co}(\text{benzimidazole})_2\text{Br}_2]$

Calculated frequencies	I_{Abs}	Experimental frequencies	Assignments	Calculated frequencies	I_{Abs}	Experimental frequencies	Assignments
3682	155	3320 <i>s</i>	$\nu_{(\text{N-H})}$	1152	24	1155 <i>m</i>	$\nu_{(\text{C-H})}$ <i>ipb</i>
3212	34	3257 <i>vw</i>	$\nu_{(\text{C-H})}$ <i>ipb</i>	1134	26	1136 <i>s</i>	$\nu_{(\text{C-H})}$ <i>ipb</i>
3201	12	3140 <i>w</i>	$\nu_{(\text{C-H})}$ <i>ipb</i>	996	2	973 <i>m</i>	$\nu_{(\text{C-H})}$ <i>ipb</i> , <i>Rband</i>
1678	7	1748 <i>m</i>	$\nu_{(\text{C=C})}$, <i>Rband</i>	750	66	755 <i>s</i>	$\nu_{(\text{C-H})}$ <i>opb</i>
1646	11	1621 <i>s</i>	$\nu_{(\text{C=C})}$, <i>Rband</i>	648	2	649 <i>w</i>	$\nu_{(\text{C-H})}$ <i>opb</i> , <i>Rband</i>
1562	116	1589 <i>m</i>	$\nu_{(\text{N-H})}$ <i>ipb</i>	585	7	601 <i>s</i>	$\nu_{(\text{C-H})}$ <i>opb</i> , <i>Rband</i>
1540	4	1504 <i>s</i>	$\nu_{(\text{C=N})}$, <i>Rband</i>	483	123	483 <i>m</i>	$\nu_{(\text{N-H})}$ <i>opb</i>
1499	21	1487 <i>m</i>	$\nu_{(\text{C=C})}$, <i>Rband</i>	449	17	435 <i>s</i>	<i>Rband ipb</i>
1447	96	1462 <i>s</i>	<i>Rband</i>	429	13	431 <i>s</i>	<i>Rband opb</i>
1402	12	1409 <i>s</i>	<i>Rband</i>	369	10	–	$\nu_{(\text{Co-N})}$
1303	20	1301 <i>s</i>	$\nu_{(\text{C=N})}$	299	14	–	$\nu_{(\text{Co-Br})}$
1283	43	1269 <i>s</i>	$\nu_{(\text{C-H})}$ <i>ipb</i>				

Scale factors of 0.9613 for calculated frequencies with B3LYP/6-31G(d,p)

s - strong; *m* - medium; *w* - weak; *vw* - very weak

ν - stretching; *Rband* – ring deformation; *ipb* – in-plane bending; *opb* – out-of-plane bending

I_{Abs} -Theoretical infrared intensities

C=N, C–N vibrations: The identification of the C–N stretching frequency is a difficult task since there are problems in identifying these frequencies from other vibrations. Pinchas et al. [27] assigned the C–N stretching band at 1368 cm^{-1} in benzamide. Kahovec and Kohlreusch [28] identified the stretching frequency of the C=N band in salicylic aldoxime at 1617 cm^{-1} . Referring to the above workers, the bands at 1301 cm^{-1} and 1504 cm^{-1} are assigned to C–N and

C=N stretching, respectively. The theoretically computed values are 1303 and 1562 cm^{-1} .

Carbon vibrations: The vibrational frequencies at 1748 , 1621 and 1504 cm^{-1} are assigned to C=C stretching. The theoretically computed values are 1678 , 1646 and 1499 cm^{-1} , respectively. The vibrational frequencies at 1462 , 1409 , 435 and 431 cm^{-1} are assigned to C–C stretching. The theoretically computed values are 1447 , 1402 , 449 and 429 cm^{-1} .

Co-N and Co-Br vibrations: The vibrational frequencies at 369 and 299 cm^{-1} are theoretically assigned to Co-N and Co-Br stretching.

Conclusion

The equilibrium geometries and harmonic frequencies of dibromobis(benzimidazole)Co(II) complex were determined and analysed at DFT level of theory utilizing 6-31G(d,p) basis set. The difference between the observed and scaled wavenumber values of most of the fundamentals is very small. Any discrepancy noted between the observed and the calculated frequencies may be due to the fact that the calculations have been actually done on a single molecules in the gaseous state contrary to the experimental values recorded in the presence of intermolecular interactions. Therefore, the assignments made at higher levels of theory with only reasonable deviations from the experimental values, seem to be correct.

References

1. Barker, H. A., R. D. Smyth, H. Weissbach, J. I. Toohey, J. N. Ladd, and B. E. Volcani. 1960. Isolation and Properties of Crystalline Cobamide Coenzymes Containing Benzimidazole or 5,6-Dimethylbenzimidazole. *Journal of Biological Chemistry*, 235, 480–488.
2. Spasov, A. A., I. N. Yozhitsa, L. I. Bugaeva, V. A. Anisimova, 1999. Benzimidazole derivatives: Spectrum of pharmacological activity and toxicological properties (a review). *Pharmaceutical chemistry Journal*, 33(5), 232–243.
3. Bucknall, R. A., S. B. Carter. 1967. A reversible inhibitor of nucleic acid synthesis. *Nature*, 213, 1099–1101.
4. Yurdakul, Ş., M. Kurt. 2003. Vibrational spectroscopic studies of metal (II) halide benzimidazole. *Journal of molecular structure*, 650, 181–190.
5. Lee, Sang Yeon, Bong Hyun Boo. 1996. Molecular structure and vibrational spectra of 9-fluorenone density functional theory study. *Bull. Korean Chem. Soc*, 17, 760–764.
6. Lee, Sang Yeon, Bong Hyun Boo. 1996. Density functional theory study of vibrational spectra of anthracene neutral and radical cation. *Bull. Korean Chem. Soc*, 17.8, 755.
7. Devlin, F. J., J. W. Finley, P. J. Stephens, M. J. Frisch. 1995. Ab initio calculation of vibrational absorption and circular dichroism spectra using density functional force fields: a comparison of local, nonlocal, and hybrid density functionals. *The Journal of Physical Chemistry*, 99(46), 16883–16902.
8. Handy, Nicholas C., Christopher W. Murray, Roger D. Amos. 1993. Study of methane, acetylene, ethene, and benzene using Kohn-Sham theory. *The Journal of Physical Chemistry*, 97.17, 4392–4396.
9. Handy, N. C., P. E. Maslen, R. D. Amos, J. S. Andrews, C. W. Murray, G. J. Laming. 1992. The harmonic frequencies of benzene. *Chemical physics letters*, 197(4), 506–515.
10. Sundaraganesan, N., S. Ilakiamani, H. Saleem, P. M. Wojciechowski, D. Michalska. 2005. FT-Raman and FT-IR spectra, vibrational assignments and density functional studies of 5-bromo-2-nitropyridine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 61(13), 2995–3001.
11. Goodgame, Margaret, F. A. Cotton. 1962. Preparation and Magnetic and Spectral Studies of Some Cobalt (II) Complexes of Benzimidazole. *Journal of the American Chemical Society*, 84, 1543–1548.
12. Gaussian 03, Revision B.04, Frisch, M.J., G.W.Trucks, H.B.Schlegel, G.E.Scuseria, M.A.Robb, J.R.Cheeseman, J.A.Montgomery Jr.,T.Vreven, K.N.Kudin, J.C.Burant, J.M.Millam, S. S.Iyengar, J.Tomasi, V.Barone, B.Mennucci, M.Cossi, G.Scalmani, N.Regga, G.A.Petersson, H.Nakatsuji, M.Hada, M.Ehara, K.Toyota, R.Fukuda, J.Hasegawa, M.Ishida, T.Nakajima, Y.Honda, O.Kitao, H.Nakai, M.Klene, X.Li, J.E.Knox, H.P.Hratchian, J.B.Cross, V.Bakken, C.Adamo, J.Jaramillo, R.Gomperts, R.E.Stratmann, O.Yazyev, A.J.Austin, R.Cammi, C.Pomelli, J.W.Ochterski, P.Y.Ayala, K.Morokuma, G.A.Voth, P.Salvador, J.J.Dannenberg, V.G.Zakrzewski, S.Dapprich, A.D.Daniels, M.C.Strain, O.Farkas, D.K.Malick, A.D.Rabuck, K.Raghavachari, J.B.Foresman, J.V.Ortiz, Q.Cui, A.G. Baboul, S.Clifford, J.Cioslowski, B.B.Stefanov, G.Liu, A.Liashenko, P.Piskorz, I.Komaromi, R. L.Martin, D.J.Fox, T.Keith, M.A.Al-Laham, C. Y.Peng, A.Nanayakkara, M.Challacombe, P.M. W.Gill, B.Johnson, W.Chen, M.W.Wong, C. Gonzalez, J.A.Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
13. Lee, C. T., W. T. Yang, R. G. Parr. 1988. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev.*, B 37, 785–789.
14. Becke, A. D. 1993. Densityfunctional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.*, 98, 5648–5652.

15. Parr, R. G., W. Yang. 1989. Density-functional theory of atoms and molecules. *Oxford university press*.
16. Palafox, M. A., J. L. Nunez, M. Gil. 2002. Accurate scaling of the vibrational spectra of aniline and several derivatives. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 593.1, 101–131.
17. Şahin, E., S. Ide, M. Kurt, Ş. Yurdakul. 2002. Structural investigation of dibromobis (benzimidazole) Zn (II) complex. *Journal of molecular structure*, 616(1), 259–264.
18. Dik-Edixhoven, C.J., H. Schenk, H. Van der Meer. 1973. *Cryst. Struct. Commun.* 2, 23.
19. Karabacak, M., M. Çınar, M. Kurt. 2008. An experimental and theoretical study of molecular structure and vibrational spectra of 2-chloronicotinic acid by density functional theory and ab initio Hartree–Fock calculations. *Journal of Molecular Structure*, 885(1), 28–35.
20. August, W. R., C. K. Ingold, A. H. Lee-chie. 1936. *J. Chem. Soc.* 925.
21. Bailey, C. R., S. C. Carson, R. R. Gordon, C. K. Ingold. 1946. Structure of benzene. Part XIX. The infrared spectra of 1:4-dideuterobenzene and 1:2:4:5-tetradeuterobenzene: description and analysis. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 63, 288–299.
22. Mooney, E. F. 1964. The infrared spectra of chlorobenzene and bromobenzene derivatives—III. Toluenes. *Spectrochimica Acta* 20.9, 1343–1348.
23. Joshi, G., N. L. Singh. 1967. Infrared absorption spectrum of orthofluorotoluene. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy* 23.5, 1341–1344.
24. Tsuboi, M. 1960. 15 N isotope effects on the vibrational frequencies of aniline and assignments of the frequencies of its nh 2 group. *Spectrochimica Acta*, 16.4, 505–512.
25. Venkateswaran, C. S., N. S. Pandya. 1942. The Raman spectra of organic compounds: aniline. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section A.*, 15(5). Springer India, 390–395.
26. Evans, J. C. 1960. The vibrational assignments and configuration of aniline, aniline-NHD and aniline-ND 2. *Spectrochimica Acta*, 16.4, 428–442.
27. Pinchas, S., David Samuel, Marta Weiss-Brodsky. 1961. The infrared absorption of 18 O-labelled benzamide. *Journal of the Chemical Society*, 1688–1692.
28. Kahovec, L., K. W. F. Kohlrausch. 1941. Studien zum Raman-Effekt. *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly*, 74.1, 104–117.

Румяна Златинова Янкова
 Университет „Проф. д-р Асен Златаров“
 Катедра „Неорганична и аналитична химия“
 e-mail: r_iankova@yahoo.com



ИЗСЛЕДВАНЕ НА ДИБРОМОБИС(БЕНЗИМИДАЗОЛ)Co(II) КОМПЛЕКС
II. АНАЛИЗ НА ЕСТЕСТВЕНИТЕ МОЛЕКУЛНИ ОРБИТАЛИ

Румяна Янкова

STUDY ON DIBROMOBIS(BENZIMIDAZOLE) Co(II) COMPLEX.
II. NATURAL BOND ORBITAL (NBO) POPULATION ANALYSIS

Rumyana Yankova

ABSTRACT: The molecular structure of dibromobis(benzimidazole)Co(II) complex was calculated by Density Functional Theory (DFT/B3LYP) method with 6-31G(d,p) basis set. The bond orders and the electronic properties of the molecule were calculated. The natural bond orbital analysis (NBO) was performed in order to study the intramolecular bonding interactions among bonds and delocalization of unpaired electrons. The calculated highest occupied molecular orbital (HOMO) and lowest unoccupied molecular orbital (LUMO) with frontier orbital gap were presented.

Key words: dibromobis(benzimidazole)Co(II) complex, Density functional theory, Natural bond orbital, electronic properties

Introduction

Benzimidazole derivatives play important role in medical field with so many Pharmacological activities such as antimicrobial, antiviral, anti-diabetic and anticancer activity. The benzimidazole ring is an important pharmacophore in modern drug discovery. Attention has been increasingly given to the synthesis of benzimidazole derivatives as a source of new antimicrobial agents [1].

The complexes of transition metal salts with benzimidazole derivatives were studied as models of some important biological molecules [2]. Metal complexes of biologically important ligands are more effective than free ones [3].

The objective of the present work is to investigate the nature of bonding in an dibromobis-(benzimidazole)Co(II) complex, by using natural bond orbital (NBO) analysis. It was shown that the results from NBO calculations can provide the detailed insight into the electronic structure of molecule.

Computational Methods

The full optimization of [Co(benzimidazole)₂Br₂] was carried out by Density Functional Theories (DFT) method using Gaussian 03 software [4]. It was used Becke's three parameter hybrid exchange functional with Lee–Yang–Parr

correlation functional (B3LYP) [5-7] with added polarization functions – 6-31G(d,p). All calculations were converged to 10⁻⁸ a.u. Vibrational analysis was performed at each stationary point found, that confirm its identity as an energy minimum. The population analysis has also been performed by the natural bond orbital method [8] at B3LYP/6-31G(d,p) level of theory using NBO program [9] under Gaussian 2003 program package.

Natural bond orbital analysis stresses the role of intermolecular orbital interaction in the complex, particularly charge transfer. This is carried out by considering all possible interactions between filled donor and empty acceptor orbitals and estimating their energetic importance by second-order perturbation theory. For each filled orbital of the donor (Φ_i) and the empty orbital of the acceptor (Φ_j), the stabilization energy ($\Delta E_{ij}^{(2)}$) associated with electron delocalization between donor and acceptor and it is calculated by equation (1) [10],

$$\Delta E_{ij}^{(2)} = q_i \frac{\langle \phi_i | F_{ij} | \phi_j \rangle^2}{\epsilon_j - \epsilon_i}, \quad (1)$$

where q_i is the donor orbital occupancy, ϵ_i and ϵ_j are NBO energies, F_{ij} is Fock matrix element between the i and j NBO orbitals. NBO analysis reveals the intra- and intermolecular interactions; it is one of the appropriate methods for investigating hyperconjugative interactions.

Results and Discussion

The equilibrium geometry was determined by the energy minimization. The ground state optimized geometrical structure and atomic labeling of [Co(benzimidazole)₂Br₂] are shown in Figure 1.

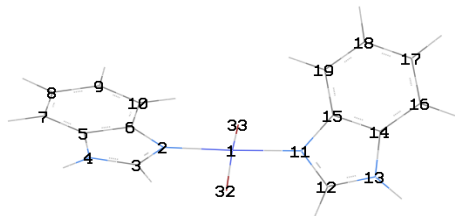


Figure 1. The optimized equilibrium structure of [Co(benzimidazole)₂Br₂] and the numbering of atoms

The Natural Bond Orbital (NBO) analysis of [Co(benzimidazole)₂Br₂], has provided the detailed insight into the nature of electronic conjugation between the bonds in this molecule. Table 1 collects the natural charges on atoms and the order of the bonds in the investigated compound.

Table 1. The NBO atomic charges and bond orders of [Co(benzimidazole)₂Br₂], calculated by the B3LYP method with 6-31G(d,p) basis set

Atom	Natural charges	Bond	Bond order
Co ¹	0.643	Co ¹ -N ²⁽¹¹⁾	0.721
Br ³²⁽³³⁾	-0.492	Co ¹ -Br ³²⁽³³⁾	1.224
N ²⁽¹¹⁾	-0.534	N ²⁽¹¹⁾ -C ³⁽¹²⁾	1.617
N ⁴⁽¹³⁾	-0.565	C ³⁽¹²⁾ -N ⁴⁽¹³⁾	1.368
C ³⁽¹²⁾	0.263	N ⁴⁽¹³⁾ -C ⁵⁽¹⁴⁾	1.221
C ⁶⁽¹⁵⁾	0.130	C ⁵⁽¹⁴⁾ -C ⁶⁽¹⁵⁾	1.271
C ⁵⁽¹⁴⁾	0.128	C ⁶⁽¹⁵⁾ -N ²⁽¹¹⁾	1.239
C ⁷⁽¹⁶⁾	-0.265	C ⁵⁽¹⁴⁾ -C ⁷⁽¹⁶⁾	1.381
C ⁸⁽¹⁷⁾	-0.232	C ⁷⁽¹⁶⁾ -C ⁸⁽¹⁷⁾	1.523
C ⁹⁽¹⁸⁾	-0.245	C ⁸⁽¹⁷⁾ -C ⁹⁽¹⁸⁾	1.421
C ¹⁰⁽¹⁹⁾	-0.218	C ⁹⁽¹⁸⁾ -C ¹⁰⁽¹⁹⁾	1.532
		C ¹⁰⁽¹⁹⁾ -C ⁶⁽¹⁵⁾	1.356

Table 2. Second-order interaction energy ($E^{(2)}$, kcal/mol) between donor and acceptor orbitals in [Co(benzimidazole)₂Br₂]

Donor NBO (i)	ED (i)/e	Acceptor NBO (j)	ED (j)/e	$E^{(2)}$ kcal/mol	$E(j) - E(i)$ a.u.	$F(i,j)$ a.u.
n1 N ¹¹	0.877	n6 [*] Co ¹	0.105	36.90	0.50	0.175
n1 N ¹¹	0.877	n8 [*] Co ¹	0.062	13.32	0.68	0.125
n1 N ¹³	0.802	π^* N ¹¹ -C ¹²	0.198	29.52	0.26	0.111
n1 N ¹³	0.802	π^* C ¹⁴ -C ¹⁵	0.233	15.92	0.31	0.090
π^* N ¹¹ -C ¹²	0.198	π^* C ¹⁴ -C ¹⁵	0.233	16.71	0.05	0.053
π^* C ¹⁴ -C ¹⁵	0.233	π^* C ¹⁸ -C ¹⁹	0.146	60.23	0.02	0.082
π^* C ¹⁶ -C ¹⁷	0.161	π^* C ¹⁸ -C ¹⁹	0.146	114.93	0.01	0.080
n2 Br ³²	0.979	n7 [*] Co ¹	0.071	23.58	1.01	0.204
n4 Br ³²	0.834	n5 [*] Co ¹	0.170	27.97	0.24	0.114
n4 Br ³²	0.834	n6 [*] Co ¹	0.105	28.02	0.44	0.141
n4 Br ³²	0.834	n7 [*] Co ¹	0.071	35.78	0.53	0.181
n2 Br ³³	0.979	n7 [*] Co ¹	0.071	23.58	1.01	0.204
n4 Br ³³	0.834	n5 [*] Co ¹	0.170	27.92	0.24	0.114
n4 Br ³³	0.834	n6 [*] Co ¹	0.105	28.02	0.44	0.141
n4 Br ³³	0.834	n7 [*] Co ¹	0.071	35.78	0.53	0.181
n1 N ²	0.877	n6 [*] Co ¹	0.105	36.90	0.50	0.175
n1 N ²	0.877	n8 [*] Co ¹	0.062	13.32	0.68	0.125
n1 N ⁴	0.802	π^* N ² -C ³	0.198	29.52	0.26	0.111
n1 N ⁴	0.802	π^* C ⁵ -C ⁶	0.233	15.92	0.31	0.090
π^* N ² -C ³	0.198	π^* C ⁵ -C ⁶	0.233	16.70	0.05	0.053
π^* C ⁵ -C ⁶	0.233	π^* C ⁹ -C ¹⁰	0.146	80.22	0.02	0.082
π^* C ⁷ -C ⁸	0.161	π^* C ⁹ -C ¹⁰	0.146	114.89	0.01	0.080

The largest negative charges (-0.565) are located on two nitrogen atoms, N⁴ and N¹³. The largest positive charge (0.643) is located on Co atom.

NBO analysis is an efficient method for study of the intra-molecular and inter-molecular bonding and interactions among bonds, and also provides a convenient basis for investigation charge transfer or conjugative interactions in molecular systems. This analysis also provides the study of filled NBOs (donors) and empty NBOs (acceptors) and their interactions with the stabilization energy $E^{(2)}$ resulting from the second-order perturbation theory. The larger $E^{(2)}$ value, the more intensive is the interaction between electron donors and acceptors, i.e. the more electron donating tendency from electron donors to acceptors and the greater the extent of conjugation of the whole system. This interaction results a loss of occupancy from the concentration of electron NBO of the idealized Lewis (bond or lone pair) structure into an empty (anti-bond or Rydberg) non-Lewis orbital.

Table 2 lists the selected values of the calculated second order interaction energy ($E^{(2)}$) between donor–acceptor orbitals in [Co(benzimidazole)₂Br₂]. The strongest interactions are the electron donations from a lone pair orbital on the nitrogen atoms, LP(1)N²⁽¹¹⁾ to the antibonding acceptors LP(6)*Co and LP(8)*Co orbitals which result in stabilization of the system. These interactions increases ED(0.105, 0.062e) (LP(6)*Co and LP(8)*Co) that weakens LP(1)N²⁽¹¹⁾ ED(0.877) leading to stabilization of 36.90 kcal/mol and 13.32 kcal/mol. There occurs a strong intramolecular hyper-conjugative interaction of N²⁽¹¹⁾–C³⁽¹²⁾ from N⁴⁽¹³⁾ of LP(1)N⁴⁽¹³⁾ → π*N²⁽¹¹⁾–C¹² which increases ED(0.198e) that weakens LP(1)N⁴⁽¹³⁾ ED(0.802e) leading to stabilization of 29.52 kcal/mol. Also there occurs a strong inter molecular hyper conjugative interaction of C⁹⁽¹⁸⁾–C¹⁰⁽¹⁹⁾ from

C⁵⁽¹⁴⁾–C⁶⁽¹⁵⁾ of π*C⁵⁽¹⁴⁾–C⁶⁽¹⁵⁾ → π*C⁹⁽¹⁸⁾–C¹⁰⁽¹⁹⁾ which increases ED(0.146e) that weakens the respective bonds C⁵⁽¹⁴⁾–C⁶⁽¹⁵⁾ ED(0.233e) leading to stabilization of 80.22 kcal/mol and also the hyper conjugative interaction of π*C⁷⁽¹⁶⁾–C⁸⁽¹⁷⁾ → π*C⁹⁽¹⁸⁾–C¹⁰⁽¹⁹⁾ leading to stabilization of 114.89 kcal/mol. The hyper conjugative interaction of LP(4)Br³² → LP(5,6,7)*Co; LP(4)Br³³ → LP(5,6,7)*Co leading to stabilization of 27.92, 28.02 and 35.78 kcal/mol respectively.

The frontier orbitals (highest occupied molecular orbital – HOMO and lowest unoccupied molecular orbital – LUMO) are very important in defining reactivity. The HOMO exhibits the ability to donate an electron and LUMO as an electron acceptor serves the ability to obtain an electron. The frontier orbitals (HOMO, LUMO) of [Co(benzimidazole)₂Br₂] calculated by B3LYP/6-31G(d,p) are plotted in Figure 2.



$$\psi_{\text{HOMO}} = 19.1\% 9p_x(\text{Br}^{32}) - 19.0\% 9p_x(\text{Br}^{33}) + 17.8\% 10p_x(\text{Br}^{32}) - 17.7\% 10p_x(\text{Br}^{33}) + 11.4\% 6d_{xy}(\text{Co}) + 4.4\% 7d_{xy}(\text{Co})$$

$$\psi_{\text{LUMO}} = 35.3\% 6d_{x^2-y^2}(\text{Co}) + 12.3\% 7d_{x^2-y^2}(\text{Co}) + 8.9\% 6d_{xy}(\text{Co}) - 4.9\% 9p_y(\text{Br}^{33}) + 4.9\% 9p_y(\text{Br}^{32}) - 4.5\% 10p_y(\text{Br}^{33})$$

Figure 2. Electron distribution of HOMO – 1 and LUMO – 2 for [Co(benzimidazole)₂Br₂]

Energy of frontier orbitals and energy of the gap are:

$$E_{\text{HOMO}} = -546.0253 \text{ kJ/mol}$$

$$E_{\text{LUMO}} = -100.3729 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta E_{\text{LUMO-HOMO}} = 445.6524 \text{ kJ/mol}$$

High values of E_{HOMO} have a tendency of the molecule to donate electrons to appropriate acceptor molecules with low energy, empty molecular orbitals. The energy of the lowest unoccupied molecular orbital indicates the ability of the molecule to accept electrons. The lower value of E_{LUMO} , the more probable it is that the molecule would accept electrons. Consequently, concerning the value of the energy of the gap $\Delta E_{\text{LUMO-HOMO}}$, larger values of the energy difference will provide low reactivity to a chemical species. Lower values of the energy difference will render good inhibition efficiency, because the energy to remove an electron from the last

occupied orbital will be low. The results for the calculations of the ionization potential (I) and the electron affinity (A) by application of the Koopman's theorem [12] are shown. According to the Hartree–Fock theorem, the frontier orbital energies are given by: $I = -E_{\text{HOMO}} = 546.0253 \text{ kJ/mol}$; $A = -E_{\text{LUMO}} = 100.3729 \text{ kJ/mol}$. This theorem establishes a relation between the energies of the HOMO and the LUMO and the ionization potential and the electron affinity, respectively. Although no formal proof of this theorem exists within DFT, its validity is generally accepted. Electronegativity (χ), chemical potential (μ) and global hardness (η), their operational and approximate definitions for [Co(benzimidazole)₂Br₂] are: $\chi = -\mu = (I + A)/2 = 323.1991 \text{ kJ/mol}$; $\eta = (I - A)/2 = 222.8262 \text{ kJ/mol}$.

Conclusion

The geometry of [Co(benzimidazole)₂Br₂] was optimized with DFT/B3LYP methods using 6-31G(d,p) basis set. HOMO–LUMO studies reveal the intramolecular charge transfer through conjugated system. The Natural orbital charges calculated by B3LYP/6-31G(d,p) method were presented. The transitions give stabilization to the structure were identified by second order perturbation energy calculations. Using NBO analysis the stability of the molecule arising from hyper-conjugative interaction and charge delocalization was analyzed. The strongest electron donation occurs from a lone pair orbital on the nitrogen atoms, LP(1)N²⁽¹¹⁾ to the antibonding acceptor LP*(6;8)Co orbitals and from a lone pair orbital on the bromine atoms, LP(2;4)Br³²⁽³³⁾ to the antibonding acceptor LP*(5;6;7)Co orbitals. The present quantum chemical study may lead to the understanding of properties and activity of [Co(benzimidazole)₂Br₂].

References

1. Walia, R., M. Hedaitullah, S. F. Naaz, K. Iqbal, H. S. Lamba. 2011. Benzimidazole derivatives—an overview. *Int. J. Res. Pharm. Chem*, 1(3), 565–74.
2. Podunavac-Kuzmanovic, S. O., V. M. Leovac, N. U. Perisic-Janjic, J. Rogan, J. Balaz. 1999. Complexes cobalt (II), zinc (II) and copper (II) with some newly synthesized benzimidazole derivatives and their antibacterial activity. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 64(5-6), 381–388.
3. Ahuja, I. S., I. Prasad. 1976. Isonicotinamide complexes with some metal (II) halides and pseudohalides. *Inorganic and Nuclear Chemistry Letters*, 12(10), 777–784.
4. Gaussian 03, Revision B.04, Frisch, M.J., G.W.Trucks, H.B.Schlegel, G.E.Scuseria, M.A. Robb, J.R.Cheeseman, J.A.Montgomery Jr., T. Vreven, K.N.Kudin, J.C.Burant, J.M.Millam, S. S.Iyengar, J.Tomasi, V.Barone, B.Mennucci, M. Cossi, G.Scalmani, N.Regga, G.A.Petersson, H. Nakatsuji, M.Hada, M.Ehara, K.Toyota, R. Fukuda, J.Hasegawa, M.Ishida, T.Nakajima, Y. Honda, O.Kitao, H.Nakai, M.Klone, X.Li, J.E. Knox, H.P.Hratchian, J.B.Cross, V.Bakken, C. Adamo, J.Jaramillo, R.Gomperts, R.E.Stratmann, O.Yazyev, A.J.Austin, R.Cammi, C.Pomelli, J. W.Ochterski, P.Y.Ayala, K.Morokuma, G.A. Voth, P.Salvador, J.J.Dannenberg, V.G.Zakrzewski, S.Dapprich, A.D.Daniels, M.C.Strain, O.Farkas, D.K.Malick, A.D.Rabuck, K.Raghavachari, J.B.Foresman, J.V.Ortiz, Q.Cui, A.G. Baboul, S.Clifford, J.Cioslowski, B.B.Stefanov, G.Liu, A.Liashenko, P.Piskorz, I.Komaromi, R. L.Martin, D.J.Fox, T.Keith, M.A.Al-Laham, C. Y.Peng, A.Nanayakkara, M.Challacombe, P.M. W.Gill, B.Johnson, W.Chen, M.W.Wong, C. Gonzalez, J.A.Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
5. Lee, C. T., W. T. Yang, R. G. Parr. 1988. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev.*, B 37, 785–789.
6. Becke, A. D. 1993. Densityfunctional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.*, 98, 5648–5652.
7. Parr, R. G., W. Yang. 1989. Density-functional theory of atoms and molecules. *Oxford university press*.
8. Reed, A. E., L. A. Curtiss, F. Weinhold. 1988. Intermolecular interactions from a natural bond orbital, donor-acceptor viewpoint. *Chemical Reviews*, 88(6), 899–926.
9. Glendening, E. D., A. E. Reed, J. E. Carpenter, F. Weinhold. 1998. NBO, version 3.1. There is no corresponding record for this reference.
10. Weinhold, F., C. R. Landis. 2001. Natural bond orbitals and extensions of localized bonding concepts. *Chemistry Education Research and Practice*, 2(2), 91–104.
11. Sastri, V. S., J. R. Perumareddi. 1997. Molecular orbital theoretical studies of some organic corrosion inhibitors. *Corrosion*, 53(8), 617–622.

Румяна Златинова Янкова
Университет „Проф. д-р Асен Златаров“
Катедра „Неорганична и аналитична химия“
e-mail: r_iankova@yahoo.com



ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЕМИСИИТЕ ОТ ТЕХНОЛОГИЧНОТО ОБОРУДВАНЕ ПРИ НЕФТОПРЕРАБОТКА

Адриана Георгиева, Краси Панайотова, Десислава Колева, Живко Иванов

DETERMINATION OF EMISSIONS FROM TECHNOLOGICAL EQUIPMENT IN PETROLEUM REFINING

Adriana Georgieva, Krasi Panayotova, Desislava Koleva, Jivko Ivanov

ABSTRACT: *The biggest and most significant share in environmental pollution are industry and transport. The main pollutants that are emitted into the air are: sulfur and nitrogen oxides, carbon monoxide, light hydrocarbons, heavy unburned hydrocarbons, hydrogen sulfide, mercaptans and others. The purpose of this work is to identify emissions from process equipment in petroleum refining. The subject of the proceeding are the so-called diffuse sources of pollution caused by impaired technological regime leaks of devices and communications, lack or inefficient operation of ventilation equipment and more.*

Key words: emissions, equipment, diffuse sources shall, petroleum refining

Въведение

Най-голям и съществен дял в замърсяването на околната среда имат индустрията и транспорта. С развитието на промишлеността се зараждат и екологичните проблеми. Негативното антропогенно въздействие върху околната среда се изразява главно в намаляване на природните ресурси и нарушаване на екосистемите.

Промишлените отпадъци, газовете, прахта и аерозолите се разпространяват във въздуха на промишлените райони, в градовете и селата. Вредните вещества проникват и в работната ни среда. Много от промишлените обекти са разположени не само в неподходящи райони, в близост до населени места, където има условия за разсейване на замърсителите, но и далеч превишават по количества емисиите на допустимото замърсяване. А остарелите технологии и амортизирани производствени мощности не отговарят на изискванията за защита на околната среда (Hauptmanns, 2013).

В частност нефтената промишленост също е един от източниците на замърсяване на атмосферата. Този факт е свързан изключително с операциите по обработването на нефта и следващата химична преработка на нефтопродуктите.

Основните замърсители, които се емитират във въздушната среда са: серни и азотни оксиди, въглероден оксид, леки въглеводоро-

ди, неизгорели тежки въглеводороди, сяроводород, меркаптани и др. Количеството на емитираните вредни вещества варира в широки граници, в зависимост от вида на обработвания суров нефт, ефикасността на самата обработка и получаваните продукти (Taylor, 1994).

Автори накратко описват в своите разработки възможностите за изхвърляне на вредни вещества в атмосферата по време на различните стадии на производство и преработка на нефтопродукти (Елтерман, 1985):

Складиране, транспортиране и експлоатиране на суровия нефт и неговите продукти - при лошо изработени резервоари, клапани, помпи, и свързаната с тях тръбопроводна система или при евентуални аварии в тези елементи, са възможни емисии на леки въглеводороди и серни съединения;

Дестилационни инсталации - при дестилацията на различните нефтени продукти се отделят емисии от въглеводороди, сяроводород и меркаптани;

Инсталации за Каталитичен крекинг - въглеводороди, въглероден оксид и фин прах се емитират в атмосферния въздух по време на регенериране на катализаторите, при отделянето им с димните газове. Обикновено първите два замърсителя се изгарят в специални пещи, преди изхвърлянето на отпадните газове в атмосферата;

Инсталации за рафиниране - при тези операции се отделят утайки и различни отпадни води, богати на серни съединения, от повърхността на които се емитират сяроводород и вещества с неприятна миризма;

Инсталации за продухване на битуми - тези инсталации предизвикват отделяне на лошо миришещи вещества;

Установки за Факелно изгаряне - всички неоползотворявани газове в една рафинерия се подват за изгаряне към факел. Ето защо характерът на изгаряните газове се изменя много, както в качествено, така и количествено отношение. Много трудно се осигурява пълното изгаряне на тези газове, без да се отдели дим от неизгорелите твърди частици, който в някои случаи е доста плътен.

Грижата за опазване чистотата на въздуха, се превърна във всеобхватен и изключително сериозен световен проблем, с чието решаване се занимават специалисти от различни области. Прилагането на реални инженерни решения е свързано с точното познаване на вида и концентрацията на присъстващите във въздуха замърсители, откриването и определянето на които се осъществява по различни методики.

Във връзка с гореизложеното целта на настоящата работа е да се определят емисиите от технологичното оборудване при нефтопреработката.

Предмет на разглежданията са т.нар. неорганизиран източници на замърсяване, породени от нарушен технологичен режим, нехерметичност на апаратите и комуникациите, липса или неефективна работа на вентилационните съоръжения и др.

Материали и методи

Екологични изисквания към технологичните процеси, оборудване и въздушна среда:

Технологичните процеси на химическите и нефтохимическите производства са свързани с отделянето на вредни вещества в атмосферата, които нанасят поражения върху здравето на хората и увреждат околната среда.

За да се сведат вредите до минимум се предявяват екологични изисквания към технологичните процеси, оборудване, експлоатация и др. Такива са разгледани в (Елтерман, 1980), а именно:

- В химическата и нефтохимическата промишленост недостатъчно се използват технологични схеми затворени по въздуха;

- Изхвърлянията стават чрез комини и вентилационни шахти;

- Вредното въздействие върху човека и околната среда може да се оцени чрез:

$$\lg \frac{C}{C_{\text{Ндр.з.}}} = f \quad (1)$$

f – етапи на предела на емитираните вредни вещества;

C – концентрация на вредното вещество;

$C_{\text{Ндр.з.}}$ – норма на допустимост на това вещество в работната зона на производствената инсталация.

- Неблагоприятно време – безветрие, инверсия;

- Открито разположеното технологично оборудване при нефтохимическата промишленост предполага по-малко загазоване и взривобезопасност. Тук вредните вещества се отделят чрез неплътности в оборудването;

- Коефициент за нехерметичност (m).

В нормативните документи се дават пределно допустими коефициенти за нехерметичност (m), съответстващи на големината на пада на налягането при изпитание на оборудването за херметичност в единица време.

$$m = \frac{1}{\tau} \left(1 - \frac{P_k \cdot T_n}{P_n \cdot T_k} \right) \quad (2)$$

$$P_n = P_n^b + P_n^m; P_k = P_k^b + P_k^m \quad (3)$$

където:

P_n, P_k - абсолютно налягане в началото и края на изпитанието, Pa (kgf/cm²);

P_n^b, P_k^b - барометрично налягане в началото и края на изпитанието, Pa (kgf/cm²);

P_n^m, P_k^m - манометрично налягане в началото и края на изпитанието, Pa (kgf/cm²);

T_n, T_k - абсолютната температура в технологичното оборудване в началото и края на изпитанието, K.

Ако температурата и барометричното налягане в началото и в края на изпитанието са еднакви, то следва:

$$m = \frac{1}{\tau} \cdot \frac{\Delta P}{P_n} \quad (4)$$

Допустимият коефициент за нехерметичност на оборудването, в зависимост от налягането по данни .

За постигането на горе поставените цели и задачи са изучени и се използват две методики за изчисляване (Елтерман, 1980).

Методика за изчисляване емисиите на вредни вещества при производството и преработката на нефтопродукти, разработена от В.М. Елтерман

• **Определяне количеството на вредни вещества, отделящи се от оборудване, работещо под налягане:**

За да се реши такава задача тук се изхожда от коефициента за нехерметичност (**m**), не надвишаването на който гарантира издръжливостта на оборудването на херметичност и на провежданите мероприятия. В резултат на това може с достатъчна за практическите изчисления точност да се определят емисиите на вредни вещества и да се прогнозира замърсяването на приземния въздушен слой.

Количеството на газа, отделящ се от оборудването за единица време е:

$$G = \frac{G_H - G_K}{\tau} = \frac{1}{\tau} \left(\frac{P_H \cdot V}{R \cdot T_H} - \frac{P_K \cdot V}{R \cdot T_K} \right) \quad (5),$$

където:

G - количеството на газа, който се отделя от оборудването, kg/h;

V - обем на газозавата и паровъздушната фаза в оборудването, m³;

R- газова константа за работна среда, J/(kg.K).

Приемайки, че $T_H = T_K = T$, горният израз добива вида:

$$G = \frac{\Delta P \cdot V}{\tau \cdot R \cdot T_H} \quad (6)$$

Когато числителят и знаменателя се умножат с P_H и се използва зависимостта за коефициента за нехерметичност (**m**), се получава:

$$G = m \frac{P_H}{R \cdot T} \cdot V \quad (7)$$

Съгласно характеристикното уравнение за

газове $\rho_H = \frac{P_H}{R \cdot T}$ получаваме, че:

$$G = m \cdot \rho_H \cdot V \quad (8)$$

Формула (8) позволява определянето на количеството на отделящият се от оборудването газ, само в случаите когато изпитанието за херметичност се провежда с газове с такава температура, при която в оборудването ще бъдат в работно състояние.

За налягане по-високо от 200 kPa, определянето се извършва по формулата:

$$G = 3600 f \psi_{max} \frac{P}{\sqrt{RT}} \quad (9)$$

F - сумарна площ на процепа, m²;

ψ - коефициент (за двуатомни газове $\psi_{max} = 2,14$);

За три и четириатомни газове $\psi_{max} = 2,05 m^{1/2} / s$;

Опитно е установено, че при изпитване на херметичността налягането в оборудването

намаля по експоненциален закон: $P_K = P_H \cdot \exp(-aT)$, където **a** е постоянен множител, зависещ от степента на херметичност на оборудването.

Като се отчете изменението на налягането в оборудването по време на изпитанието, количеството на отделящия се за 1 час газ е:

$$G = 3600 f \psi_{max} \frac{P_H}{\sqrt{RT}} \int_0^1 \exp(-a\tau) d\tau \quad (10)$$

След преобразувания за сумарната площ на процепа се получава израз:

$$f = \frac{m \cdot V}{3600 \psi_{max} \sqrt{R_H T_H}} \quad (11)$$

Като се замести площта с нейното равно във формула (10), последната придобива вида:

$$G = \frac{m \cdot V \cdot P}{\sqrt{R_H T_H} \cdot \sqrt{R_P T_P}} \quad (12)$$

Ако изпитанието се провежда при температура $T_H = 293K$, $R_H = R_P = 286,6 J/(kg.K)$ и тези стойности се заместят в уравнение (12), като газовата константа за работния газ се изрази чрез молекулната му маса и налягане **P** в P_a , ще се получи:

$$G = 1,2 \cdot 10^{-4} \cdot \eta \cdot m \cdot V \cdot P \cdot \sqrt{\frac{M_p}{T_p}} \quad (13),$$

където **η** е коефициент на запас, приемаш стойности от 1,5 до 2.

За газови и паровъздушни смеси, количеството на всеки газ или пара (kg/h), отделящи се от оборудването е равно:

$$G_K = i_K \cdot G \quad (14),$$

където i_K е частта на дадения газ или пара в сместа, а **G** е общото количество на отделящия се газ, изчислено по формула (13).

• **Определяне количеството на вредни вещества, отделящи се от технологично оборудване, работещо под вакуум:**

Оборудване, токсичната среда в което се намира под вакуум до $10^3 Pa$, се явява източник на замърсяване на въздушната среда.

В.М. Эльтерман разглежда процеса на молекулна дифузия на пътя на поток въздух в неплътностите на стените на оборудване, токсичната среда в което се намира под вакуум. Според него за подобни изчисления може да се използва формулата:

$$G = F \cdot \vartheta \cdot C_0 \cdot \exp\left(-\frac{\vartheta \cdot a}{D}\right) \quad (15)$$

Потока в процепния канал е ламинарен. Отчитайки характерния за такъв поток про-

фил на скоростта, Эльтерман извежда формула за определяне количествата на вредни вещества (g/s), отделящи се от оборудването:

Ако вътрешността на проникващите пори представлява канал със сечение близко до кръг:

$$G = \frac{f \cdot C_0 \cdot D^2}{\vartheta_m \cdot a^2} \quad (16)$$

Ако вътрешността на проникващите пори е канал със сечение на силно изтеглен правоъгълник:

$$G = \frac{1}{2} \cdot \frac{f \cdot C_0 \cdot D^2}{\vartheta_m \cdot a^2} \quad (17)$$

В горните изрази са използвани следните означения:

F - сумарната площ на процепа, m²;

C₀ - концентрация на вредния газ в оборудването, g/m³;

D - коефициент на дифузията на газа във въздуха, m²/s;

ϑ_m - осевата скорост в канала, m/s;

a - средната дължина на канала на проникващите пори, m.

Тъй като при ламинарен режим в кръгли канали средната скорост $\vartheta = \frac{1}{2} \vartheta_m$, а в правоъгълни $\vartheta = \frac{2}{3} \vartheta_m$, то замествайки във формули (16) и (17), се получава:

$$G = \frac{1}{2} \cdot \frac{f \cdot C_0 \cdot D^2}{\vartheta \cdot a^2} = \frac{C_0}{2} \cdot \frac{f^2 \cdot D^2}{L \cdot a^2} \quad (18)$$

$$G = \frac{1}{3} \cdot \frac{f \cdot C_0 \cdot D^2}{\vartheta \cdot a^2} = \frac{C_0}{3 \cdot L} \cdot \left(\frac{f \cdot D}{a}\right)^2 \quad (19),$$

където **L=f·ϑ** е количеството на въздуха, засмукващ се в оборудването, m³/s.

Формула (18) може да се представи и във вида:

$$G = \frac{1}{2} \cdot \frac{C_0 \cdot f \cdot \vartheta}{Pe^2} \quad (20),$$

където **Pe** = $\frac{\vartheta \cdot a}{D}$ е критерий на Пекле.

По-простите изпитания не дават възможност за определяне площта на сечението на процепа и средната дължина на канала на проникващите пори.

За да се определи количеството на отделящите се газове, са необходими два вида изпитания – аеродинамично, при което се определя количеството на въздуха, измукващ се в оборудването в зависимост от вакуума, и изпитание, при което непосредствено се определят количествата на отделните вредни вещества от оборудването.

Методика за изчисляване емисиите на вредни вещества при производството и преработката на нефтопродукти, разработена от Главната геофизическа обсерватория на името на А.И. Воейков

Емисиите на газове и пари (kg/h), отделени се от апарати, реактори и колони, се изчислява по формулата:

$$П = 0,037(1011PV)^{0,8} \cdot \sqrt{\frac{M_{п}}{T}} \quad (21),$$

където:

P - налягането в апарата, GPa;

V - обем на апарата, m³;

M_п - средна молекулна маса на парите на нефтопродуктите, g/mol;

T – средна температура в апарата, K.

Резултати и обсъждане

За изчисляване емисиите на вредни вещества, отделящи се от технологичното оборудване при производството и преработката на нефтопродукти, са изучени и се използват две методики за изчисляване:

- Методика разработена от В.М. Эльтерман;
- Методика предложена от Главната геофизическа обсерватория на името на А.И. Воейков.

Като неорганизирани източници на замърсяване се разглеждат два реактора:

- реактор от инсталация „Каталитичен платформинг“;

- реактор от инсталация „Каталитичен крекинг“.

За първия обект на разглеждане са известни следните параметри:

D_{p-ра} = 3 m;

H_{общ.} = 7,65 m;

T_{ср.} = 510°C;

P = 1,625·10⁶ Pa;

V = 27,30 m³;

Нефтопродукти – дебутанизиран бензин с начална температура на кипене 120°C.

Емисиите от този реактор се изчисляват по втората методика. Резултатите са представени в Таблица 1.

За втория реактор са известни следните величини:

D_{p-ра} = 8,5 m;

P = 0,19·10⁶ Pa;

V = 598,39 m³

T_{ср.} = 743°C (при свеж катализатор);

$T_{cp.} = 763,57^{\circ}\text{C}$ (при остарял катализатор);

$\eta = 2$;

$m = 0,04 \text{ l/h}$.

Парогазова смес* - съдържаща: крекинг газ; вакуумдестилат ($350-500^{\circ}\text{C}$); лек газол; тежък газол; циркулиращ газол; водна пара.

Количеството вредни вещества емитирани от този обект се изчислява и по двете изучени методики. Резултатите са поместени в Таблица 2 и Таблица 3 от настоящата работа.

И по двете изучени методики могат да се изчислят емисиите на нефтопродукти, намиращи се предимно в парогазова или газова фаза. Също така те са разработени за неорганизиран източници на замърсяване.

Разликата между двете методики, се състои в това, че първата се използва предимно

при паспортизация на оборудването. По методиката разработена от В.М. Эльтерман са определени количествата на вредни вещества, отделящи се от технологично оборудване, работещо под налягане.

В резултат на това може с достатъчна за практическите изчисления точност да се определят емисиите на вредни вещества и да се прогнозира замърсяването на приземния въздушен слой.

Анализът на изчислителните изрази от двете методики показва, че:

- ✓ при повишаване обема и налягането на апарата и молекулната маса на нефтопродуктите, количеството емитирани вредни вещества също се повишава;
- ✓ единствено при повишаване на температурата в апарата, емисиите намаляват.

Таблица 1. Данни за емисиите на вредни вещества, изхвърляни от реактор от инсталация „Каталитичен платформинг“.

№	Тип на апарата	Вид и състояние на флуида	Молекулна маса на парите	Външен диаметър на апарата	Обем на апарата	Налягане в апарата	Средна температура в апарата	Количество на емитираните вредни вещества
			g/mol	m	m ³	GPa	K	kg/h
1.	Реактор от инсталация за „Каталитичен платформинг“	Дебутанизиран бензин /парогазова фаза/	112	3	27,30	$1,625 \cdot 10^{-3}$	783	0,295

Таблица 2. Данни за емисиите на вредни вещества, емитирани от реактор от инсталация „Каталитичен крекинг“, изчислени по методика на Главната геофизическа обсерватория - А.И. Воейков

№	Тип на апарата	Вид и състояние на флуида	Молно количество во парната смес в реактора	Външен диаметър на апарата	Обем на апарата	Налягане в апарата	Средна температура в апарата	Количество на емитираните вредни вещества
			kg/kmol	m	m ³	Pa		
1.	Реактор от инсталация «Каталитичен крекинг»	Парогазова смес*	4480,35	8,5	598,39	1,9.10 ⁵	при свеж катализатор	
							743	4,051
							при остарял катализатор	
							763,57	3,985

Таблица 3. Данни за емисиите на вредни вещества, изхвърлени от реактор от инсталация „Каталитичен крекинг“, определени по методиката на В.М. Эльтерман

№	Тип на апарата	Вид и състояние на флуида	Молно количество на парната смес в реактора	Външен диаметър на апарата	Обем на апарата	Налягане в апарата	Коефициент на запас	Коефициент на нехерметичност	Средна температура в апарата	Количество на емитираните вредни вещества
			kg/kmol	m	m ³	Pa		1/h		
1.	Реактор от инсталация «Каталитичен крекинг»	Парогазова смес*	4480,35	8,5	598,39	1,9.10 ⁵	2	0.04	при свеж катализатор	
									743	8,400
									при остарял катализатор	
									763,57	8,360

Заклучение

В резултат на проведените изследвания и получените резултати могат да се направи следното заключение:

Изучени са и са приложени методики за изчисляване емисиите на вредни вещества, изхвърлени от технологичното оборудване при нефтопреработката. В резултат на това с достатъчна за практическите изчисления точност са определени емисиите на вредни ве-

щества и може да се прогнозира замърсяването на приземния въздушен слой.

Получени са резултати за количествата на вредни вещества, емитирани от технологичното оборудване при производството и преработката на нефтопродукти. Като неорганизиран източници на замърсяване са разгледани два обекта: реактор от инсталация „Каталитичен платформинг“ и реактор от инсталация „Каталитичен крекинг“.

Литература

1. Эльтерман, В.М. 1980 *Вентиляция химических производств*, “Химия”, Москва.
2. Эльтерман, В.М. 1985 *Охрана воздушной среды на химических и нефтехимических предприятиях*, “Химия”, Москва.
3. Hauptmanns, Ulr. 2013 *Process and Plant Safety*, “Springer”.
4. Taylor B., 1994 “Atmospheric emissions from the upstream oil and gas industry”, *Petroleum Review*.

Адриана Георгиева – Гл. ас. д-р
У-т „Проф. д-р А. Златаров“, гр. Бургас
Катедра „Химично инженерство“
Адрес: 8010 Бургас, бул. „Проф. Якимов“, №1
e-mail: adrianaslavova@yahoo.com

Краси Панайотова – Гл. ас. д-р

У-т „Проф. д-р А. Златаров“, гр. Бургас
Катедра „Химично инженерство“
Адрес: 8010 Бургас, бул. „Проф. Якимов“, №1
e-mail: krsi2502@yahoo.com

Десислава Колева – Гл. ас. д-р
У-т „Проф. д-р А. Златаров“, гр. Бургас
Катедра „Химично инженерство“
Адрес: 8010 Бургас, бул. „Проф. Якимов“, №1
e-mail: desikol2002@yahoo.com

Живко Иванов – Ас. д-р
У-т „Проф. д-р А. Златаров“, гр. Бургас
Катедра „Химично инженерство“
Адрес: 8010 Бургас, бул. „Проф. Якимов“, №1
e-mail: knabe@data.bg



ВЛИЯНИЕ НА ПРИРОДАТА НА АКТИВАТОРА И ТЕМПЕРАТУРАТА ВЪРХУ ПОРИСТАТА СТРУКТУРА НА ПЕПЕЛ ОТ ОРИЗОВИ ЛЮСПИ

Ления Гонсалвеш, Радина Огнянова, Любомир Влаев

INFLUENCE OF THE NATURE OF ACTIVATION REAGENT AND TEMPERATURE ON THE POROUS STRUCTURE OF RICE HUSKS ASH

Lenia Gonsalvesh, Radina Ognyanova, Lyubomir Vlaev

ABSTRACT: Nowadays, it is still a challenge to prepare adsorbents with specific characteristics, such as ordered pore size distribution and dedicated surface properties, by using low-cost raw materials processed at low temperature (less energy costs). Thus, adsorbents porous structure characterization is important in order to predetermine appropriate, broader and effective practical application, and explain fundamentally its adsorption mechanisms towards various pollutants. Therefore, the main aim of the current research is to evaluate the influence of the nature of activation reagent and temperature on the porous structure of rice husk ashes prepared through controlled combustion in air atmosphere at relatively low temperatures. Using the low temperature nitrogen adsorption and Surfer apparatus of Thermo Scientific, the adsorption isotherms of the prepared rice husks ashes, i.e. Rice Husk Ashes (RHA), $ZnCl_2$ modified Rice Husk Ashes (RHA- $ZnCl_2$) and NaCl modified Rice Husk Ashes (RHA-NaCl), are measured and subsequently evaluated. On their basis and using the BET linear equation the specific surface area, pore volume and median pore radii of the studied samples are calculated. Inasmuch as RHA and RHA-NaCl ashes demonstrate a sufficiently high specific surface area and pore volume, they might be successfully used as inexpensive adsorbents for adsorption of different contaminants.

Key words: activation of rice husk, rice husk ashes, nitrogen adsorption isotherms, porous structure.

Въведение

Оползотворяването на отпадна биомаса чрез термична обработка в продукти с порьозна структура и практическо приложение е особено актуално през последните години. Като изходни суровини се използват най-разнообразни агробиологични отпадъци, от които се получават евтини продукти (био-въгленни), намиращи приложение като адсорбенти и носители на катализатори. Особено място сред отпадъците от биомаса заемат оризовите люспи, създаващи сериозен технологичен и екологичен проблем. Причина за това е фактът, че суровите оризови люспи се характеризират с високо съдържание на биогенен аморфен SiO_2 (17-22%), в резултат на което притежават ниска калоричност, ниска хранителна стойност и бавно се хуმიфицират [1]. Поради тази причина оползотворяването им чрез термична деструкция до получаване на евтини адсорбенти, набогатени на аморфен SiO_2 е целесъобразно. От друга страна, охарактеризирането на тези адсорбенти е важно

както с цел намиране на широко и ефективно практическо приложение, така и за фундаментално обяснение на механизмите им на адсорбция спрямо различни замърсители.

Редица обзори и монографии [2-5] са посветени на оризовите люспи и продуктите, получени от тяхното термично разлагане при различни условия. Понастоящем, оризовите люспи и особено пепелта от оризови люспи (Rice Husk Ash, RHA), получена след контролираното им изгаряне, са суровини за производството на редица силиций-съдържащи материали, включително силициев диоксид, силициев карбид, натриев силикат, силициев тетрафторид, натриев силикофлуорид, силани и др. [2, 4]. Напоследък, RHA успешно се използва и като адсорбент на йони на тежки метали, багрила и пигменти от водни разтвори [6-8], както и като носител на Ni, Cu, или V съдържащи катализатори, използвани при различни органични синтези [9-11].

Термичното разграждане на оризови люспи може да се извърши в статични или динамични условия [2]. Продуктите от термичната

деструкция на оризови люспи при статични условия са крехки, аморфни и порести, като основните недостатъци на този метод са високата консумация на енергия (електроенергия), ограничено смесване между реагентите, ниски производствени нива, дълго реакционно време, риск от експлозия. Икономически поизгодни и по-висококачествени продукти могат да бъдат получени в динамични условия, чрез използването на непрекъснато действащи инсталации с реактори тип „кипящ” слой. Технологиата „кипящ” слой е предпочитана за получаване на аморфен силициев диоксид от оризови люспи поради по-добрите масообмен и топлообмен и поддържането на стабилни хидродинамични параметри на процеса, които са предпоставка за получаването на продукти с възпроизводими физикохимични параметри [1]. В зависимост от средата, в която се провежда термичната обработка на суровите оризови люспи, органичните компоненти претърпяват различни промени, в резултат на което като остатък се получават два различни твърди продукта [1, 12-13]. Ако термичната обработка се провежда контролируемо във въздушна среда, въглеродната маса изгаря почти напълно и като резултат се получава бял прах от почти чист (над 96%) аморфен SiO_2 , известен в литературата като „бяла” пепел от оризови люспи. Тъй като повърхността и е полярна, тази пепел намира широко практическо приложение като адсорбент на бои и пигменти с полярни молекули из отпадни води от текстилното и кожарското бояджийство или на йони на тежки метали от разтворите на електролитните вани за рафиниране и покритие на метални повърхности [6-8]. Ако термичната обработка на оризовите люспи се провежда контролируемо в инертна (азотна) или бедна на кислород среда, протича пиролиз на биоорганичната маса, при което се получава т.н. „черна” пепел от оризови люспи, съдържаща значителни количества аморфен въглерод, инкорпориран в структурата на аморфния SiO_2 . Поради това, че повърхността му е неполярна, той се използва като адсорбент на бои и пигменти с неполярни молекули из отпадни промишлени води, както и за очистване на разливи от нефт и нефтопродукти във водни басейни [12, 14]. Тези продукти са рентгеноаморфни, характеризират се с високо развита специфична повърхност и се наричат *хибридни* адсорбенти.

Получаването на пепел може да бъде извършено както от сурови оризови люспи, така

и от такива, обработени с химични реагенти с цел подобряване на качествата на продуктите. В литературата има редица публикации, свързани с модификацията чрез импрегниране на лигноцелулозни материали с активиращи реагенти като ZnCl_2 , H_3PO_4 , H_2SO_4 , KSCN , KMnO_4 , NaOH , K_2CO_3 и др., преди тяхната термична деструкция [4-5, 15-17]. Сред изброените активатори, ZnCl_2 е един от ефективните реагенти за получаване на микроили мезопористи въглени поради неговата висока активираща способност и сравнително ниска цена. Това химично активиране дестабилизира лигноцелулозната структура поради протичането на хидролизни реакции, при което се повишава еластичността на частиците на прекурсора, и при последващ процес на нагряване в инертна атмосфера води до получаването на активен въглен с добре развита порьозност и висока специфична повърхност [15]. Всъщност активаторът подпомага образуването и оформянето на микро- и мезопори, при което се наблюдава по-голямо повишение на адсорбционния капацитет в сравнение с широко използваната физичната активация. Механизмът на каталитично действие на ZnCl_2 е двустранен: 1) насърчава извличането/екстрахирането на водни молекули от лигноцелулозната структура; и 2) проявява инхибиторен ефект по отношение на летливи вещества, стабилизира ги и в крайна сметка води до получаване на твърд въглероден остатък. Провеждането на химичната активация с ZnCl_2 оказва положително влияние и върху развитието на повърхността и пористата структура на въглеродни материали, в т.ч. активни въглени, получени от оризови люспи [18-20]. В този случай обработката може да се базира на едностадийен (импрегниране на изходните оризови люспи с химичен реагент и активация при температури 400-800°C) или двустадийен (карбонизация в инертна среда при температури около 400°C, импрегниране на получения въглен с ZnCl_2 и последваща активация при температури над 600°C) процес. Получените по този начин въглеродни материали се характеризират със значителна специфична повърхност и добри адсорбционни способности, в много случаи сравними, с тези на търговските марки активни въглени. Трябва да се спомене обаче, че производственият метод на тези материали включва няколко етапа на пробоподготовка, високи температури на пиролиз и активация, и продължително време на задържане на активи-

ращата и пиролитичната температура, което оскъпява производствената цена. Затова, въпреки удовлетворителните резултати, получени за някои от тези адсорбенти, все още е предизвикателство получаването на адсорбенти със строго специфични, сравними или по-добри характеристики от тези на конвенционалните активни въглени и адсорбенти, чрез използването не само на евтини и достъпни суровини, които са икономически привлекателни, но и чрез разработването и оптимизирането на процеси за получаване при по-нисък разход на енергия и реагенти.

Целта на настоящата работа е получаването на пепел от оризови люспи при контролирано изгаряне във въздушна среда при сравнителни ниски температури, както и изследване на влиянието на температурата и природата на активатора, в т.ч. $ZnCl_2$ и $NaCl$, върху пористата структура на получените адсорбенти.

Експериментална част

Обект на изследване в настоящата работа са пепели от необработени и импрегнирани с химични реагенти оризови люспи, получени чрез контролирано изгаряне във въздушна среда. Импрегнирането на оризовите люспи е проведено с два различни активиращи реагента, в т.ч. 2% разтвор на $ZnCl_2$ и 2% разтвор на $NaCl$, при стайна температура и непрекъснато разбъркване с електромагнитна бъркалка в продължение на 6 часа. След тази обработка пробите са филтрувани и промити с дейонизирана вода, до отсъствие на хлоридни йони във филтратата, и изсушени 6 часа на въздух при $105^\circ C$. Суровите, импрегнирани с $ZnCl_2$ или $NaCl$ оризови люспи са подложени на контролирано изгаряне във въздушна среда в лабораторна инсталация с реактор тип „кипящ“ слой, представен на Фиг. 1, при температури 320 , 420 и $520^\circ C$ и скорост на нагряване $10^\circ C/min$.

Адсорбционните изотерми по азот на изследваните пепели от оризови люспи са снети на апарат Surfer на фирмата Thermo Scientific при $-196^\circ C$. За определянето на специфичната повърхност на мезопористи структури и непористи, финодисперсни материали се използват данните от адсорбционните изотерми в областта на относителни налягания $0,05 - 0,28$ и линейната форма на уравнението на BET (Brunauer–Emmett–Teller) [1, 21-22]:

$$\frac{P_i/P_0}{\alpha_i(1-P_i/P_0)} = \frac{(C-1)P_i}{\alpha_m C P_0} + \frac{1}{\alpha_m C}, \quad (1)$$

където: α_i е количеството на адсорбата при дадено относително налягане P_i/P_0 , α_m е капацитетът на монослоя от адсорбата, а C е физикохимична константа, стояща във връзка с топлината на адсорбция на дадения адсорбат. Отрезът, който правата отсича от ординатната ос, е равен на $1/\alpha_m C$, а тангенсът на ъгъла, който правата сключва с положителната посока на абсцисната ос е равен на $(C-1)/\alpha_m C$. Включвайки отреза и тангенса на ъгъла в една система от две уравнения от първа степен с две неизвестни, се пресмятат стойностите на константите C и α_m . Знаейки стойността на капацитета на монослоя α_m , лесно може да се пресметне специфичната повърхност на пористото тяло, използвайки уравнението:

$$A = \alpha_m N_A \omega, \quad (2)$$

където: N_A е число на Авогадро, $6,023 \cdot 10^{23}$ $1/mol$, а ω – ефективно сечение на молекулата на адсорбата, което за молекулата на азота възлиза на $16,27 \text{ \AA}^2$. Константата C е непосредствено свързана с чистата топлина на адсорбцията Q , съответстваща на разликата в топлината на адсорбцията в монослоя Q_1 и молната топлина на кондензация на парите на адсорбата Q_L в съответствие с уравнението [1]:

$$C = m \exp\left(\frac{Q_1 - Q_L}{RT}\right) \quad (3)$$

Големите стойности на константата C са указание за наличието на силни взаимодействия между адсорбента и адсорбата, които са характерни за случаите на хемосорбция или протичането на персорбция в микропорите. Малките стойности на константата C са указание за протичане на адсорбцията по т.н. „кооперативен“ механизъм или за наличието на много слаби взаимодействия между адсорбата и адсорбента.

Уравнението на BET е приложимо за определяне на специфична повърхност на непористи, макро- и мезопорести материали, състоящи се от пори с широк диаметър, но приложението му за определяне на специфична повърхност на микропористи адсорбенти е проблематично, тъй като е трудно да

се разграничат процесите на моно- и поли-слойна адсорбция от обемното запълване на микропорите, което обикновено завършва при относителни налягания под 0,1 [22]. Поради това, специфичната повърхност, получена чрез прилагане на *BET* метода върху адсорбционни изотерми на микропористи материали не отразява истинската вътрешна повърхност, а трябва да се разглежда само като ориентировъчна или един вид еквивалентна *BET* повърхност. В този случай, е задължително да се отбелязва диапазонът от относителни налягания, в който се наблюдава линейна *BET* зависимост. Установено е, че в присъствието на микропори линейната *BET* зависимост е изместена към значително по-ниските относителни налягания. Разбира се, възниква въпросът как да се намери точният линеен *BET* диапазон за микропористи материали, и то по начин, който да намалява субективността в оценката на размера на монослоя. По този повод Рукуерол предлага подход, който е базиран на два критерия [23]: 1) Константата *C* трябва да има винаги положителна стойност. Отрицателна стойност на *C* в линейната *BET* зависимост е индикация за излизане извън валидния обхват на уравнението на *BET*; 2) Прилагането на уравнението на *BET* следва да бъде ограничено в обхвата на относителни налягания, където $\alpha_i(1 - P_i/P_0)$ нараства с P_i/P_0 . Въпреки това, трябва да се каже, че специфичната повърхност на микропористи адсорбенти има формален и относителен характер. Поради тази причина, по-меродавен параметър е обемът на микропорите, който е основен структурен параметър, описващ микропористите адсорбенти.



Фиг. 1. Лабораторна инсталация за пиролиз на оризови люспи с реактор тип „кипящ“ слой.

Дубинин, в сътрудничество с Радушкевич, представя уравнение за изчисляване обема на микропорите въз основа на диапазона от ниски и средни относителни налягания на адсорбционната изотерма, в т.ч. $10^{-4} < P_i/P_0 < 0.1$ [24-25]. Техният модел представлява адаптация на по-рано развитата от Полани теория за адсорбцията, базираща се на еднородна, еквипотенциална повърхност на адсорбента и теорията за *персорбцията*, касаеща начина на запълване на микропорите с адсорбат. Съгласно Дубинин, адсорбционният процес при микропористи структури се изразява в обемно запълване на микропори, без реализирането на моно- и полислоеве. Линейното уравнение на Дубинин-Радушкевич (*DR*), описващо *персорбцията* в микропористи адсорбенти и катализатори, има следния вид:

$$\lg V_i = \lg V_0 - D(\lg P_0/P_i)^2, \quad (4)$$

където V_i е адсорбираното количество при дадено P_i/P_0 , изразено като обем на течния адсорбат, V_0 е обемът на микропорите, а D се представя с израза:

$$D = B \left(\frac{T}{\beta} \right)^2, \quad (5)$$

където B и β са физикохимични константи, отразяващи специфичната природа на адсорбента и адсорбата. Съгласно уравнение (4), отрезът, който правата отсича от ординатната ос, е равен на $\lg V_0$, от където може да се изчисли стойността на обема на микропорите V_0 , а от наклона на правата се определя D , съответно стойността на отношението B/β^2 при температурата на адсорбцията.

По-късно Каганър модифицира уравнението на *DR* и предлага модифицираната форма на това уравнение да се използва за определянето на специфичната повърхност на микропористи материали [25]. Каганър възприема принципа на *DR* за Гаусово разпределение на адсорбционния потенциал, но заменя концепцията за обемно запълване на микропорите с тази за повърхностно покритие на порите с адсорбат слой по слой. Всъщност, фракционното запълване (V/V_0) от уравнението на *DR* е заменено с повърхностното покритие (α_i/α_m), и новото уравнение, известно като уравнение на Дубинин-Радушкевич-Каганър

(*DRK*), има същият вид като на оригиналното уравнение на *DR*, т.е:

$$\lg\left(\frac{\alpha_i}{\alpha_m}\right) = -D(\lg P_0/P_i)^2, \quad (6)$$

където α_i е количеството на адсорбираното вещество при дадено относително налягане P_i/P_0 , а α_m е капацитета на монослоя от адсорбата. Резултатите от сравнението между стойностите на α_m , оценени чрез методите на *DRK* и *BET*, представят в известна степен смущаваща картина и някои автори заключават, че значимостта на *DRK* уравнението и неговата валидност за оценка на повърхността е неясна и в известен смисъл съмнителна. Въпреки това, в редица изследвания, линеен *DRK* обхват е получен в ограничен диапазон от относителни налягания на изотермата, и в някои случаи са докладвани сравнително близки стойности на α_m изчислени по *DRK* и *BET* [25].

Обемът на порите, $V_{0,95}$, cm^3/g , по предложение на Гурвич, се изчислява въз основа на стойността на адсорбата $\alpha_{0,95}$, отчетена от десорбционния клон на адсорбционната изотерма при относително налягане $P_i/P_0 = 0,95$ в съответствие с израза [1]:

$$V_{0,95} = \alpha_{0,95} V_{N_2}^L, \quad (7)$$

където $V_{N_2}^L$ е молният обем на течният азот при -196°C , равняващ се на $34,68 \text{ cm}^3/\text{mol}$.

Познавайки стойността на специфичната повърхност A и обема на порите $V_{0,95}$ и приемайки ги за цилиндрични, може да се изчисли средният им радиус r_p , използвайки простото съотношение [1]:

$$r_p = \frac{2V_{0,95}}{A}, \quad (8)$$

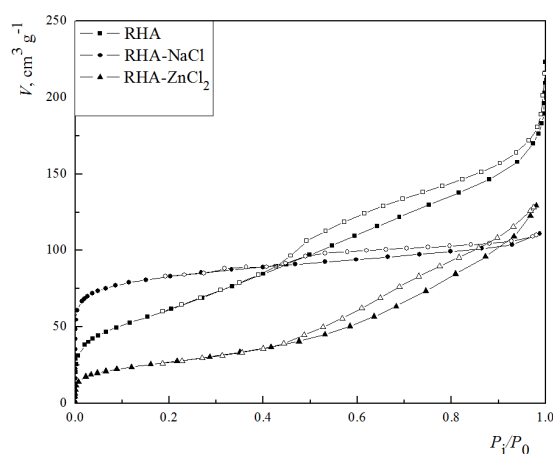
Резултати и дискусия

Адсорбционни изотерми по азот на изследваните проби, получени чрез контролирано изгаряне при температури 320 , 420 и 520°C са представени съответно на Фиг. 2, 3 и 4. Снетите адсорбционни изотерми показват, че както температурата, така и вида на активирация реагент повлияват силно повърхността и текстурните характеристики на по-

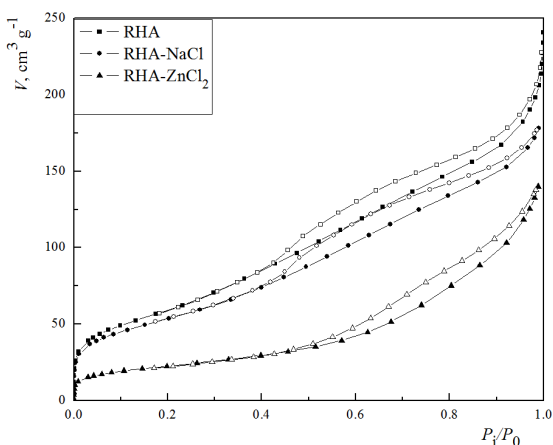
лучените пепели. Пепелите от сурови оризови люспи (проба RHA) и от импрегнирани с ZnCl_2 оризови люспи (проба RHA- ZnCl_2), получени чрез изгаряне при 320°C (Фиг. 2) се характеризират с адсорбционни изотерми от IV тип, типични за мезопористи структури, и хистерезисни участъци тип Н-3 по класификацията на *IUPAC*. Това е указание за наличие на *бипориста* структура, в която са наличие пори с два размера, застъпени в различна степен. Такъв тип хистерезисен участък се наблюдава при тороидни пори, а също и при бутилкообразни пори с тесни и дълги гърла с различни размери и приблизително еднакви размери на телата. С аналогичен хистерезисен участък се характеризират и пористи структури с клиновидни пори, затворени странично и отворени в двата си края [1]. Сравнявайки тези две изотерми, прави впечатление и пониския максимален адсорбционен капацитет при изотермата за RHA- ZnCl_2 , което е индикация, че модифицирането с ZnCl_2 не оказва положително влияние върху развитието на пористата структура на пепелта, получена при тази температура на изгаряне, а дори напротив - влошава я. Адсорбционната изотерма на пепелта получен от оризови люспи, импрегнирани с NaCl (проба RHA- NaCl) чрез изгаряне при 320°C се характеризира със стръмен подем при ниски относителни налягания, рязко стъпало при относителното налягане P_i/P_0 около $0,01$ и почти успореден на абцисата ход при средни и високи относителни налягания. В хода на изотермата се наблюдава и хистерезисен участък от тип Н-4, свързан с протичането на капилярна кондензация в мезопори. Това поведение на адсорбционната изотерма показва, че пористата структура на проба RHA- NaCl е предимно микропореста, с тясно разпределение на размера на порите. С подобен тип изотерма се характеризира т.н. "черна" оризова пепел, получена чрез пиролиз в инертна среда [3], което е указание, че модификацията с NaCl стабилизира и предпазва в известна степен въглеродното съдържание по време на изгаряне при 320°C и води до развитие на микропориста структура, подобна на тази при активните въглини. Именно с това може би е свързан и по-тъмния цвят (чернокафяв) на RHA- NaCl образеца в сравнение с цвета на проби RHA и RHA- ZnCl_2 (бял, подобен на т.н. „бяла“ оризова пепел получена при изгаряне във въздушна среда при 700°C [13]). Повишаването на температурата на изгаряне от 320°C (Фиг. 2) на 420°C (Фиг. 3) и 520°C

(Фиг. 4) не води до съществени различия в хода на адсорбционните изотерми за RHA и RHA-ZnCl₂ пробите, докато адсорбционната изотерма за RHA-NaCl се трансформира от тип I с хистерезис H-4 в тип IV с хистерезис H-3. Нещо повече, адсорбционните изотерми за RHA-NaCl пепелите, получени чрез изгаряне при 420°C и 520°C, наподобяват изключително много изотермите за RHA пепелите, получени чрез изгаряне при същите температури.

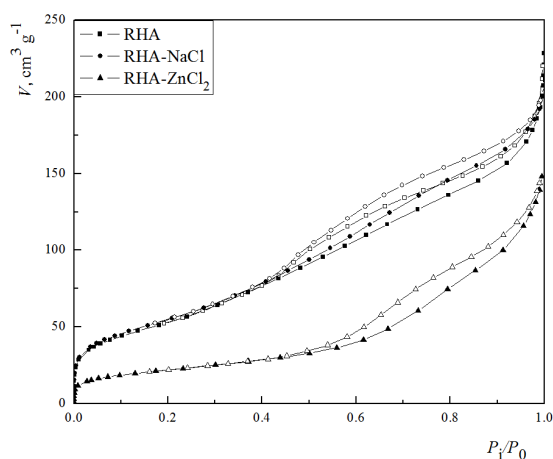
Капацитетът на монослоя α_m на образците, въз основа на който са пресметнати специфичните им повърхности, и константата C са изчислени използвайки линейната форма на адсорбционната изотерма на BET за всички проби (Фиг. 5 и 6) и критерия на Рукуерол (Фиг. 6) за проба RHA-NaCl. Получените резултати, заедно с резултатите за обема на порите по Гурвич и средният радиус на порите, са систематизирани в Таблица 1. Анализът на получените данни показва, че използването на активираещ реагент оказва съществено влияние върху пористата структура на пепели от оризови люспи, получени при контролирано изгаряне при сравнително ниски температури. Използването на ZnCl₂ като модифициращ реагент води до понижаване на специфичната повърхност и обема на порите на пробите при всички тествани температури на контролирано изгаряне във въздушна среда, което е в резултат на разширяването и отварянето на порите. Специфичната повърхност на RHA-ZnCl₂ пробите, получени чрез изгаряне при температури 320, 420 и 520°C, варира в границите 79 – 98 m² g⁻¹. За разлика от импрегнирането с ZnCl₂, импрегнирането с NaCl води до съществено увеличаване на специфичната повърхност за сметка развитието на микропористата структура на RHA-NaCl пробата, получена чрез изгаряне при 320°C, и не оказва значимо влияние при NaCl-активираните пепели получени при по-високите температури на изгаряне в сравнение с тези получени от неимпрегнирани с реагент оризови люспи. Специфичната повърхност на проба RHA-NaCl получена чрез изгаряне при 320°C, изчислена по линейното уравнение на BET и критерия на Рукуерол, е 305 m² g⁻¹. Повърхността на тази проба бе определена и по уравнението на DRK (Фиг. 7) като бе изчислена специфична повърхност, различаваща се от тази определена по BET с около 8%.



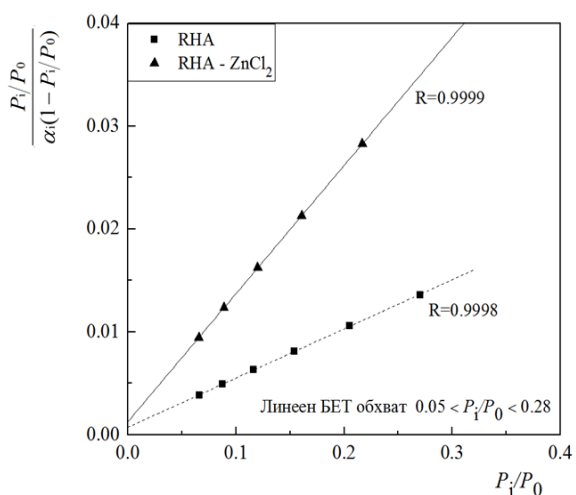
Фиг. 2. Адсорбционни изотерми по азот на пепел от оризови люспи, получена във въздушна среда при 320°C.



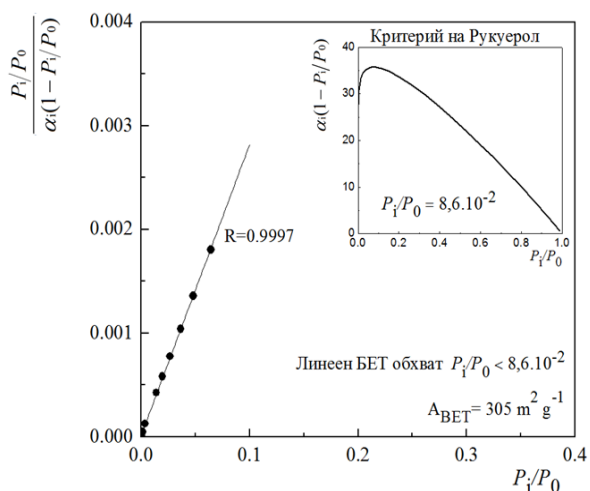
Фиг. 3. Адсорбционни изотерми по азот на пепел от оризови люспи, получена във въздушна среда при 420°C.



Фиг. 4. Адсорбционни изотерми по азот на пепел от оризови люспи, получена във въздушна среда при 520°C.

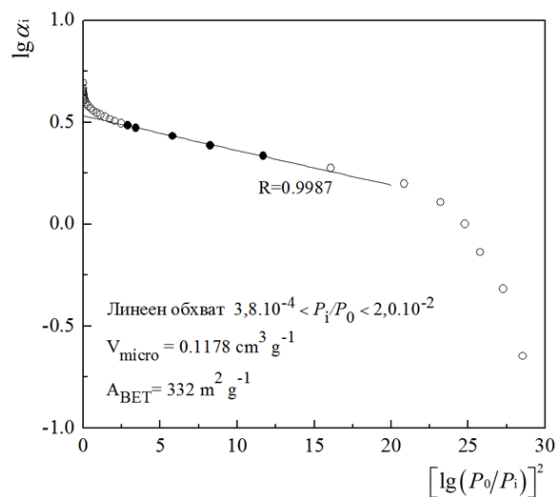


Фиг. 5. Линейна форма на уравнението на BET за пепели от оризови люспи, получени без активиращ реагент (RHA) и с активиращ реагент $ZnCl_2$ (RHA- $ZnCl_2$) във въздушна среда при $320^\circ C$.



Фиг. 6. Линейна форма на уравнението на BET и критерий на Рукуерол за пепел от оризови люспи, получена след активация с 2 % разтвор на $NaCl$ (RHA- $NaCl$) във въздушна среда при $320^\circ C$.

Влиянието на температурата върху пористата структура на изследваните проби е доста по-ограничено в сравнение с влиянието на природата на активатора. Това е особено ясно изразено при RHA и RHA- $ZnCl_2$ пробите, за които с повишаване на температурата на контролирано изгаряне във въздушна среда, обемът на порите и средният им размер се запазват от същия порядък, а специфичната повърхност се понижава в рамките 4,4 – 19,4 %. За RHA- $NaCl$ пробите, с повишаването на температурата на контролирано изгаряне във въздушна среда се наблюдава понижаване на специфичната повърхност с до 36 %, което е в резултат на разширяването и отварянето на порите. С повишаване на температурата на изгаряне, средният радиус и обемът на порите на RHA- $NaCl$ пробите нарастват, съответно от $19,6 \text{ \AA}$ до $24,6 \text{ \AA}$ и от $0,163 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ до $0,268 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$.



Фиг. 8. Линейна форма на уравнението на DRK за пепел от оризови люспи, получена след активация с 2 % разтвор на $NaCl$ във въздушна среда при $320^\circ C$.

Таблица 1. Параметри на пористата структура на пепели от оризови люспи.

Параметри	RHA			RHA- $ZnCl_2$			RHA- $NaCl$		
	320	420	520	320	420	520	320	420	520
Темп., $^\circ C$	320	420	520	320	420	520	320	420	520
A_{BET} , $m^2 g^{-1}$	227	217	195	98	81	79	305	195	203
C	66,58	74,22	70,01	99,47	110,84	100,44	3674,00	85,04	66,22
$V_{0,95}$, $cm^3 g^{-1}$	0,249	0,277	0,256	0,177	0,177	0,175	0,163	0,247	0,268
r_p , \AA	22,8	23,9	23,9	32,0	37,3	37,4	19,6	23,6	24,6

Заклучение

Получените резултати показват, че пористата структура на пепели, получени от оризови люспи, в т.ч. сурови, импрегнирани с $ZnCl_2$ или $NaCl$, чрез контролирано изгаряне във въздушна среда, се повлиява силно от природата на активатора и по-ограничено от температурата на изгаряне. Установено бе, че както РНА- $NaCl$ пепелите така и РНА пепелите, имат достатъчно високоразвита специфична повърхност и обем на порите, което предполага, че могат успешно да бъдат използвани в качеството си на адсорбенти. Все пак трябва да отбележим, че пробата отличаваща се с най-висока повърхност и микропориста структура е проба РНА- $NaCl$ получена чрез изгаряне при $320^\circ C$, в т.ч. $305\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$ изчислени по линейното уравнение на *BET* и критерия на Рукуерол.

Литература

1. Влаев, Л. 2014. *Адсорбция и Катализа*. Бургас, Балтика-2002.
2. Genieva, S.D., Turmanova, S.C., Vlaev, L.T., Utilization of Rice Husks and the Products of Its Thermal Degradation as Fillers in Polymer Composites, in: S. Kalia, S.B. Kaith, I. Kaur (Eds.) *Cellulose Fibers: Bio- and Nano-Polymer Composites: Green Chemistry and Technology*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2011, pp. 345-375.
3. Liou, T.-H. 2004. Evolution of chemistry and morphology during the carbonization and combustion of rice husk. *Carbon*, 42, 785-794.
4. Soltani, N., Bahrami, A., Pech-Canul, M.I., González, L.A. 2015. Review on the physico-chemical treatments of rice husk for production of advanced materials. *Chemical Engineering Journal*, 264, 899-935.
5. Chen, Y., Zhu, Y., Wang, Z., Li, Y., Wang, L., Ding, L., Gao, X., Ma, Y., Guo, Y. 2011. Application studies of activated carbon derived from rice husks produced by chemical-thermal process - A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 163, 39-52.
6. Tavlieva, M.P., Genieva, S.D., Georgieva, V.G., Vlaev, L.T. 2013. Kinetic study of brilliant green adsorption from aqueous solution onto white rice husk ash. *Journal of Colloid and Interface Science*, 409, 112-122.
7. Georgieva, V.G., Tavlieva, M.P., Genieva, S.D., Vlaev, L.T. 2015. Adsorption kinetics of $Cr(VI)$ ions from aqueous solutions onto black rice husk ash. *Journal of Molecular Liquids*, 208, 219-226.
8. Tavlieva, M.P., Genieva, S.D., Georgieva, V.G., Vlaev, L.T. 2015. Thermodynamics and kinetics of the removal of manganese(II) ions from aqueous solutions by white rice husk ash. *Journal of Molecular Liquids*, 211, 938-947.
9. Tsay, M.-T., Chang, F.-W. 2000. Characterization of rice husk ash-supported nickel catalysts prepared by ion exchange. *Applied Catalysis A: General*, 203, 15-22.
10. Renu, P., Radhika, T., Sugunan, S. 2008. Characterization and catalytic activity of vanadia supported on rice husk silica promoted samaria. *Catalysis Communications*, 9, 584-589.
11. Chang, F.-W., Yang, H.-C., Roselin, L.S., Kuo, W.-Y. 2006. Ethanol dehydrogenation over copper catalysts on rice husk ash prepared by ion exchange. *Applied Catalysis A: General*, 304, 30-39.
12. Genieva, S., Turmanova, S., Dimitrov, A., Petkov, P., Vlaev, L. 2012. Thermal degradation of rice husks on a pilot plant. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 110, 111-118.
13. Genieva, S.D., Turmanova, S.C., Dimitrova, A.S., Vlaev, L.T. 2008. Characterization of rice husks and the products of its thermal degradation in air or nitrogen atmosphere. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 93, 387-396.
14. Dimitrov, A., Genieva, S., Petkov, P., Vlaev, L. 2012. Using Pyrolyzed Rice Husks as an Adsorbent for Purification of Water Basins Polluted with Diesel Fuel. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223, 5087-5095.
15. T.J. Badosz. 2006. *Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediation*. Elsevier.
16. Yahya, M.A., Al-Qodah, Z., Ngah, C.W.Z. 2015. Agricultural bio-waste materials as potential sustainable precursors used for activated carbon production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 46, 218-235.
17. He, X., Ling, P., Yu, M., Wang, X., Zhang, X., Zheng, M. 2013. Rice husk-derived porous carbons with high capacitance by $ZnCl_2$ activation for supercapacitors. *Electrochimica Acta*, 105, 635-641.
18. Yalçın, N., Sevinç, V. 2000. Studies of the surface area and porosity of activated carbons prepared from rice husks. *Carbon*, 38, 1943-1945.
19. Kalderis, D., Bethanis, S., Paraskeva, P., Diamadopoulos, E. 2008. Production of activated

carbon from bagasse and rice husk by a single-stage chemical activation method at low retention times. *Bioresource Technology*, 99, 6809-6816.

20. Kalderis, D., Koutoulakis, D., Paraskeva, P., Diamadopoulos, E., Ota, E., Valle, J.O.d., Fernández-Pereira, C. 2008. Adsorption of polluting substances on activated carbons prepared from rice husk and sugarcane bagasse. *Chemical Engineering Journal*, 144, 42-50.

21. Brunauer, S., Emmett, P.H., Teller, E. 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60, 309-319.

22. International Organization for Standardization, Determination of the specific surface area of solids by gas adsorption-BET method, in: ISO 9277:2010, 2010.

23. Rouquerol, J., Llewellyn, P., Rouquerol, F., Is the BET equation applicable to microporous adsorbents?, in: F.R.-R.J.R. P.L. Llewellyn, N. Seaton (Eds.) *Studies in Surface Science and Catalysis*, Elsevier, 2007, pp. 49-56.

24. International Organization for Standardization, Part 3: Analysis of micropores by gas adsorption, in: Pore size distribution and

porosity of solid materials by mercury porosimetry and gas adsorption. 15901-3:2007, 2007.

25. Gregg, S.J., Sing, K.S.W. 1982. *Adsorption, Surface Area and Porosity*. London, Academic Press.

Ления Гонсалвеш-Мусакова

Университет „Проф. д-р Асен Златаров”

ЦНИЛ

гр. Бургас, ул. „Проф. Якимов” № 1

email: lenia_gonsalvesh@abv.bg

Радина Огнянова

Университет „Проф. д-р Асен Златаров”

гр. Бургас, ул. „Проф. Якимов” № 1

email: radinaognyanova@gmail.com

Любомир Влаев

Университет „Проф. д-р Асен Златаров”

Катедра „Физикохимия и Органична Химия”

Бургас, ул. „Проф. Якимов” № 1

email: vlaev@btu.bg



СЪСТОЯНИЕ НА КАЧЕСТВО НА ВЪЗДУХА В ГРАД ПАЗАРДЖИК КАТО ИНДИКАТОР ЗА ЕКОЛОГИЧНА СИГУРНОСТ

Мария Гюлеметова

CONDITION OF THE QUALITY OF THE AIR IN PAZARDJIK AS AN INDICATOR FOR ECOLOGICAL SECURITY

Mariya Gyulemetova

ABSTRACT: *The air is the main source of life, but in most of the cases it is polluted by different reasons and different resources. The conditionality of the air in our city and country is an important factor for the ecological policy at the local and national level which goes along with the ecological security of the population.*

Key word: conditionality of the air; ecological security; indicator.

Въведение

Световната здравна организация обяви качеството на атмосферния въздух за един от основните индикатори за устойчиво развитие, което дава основание да се проучва състоянието му във всички части на света.

Устойчивото и балансирано развитие на районите в България изискват нови количествени и качествени изменения в регионалното развитие, обхващащи всички елементи на това развитие и водещи до хармонично и балансирано интегриране на цялата територия на страната

Описание на проблема

Град Пазарджик е разположен в най-западната част на Горнотракийската низина, част от Пазарджишко-Пловдивското поле при надморска височина 205м. Климатът е преходно-континентален, който се характеризира с почти сухо лято и умерено студена зима. Средната годишна температура е 12,5⁰С, а годишната сума на валежите-500 мм. Използването на твърдо гориво за отопление през зимният сезон от гражданите създава сериозен екологичен проблем.

Характеристиката на качество на атмосферен въздух в община Пазарджик се прави по два индикатора: норми – ПДК (пределно допустими концентрации) и влияние върху човешко здраве. Съблюдават се нормативно определени документи, а именно:

- Закон за опазване на околна среда (чл.79);
- Закон за чистотата на атмосферен въздух (ДВ бр.27 от 2000г., изм.ДВ, бр.91 от 2002г, чл.27;
- Закон за здравословни и безопасни условия на труд;
- Наредба №7 за оценка и управление на качество на атмосферния въздух (ДВ. бр.45/1999 в сила от 01.01.2000г) чл.8 (1);
- Наредба №12 от 15.07.2010 г. за норми на нивата (концентрациите на серен диоксид, азотен диоксид, фини прахови частици (ФПЧ₁₀) олово, бензин, въглероден оксид, озон в атмосферен въздух;
- Наредба №14 за норми за пределно допустими концентрации на вредни вещества в атмосферен въздух на населени места (ДВ. бр.88/1997г);
- Заповед №РД-694/09.10.2008г. от 01.01.2009г. за контролираните замърсители за пункта ФПЧ₁₀, NO₂, SO₂.

Уточнява се понятието „алармен праг” като „ниво на концентрация на даден атмосферен замърсител, при което съществува риск за здравето на хората” според Закон за качество на атмосферен въздух. Към настоящия момент на територията на Пазарджик е разположен един градски фонов пункт - 15515513 за мониторинг на качеството на атмосферния въздух с ръчно пробовземане от Изпълнител-

на агенция околна среда - Регионална лаборатория Пазарджик.

Основни източници на замърсяване: битови процеси, транспорт, горивни процеси, промишлени предприятия и др.

Контролирани параметри:

Общ прах и фини прахови частици - Средноденонощна норма за общ суспендиран прах е $0,25\text{mg}/\text{m}^3$, а средноденонощна норма за опазване на човешко здраве за ФПЧ10 е $50\text{mg}/\text{m}^3$, което не трябва да бъде превишено повече от 25 пъти през годината.

Азотен диоксид - Основните източници като МПС, някои промишлени предприятия, тютюнопушене и други оказват вредно влияние върху човешкото здраве и преди всичко върху дихателните функции на организма, а чрез тях цялостно. Най-ниската концентрация с ефект върху хора с астматично заболяване в течение на един час е $560\text{mg}/\text{m}^3$. С Наредба N9 (ДВ бр.46/1999 и доп.ДВ бр.86/2005г. ПДК са определени така:

- СЧН-ДО - $210\text{mg}/\text{m}^3$ (да не бъде превишена повече от 18 пъти годишно);
- СГН-ДО - $42\text{mg}/\text{m}^3$; алармен праг- $400\text{mg}/\text{m}^3$.

Серен диоксид - основни източници за община Пазарджик: бита и „киселинни дъждове”. С Наредба N9(ДВ бр.46/1999 и доп.ДВ бр.86/2005г ПДК са определени така:

СЧН- $350\text{mg}/\text{m}^3$; СДН- $125\text{mg}/\text{m}^3$ (да не бъде превишена повече от 3 пъти); алармен праг - $500\text{mg}/\text{m}^3$.

Методи при набиране и анализ

Фини прахови частици - БДС/EN 12341; 24ч. - 5 пъти в седмица в работни дни;

- метод на калибриране - честота.

Общ прах- БДС/EN 12341

- метод на калибриране - честота.

Серен диоксид (SO₂) – БДС 17.2.4.20-83

- осредняване на резултати - 8 часа;

- пронабиране: 1 път дневно (ежедневно 5 пъти в седмица);

- метод на калибриране - честота; инструкция на производителя - 4 пъти дневно

Азотни оксиди (NO₂) - БДС 17.2.4.22-83;

- пронабиране: 4 пъти дневно, 5 пъти в седмицата (през работни дни);

- осредняване на резултати - 1 час;

- метод на калибриране - честота; инструкция на производителя - 4 пъти дневно.

Гюлеметова, М [Гюлеметова, 2001] определя индикаторите като ”части от информация, отразяваща състоянието на селището, в което живеем. В своята цялост те дават ясна представа за пълния спектър от проблеми - икономически, екологични, социални и сочат как се променят критичните аспекти в обществото – в положителна, отрицателна или остават непроменени”.

Община Пазарджик е включена в Национална система за екологичен мониторинг (НАСЕМ), подсистема ”Въздух и емисии“ чрез един стационарен пункт за ръчно пробовземане, намиращ се на площад „В. Левски“ N 5

Табл. 1. Брой дни с превишаване на средно-дневните норми за финни прахови частици (ФПЧ₁₀) за зимен период от 01.10 на 2012 до 09.01. 2013г. по данни от ръчен пункт “В. Левски“

Дата	Измерена концентрация mg/m^3	Превишение на ПС за СДН $50\text{mg}/\text{m}^3$
12.10.	66	1,320
13.10	56	1,120
19.10	52	1,040
23.10	53	1,060
24.10	69	1,380
25.10	63	1.260
27.10	82	1,640
05.11	77	1,540
12.11	89	1,780
13.11	55	1,100
16.11	54	1,080
17.11	56	1,120
18.11	57	1,140

19.11	72	1,440
20.11	51	1,020
22.11	76	1,520
24.11	81	1,610
25.11	98	1,960
26.11	105	2,100
27.11	92	1,840
28.11	101	2,020
29.11	68	1,360
30.11	69	1,380
01.12	80	1,600
02.12	60	1,200
05.12	83	1,060
08.12	103	2,060
11.12	54	1,080
13.12	55	1,100
14.12	116	2,320
15.12	149	2,980
16.12	196	3,920
17.12	142	2,840
18.12	58	1,160
21.12	96	1,920
22.12	90	1,800
23.12	66	1,320
24.12	179	5,580
25.12	284	5,680
26.12	294	5,880
27.12	243	4,860
28.12	197	3,940
29.12	109	2,180
30.12	70	1,400
31.12	176	3,520
09.01.2013	97	1940

Системният мониторинг на РИОСВ Пазарджик през зимния период на 2012г. и 2013г. показва трайно завишаване както на средно-дневните така и на средно-годишни концентрации на ФПЧ_{10} . Извършените 179 анализа регистрират 95 превишения на $\text{СДН-50 mg/m}^3/271\%$ от допустимите 35 броя за една календарна година определя качеството на въздуха съобразно индикаторите за устойчиво развитие като неустойчив индикатор.

Максимално измерената концентрация (пъти средноденонощна норма за определяне на човешкото здраве) е на 26.12.2012г. в размер на $294,4 \text{ mg/m}^3$, която превишава $5,88$ пъти средно-денонощната норма.

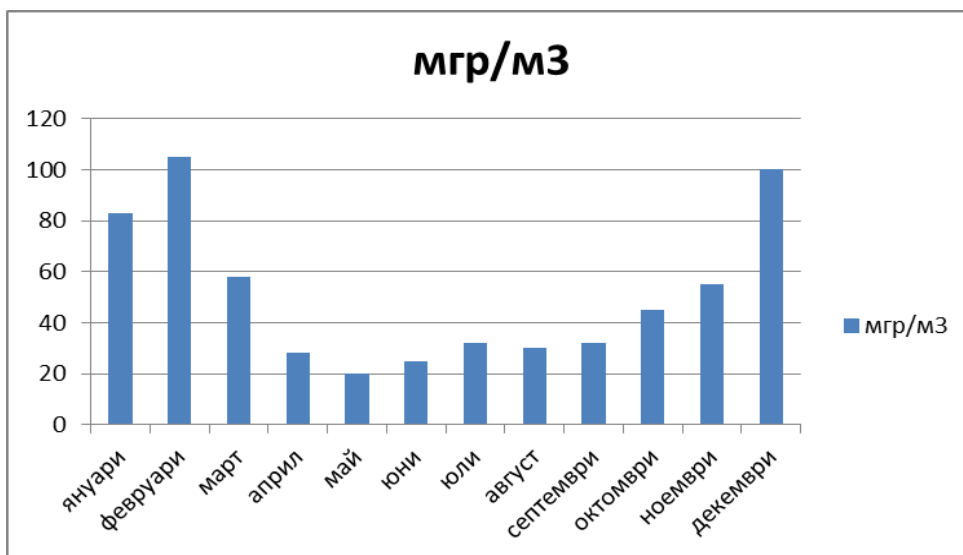
Според Крачунов, Х., Корназов, Н. [Крачунов, 2012] за усъвършенстване и при-

лагане на единен подход в управлението на екологична сигурност, опазване на околната среда и трудовата и здравословна безопасност се предлага модел, който включва следните етапи:

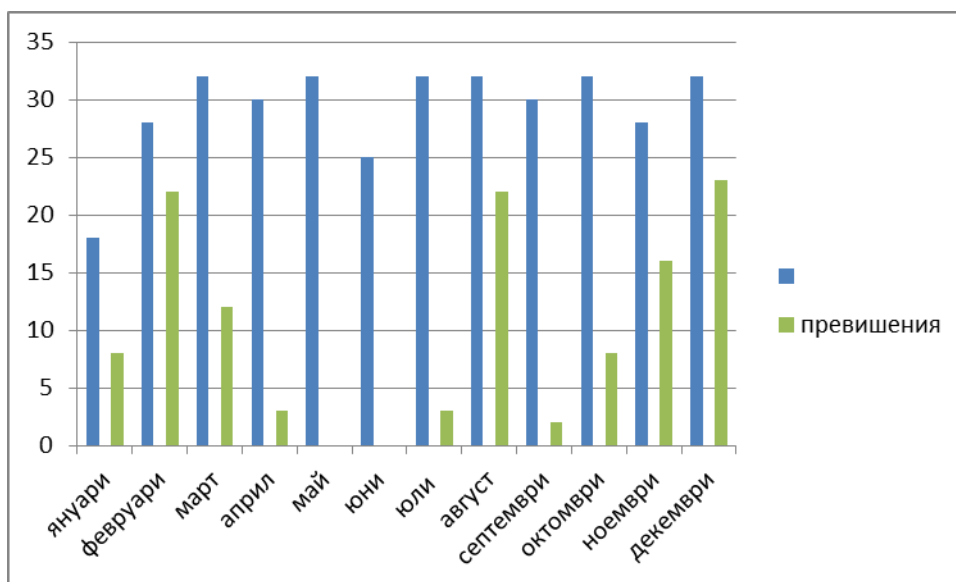
- първи за установяване, оценка и анализ на състоянието на екологична сигурност, опазване на околната среда и трудова безопасност с най-голям аспект на индикатор оценка на рисковете ;

- втори за обявяване на стойностите на индикаторите за екологична сигурност;

- трети етап включва разработване на стратегии, планове и програми за опазване на околна среда и екологична сигурност, подобряване на условията на живот с цел намаляване на заболяемостта .



Фиг. 1. Средномесечна концентрация на ФПЧ10 през 2012г за град Пазарджик



Фиг. 2. Регистрирани превишения на ФПЧ10 в пункт "пл.В.Левски" гр.Пазарджик 2012

- втори за обявяване на стойностите на индикаторите за екологична сигурност;

- трети етап включва разработване на стратегии, планове и програми за опазване на околна среда и екологична сигурност, подобряване на условията на живот с цел намаляване на заболяемостта .

Описание и анализ на причините за замърсеност с финни прахови частици и серен диоксид и отражението върху човешкото здраве.

Прахът е основен атмосферен замърсител, чиито здравен ефект зависи главно от размера и химичния състав на суспендирани прахови частици и абсорбирането на повърхността им. Като се има предвид, че Пазарджик е град с зелена маса под необходимите средни нива за

страната става ясно, че превишените норми финни прахови частици и серен диоксид ще влияят негативно върху човешкото здраве. Деца, възрастни и хора с хронични белодробни заболявания, грип или астма, стават особено чувствителни към високите нива на ФПЧ10. Кратковременната експозиция на 500 mg/m³ прах и серен диоксид увеличава общата смъртност, а продължителната - повишава неспецифичните белодробни заболявания, предимно респираторни инфекции на горните дихателни пътища и бронхите и структурни промени в белия дроб. Град Пазарджик попада в групата на най-засегнатите области по болести на дихателната система, сърдечносъдови и соци-алнозначими заболявания.

През целия период се наблюдават високи нива на фин прах и серен диоксид. Анализът на наличната метеорологична информация (в пункта се наблюдава още: температура, налягане и влажност) показва, че дните с високи концентрации на изследваните показатели съвпадат с дните на по-топло време и ниска скорост на вятъра, а причините са: лошо състояние на пътна мрежа, непочистване на уличните платна, остаряла канализационна мрежа, както и използването на твърди горива за отопление в жилищния сектор. Измерените високи нива през зимните месеци са в пряка връзка на увеличеното потребление на твърди горива поради понижаване на температурите и ниската интензивност на слънчева радиация. Максимума на мъглите и облачността през зимния период също създават условия за концентриране на атмосферни замърсители. Другият важен източник - автомобилният трафик за града играе важна роля в атмосферната циркулация.

Състоянието на атмосферния въздух в град Пазарджик го определя като неустойчив индикатор, защото видимо от контрола се констатира стойности на показателите, които се влошават във времето.

Планирани мерки за подобряване на качеството на атмосферния въздух.

Община Пазарджик изготвя актуализация на Програма за качество на атмосферния въздух 2011-2014г. Програма на Община Пазарджик, 2014, която съдържа оперативен план за действие с цел намаляване нивата на замърсителите и достигане на установените норми, съгласно разпоредбите на чл.30 от Закона за чистотата на атмосферния въздух със следните по-важни мерки в краткосрочен план:

Финни прахови частици

- По отношение на транспорта - почистване на основни пътни артерии от натрупания прах и поддържането им в добро състояние; проучване възможностите за газифициране на автобусния транспорт; оптимизиране на генералния транспортен план на Пазарджик; изготвяне на проекти за реконструкция на пътни възли и участъци; извеждане на транспортни потоци извън града и др.

- Регулиране на транспортния поток и оптимизиране на автомобилния трафик, като

за целта се осъществяват съвместни действия на всички институции.

- По отношение на битовия сектор - газификация на града; повишаване на енергийната ефективност на сградите; въвеждане на схема за доставка на твърди горива с добро качество; провеждане на информационна кампания сред населението и др.

- По отношение на промишлеността е включена една фирма, осъществяваща дейност с източници на емисии (в т.ч. прахови), която трябва да реализира проекти за реконструкция или изграждане на нови пречиствателни съоръжения; повишаване на енергийната ефективност и др.

- С голяма тежест за подобряване качеството на атмосферния въздух е приваждане на пътната и прилежащата инфраструктура в добро състояние; рехабилитацията на комприментираните пътни участъци; промяната на тротоарите; измиването и качественото почистване на пътните платна и др.

Заклучение

Актуализираната програма отчита някои силни и слаби страни, набелязва мерки, но е необходимо да обхваща по-голям брой мерки за ранжиране и избор на екологични приоритети на база оценка на рисковете за здравето на населението, защото качеството на въздуха в град Пазарджик е важен фактор за здравословен начин на живот на населението, което от своя страна е основен капитал за икономически растеж и устойчиво развитие, каквато е целта на Стратегия 2020.

Литература:

- [1.] Гюлеметова, М. Устойчиво развитие, изд. Агато, С. 2001
- [2.] Крачунов, Х., Корназов, Н. Информационен модел за управление на екологична сигурност на индустриални зони. С, 2012
- [3.] Актуализация на Програма за качество на атмосферния въздух на община Пазарджик 2011-2014г.

Mariya Gyulemetova
Университет: state university of library studies and information technologies
Катедра :national security department
Адрес: Bulgaria , Pazardjik ,str.D.Grekov 54
gulemetova@abv.bg



ЖЕЛАТИНОВИ КОМПОЗИТИ С ПРИЛОЖЕНИЕ В РЕГЕНЕРАТИВНАТА МЕДИЦИНА

Таня Димова

GELATINE COMPOSITES FOR APPLICATION IN REGENERATIVE MEDICINE

Tanya Dimova

ABSTRACT: *In this review, the bioactive materials synthesized in the presence of gelatin and different inorganic fillers such as bioglasses or glass-ceramics are presented. The obtained composite materials are described in the relation with their potential applications as bioactive and biocompatible materials in the field of regenerative medicine.*

Key words: gelatin, bioactive glasses, glass-ceramics, bioactive composites, regenerative medicine

1. Въведение

През последното десетилетие, тъканното инженерство се развива с бързи темпове, тъй като притежава потенциал за създаване на нови тъкани, дори органи.

Най-често имплантните материали се получават чрез *in vitro* посяване на човешки клетки върху биоразградима матрица.

Тези клетки се размножават, мигрират и се диференцират в тъканта, в която са имплантирани. Зрелите клетки, отделят компоненти на извънклетъчния матрикс, необходими за създаване на нова тъкан в увредения участък. При костната регенерация, например, се прилага следния подход. Остеогенни клетки, се култивират *in vitro*, след което се пренасят във временни триизмерни матрици [1]. Значително внимание е насочено към използването на биоактивни материали за регенерация на костна тъкан, тъй като по естествен път не могат да бъдат възстановени големи костни дефекти. Липсва „шаблон”, който да подпомага хода на регенерацията и се налага хирургическа намеса [2].

Материали, които подобряват костната и хрущялна регенерация, се изготвят от природни и синтетични полимери. Те се използват за създаване на имплантни материали, които да подпомагат клетките. Често, тези материали включват насочващи компоненти като рекомбинантни ДНК технологии и пептидни мотиви за разпознаване от клетъчни рецептори, които да ускорят възстановяване-

то на тъканите. По този начин се създава възможност за изготвяне на материали с нови нива на биофункционализация. Напредъкът в дизайна на материали дава възможност, за създаване на силно индивидуални среди за развитие на костни и хрущялни клетки [3]. Това, от своя страна, води до добро приемане на биоматериала и липса на тъканен отговор към „чуждото тяло”.

Материалите, имплантирани в жива тъкан, взаимодействат с нея. Поради това, не може, да се говори за абсолютно инертни материали. Всички материали предизвикват поява на биологичен отговор от страна на приемащата тъкан. Този отговор може да бъде положителен или отрицателен. Например, K.Yu и съавт. [4] обсъждат стратегии за предотвратяване на нежелани реакции от страна на организма, в присъствие на повърхностна модификация на даден биоактивен материал. Такива реакции могат да бъдат: неспецифична протеинова адсорбция, клетъчно взаимодействие, кръвосъсирване, активиране системата на комплемента. Те заключават, че подходящи са подходи, при които се доставят антитромботични, противовъзпалителни и анти-микробни молекули в прицелното място, отколкото да бъде създаден биоматериал с анти-адхезивен слой. Такъв слой би следвало да намали адсорбцията на протеини по повърхността на биоактивния материал, съответно да намали и клетъчния отговор от страна на приемащата тъкан.

Предпоставка за това, един материал да е биоактивен, е способността му да се свързва и интегрира с живата костна тъкан.

Това свързване се дължи на протичане на химични реакции на повърхността на материала, последвани от клетъчни такива. Биоактивният материал образува или предизвиква образуването на биологично активен хидроксиапатитен слой на повърхността си, след контакт с костната тъкан.

Хидроксиапатитният слой служи за свързване на имплантния материал към костта [5].

Биоактивни материали са биоактивните стъкла, стъклокерамиките, калциево-фосфатните керамики, разнообразни композити (съставни продукти) и покрития, които се свързват към живи тъкани, както е обобщено в [6]. Керамики, използвани за възстановяване и реконструкция на повредени части от мускулно-скелетната система, са наречени „биокерамики“ [7].

За създаване на имплантни матрици се използват различни материали, но биокерамиките, са се доказали като подходящи за костно регенериране. Биоактивни керамики са хидроксиапатит (HA), β -трикалциев фосфат (β -ТСР), бифазните калциеви фосфати (BCP), биоактивните стъкла (BG). Интересът към бифазните калциево-фосфатни (BCP) керамики, напр. HA/ β -ТСР, е свързан с ефективната им роля в костнорегенеративния процес, а също така и фактът, че чистите керамики, HA или β -ТСР, имат контролирани нива на разграждане [1].

Освен неорганични материали, през последните две десетилетия, интензивно са изследвани разграждащи се синтетични полимери и биополимери, за изготвяне на имплантни матрици с приложения в регенеративната медицина.

T.Sauter и сътр. [8] описват установените подходи за генериране на йерархично организирани полимерни структури за регенеративни терапии. Те обобщават аналитичните инструменти за цялостното им морфологично характеризирание и поставят акцент върху възможностите за обработка на биополимери и синтетични полимери. Обърнато е внимание на повърхностното функционализиране (напр. ковалентно прикрепване на фактори на растежа) към готовите имплантни матрици.

За изграждане на имплантни матрици в тъканното инженерство са проучвани разнообразни природни, синтетични и кополимери (комбинирани). Това включва синтетични

биоразградими полимери и природни полимери, например хидрогели като колаген, желатин, агар, фибрин [9].

В тъканното инженерство, най-често за триизмерни матрици, се използват синтетични биоразградими полимери като поли (α -хидроксиестери), включително поли (млечна киселина) (PLA), поли (гликолова киселина) (PGA), поли (млечна киселина-ко-гликолова киселина) (PLGA) и поликапролактон (PCL). За подобряване на механичните свойства, на клетъчната адхезия и пролиферация в полимерите се включват неорганични частици [10].

В тъканното инженерство се използват и редица природни полимери, които, според химичния си строеж, се делят на полимери с белтъчен произход (колаген, желатин, силк-фиброин), полизахариди (хитозан и производни, хиалуронова киселина, алгинати, нишесте, целулоза, декстрини) и полиестери с микробиален произход (полихидроксиалканоати).

Предимствата им са: ниска токсичност, ниски разходи за производство и обезвреждане; способни са да предизвикат биологично сигнализиране, клетъчна адхезия, клетъчна деградация и ремоделиране.

Недостатъците им са свързани факта, че имат ниска механична, термична и химична стабилност. Освен това има риск от отхвърляне и пренос на болестотворни микроорганизми. Възможна е и загуба на биологични свойства по време на получаване, като е съобщено в [11].

Ред колективи [2, 3, 11, 12], представят полимерни материали, стратегии и техники [13] за изготвяне на имплантни матрици за костна и хрущялна регенерация.

Някои от използваните техники за получаване на матрици са: самосглобяване на повтарящи се малки, структурни блокове, бързо прототипиране, електроовлажняване, лиофилизация, реплика с пена и др.

При всички тях се цели постигане на структура, наподобяваща естествената кост. Фиг.1. представя основните елементи, които би било необходимо, да притежава всеки имплантен материал.



Фиг.1. Основни елементи и условия на материал, предназначен за костна регенерация: остеокондуктивна матрица, остеокондуктивни сигнали, остеогенни клетки, които да могат да отговарят на тези сигнали и адекватно кръвоснабдяване [14].

2. Колаген

С цел наподобяване на нативната костна тъкан, в областта на тъканното инженерство се използва природния полимер колаген.

Той заема значителна част от извънклетъчния матрикс на голям брой тъкани (кожа, кости, хрущяли, сухожилия, кръвоносни съдове, зъби). Ето защо той влиза в състава на разнообразни костно-регенеративни материали.

Колагенът, в различни форми, е широко използван медицински материал с разнообразни приложения.

Например от колаген се получават продукти за кардиологията, вкл. сърдечни клапи, артериални и артериовенозни заместители, колагенови конци за операции, превръзки, като хемостатичен агент и др. Колагенови пасти са широко използвани в дерматологията [15].

В регенеративната терапия се прилага за възстановяване на нервна тъкан (централна и периферна), пикочен мехур и уретри, кожа, сухожилия [16].

Колагенът се получава от различни източници.

Е. А. Neel и съавт. [16] правят задълбочен преглед на природни и синтетично получени колагенови матрици. Те обобщават сложни триизмерни колагенови констукти, които осигуряват сигнали в нано-, микро- и мезо-скалата за молекули, клетки, протеини и др.

Практически многобройни са композитните материали на базата на колаген.

Някои от тях са синтезирани с НА [17], освен него, в колагеновата мрежа, могат да бъдат включени и мезенхимни стволови клетки [18].

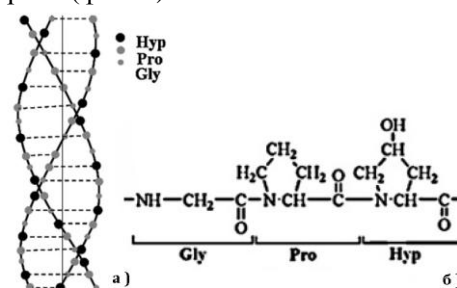
Описани са и колагенови композити със стъклокерамиката силикокарнотит [19, 20], калциево-фосфатни керамики НА/ α -трикалциев фосфат [21], калциев фосфат силикат с воластонитна стъклокерамика [22] и без воластонитна стъклокерамика [23].

Колагенов хидролизат с поливинилов алкохол и НА е описан от Н.Imanieh и Н.Aghahosseini [24].

За целите на денталната медицина са разработени колаген-фибринови композити, представляващи микросфери с биоактивни стъкла, дотирани със сребро (Ag-BG) и стволови клетки от зъбна пулпа, които са обещаващи за тъканно-дентална регенерация [25].

Колагенът представлява белтък, състоящ се от тройна спирала с високо съдържание на глицин (Gly) (близо 33%).

Всяка от трите вериги се стабилизира чрез пространствено отблъскване, поради пиролидиновите пръстени на остатъците пролин и хидроксипролин. Трите вериги са свързани една с друга посредством водородни връзки. Донори, на водороди за връзките между α -веригите, са NH-групите на глициновите остатъци. Акцептори във водородните връзки са C=O групите от остатъци на другите вериги. Освен това OH-групите на хидроксипролина участват във водородното свързване [11, 26, 27]. Три α -вериги се усукват плътно в тройна спирала (фиг. 2)



Фиг. 2. а) Тройно верижна структура на колагенови фибрили и б) химична структура на най-често повтарящата се трипептидна последователност в колагена - глицин (Gly), пролин (Pro) и хидроксипролин (Hyp) [11].

Колагеновите фибрили са стабилизирани помежду си и чрез специфични напречни ковалентни връзки [11, 28].

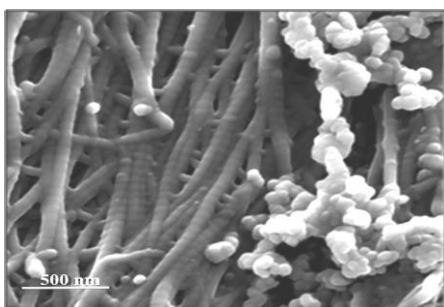
Първоначално алфа-веригите на колагена са свързани заедно с няколко различни, но лесно обратими omрежвания. При “зреенето” на молекулата, omрежванията се стабилизират [29].

Минерализацията на колагеновите фибрили се свързва с второ ниво от йерархичната структура на костта и е отговорна за здравината и механичната якост.

Калциево-дефицитни апатити се отлагат в нанокристална форма в междуфибриларните пространства и извън фибрилите, което е свързано със самоорганизирането на колагеновата фибрила [30].

R.Hambli и A.Barkaoui [28] подробно описват минерализацията на колагеновите микрофибрили.

Началният етап - отлагане на апатитни кристали и нарастването им по повърхността на колагенови фибрили, е представена на фиг.3.



Фиг.3. SEM изображение на апатитно отлагане по повърхността на колагеновите влакна, след *in vitro* тест в SBF [31].

Биоразградимостта, ниското ниво на антигенност и клетъчната адхезия, правят колагена ценен материал за приложение в тъканното инженерство.

Изследвани са порьозни колагенови материали, които позволяват клетъчно и тъканно свързване, нарастване и формиране на кост чрез подпомагане на остеобластната диференциация. Някои автори считат, че недостатък при използването на колаген като биоматериал, за възстановяване на тъкани, е неговата висока степен на разграждане, което бързо води до бърза загуба на механични свойства [11].

3. Желатин

Желатинът е най-добрият заместител на колагена, защото и двата са изградени от еднакви съставни части.

Като полимерна матрица за композити, той е предназначен, да имитира органичната компонента на костта.

Получава се при денатурация на колаген и, също като него, е уникален с това, че съдържа 14% Hup, 16% Pro и 26% Gly. Единственият друг животински продукт, съдържащ в по-големи количества хидроксипролин, е еластинът [29].

Интересна е работата на I.Naug и съавт. [32], които сравняват свойства на животински и рибен желатин. Те установяват, че най-съществената разлика между тях е в съдържанието на аминокиселините Pro и Hup. Авторите заключават, че тези аминокиселини стабилизират конформационния порядък, когато желатинът образува гелна мрежа.

Известни са два основни типа желатин:

1) Тип А, с изоелектрична точка от 7 до 9, който се получава от колаген след кисела хидролиза.

2) Тип Б, който е резултат от алкална хидролиза на колаген и има изоелектрична точка от 4.8 до 5.2.

Накратко, желатинът се състои от пептидни триплетни, Gly - X-Y, където X и Y могат да бъдат всяка една от аминокиселините, но Pro има предпочитание за позиция X, а Hup - за позиция Y.

Приблизително 1050 аминокиселинни остатъка изграждат една алфа-верига [29], а според [11] - над 1400.

M.Chang и R.De Long [33], описват образуването на калциев фосфат в желатинова матрица, използвайки прекурсори на свободни калциеви и фосфатни йони.

S.Gorgieva и V.Kokol подробно описват биоматериали, синтезирани с колаген и желатин, тяхната биосъвместимост и перспективи за приложение [34].

Желатинът, подобно на колагена, се разгражда от протеазни ензими в тялото.

Като допълнение към свойствата им, това което ги прави подходящи за технологичния процес, е фактът, че желатинът не е цитотоксичен, показва добро ниво на биоактивност и *in vivo* предизвиква благоприятен клетъчен отговор.

Той притежава проангиогенни характеристики, стимулира растежа на васкуларната (крвоносната) мрежа.

В сравнение със синтетичните полимери, желатиновите матрици не показват типичната ниска първоначална биоактивност. Това е описано от Mozafari и сътр. [35, 36]. Те създават лиофилизирана, нанокомпозитна матрица от биоактивно стъкло и желатин, която показва висока биоактивност.

В тъканното инженерство се използват различни молекули, предизвикващи omрежване в желатина. Наричат се „omрежващи агенти“. Такива са глутаралдехидите, карбодиимидите, бактериалните ензими (микробилна трансглутаминаза mTGase), генепин, радиационно omрежване. Основен техен недостатък е цитотоксичността им. Използването на силно токсичния глутаралдехид или радиационното omрежване, могат да предизвикат необратимо свързване на веригите в желатина и да го превърнат в бионеразградим полимер.

По тази причина, D.Nadeem и сътр. [35], синтезират композит (70SiO₂-30CaO/желатин) без, или с, малки количества органични разтворители и без опасни химикали.

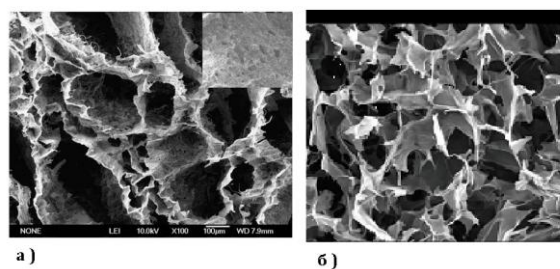
Генипинът е omрежващ агент, предпочитан за създаване на композити, тъй като е природна субстанция, производно от генипозид, открит в растението гардения. Той има следните предимства: минимална цитотоксичност в ниски концентрации, достатъчна биodeградация и дава възможност за висока степен на omрежване. Недостатък е, високата му цена [35].

Понастоящем, желатинът се използва във фармацевтичната промишленост, влиза в продукти за рани и адхезиви в клиничната практика. Предимство на този природен полимер е, че клетките в приемащата тъкан запазват добра жизнеспособност и липсва антигенност. Неговата достъпност и ниска цена, способстват за получаването на значителни количества композит с негово участие.

Някои автори смятат, че естествената кост е съставена предимно от бифазен калциев фосфат (BCP) и желатин (Gel), където BCP е отложен равномерно на повърхността на желатиновата матрица [1].

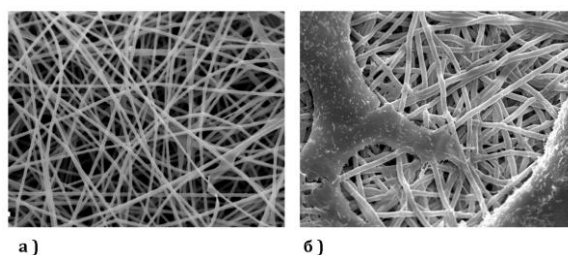
4. Желатинови матрици с приложение в тъканното инженерство

В литературата са описани порьозни желатинови [37, 38], желатин-хитозанови [39, 40] и желатин-карагенанови [41] матрици, получени по метода на лиофилизация (фиг.4).



Фиг. 4. SEM микрографии а) на желатинова матрица култивирана с клетки [36] и на желатин-карагенанови матрица, наречена от авторите „супер макропорест криогел“ [41].

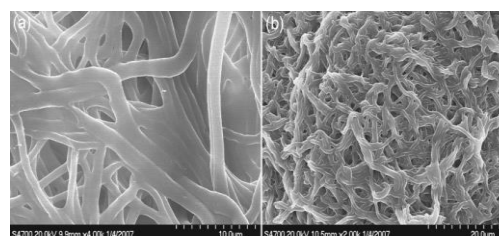
Друга форма, в която се получават желатинови биоматериали, са нанofиброзните материали (фиг.5.).



Фиг.5. а) SEM на желатинови нанofибри без omрежващ агент, получени чрез електроовлажняване и б) растеж на клетки (VW-MSCs) на повърхността на нанofибрите след 7 дневна култивация [42].

Нанofибрите се получават чрез електроовлажняване на желатинови разтвори с последващо ламиниране.

За подобряване стабилността и механичните свойства на такъв тип композити, S. Zhang и съавт. [43] прилагат omрежване на мембраната от желатинови нанofибри. За процеса на omрежване те използват 1-етил-3-(диметил-аминопропил) карбодиимид хидрохлорид (EDC) и N-хироксил сукцинимид (NHS) (фиг.6.).



Фиг. 6. SEM изображения на мембрана omрежени, желатинови нанofибрили при увеличение: (a) x 4000 и (b) x 2000 [43].

Авторите установяват, че омрежените нановлакнести мембрани, запазват своята структура, въпреки че влакната след електроовлажняването са навити и слепени. Проведен е *in vitro* тест с клетки от пародонтално сухожилие, култивирани на повърхността на желатиновата мембрана.

Резултатите от това изследване показват добро клетъчно свързване, растеж и пролиферация, което според авторите прави мембраната обещаващ материал за регенериране на увредени пародонтални тъкани [43].

J.Ко и сътр. [44] също използват EDC като омрежаващ агент, докато W.Lu и съавт. [45] омрежават желатиновите нанофибри с глутаралдехид.

За да се запази морфологията на фибрите след престояване във водна среда, S.Panzavolta и съавт. [42] оптимизират омрежването използвайки генепин.

Същият омрежаващ агент, е включен в синтеза на съ-електроовлакнен материал, получен от P.Togicelli и съавт. [46]. Те модулirат механичните свойства и хондроцитния отговор на нанофибрилни матрици като съчетават желатин с полимлечна киселина.

M.Mehrasa и сътр. [47] използват полимлечна-ко-гликолова киселина (PLGA) и желатин като в нанофиброзната матрица включват силикатни мезопорести частици. Според авторите, всички изброени матрици са проектирани за приложение в тъканното инженерство.

Интересно и многообещаващо е изследването на S.Vaiguera и съавт. [48], които тестват електроовлакнени желатинови матрици, омрежени с генепин, като носители на децелуларизирана, извънклетъчна матрица от мозък на плъх за възстановяване на нервна тъкан.

5. Видове композитни материали с участието на желатин

5.1. Желатинови композити с биоактивни керамики от вида HA, TCP, BCP, BG, GC

S. Rabiee разглежда биоактивните керамики като носители на костни морфогенетични протеини [34]. Той съобщава, че биоактивни керамики се използват в импланти, при възстановяване и реконструкцията на различни телесни руптури.

Авторът разделя биоактивните керамики в няколко основни групи: калциево-фосфатни

керамики, биоактивни стъкла (BG) и стъкло-керамики (GC).

От своя страна, калциевите фосфати са: моно- ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$), ди- (CaHPO_4), три- ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) (TCP), тетра- ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) и окта- $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (OCP) калциеви фосфати, както е посочено в [49, 50]

В зависимост от типа на свързване на биоматериалите с дадена тъкан, е предложена класификация, според която има четири типа биокерамики използвани за ортопедични импланти:

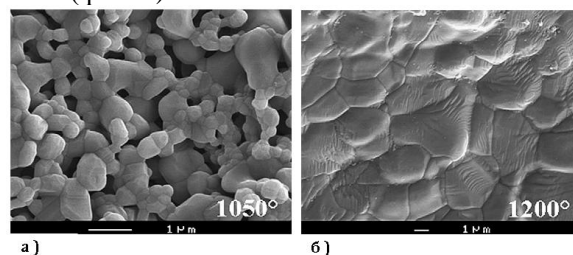
- 1) Компактни биоматериали, керамики без пори, близки до инертни;
- 2) Порьозни биоматериали, инертни импланти.
- 3) Компактни биоматериали, повърхностно биоактивни керамики, стъкла и стъкло-керамики без пори;
- 4) Компактни, резорбируеми биоматериали, с или без пори [6, 7]

В литературата са описани композити на желатин с биоактивни калциево-фосфатни керамики, в т.ч. HA, флуорапатит (FHA), карбонат флуорапатит (CO_3FHA), силикокарнититна керамика [51], β -TCP, OCP, BCP, BG и др. [52].

5.1.1. Желатин / хидроксиапатитни (Gel / HA) композити

Хидроксиапатитът, с брутна формула $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, е главния неорганичен компонент на костите и зъбите.

Морфологията на хидроксиапатитната повърхност, зависи от температурата на наляване (фиг.7.).



Фиг.7. SEM изображение на хидроксиапатитна керамика термично третирана при а) 1050 °C и б) при 1200 °C [54].

HA се използва широко като имплантен материал за костно заместване, благодарение на отличните му остеокондуктивни свойства. Много от медицинските приложения на HA са ограничени, главно поради неговите относително слаби механични свойства.

Малки количества биополимери и/или силиций, въведени по време на синтеза, подобряват механичните свойства на НА, повишават биосъвместимостта на композитните и може да бъде повлиян размера на частиците [53].

НА е биосъвместим, нетоксичен, не предизвиква възпалителен процес и не е имуногенен. Освен това е способен да образува директна химическа връзка с околните тъкани [54].

Биополимери като Gel, хитозан (CS) и поли-винилпиролidon (PVP) са използвани за получаване на композити, възпроизвеждащи свойствата на естествената кост, които се дължат на уникалната йерархична интеграция на НА в рамките на колагеновата матрица [44, 53].

Костните импланти често са получени от биоразградим полимер(и) с включени неорганични частици биоактивно стъкло и/или керамика, като хитозан/хидроксиапатит [55].

M.Czikó и съавт. синтезират композити с желатин, хитозан и PVP и към всеки от полимерите добавят НА. Те установяват разлики в свойствата при отделните композити, в сравнение с чистия НА в зависимост от вида на полимера. И още нещо: оказва се, че биополимерите повлияват процеса на образуване на активни центрове и нарастването на хидроксиапатитните частици по време на синтеза на композити. Авторите доказват, че чрез добавяне на биополимер, могат да бъдат контролирани *in vitro* свойствата на НА [53].

M.Sivakumar и съавт. синтезират микросфери, които представляват желатинов композит с гранули корален хидроксиапатит, натоварени с Gentamicin [56].

M.Chang и сътр. [57] синтезират Gel/НА нанокompозити и установяват саморганизиране на НА нанокристали по дължината на желатиновите фибрили.

T.-W. Wang и съавт. синтезират двуслойна Gel/НА мембрана посредством изсушаване чрез замразяване като установяват, че свързващите агенти са разположени помежду желатиновите [58].

5.1.2. Gel / β -TSP композитни материали

С цел възстановяване на костни дефекти, някои автори създават биоразградими, порьозни, желатинови композити чрез химическо omрежване с глутаралдехид [84, 85] или генипин [86] и в тях включват частици β -TSP.

TSP е известен в минералогията като витлокит (whitlockite). Обикновено съществува в две кристални модификации: α -TSP и β -TSP. α -TSP кристализира при температура над 1250°C, докато β -TSP е преобладаваща фаза при по-ниски температури от 900–1100°C. Той често се комбинира с НА. Това са т.нар. бифазни калциеви фосфати. Комбинацията НА/TSP, при по-високи съотношения в композити, е най-ефективна за повишаване на биосъвместимостта.

Този факт би могъл да се дължи, на по-голямата разтворимост на TSP в сравнение с НА. Предполага се още, че повишаването на биосъвместимостта, може да е свързана с различния порьозитет на НА и TSP [50].

До момента има създадени порьозни и нанофиброзни, биоразградими, желатинови матрици с частици или гранули β -TSP.

Порьозните матрици от вида Gel/ β -TSP са използвани като носители на клетки, растежни фактори, растителни извлеци и др.

Y.Takahashi и съавт. [84] използват такива композити като носители на мезенхимни стволови клетки, а M.Yamamoto и съавт. [85], включват растежен фактор – костен морфогенен протеин-2 (BMP-2).

Y.-T. Fu и сътр. в системата за костна регенерация Gel/ β -TSP/генипин, добавят лумброкиназа и използват клинично полученият композетен материал [86].

W.-L. Wang и съавт. включват в композити от типа Gel/ β -TSP декокт, който представлява традиционен китайски продукт съдържащ извлек от корени на растенията *Astragalus* и *Angelica sinensis*. Авторите заключават, че декоктът може да стимулира клетъчната пролиферация и диференциация [87].

Нанофиброзни композити от вида Gel/ β -TSP са изследвани от X. Zhang и съавт.. Те изучават тези композити като моделно съединение за освобождаване на калциеви йони в клетъчна следа. Те установяват, че osteoblastни клетки MG-63 в среда на композита се повлияват положително [88].

Отново X.Zhang и сътр. синтезират посредством електроовлажняване композитни химически omрежени мембрани от Gel с включено в тях различно количество наночастици β -TSP.

Както и в предишна тяхна работа [88], така и тук, те изследват освобождаването на калциеви йони от нанофибриите и поведението на osteoblastни клетки (тип MG-63).

Получените експериментални резултати показват, че адхезията, разпространението, пролиферацията и ранната остеогенна диференциация на остеобластните клетки по композитните нановлакна, се повлиява положително от съдържанието на включените наночастици β -ТСР и от поведението им в процесите на биоразградимост [89].

5.1.3. Композитни Gel / ВСР материали

L.Bakhtiari в своето проучване [1], разглежда порести, композитни материали, изготвени от биоразградимия полимер – желатин и нано-размерни частици на бифазна калциевофосфатна керамика.

Керамиката е съставена от две фази - 70% НА и 30% β -ТСР. Неорганичната компонента на композита е получена преципитация и е калцинирана при 700 °С в продължение на 2ч., а самият композит Gel/ВСР е получен след лиофилизация. Структурата, на готовата желатинова мрежа, е стабилизирана чрез потапяне в 1% разтвор на омрежващия агент - EDC (N-(3-диметил-аминопропил)-N'-етил карбодиимид, който създава напречни връзки между веригите на желатина и по този начин я укрепва.

Авторката съобщава, че нанокompозитите структури, получени по метода на лиофилизация, са с добре развита структура на порите и с подходящи механични свойства. Наноразмерният β -ТСР показва значим биологичен афинитет и активност, реагира много добре на физиологични среди. Също така, поради бавната деградация, порестият β -ТСР се разглежда като идеален костозаместващ материал, който може да се разгражда с нарастването на костите. Нанокompозитните желатин/ВСР имат висок потенциал за използване като твърда тъкан с високо пореста структура и добро механично поведение [1].

5.2. Gel / BG и Gel / GC композитни материали

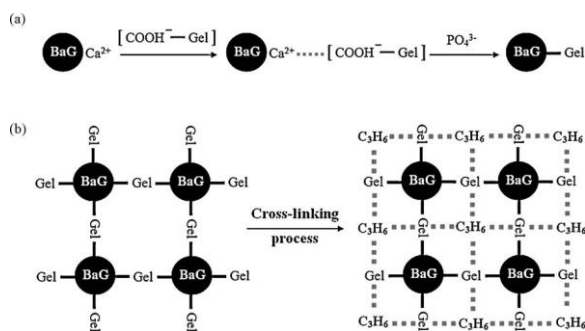
Биоактивните стъкла са познати от 1970 г. Заедно с биоактивните керамики са обект на изследвания през последните десетилетия, поради значимостта им за регенеративната медицина.

За интересът към тях свидетелстват големия брой статии и ревюта, разкриващи различни аспекти от синтеза, модификации в

състава, свързани с промяна в свойствата, структурата, действието и т.н.

Разглеждането им не е обект на настоящия обзор, затова по-долу ще бъдат изложени само механизъм на химическо свързване между органичната и неорганичната фаза на желатиновите композити, тяхното получаване и данни от проведени проучвания.

Механизъм на химично свързване между частиците на BG и Gel [36, 90] в рамките на нанокompозит, е описано в три стъпки от М. Mozafari и сътр. [90] и схематично е представено на фиг.8.



Фиг.8. (а) Механизъм на свързване между наночастици на зол-гелно стъкло и желатин; (б) Схема на химическо свързване между желатинови вериги и глутаралдехида [90].

Заедно с това, авторите провеждат изследвания на създадените от тях композити с участието на SaOS-2 (human osteoblast-like) клетки като обобщават, че получените композити могат да имат обещаващо клинично приложение, което потвърждава резултатите и на други изследователи [91].

C.Soundrapandian и съвт. [92] описват такива матрици, синтезирани с природния полимер хитозан и биоактивно стъкло третирано предварително с Gatifloxacin (флуорохинолонов антибиотик) или с Fluconazole (антимикотик).

В друга статия М.Mozafari и съвт. [36], описват биомиметичното формиране на апатит по повърхността на Gel/BG композити, в които биоактивното стъкло е наноразмерно и е от същата система 64SiO₂-31CaO-5P₂O₅.

М.Peter и сътр. [93], комбинират желатина с хитозан и наночастици стъклокерамика в следния състав 55SiO₂-40CaO-5P₂O₅ (mol%).

D.Nadeem и сътр. синтезират композитна матрица за костна регенерация, съставена от желатин и биоактивно зол-гелно стъкло със състав 70SiO₂-30CaO. Композитът е разрабо-

тен като алтернатива на синтетичните полимерни матрици.

Използването на генепин като омрежваща добавка, се явява средство за модифициране на разграждането. Биосъвместимостта на композитната матрица е установена като повърхността на образците е култивирана с човешки стволони клетки от зъбна пулпа [35]

L.Radev и съавт. [94] синтезират Gel/силикокарнотитни стъкло-керамични композити като заключават, че получените композити проявяват забележителна *in vitro* биоактивност. Този факт е установен и за други видове композитни материали, синтезирани от работната група [19,51].

5.3. Други желатинови композити

Необичайно е изготвянето на колагенови композити с фуказит. N.Ninan и съавт. [100], са на мнение, че зеолитите са потенциални материали за регенеративната медицина, тъй като са биосъвместими и позволяват катионен обмен. Авторите използват фуказит активиран с мед (CAF). За синтеза на Gel/CAF композити, те прилагат иновативен подход, а именно, омрежване с формалдехид, след което подлагат на лиофилизация желатиновата смес с включените зеолитни частици. Установено е, че с увеличаване концентрацията на CAF в желатина, се увеличава контактния ъгъл на материала към вода. Наред с това, авторите заключават, че са необходими допълнителни изследвания, за да се говори за приложение на този тип композити в тъканното инженерство. В друга работа, N.Ninan и съавт.[101], анализират Gel/CAF композитите, за приложение при зарастването на рани. Констатиран е антибактериален ефект, който се дължи на освобождаването на медни катиони от сърцевината на вградените CAF частици в желатиновата матрица.

Заключение

Представеният обзор би могъл да се приеме като основа на все още непълна, но развиваща се във времето, класификация на композитните биоматериали, синтезирани на базата на желатин.

Основното заключение от него е, че този тип композитни материали са предпочитани, пред колагеновите, когато се цели по-ниска себестойност на имплантния продукт.

И както винаги, за другите положителни моменти в тяхното приложение, ще е отговорно бъдещето.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Bakhtiari L., S.M. Hossainlipour, H.R. Rezaie, 2012, Effect of Gelatin Amount on Properties of Nano-Bcp/Gel Scaffolds, *International Journal of Modern Physics: Conference Series*, 05, 257-262.

[2] Stevens M.M., 2008, Biomaterials for bone tissue engineering, *Materials Today*, 11, 18-25.

[3] Bonzani I.C., J.H. George, M.M. Stevens, 2006, Novel materials for bone and cartilage regeneration, *Current opinion in chemical biology*, 10, 568-575.

[4] Yu K., Y. Mei, N. Hadjesfandiari, J.N. Kizhakkedathu, 2014, Engineering biomaterials surfaces to modulate the host response, *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 124, 69-79.

[5] Bouhazma S.C.S., H. Barkai, S. Elabed, S. Ibsouda Koraichi, B. El Bali, M. Lachkar, 2015, Synthesis, characterization, *in vitro* bioactivity and wettability of sol-gel derived SiO₂-CaO-P₂O₅ and SiO₂-CaO-P₂O₅-Na₂O bioglasses, *Bouhazma & al. / Moroccan Journal of Chemistry*, 3 N°1 (2015) 19-27, 1, 19-27.

[6] Cao W.P., L.L. Hench, Bioactive materials, *Ceramics International*, 22 (1996) 493-507.

[7] Hench L.L., 1991, Bioceramics: From Concept to Clinic, *Journal of American Ceramic Society*, 74 , 1487-1510.

[8] Sauter T., T. Weigel, K. Kratz, A. Lendlein, 2012, Polymer Scaffolds for Regenerative Therapies — Design of Hierarchically Organized Structures and Their Morphological Characterization, *Nano Life*, 02, pages 17.

[9] Boccaccini A., 2003, Bioresorbable and bioactive polymer/Bioglass® composites with tailored pore structure for tissue engineering applications, *Composites Science and Technology*, 63, 2417-2429.

[10] Okamoto M., B. John, 2013, Synthetic biopolymer nanocomposites for tissue engineering scaffolds, *Progress in Polymer Science*, 38, 1487-1503.

[11] Puppi F.C.D., A.M. Piras, E. Chiellini, 2010, Polymeric materials for bone and cartilage repair, *Progress in Polymer Science*, 35, 403-440, (2010).

[12] Yunos D. M., O. Bretcanu, A.R. Boccaccini, 2008, Polymer-bioceramic composites for tissue engineering scaffolds, *Journal of Materials Science*, 43, 4433-4442.

[13] Kumaresan R.G. T., M.Ramu, M.Ananthasubramanian, 2015, Conceptual Design and Fabrication of Porous Structured Scaffold for Tissue Engineering Applications, *Biomedical Research*, 26, 42-48.

[14] Saiz E., E.A. Zimmermann, J.S. Lee, U.G. Wegst, A.P. Tomsia, 2013, Perspectives on the role of nanotechnology in bone tissue engineering, *Dental*

- materials : official publication of the Academy of Dental Materials, 29, 103-115.
- [15] Ramshaw J., P.R.Vaughan, J. A. Werkmeister, 2001, Applications of collagen in medical devices, *Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications*, 13, 14-26.
- [16] Ensanya L.B., A. A. Neel, J. C. Knowles, O. Syed, V. Mudera, R. Day, J. K. Hyun, 2013, Collagen — Emerging collagen based therapies hit the patient, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65, 429–456, (2013).
- [17] Wahl J.C.D., 2006, Collagen-Hydroxyapatite composites for hard tissue repair, *European Cells and Materials*, 11, 43-56.
- [18] Ning L., H. Malmstrom, Y.F. Ren, Porous collagen-hydroxyapatite scaffolds with mesenchymal stem cells for bone regeneration, *The Journal of oral implantology*, 41 (2015) 45-49.
- [19] Radev. L., V. Hristov, B. Samuneva, G. Apostolov, 2009, Organic/inorganic bioactive materials - Part I: Synthesis, structure and in vitro assessment of collagen/silicocarnotite biocoatings, *Central European Journal of Chemistry*, 7(4), 2009, 702–710.
- [20] Radev L., V. Hristov, I. Michailova, M. H. V. Fernandes, I. M. M. Salvado, 2011, Collagen/silicocarnotite composites, cross-linked with chondroitin sulphate: in vitro bioactivity, *Processing and Application of Ceramics*, 5, 161-170.
- [21] J.A. Inzana, D. Olvera, S.M. Fuller, J.P. Kelly, O.A. Graeve, E.M. Schwarz, S.L. Kates, H.A. Awad, 2014, 3D printing of composite calcium phosphate and collagen scaffolds for bone regeneration, *Biomaterials*, 35, 4026-4034.
- [22] Hristov V., L. Radev, B. Samuneva, D. Ivanova, 2009, Organic/Inorganic bioactive materials - Part II: in vitro bioactivity of Collagen-Calcium Phosphate Silicate/Wollastonite hybrids, *Central European Journal of Chemistry*, 7(4), 2009, 711–720.
- [23] Radev L., N. Y. Mostafa, I. Michailova, I. M. M. Salvado, M. H. V. Fernandes, 2012, Bioactivity of Collagen/Calcium Phosphate Silicate Composites, Cross-Linked with Chondroitin Sulfate, *International Journal of Materials and Chemistry*, 2, 1-9.
- [24] Imanieh H. A. H., Synthesis and character investigation of new collagen, 2013, Hydrolysate/polyvinyl alcohol/hydroxyapatite Polymer Nano-Porous Membranes: I. Experimental design optimization in thermal and structural properties, *Systems and Synthetic Biology*, (2013) 7:175–184.
- [25] Chatzistavrou X., R.R. Rao, D.J. Caldwell, A.W. Peterson, B. McAlpin, Y.-Y. Wang, L. Zheng, J. Christopher Fenno, J.P. Stegemann, P. Papagerakis, 2016, Collagen/fibrin microbeads as a delivery system for Ag-doped bioactive glass and DPSCs for potential applications in dentistry, *Journal of Non-Crystalline Solids*, 432, 143-149.
- [26] A. Bhattacharjee, M. Bansal, 2005, Collagen Structure: The Madras Triple Helix and the Current Scenario, *International Union of Biochemistry and Molecular Biology: Life*, 57, 161-172.
- [27] Berisio R., L. Vitagliano, L. Mazzarella, A. Zagari, 2009, Crystal structure of the collagen triple helix model [(Pro-Pro-Gly)₁₀]₃, *Protein Science*, 11, 262-270.
- [28] Hambl A.B. R., 2012, Physically based 3D finite element model of single mineralized collagen microfibril, *Journal of Theoretical Biology*, 301, 28-41.
- [29] Francis F.J., 2000, Gelatin, *Encyclopedia of Food Science and Technology*, 2nd edition. 4 Vols., 1183-1188.
- [30] Liu Y., N. Li, Y.P. Qi, L. Dai, T.E. Bryan, J. Mao, D.H. Pashley, F.R. Tay, 2011, Intrafibrillar collagen mineralization produced by biomimetic hierarchical nanoapatite assembly, *Advanced materials*, 23, 975-980.
- [31] Ferreira A.M., P. Gentile, V. Chiono, G. Ciardelli, 2012, Collagen for bone tissue regeneration, *Acta biomaterialia*, 8, 3191-3200.
- [32] Haug I.J., K.I. Draget, A. Smidsrod, 2004, Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin, *Food Hydrocolloids*, 18, 203-213.
- [33] Chang M. C., R. DeLong, 2009, Calcium phosphate formation in gelatin matrix using free ion precursors of Ca²⁺ and phosphate ions, *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, 25, 261-268.
- [34] Nadeem M. K. D., X. Yang, B. Su, 2013, Fabrication and in vitro evaluation of a sponge-like bioactive-glass/gelatin composite scaffold for bone tissue engineering, *Materials Science & Engineering C*.
- [35] Mozafari M. R. M., M. Azami, S. Maleknia, 2010, Biomimetic formation of apatite on the surface of porous gelatin/bioactive glass nanocomposite scaffolds, *Applied Surface Science*, 257, 1740–1749.
- [36] Kang H.-W., Y. Tabata, Y. Ikada, 1999, Fabrication of porous gelatin scaffolds for tissue engineering, *Biomaterials*, 20, 1339-1344.
- [37] Wu X., Y. Liu, X. Li, P. Wen, Y. Zhang, Y. Long, X. Wang, Y. Guo, F. Xing, J. Gao, 2010, Preparation of aligned porous gelatin scaffolds by unidirectional freeze-drying method, *Acta biomaterialia*, 6, 1167-1177.
- [38] Nandagiri V. K., P. Gentile, V. Chiono, C. Tonda-Turo, A. Matsiko, Z. Ramtoola, F.M. Montevercchi, G. Ciardelli, 2011, Incorporation of PLGA nanoparticles into porous chitosan-gelatin scaffolds: influence on the physical properties and cell behavior, *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 4, 1318-1327.
- [39] Sarem M., F. Moztarzadeh, M. Mozafari, 2013, How can genipin assist gelatin/carbohydrate chitosan scaffolds to act as replacements of load-bearing soft tissues ?, *Carbohydrate Polymers*, 93, 635-643.

- [40] A. Sharma, S. Bhat, T. Vishnoi, V. Nayak, A. Kumar, 2013, Three-dimensional supermacroporous carrageenan-gelatin cryogel matrix for tissue engineering applications, *BioMed research international*, 2013, 478279.
- [41] Panzavolta S., M. Gioffre, M.L. Focarete, C. Gualandi, L. Foroni, A. Bigi, 2011, Electrospun gelatin nanofibers: optimization of genipin cross-linking to preserve fiber morphology after exposure to water, *Acta biomaterialia*, 7, 1702-1709.
- [42] Zhang S., Y. Huang, X. Yang, F. Mei, Q. Ma, G. Chen, S. Ryu, X. Deng, 2009, Gelatin nanofibrous membrane fabricated by electrospinning of aqueous gelatin solution for guided tissue regeneration, *Journal of biomedical materials research. Part A*, 90, 671-679.
- [43] Ko J.H., H. Yin, J. An, D.J. Chung, J.-H. Kim, S.B. Lee, D.G. Pyun, 2010, Characterization of cross-linked gelatin nanofibers through electrospinning, *Macromolecular Research*, 18, 137-143.
- [44] Lu W., M. Ma, H. Xu, B. Zhang, X. Cao, Y. Guo, 2015, Gelatin nanofibers prepared by spiral-electrospinning and cross-linked by vapor and liquid-phase glutaraldehyde, *Materials Letters*, 140, 1-4.
- [45] Torricelli P., M. Gioffre, A. Fiorani, S. Panzavolta, C. Gualandi, M. Fini, M.L. Focarete, A. Bigi, 2014, Co-electrospun gelatin-poly(L-lactic acid) scaffolds: modulation of mechanical properties and chondrocyte response as a function of composition, *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 36 130-138.
- [46] Mehra M., M.A. Asadollahi, K. Ghaedi, H. Salehi, A. Arpanaei, 2015, Electrospun aligned PLGA and PLGA/gelatin nanofibers embedded with silica nanoparticles for tissue engineering, *International journal of biological macromolecules*, 79, 687-695.
- [47] Baiguera S., C. Del Gaudio, E. Lucatelli, E. Kuevda, M. Boieri, B. Mazzanti, A. Bianco, P. Macchiarini, 2014, Electrospun gelatin scaffolds incorporating rat decellularized brain extracellular matrix for neural tissue engineering, *Biomaterials*, 35, 1205-1214.
- [48] Pignatello R., *Biomaterials Applications for Nanomedicine*, Edited by R.Pignello, 2011, ISBN 978-953-307-661-4, 470 pages, Publisher: InTech.
- [49] Dorozhkin S.V., Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine, *Materials*, 2 (2009) 399-498.
- [50] Shadanbaz S., G.J. Dias, 2012, Calcium phosphate coatings on magnesium alloys for biomedical applications: a review, *Acta biomaterialia*, 8, 20-30.
- [51] Radev L., M. Helena, V. Fernandes, I. M. Salvado, D. Galli, 2009, Organic/Inorganic bioactive materials - Part III: in vitro bioactivity of gelatin/silicocarnotite hybrids, *Central European Journal of Chemistry*, 7(4), 721-730.
- [52] Yamada M., T. Anada, T. Masuda, T. Takano-Yamamoto, O. Suzuki, 2015, Effect of mechanical stress on differentiation of mouse mesenchymal stem cells seeded into an octacalcium phosphate-gelatin scaffold, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 220,125-130.
- [53] S.V. Dorozhkin, Bioceramics of calcium orthophosphates, *Biomaterials*, 31 (2010) 1465-1485.
- [54] Cziko M., E. S. Bogya, M. V. Diudea, R. Barabas, 2014, Research on hydroxyapatite based composite material, *Revue Roumaine de Chimie*,59(5), 353-357.
- [55] Song J.M., Y. D. Kim, J. Y. Lee, Y. J. Baek, S.Y. Yoon and H. S. Kim, 2014, Comparative study of chitosan/fibroin-hydroxyapatite and collagen membranes for guided bone regeneration in rat calvarial defects: micro-computed tomography analysis, *International Journal of Oral Science*, 6, 87-93.
- [56] Yoshida T.M.A., E. Ishida, M. Ashizuka, 2004, Preparation of Bioactive Chitosan-hydroxyapatite Nanocomposites for Bone Repair through Mechanochemical Reaction, *Materials Transactions*, Vol. 45, No. 4, pp. 994-998
Special Issue on Frontiers of Smart Biomaterials, (2004).
- [57] Sivakumar M., 2002, Preparation, characterization and in vitro release of gentamicin from coralline hydroxyapatite-gelatin composite microspheres, *Biomaterials*, 23, 3175-3181.
- [58] M.C. Chang, C.-C. Ko, W.H. Douglas, Preparation of hydroxyapatite-gelatin nanocomposite, *Biomaterials*, 24 (2003) 2853-2862.
- [59] Wang T.-W., Y.-C. Huang, J.-S. Sun, F.-H. Lin, 2006, Preparation and evaluation of GAG-incorporated skin substitute: an in vitro study, *Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications*,18:153-157.
- [60] Y. Takahashi, M. Yamamoto, Y. Tabata, Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in biodegradable sponges composed of gelatin and beta-tricalcium phosphate, *Biomaterials*, 26 (2005) 3587-3596.
- [61] Yamamoto M., A. Hokugo, Y. Takahashi, T. Nakano, M. Hiraoka, Y. Tabata, 2015, Combination of BMP-2-releasing gelatin/beta-TCP sponges with autologous bone marrow for bone regeneration of X-ray-irradiated rabbit ulnar defects, *Biomaterials*, 56, 18-25.
- [62] Fu Y.T., S.Y. Sheu, Y.S. Chen, K.Y. Chen, C.H. Yao, 2015, Porous gelatin/tricalcium phosphate/genipin composites containing lumbrokinase for bone repair, *Bone*, 78, 15-22.
- [63] Wang W.L., S.Y. Sheu, Y.S. Chen, S.T. Kao, Y.T. Fu, T.F. Kuo, K.Y. Chen, C.H. Yao, 2015, Enhanced Bone Tissue Regeneration by Porous Gelatin Composites Loaded with the Chinese Herbal Decoction Danggui Buxue Tang, *Plos One*, 10, 0131999.
- [64] Zhang X.H., Q. Cai, H.Y. Liu, S. Zhang, Y. Wei, X.P. Yang, Y.H. Lin, Z.G. Yang, X.L. Deng, 2012, Calcium ion release and osteoblastic behavior

of gelatin/beta-tricalcium phosphate composite nanofibers fabricated by electrospinning, *Materials Letters*, 73, 172-175.

[65] Zhang X., S. Meng, Y. Huang, M. Xu, Y. He, H. Lin, J. Han, Y. Chai, Y. Wei, X. Deng, 2015, Electrospun Gelatin/beta-TCP Composite Nanofibers Enhance Osteogenic Differentiation of BMSCs and In Vivo Bone Formation by Activating Ca (2+) -Sensing Receptor Signaling, *Stem cells international*, 507154.

[66] Mozafari M., F. Moztarzadeh, M. Rabiee, M. Azami, S. Maleknia, M. Tahriri, Z. Moztarzadeh, N. Nezafati, 2010, Development of macroporous nanocomposite scaffolds of gelatin/bioactive glass prepared through layer solvent casting combined with lamination technique for bone tissue engineering, *Ceramics International*, 36, 2431-2439.

[67] Habraken W.J., J.G. Wolke, J.A. Jansen, 2007, Ceramic composites as matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering, *Advanced drug delivery reviews*, 59, 234-248.

[68] Soundrapandian C., S. Datta, B. Kundu, D. Basu, B. Sa, 2010, Porous bioactive glass scaffolds for local drug delivery in osteomyelitis: development and in vitro characterization, *American Association of Pharmaceutical Scientists Technology*, 11, 1675-1683.

[69] Peter M., N.S. Binulal, S.V. Nair, N. Selvamurugan, H. Tamura, R. Jayakumar, 2010,

Novel biodegradable chitosan–gelatin/nano-bioactive glass ceramic composite scaffolds for alveolar bone tissue engineering, *Chemical Engineering Journal*, 158, 353-361.

[70] Hristov V., L. Radev, M. Helena, V. Fernandes, I. M. Salvado, D. Galli, 2010, Organic/Inorganic bioactive materials - Part IV: In vitro assessment of bioactivity of gelatin-calcium phosphate silicate/wollastonite hybrids, *Central European Journal of Chemistry*, 8(2),278–284.

[71] Ninan N., Grohens, Y., Elain, A., Kalarickal, N., Thomas, 2013, Synthesis and Characterisation of Gelatin/Zeolite Porous Scaffold, *European Polymer Journal* .

[72] Ninan N., M. Muthiah, N.A. B. Yahaya, I. K. Park, A. Elain, T.W. Wong, S. Thomas, Y. Grohens, 2014, Antibacterial and wound healing analysis of gelatin/zeolite scaffolds, *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 115, 244-252.

assist. Tanya Nedelcheva Dimova, Mpharm
Medical University of Varna , Faculty of Pharmacy
Department of Pharmaceutical Sciences and
Pharmaceutical Management
Bul. “Tsar Osvoboditel” 84, Varna, 9000
e-mail: biotan@abv.bg



ИЗСЛЕДВАНЕ ИЗМЕНЕНИЕТО НА СПЕЦИФИЧНАТА МЕЖДУФАЗОВА ПОВЪРХНОСТ ПРИ РЕКТИФИКАЦИЯ НА СМЕСИ С РАЗЛИЧНО ПОВЪРХНОСТНО НАПРЕЖЕНИЕ НА ЧИСТИТЕ КОМПОНЕНТИ

Живко Иванов, Адриана Георгиева, Добрин Георгиев, Краси Панайотова

STUDY OF AMENDING OF THE SPECIFIC INTERFACIAL AREA BY RECTIFICATION OF A MIXTURES WITH DIFFERENT SURFACE TENSION OF PURE COMPONENTS

Zhivko Ivanov, Adriana Georgieva, Dobrin Gerogiev, Kراسi Panayotova

ABSTRACT: *The specific interfacial area is an important characteristic of the gas-liquid layer on the trays, directly influencing the process mass transfer. For a certain tray, while keeping all other conditions the same, the specific interfacial area will be a function only of the physicochemical properties of the liquid phase. The aim of this work is to study of amending of the specific interfacial area by rectification of a mixtures with different surface tension of pure components.*

Key words: specific interfacial area, surface tension, rectification

Въведение

Влиянието на повърхностното напрежение се отнася към т. нар. проблем на повърхностните ефекти при масопренасянето при процеса ректификация и е свързано с различни видове нарушения на специфичната междуфазова повърхност. Основното явление тук е междуфазовата или повърхностна турбулентност която е следствие от изменението на междуфазовата повърхност. Междуфазовата турбулентност е спонтанна турбулентност на повърхността, при която настъпва пренасяне на вещество от една фаза в друга чрез крупномащабни вихри. Междуфазовата турбулентност се съпровожда с пулсации на потоците, които увеличават интензивността на масообменния процес.

Повърхностното напрежение оказва сложно влияние върху кинетиката на масопреносния процес. От една страна повърхностното напрежение сравнително слабо влияе върху коефициента на масопренасяне, но от друга страна то оказва съществено влияние върху структурата на газотечността слой, главно върху размера и стабилността на отделните мехури. Състоянието на междуфазовата повърхност силно зависи от характера на изменение на повърхностното напрежение на течността със състава ѝ. Изучавайки влиянието на повърхностното напрежение върху образуването на междуфазовата повърхност в рек-

тификационни колони от различен тип, Zuiderweg и Hermes [1] предлагат следната класификация на разделяните системи: положителни (тези, при които леснолетливия компонент от сместа е с по-ниска стойност на повърхностното напрежение от труднолетливия компонент), отрицателни (при които леснолетливия компонент от сместа е с по-висока стойност на повърхностното напрежение от труднолетливия компонент) и неутрални (и двата компонента имат близки стойности на повърхностното напрежение).

Целта на настоящата работа е на база на информация за повърхностното напрежение на чистите компоненти на различни смеси да се изследва изменението на специфичната междуфазова повърхност.

Материал и Методи

Тъй като стойността на повърхностното напрежение оказва влияние върху структурата на газотечността слой които се образува над тарелката, по точно върху формата и размерите на отделните мехури [2], като най-подходяща методика бе избрана тази свързана с физико-химичните данни на разделяните смеси [3,4].

Съгласно предложената методика специфичната междуфазова повърхност зависи от напречното сечение на колоната A , честотата на образуване на отделните мехури f_b , нап-

речното сечение на отделния мехур S_b , и скоростта на мехура u_b :

$$a = \frac{f_b \cdot S_b}{A \cdot u_b} \quad (1)$$

За определяне на скоростта на отделния мехур е необходимо да се знае стойността на повърхностното напрежение и диаметъра на мехура [5]:

$$u_b = \sqrt{\frac{2\sigma}{\rho_L d_b} + \frac{g d_b}{2}} \quad (2)$$

Диаметъра на отделния мехур се определя по формулата [6]:

$$d_b = 3g^{-0.44} \sigma^{0.34} \mu_L^{0.22} \rho_L^{-0.45} \rho_G^{-0.11} u_G^{-0.02} \quad (3)$$

където u_G е скоростта на газовата фаза в колоната за различни бинарни смеси получена на целево изработена лабораторна тест апаратура [7].

Напречното сечение на мехурчето може да се изчисли по следното уравнение [8]:

$$S_b = \pi \frac{l^2}{2} \left[1 + \left(\frac{h}{l} \right)^2 \frac{1}{2e} \ln \left(\frac{1+e}{1-e} \right) \right] \quad (4)$$

Честотата на образуване на отделното мехурче е отношение на количеството парна фаза към обема на отделното мехурче и може да се изчисли по формулата:

$$f_b = \frac{Q_G}{V_b} \quad (5)$$

Геометричните размери на отделното мехурче дължина l и височина h използвани в уравнение (4) се определят от следните уравнения [9]:

$$l = \frac{d_b}{1.147 a^{-0.176}} \quad (6)$$

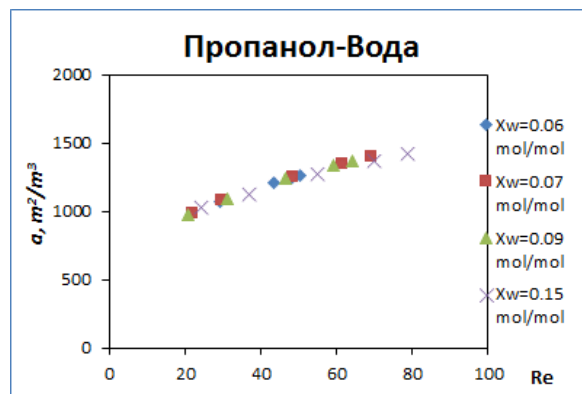
$$h = 1.3 d_b T a^{-0.352} \quad (7)$$

Физико-химичните данни (динамичен вискозитет, плътност, повърхностно напрежение) на разглежданите смеси както и скоростта на парната фаза необходими за изчисленията са снети при съответните работни температури на лабораторна колона с една ситеста тарелка.

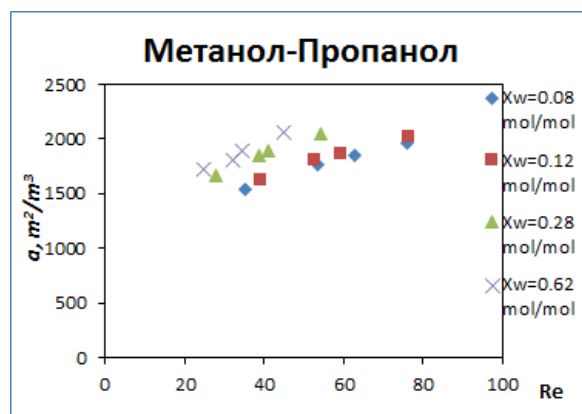
Резултати и обсъждане

Съгласно предложената методика са изчислени специфичната междуфазова повърхност a , скоростта на мехурчето u_b , диаметър d_b , дължина l и височина h на мехурчето, обема на отделното мехурче V_b , а експериментално са определени количеството на парната фаза Q_G и скоростта на парната фаза u_G . Използвани са експериментални данни за влиянието на повърхностното напрежение върху ефективността на разделяни при ректификация [10,11] за моделните бинарни смеси Метанол-Етанол (положителна смес), Метанол-Пропанол (неутралната смес) и Дихлоретан-Пропанол (отрицателната смес).

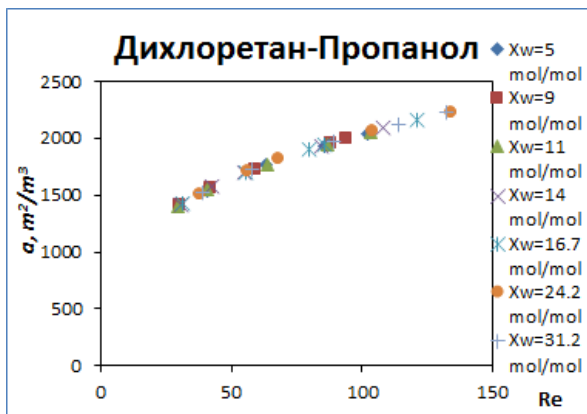
Изменението на специфичната междуфазова повърхност при постоянна скорост на парната фаза, респ. критерия на Рейнолдс за различните смеси е показано на следващите три фигури.



Фиг. 1. Специфичната междуфазова повърхност като функция от критерия на Рейнолдс за положителната смес Пропанол-Вода.



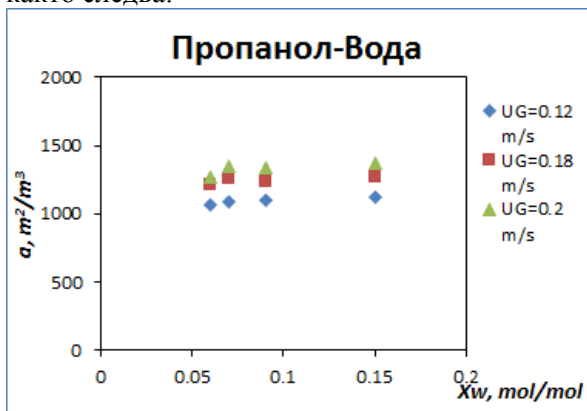
Фиг. 2. Специфичната междуфазова повърхност като функция от критерия на Рейнолдс за неутралната смес Метанол-Пропанол.



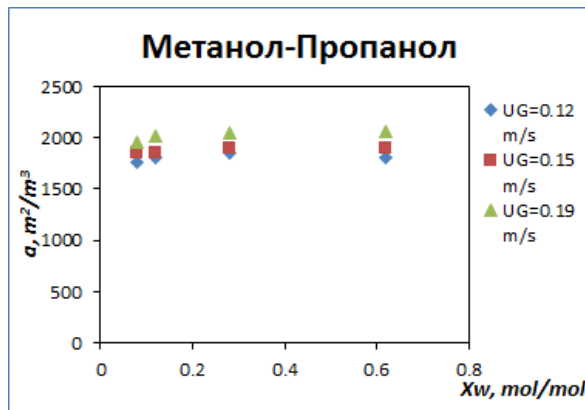
Фиг. 3. Специфичната междуфазова повърхност като функция от критерия на Рейнолдс за отрицателната смес Дихлоретан-Пропанол.

От фигурите се вижда, че за целия изследван концентрационен интервал с нарастване на скоростта на парите в колоната респ. критерия на Рейнолдс при положителната смес Пропанол-Вода (повърхностното напрежение на леснолетливия компонент е по-ниско от стойността на труднолетливия) специфичната междуфазова повърхност нараства два пъти. При неутралната смес Метанол-Пропанол (двата компонента имат близки стойности на повърхностното напрежение), специфичната междуфазова повърхност много слабо нараства като се изменя в много тесен интервал. Отрицателната смес Дихлоретан-Пропанол (повърхностното напрежение на леснолетливия компонент е по-високо от стойността на труднолетливия), специфичната междуфазова повърхност увеличава своите стойности 1.5 пъти.

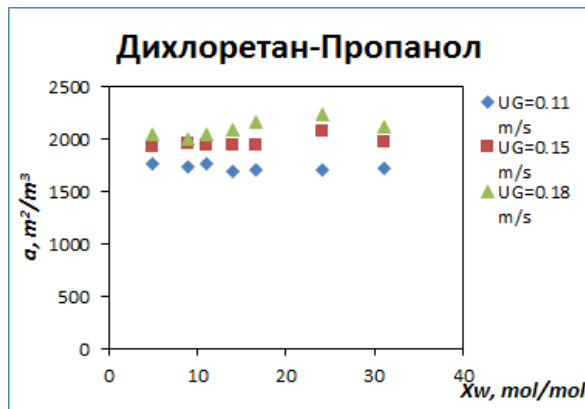
На следващите фигури е представено изменението на специфичната междуфазова повърхност от концентрацията на леснолетливия компонент при различни скорости на парната фаза и за трите изследвани смеси както следва:



Фиг.4 Специфичната междуфазова повърхност като функция от концентрацията на леснолетливия компонент в куба на колоната за моделната смес Пропанол-Вода.



Фиг.5 Специфичната междуфазова повърхност като функция от концентрацията на леснолетливия компонент в куба на колоната за моделната смес Метанол-Пропанол.



Фиг.6 Специфичната междуфазова повърхност като функция от концентрацията на леснолетливия компонент в куба на колоната за моделната смес Дихлоретан-Пропанол.

Както е видно от фигурите независимо от стойностите на повърхностното напрежение и за трите изследвани смеси Пропанол-Вода, Метанол-Пропанол и Дихлоретан-Пропанол с нарастване на концентрацията на леснолетливия компонент в куба на колоната за целия изследван скоростен интервал специфичната междуфазова повърхност почти не се изменя и запазва своите стойности.

Изводи

Въз основа на направените теоретични и експериментални изследвания могат да се направят следните основни изводи при рек-

тификация в лабораторна колона с една ситеста тарелка:

1. При положителните смеси се наблюдава значително нарастване на стойностите на специфичната междуфазова повърхност с нарастване на скоростта на парите в колоната за целия изследван концентрационен интервал.

2. С увеличаване на скоростта на парите в колоната изменението на специфичната междуфазова повърхност е незначително при неутралната смес Метанол-Пропанол.

3. Стойностите на повърхностното напрежение за целия изследван скоростен интервал с нарастване на концентрацията на лесно летливия компонент в куба на колоната не оказват влияние върху специфичната междуфазова повърхност.

Литература

1. Zuiderweg, F.J., A. Hermens. 1958. The influence of surface tension phenomena on the performance of distillation columns *Chemical Engineering Science*, 9, 1, 89-108.

2. Караиванова, М., Д. Колева, Ж. Стефанов. 2013. Влияние на ефекта на Марангони върху ефективността на разделяне при ректификация на бинарни смеси, *Научни трудове на русенски университет*, 52, 10,1, 157-161.

3. Stefanov, Zh., Zh. Ivanov. 2011. Gas-liquid mass transfer coefficient in sieve tray laboratory column, *Science & technologies*, I, 4, 34-38.

4. Nedelchev, S., U. Jordan. 2006. A new correction factor for theoretical prediction of mass transfer coefficients in bubble columns, *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 39, 12, 1237-1242.

5. Radev, D., D. Georgiev, D. Koleva, M. Karaivanova. 2014. Comparison of mass transfer coefficients determined by different method in distillation column with three trays, *Science & technologies*, IV, 4, 44-48.

6. Wilkinson, P. M., H. Haringa. 1994. Mass transfer and bubble size in a bubble column under pressure, *Chemical Engineering Science*, 49, 9, 1417-1427.

7. Иванов, Ж., Ж. Стефанов, Ж. Тасев. 2006. Общ обемен коефициент на масопресяване при ректификация на бинарни смеси, *Год. на У-т „Проф. д-р Асен Златаров“*, XXXV, 1, 38-42.

8. Fan, L. S., K. Tsuchiya. 1990. *Bubble wake dynamics in liquids and liquid-solid suspensions*. U.S.A: Butterworth-Heinemann Series in Chemical Engineering, Stoneham.

9. Terasaka, K., Y. Inoue, M. Kakizaki and M. Niwa. 2004. Simultaneous measurement of 3-dimensional shape and behavior of single bubble in liquid using laser sensors. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 37, 921-926.

10. Stefanov, Zh., M. Karaivanova. 2011. Influence of the Marangoni effect on the efficiency of plate columns for binary distillation. *Chem. Eng. Technol.*, 34, 12, 2029 – 2032.

11. Karaivanova, M., Zh. Stefanov. 2013. Effect of Marangoni by rectification of mixtures of alcohols. *Science & Technologies*, III, 4, 21 – 24.

Име на автора ас. д-р. Ж. Иванов
Университет „Проф. д-р Асен Златаров“ – гр Бургас
Катедра „Химично инженерство“
e-mail: zh_ivanov@btu.bg

Име на автора Гл. ас. д-р. А. Георгиева
Университет „Проф. д-р Асен Златаров“ – гр Бургас
Катедра „Химично инженерство“
e-mail: adrianaslavova@yahoo.com

Име на автора Гл. ас. д-р. Д. Георгиев
Университет „Проф. д-р Асен Златаров“ – гр Бургас
Катедра „Химично инженерство“
e-mail: dpg@abv.bg

Име на автора Гл. ас. д-р. К. Панайотова
Университет „Проф. д-р Асен Златаров“ – гр Бургас
Катедра „Химично инженерство“
e-mail: kraasi2502@yahoo.com



АНАЛИЗИРАНЕ НЕОБХОДИМОСТТА ОТ Е-ФАСИЛИТАТОР В СЪВРЕМЕННОТО ОБЩЕСТВО

Десислава Иванова, Веселина Бурева, Станислав Симеонов, Радослав Йошинов

ANALYZING THE NEED OF AN E-FACILITATOR IN MODERN SOCIETY

Desislava Ivanova, Veselina Bureva, Stanislav Simeonov, Radoslav Yoshinov

ABSTRACT: *In the current paper an investigation determining the need of electronic facilitator in the learning process with the people from different social groups is presented. The aim is to make a survey. It can help in the analysis the respondents opinion. The received results identify the difficulties in electronic technologies and establish the need for e-facilitator. They determine in what way the electronic facilitator can be helpful in the different social groups.*

Key words: електронен посредник, електронен помощник, електронно включване, социални групи, информационно-комуникационни технологии

Въведение

С непрекъснатото развитие на информационно-комуникационните технологии и нарастващото разнообразие от предлагани електронни услуги изисква от съвременния човек да инвестира време и усилия за усвояването на необходимите знания за работа с високотехнологичните инструменти [6]. Интернет пространството постепенно се превръща в незаменима част от ежедневието на хората. Необходимо изискване към дейностите на съвременния човек е да следи за новостите в информационно-комуникационните технологии и да развива своите умения за работа с електронните услуги. Информационно-комуникационните технологии могат да бъдат използвани както като средство за подобряване на живота от финансова гледна точка, така и от образователна, политическа и социална. Преходът във времето с новите информационни технологии се отразява по различен начин на хората от различните социални и възрастови групи. Хората имат възможност за достъп до новите технологии в зависимост от своите възможности, познания и опит. В различните общности от възрастни хора, инвалиди, бавноразвиващи, емигранти има възможност от загуба на социални контакти. Тези хора са изправени пред риска да бъдат изключени и изолирани от света на работната заетост, образованието и участието им в обществения живот [7]. Тази "бариера" води до

необходимост от предоставяне на помощ за обогатяване на знанията на определена група от хора по общодостъпен и ефективен начин. Разумно решение би било предоставянето на знание чрез електронен помощник. Неговото задължение е да помага на група от хора да разрешат определени проблеми чрез структуриране на дискусия и намеса при необходимост, за да се подобри ефективността на обучаващите процеси и резултатите на групата. Понякога електронният помощник е наричан инструктор или проектант. Той трябва да поддържа неутрален подход към темите и обсъжданите въпроси, както и да помага на цялата група по безпристрастен начин. Той насочва хората към нови знания чрез включване в социалната електронна среда. С помощта на различни методи, средства и подходи той се стреми да преодолее дигиталната пропаст като търпеливо мотивира и насочва всички изоставящи и изолирани хора от различните социални групи. Електронното включване представлява предизвикателство, свързано с общуването на хора в електронна среда. В зависимост от вродените им възможности, таланти и желания те могат да се развиват и да преминават през различни нива в своята компютърна грамотност и умения. Електронният помощник мотивира хората да преминават своето електронно образование като създава предпоставки за една нова и стабилна естествена (природна) социална среда. Той следи, прави взимането на лесни, ефективни и

ефикасни решения. Електронен помощник е средство наблюдаващо, насочващо и помагащо обучаемите [6]. Присъединяването към онлайн обучение чрез средствата на информационно-комуникационните технологии предлага перспектива към по-добър и комфортен начин на живот.

1. Ролята на електронния помощник в съвременното общество

Думата "facilitator" произлиза от френската дума "faciliter", която означава да се правят лесни или да се опростят нещата. Фасилитатор е помощник, който помага на групата при определяне и решаване на проблеми чрез структуриране на дискусиите и намеса, когато е необходимо да се подобри ефективността на процесите и резултатите на групата.

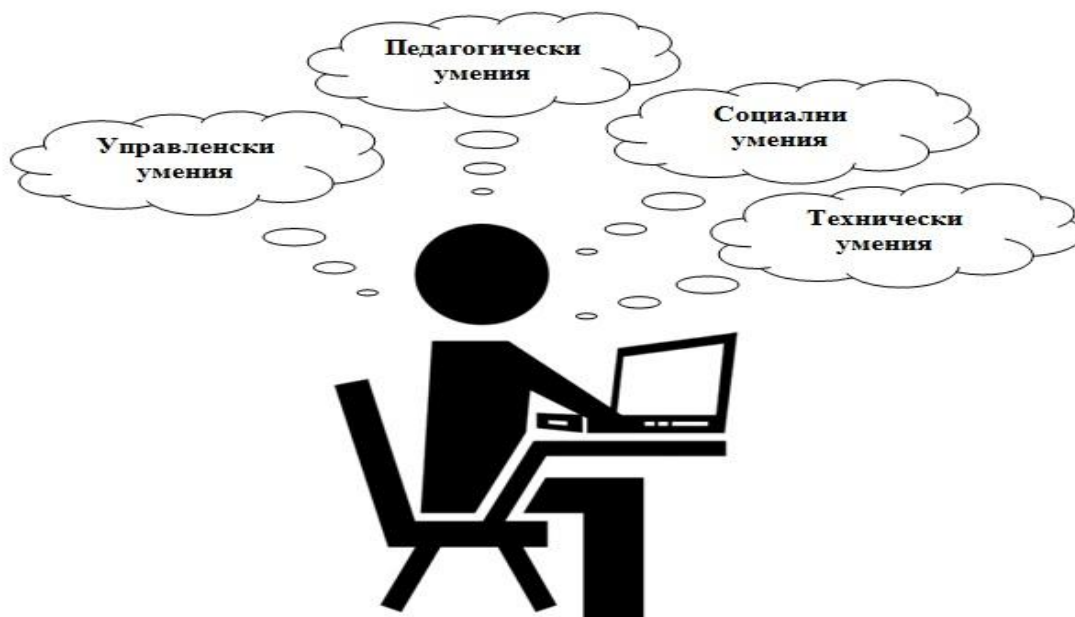
Електронният помощник трябва да притежава набор от качества и умения за комуникация и обучение в онлайн среда. Той трябва да бъде добър психолог и педагог, който да разбира хората. Задача на електронния помощник е да "разчупи" бариерата между хората в онлайн дискусиите, да ги насърчава да се запознават един с друг и да мотивира тяхното участие. Той трябва да наблюдава обучаемите и да изготвя точна и ясна преценка за хората и ситуацията и да определя темпото на преподаване. Електронният помощник предоставя учебното съдържание на ясен и достъпен език като се стреми да идентифицира индивидуалните предпочитания на обучаемите. Комбинацията от технологии и медии предоставя богата среда от възможности за взаимодействие между обучаемите, учебния материал и електронния посредник. Наблюдават се два типа взаимодействия при електронното обучение: **взаимодействие с учебното съдържание и междуличностно взаимодействие**. Електронният помощник се старее да постигне висока плътност на учебното съдържание като предоставя различни на вид учебни материали - печатен текст, видеозаписи, уеб сайт. Всеки обучаем може да се запознае с учебното съдържание и естественото за него темпо на учене в зависимост от неговото свободно време и предпочитания. Междуличностното взаимодействие може да бъде постигнато чрез задаване на задачи за разрешаване по двойки или по-групи. Комуникацията на електронния помощник и обучаем или обучаем с обучаем може да бъде синхронна или асинхронна. **Синхронната комуникация** предоставя възможност за комуни-

кация в реално време (установяване на конферентна връзка, аудио, видео връзка), а при **асинхронната комуникация** не се изисква едновременното присъствие на участниците в определено време (например изпращане на писма по електронна поща). Благодарение на изброените технологии взаимодействието между учителя-електронен помощник и обучаемите може да бъде независимо от мястото и времето. Разнообразието от използваните технологии заема важна роля в онлайн процеса на обучението, които са достатъчно условие за успешното завършване на учебния процес. Например компютърната конферентна връзка може да създаде условия и удобства за обучение, но не може да предостави необходимата среда [3-5]. Използвана в комбинация с други средства тя може да подпомогне значително в обучението. От друга страна електронният помощник играе ключова роля за успешната комуникация в групата и усвояването на знания. Комбинацията от електронния посредник и използваните технологии могат да създадат благоприятна среда за обучение. В допълнение един добър електронен помощник е необходимо да може да се справя с четири типа задачи при ръководене на онлайн обучение: **педагогически, социални, управленски и технически** (Фиг.1).

Педагогическите задачи на електронния посредник са да задава въпроси на обучаемите и да обобщава отговорите. Да поставя точни и ясни цели и задачи. Да убеди участниците, че техните онлайн взаимодействия са добре прекарано време. Поради индивидуалността на всеки обучаем, електронният посредник трябва да бъде гъвкав спрямо графика на учебния процес. Да се старее да стимулира участието на всеки учащ в дискусиите.

Социалните умения на електронния посредник трябва да се изразяват в създаването на приятелска социална среда, в която да се насърчава ученето. Работи се по сплотяването на групата като всички обучаеми работят заедно за взаимна кауза. Електронният посредник се старее обучаемите да се чувстват комфортно в онлайн дискусиите и да не се допуска страх от обществен присмех и съответно наличие на неприятелско и колегиално отношение.

Управленската роля на електронния посредник е да организира онлайн срещите на обучаемите. Необходимо е да се определи темата на груповото събиране, целите и задачите и правилата за тяхното разрешаване.



Фиг.1 Умения/задачи на електронния посредник

Техническите задачи на електронният посредник е да направи технологиите ясни и разбираеми за обучаемите. Участниците в учебния процес трябва да се чувстват комфортно със системата и софтуера. При наличие на това условие обучаемите ще могат да се концентрират върху учебното съдържание [1-5].

Обучение чрез "електронен посредник" е новост в образованието и като такава е изправена пред предизвикателството да се наложи в съвременното общество. Положителните страни на онлайн обучението са много, но за да бъде обективно анализирането е необходимо да се посочат и възможните слаби страни или некоректно отношение. Като всяка иновация, която цели да се внедри в съвременното общество среща заплахи от това да не бъде разбрана и приета. В **таблица 1** са представени някои от положителните и отрицателните качества на обучението чрез електронен посредник, както и предоставяните от него възможности и допустими заплахи .

2. Проучване и анализ от необходимостта на "електронен посредник" в съвременното общество

В статията е събрана и анализирана достоверна и представителна информация относно различни възрастови и социални групи, използващи или желаещи да използват електронни технологии за обучение. Целевата съвкупност на изследването са жители от град Бургас (работещи, учещи, безработни и пенсионери - от 8 г. до 91 годишна възраст). Поставени са задачи за проучване, които са осъществени с помощта на анкетна карта - какви хората имат нужда от интернет, за какво най-много използват интернет, какво ги затруднява при използването на електронни услуги и каква е необходимостта от електронен посредник. Очакваните резултати уточняват необходимостта от електронен посредник, както и по какъв начин хората от различни социалните групи, използващи интернет услуги желаят той да им бъде полезен.

Таблица 1. Суот анализ

<u>СИЛНИ</u>	<u>СЛАБИ</u>
<ul style="list-style-type: none"> • добре структурирани срещи • фокусиране върху една обща цел и процес • ефективен начин за постигане на консенсус и продуктивни резултати • стратегии за справяне с конфликти между членовете 	<ul style="list-style-type: none"> • неефективен фасилитатор (помощник) • загуба на обективност у фасилитатора (чувства на манипулация у групата) • неефективно управление на процеса на групата, с което ще се загуби време за постигане на консенсус и непостигане целите на групата (а именно целта: е електронно оgramотвяване) • зависимост на групата от фасилитатори, т.е. невъзможност групите да получават умения и стратегии, необходими за вземане на решения
<u>ВЪЗМОЖНОСТИ</u>	<u>ЗАПЛАХИ</u>
<ul style="list-style-type: none"> • по-модерни и удобни методи на обучение - по-лесна връзка между електронния посредник и социалната група 	<ul style="list-style-type: none"> • да не се приеме (признае) професията е-фасилитатор

2.1 Резултати от анкети

Резултатите са представени във вид на диаграми с цел по-лесното им визуално възприемане. На въпроса "Имате ли нужда от Интернет ?"

мнозинството от 87,8% са отговорили положително като само 4,6% са дали отрицателен отговор (Фиг.2)

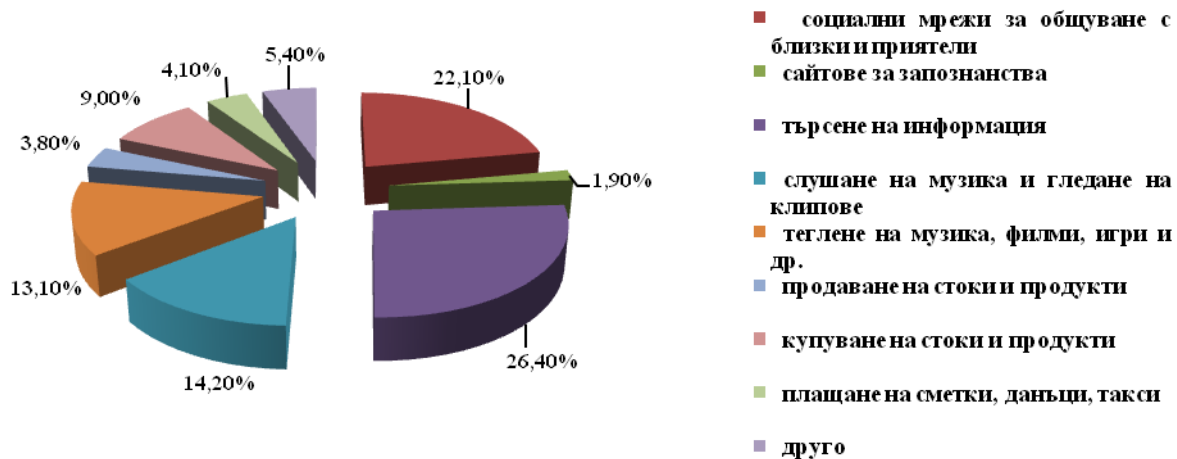


Фиг.2 Диаграма, предоставяща резултатите от **Въпрос1**- Имате ли нужда от Интернет ?

На запитването "За какво най-много използвате Интернет услуги" най-много анкетираните са посочили "търсене на информация" - 26,4% и "социални мрежи за общуване с близки и приятели" - 22,1%, а най-малко са отговорили за "сайтове за запознанства" - 1,9%.

Шест анкетираните от 131 -ма са посочили "друга" услуга, която използват в Интернет, това са: обяви и реклама, онлайн видео (футболни мачове) и google (Фиг.3).

За какво най-много използвате Интернет услуги?



Фиг.3 Диаграма, предоставяща резултатите от Въпрос 2- За какво най-много използвате Интернет услуги?

Най-голямо затруднение, при използването на интернет имат респондентите с английския език - 42,5% и компютърните термини - 41,7% (фиг.4). С цел да бъде ефективен бъдещият електронен посредник ще

трябва да се съобрази с получените резултати и да предостави материали на достъпен език с точни и ясни обяснения на български език, добавени примери и прикрепени визуализационни решения.

Какво ви затруднява, при използването на Интернет?

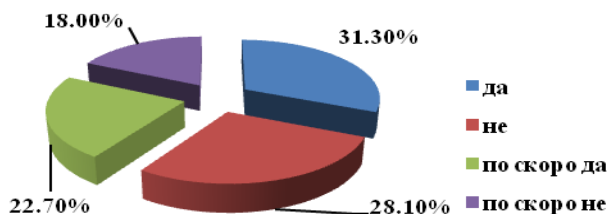


Фиг.4 Диаграма, предоставяща резултатите от Въпрос 3 - Какво ви затруднява при използването на Интернет?

В интернет пространството най-голям процент - 31,3% имат нужда от електронен

помощник, близки проценти са и хората, които нямат нужда от помощник - 28,1% (фиг.5).

Имате ли нужда от електронен помощник в интернет?

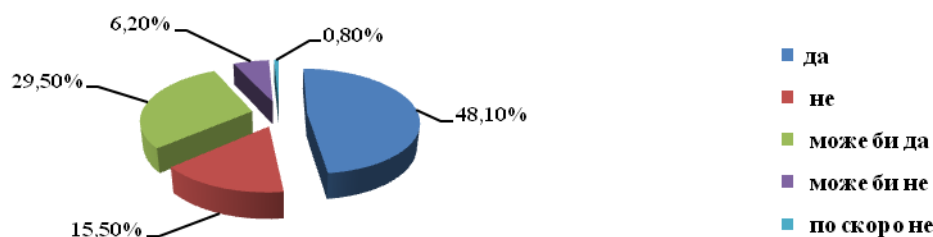


Фиг.5 Диаграма представяща резултатите от Въпрос 4 - Имате ли нужда от електронен помощник в интернет?

Средния брой от анкетиранияте са на мнение, че биха използвали помощта на е-помощник в Интернет - 48,1%, а най-малко

респонденти "по скоро не" биха ползвали е-помощник - 0,8% (фиг.6).

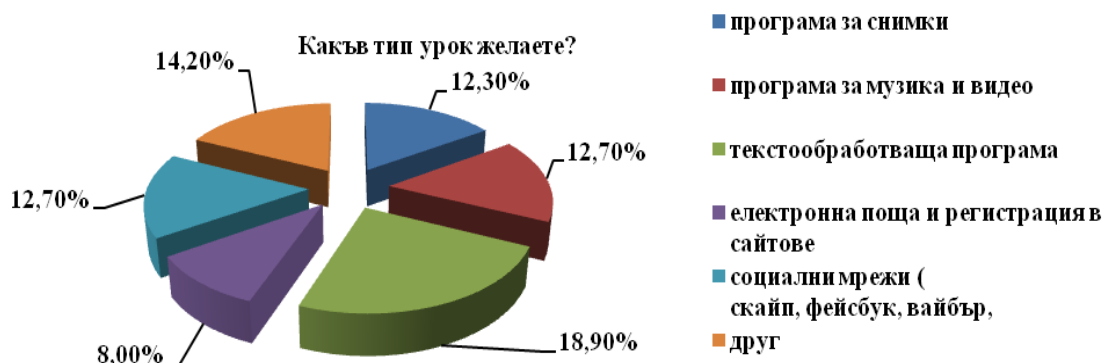
Бихте ли използвали помощта на електронен помощник?



Фиг.6 Диаграма представяща резултатите от **Въпрос 5** - Бихте ли използвали помощта на електронен помощник?

Най-много анкетирани са посочили, че биха желали електронния посредник да им помага чрез "наръчник с указания, стъпки и илюстрации", а най-малък процент 3,6% са

отговорили "виртуална класна стая". Друг начин за помощ от е-помощника е посочено чрез "реална среща" (фиг.7).



Фиг.7 Диаграма представяща резултатите от **Въпрос 6** - По какъв начин бихте желали да ви помага електронния помощник?

Най-много от респондентите - 21,2% желаят електронният помощник да им проведе урок за "програма за дизайн, рисуване, анимация" и най-малко за "регистрация в сайтове" - 8,0% (фиг.8)

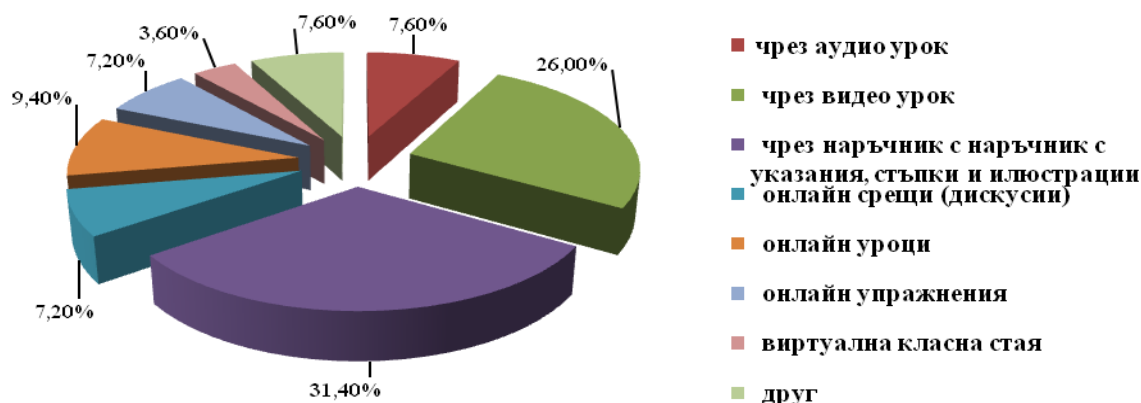
На отворения отговор за "друг тип урок за провеждане на обучение", седем от 131-ма анкетирани са записали "как да четем и търсим правилно информация и работа".

На отворения **въпрос 9**, който изисква записването на **съвет, лично мнение, препоръка към електронния фасилитатор** мнозинството от респонденти са отговорили, че в процеса на работа с е-помощник ще имат по-реална представа за него и неговите функции, умения и способности, тогава биха могли да бъдат по-субективни в оценката си към него.

Болшинството от анкетиранияте изтъкнаха **качества**, които биха желали да притежава **електронния помощник**:

- да бъде достъпен, разбираем и комуникативен;
- да бъде по-търпелив, внимателен, вежлив, разбран към незнаещите и възрастните хора;
- да бъде добродушен, мил, учтив, интересен, забавен;
- да има чувство за хумор;
- да бъде положителен и усмихнат;
- да бъде спокоен, уверен и възпитан.
- да говори бавно, да повтаря колкото и когато е необходимо.

По какъв начин бих те желали да ви помага електронния помощник?



Фиг.8 Диаграма представяща резултатите от Въпрос 7 - Какъв тип урок желаете?

Голяма част от анкетираните проявяват интерес към обучението чрез нови технологии. Анкетираните посочват, необходимостта от безплатно ползване на компютри и интернет. Също така, обучението им да се преподава на чист български език (кирилица) - в писмен и устен вид. Като начало да се започне с най-елементарното. Чуждите термини да се превеждат на достъпен български език. Информацията да бъде опростена под формата на игра и визуално представяне със снимки. По малко информация да се предава, с обстоятелни и елементарни обяснения.

Мнозинството е "за" е-помощник, който да бъде тестван между хората. Да бъде достъпен

за всеки и да има възможност за по-голямо разпространение. Чрез електронния посредник младо и възрастно поколение да могат да вървят "ръка за ръка". Да бъде проведен инструктаж (инструкция) как възрастните хора да използват безопасно интернет. Да се обърне внимание към детската аудитория и да се наблюдава "зависимостта" към интернет.

Следващите диаграми представят информация за възрастта на анкетираните, тяхното образование и пол.

Най-голяма част от анкетираните 58,8% са на възраст от 19 до 30 годишна възраст, а най-малка част са от 71 до 91 г. (фиг.9).



Фиг.9 Диаграма представяща резултатите от Въпрос 8 - Възраст на анкетирания.

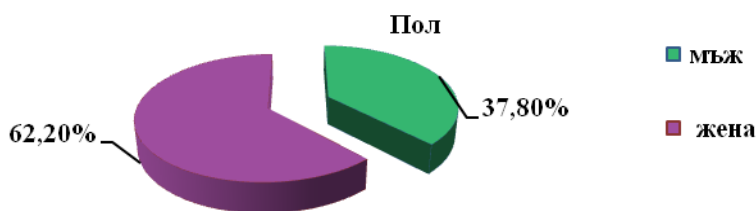
Най-голяма част от анкетираните 51,6% са със средно образование (фиг.10).



Фиг.10 Диаграма представяща резултатите от Въпрос 10 - Образование.

Най-голяма част от анкетираните, които са проявили желание към анкета 62,2% са жени,

което показва, че те са по съпричастни (фиг.11).

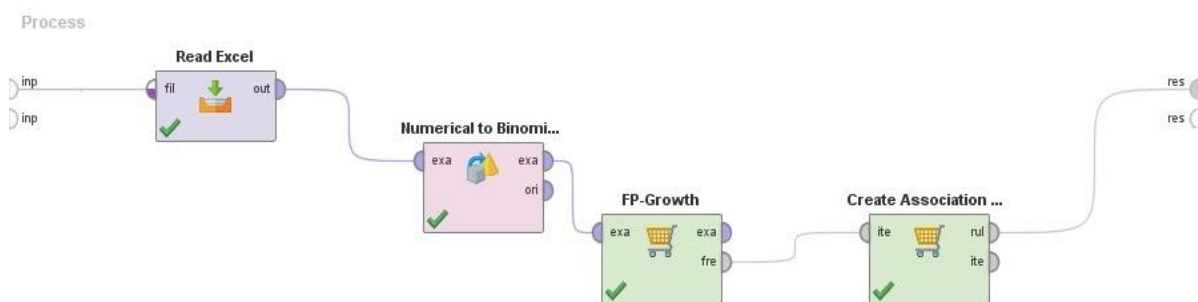


Фиг.11 Диаграма представяща резултатите от Въпрос 11 - Пол.

2.2 Асоциативен анализ на резултатите от анкетите

Получените резултати от анкетирането са въведени в транзакционен вид в документ. Извършен е анализ на извличане на скрити закономерности между отговорите чрез асоциативен анализ. Изследването намира честите елементи в едно множество чрез алгоритъма FP-Growth и съставя асоциативни прави-

ла. Силата на извлечените закономерности зависи от минималния праг на доверие и подкрепа. Подкрепата на асоциативното правило е частта от транзакции, която съдържа antecedента и консеквента. Доверието се равнява на процента от сделките, които съдържат *A*, но също ще съдържат и *B*. В текущия анализ минимални прагове на доверие и подкрепа имат стойност 0,85.



Фиг.12 Процес на извличане на асоциативни правила

Част от получените асоциативни правила имат следния вид:

- Ако анкетираният използва Интернет за търсене на информация и желае урок за текстообработваща програма, тогава той би предпочел наръчник с указания, стъпки и илюстрации.
- Ако анкетираният има затруднения с английския език, има нужда от електронен помощник, тогава той би използвал помощта на електронен помощник.
- Ако анкетираният е заявил, че използва Интернет за търсене на информация и е заявил че има нужда от електронен помощник, тогава той би желал да го използва.

Получените асоциативни правила могат да бъдат използвани в процеса на индивидуално обучение за насока на електронния посредник за предпочитани занимания на конкретния

обучаем. Могат да бъдат предположени допълнителни любими занимания на базата на еднозабелязано от електронния посредник.

Заклучение:

Получените резултати дават възможност да се направи заключение, че хората имат нужда от обучение с електронен посредник. Наблюдава се необходимостта от виртуална връзка, която да обогати възможностите на хората, използващи Интернет пространството за търсене на информация и общуване с близки и приятели. Анкетираните срещат затруднения основно с английския език и компютърните термини.

Техните затруднения и пропуски показват необходимостта от електронен помощник и желанието да използват неговите услуги чрез наръчник с указания, стъпки и илюстрации както и видео урок. Най-голям интерес рес-

пондентите проявяват към уроци за дизайн, това дава насоки за бъдеща работа на електронния помощник. Най-голяма съпричастност към анкетата са проявили жени със средно образование от 19 до 30 годишна възраст. Реализираното проучване има за цел и да предостави насоки за бъдеща работа. От анализа на анкетите е установено желание за:

- уроци според интересите и желанията на анкетираните за : обяви, реклама, за специализирани програми; правилно четене и търсене на информация, търсене на работа, информация за градинарство
- осигуряване на безплатни компютри и достъп до интернет
- да се обърне внимание към детската аудитория и "зависимостта" на децата от интернет
- да бъде проведен инструктаж "Безопасно ползване на Интернет".

Литература

1. Baran E., Correia A., Student-led facilitation strategies in online discussions, Distance Education, Vol. 30, No. 3, November 2009, pp.339–361
2. Berge, Z.L. , Facilitating computer conferencing: recommendations from the field. , Educational Technology, 1995, 15(1), pp: 22-30
3. Brindley E. J., Walti C., Zawacki-Richter O., Learner Support in Open, Distance and Online Learning Environments, BIS-Verlag, 2008, ISBN 978-3-8142-0923-4
4. Liu X., Lee S., Bonk J.C., Su B., Magjuka J. R., Exploring four dimensions of online instructor roles: A program level case study, 2005, OLC Online Learning Journal, Volume 9, Issue 4
5. Prathiba S., Nageswari P., Rajakumari K., Pedagogical Attributes - An Approach to E-

Learning Websites, IJCSNS International Journal of Computer Science and Network Security, VOL.12 No.3, March 2012

6. Yoshinov R., Kotseva M., Ivet Koleva. The e-facilitators in School. BAS- LT-BAS, pp:1

7. Yoshinov R., Kotseva M., The e-facilitator as key player for e-Inclusion. Proceedings of XI International Conference on Electronics, Telecommunications, Automatics & Informatics (ETAI), Ohrid, Macedonia, Sept 26-28, 2013, I-2-3, BAS- LT-BAS

Десислава Иванова

Университет „Проф.д-р Асен Златаров”-гр. Бургас

Катедра „Компютърни системи и технологии”
e-mail: desislava1_ivanova@yahoo.com

Веселина Бурева

Университет „Проф.д-р Асен Златаров”-гр. Бургас

Катедра „Компютърни системи и технологии”
e-mail: vesito_ka@abv.bg

Станислав Симеонов

Университет „Проф.д-р Асен Златаров”-гр. Бургас

Катедра „Компютърни системи и технологии”
e-mail: st_sim@yahoo.com

Радослав Йошинов

Българска академия на науките

Лаборатория по телематика

e-mail: yoshinov@cc.bas.bg



ОПТИМИЗИРАНЕ НА ДИЕТИЧНИТЕ КАЧЕСТВА НА КОЛБАСИ ЧРЕЗ ИЗПОЛЗВАНЕ НА БАКТЕРИАЛЕН ЕНЗИМЕН ПРЕПАРАТ

Диана Инджелиева

OPTIMIZATION OF THE DIETARY PROPERTIES OF SAUSAGES USING BACTERIAL ENZYME PREPARATION

Diana Indzhelieva

ABSTRACT: *It is detected a possibility for application of the enzyme treated low functional muscle tissue into sausages with a significantly reduced content of salt. The studies were conducted with three model systems with the same concentration of enzyme and different content of salt, respectively, 2.2%, 0.8% and without the addition of salt. During the studies the changes in the solubility of proteins, emulsifying capacity of meat raw materials and production of finished product were traced. It has been found by the enzyme treated material that the solubility of the protein and the emulsifying ability is improved, which leads to increased yield / I experience: from 72.81% to 85,78%, II experience: from 79.91% to 86 13%, III experience: from 83.80% to 89, 65% /. The enzymatic treatment of raw meat with a proteolytic enzyme preparation Enzeco® neutral bacterial protease 160 K creates technological capability of producing meat products with greatly reduced salt content.*

Key words: meat products, proteolytic enzyme preparation, bacterial proteases

Въведение

Необходимостта от по-пълно и целесъобразно използване на месните суровини и намаляване количеството на готварска сол, налага разработване на методи, които да съдействат за подобряване на технологичните им свойства при намалено съдържание на готварска сол (Ashie et al., 2002; FDA, 1999; Foegeding et al., 1986). Водозадържащата способност е основен фактор за производство на варени колбаси с подходящи органолептични качества. За подобряване хидрофилните свойства на месни суровини някои изследователи използват наред с готварската сол добавка на дифосфати, като аналози на аденозин-трифосфорната киселина. Други използват обработване на месни суровини с ензимни препарати, което предизвиква частична протеинова хидролиза и довежда до подобряване на водозадържащата им способност (Miller et al., 2001; McKeith et al., 1994).

Целта на настоящата работа е изследване възможността за приложение на бактериален протеолитичен ензимен препарат за подобряване технологичните свойства на телешка сърдечна мускулатура при употреба на намалено съдържание на готварска сол.

Материали и методи

За провеждане на изследванията е използван ензимен препарат от микробиален произход Enzeco® neutral bacterial protease 160 К с протеолитична активност 160 РС/g ензим, рН – оптимум – 7,0; температурен оптимум – 50 °С; температура на инактивиране – 70 °С.

Телешката сърдечна мускулатура, охладена до температура +4⁰С е раздробена на волф-машина с диаметър на отворите на решетката 2mm, след което се добавя ензимният препарат в количество 0,02% към пълнежната маса. 30% от ензимно обработените телешки сърца са добавени към 70% свинско едносортно месо. Месната суровина се поставя в кутер машина за фино раздробяване. По този начин са приготвени 3 моделни системи, при които е добавено 25% лед и готварска сол съответно: I моделен опит – без сол; II моделен опит – 0,8% сол; III моделен опит – 2,2% сол. Аналогично са приготвени контролни проби към трите моделни опита със съответните количества сол, но без ензимен препарат. Изследвани са също три моделни системи от 100% свинско едносортно месо без ензимен препарат, като при I опит – без добавяне на сол, II опит – с 0,8% и III опит – с 2,2 % сол. На определени

интервали 15, 30, 60 и 120 min са взети проби от приготвените емулсии на моделните системи.

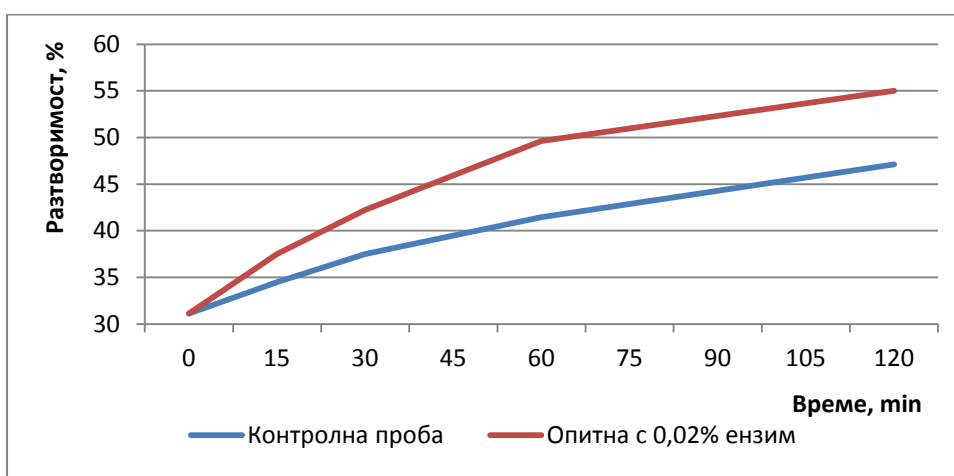
Измененията в разтворимостта на протеините са анализирани чрез смесване на 2 g месна емулсия от моделните системи с 8 cm³ буферен разтвор 0,1M NaCl, 0,05 M калиев фосфат и коригиране на рН до 7,0. 10 ml протеинова суспензия е центрофугирана при 10 000 оборота за 15 min. Протеинът в супернатанта е определен по метода на Киелдал и отнесен към общото съдържание на протеин в месната емулсия (АОАС, 1995).

От моделните опити са взети 40 g и напълнени в стъклени ампули 35x110 mm. Пробите са загряти за 30 min във водна баня при температура 78°C. След загряването

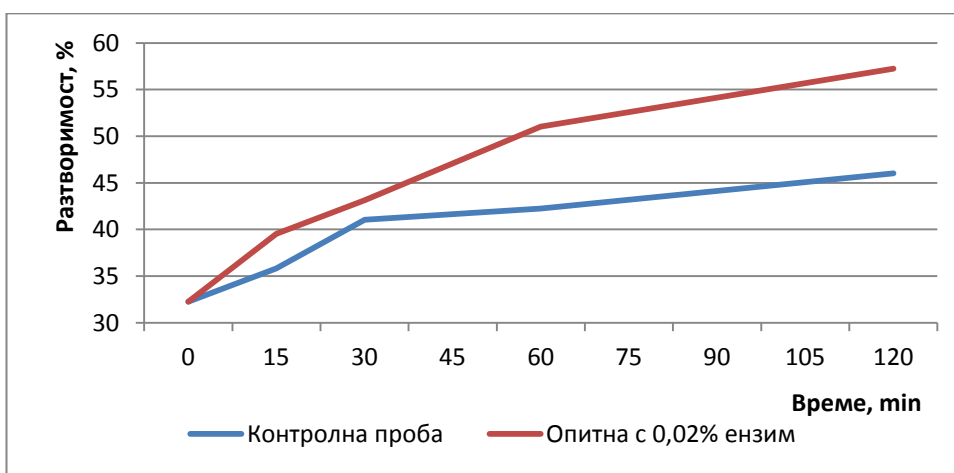
месният пълнеж е изваден и претеглян. Течността, отделена при загряването е поставена в мерителен цилиндър. Определено е пропорционалното съотношение на вода и мазнина в течността, отделена след термичната обработка. Определен е добивът на готов продукт след термична обработка. Статистическата обработка на получените данни е извършена чрез софтуерен продукт „STATPLUS 2009“.

Резултати и обсъждане

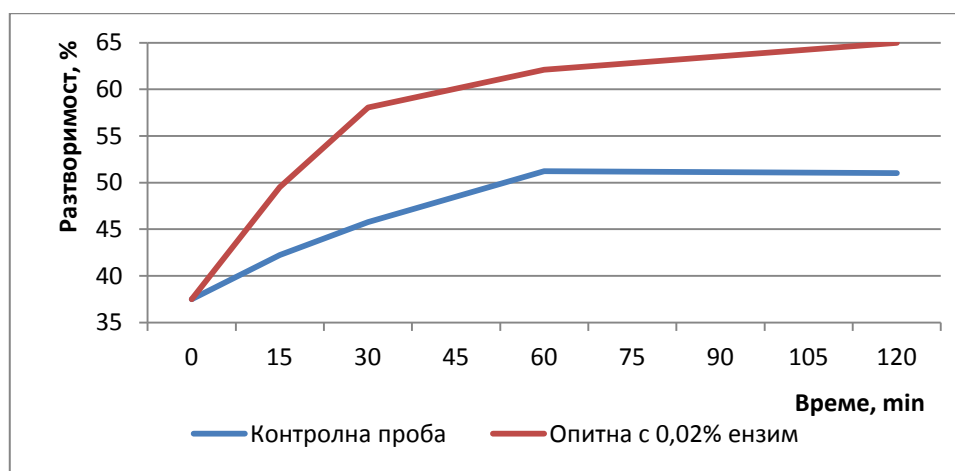
Резултатите от изследванията за общата разтворимост на белтъчините са представени на фиг. 1, 2 и 3.



Фиг. 1. Промени в разтворимостта на белтъчините в моделни опити без сол



Фиг. 2. Промени в разтворимостта на белтъчините в моделни опити с 0,8 % сол



Фиг. 3. Промени в разтворимостта на белтъчините в моделни опити с 2,2 % сол

Прави впечатление значителното нарастване на разтворимостта на белтъчините в проби, в които месните суровини са ензимно обработени. Така например, в моделните опити без добавка на сол при контролните проби с неензимно обработени месни суровини разтворимостта се променя от 31,79% до 48,31%, докато при пробите, в които е използван ензимен препарат от 31,79% до 55,82% за продължителност на ензимно обработване 120 min. Това нарастване на разтворимостта на белтъчините се дължи на протеолизата, предизвикана от ензимния препарат Enzeco® neutral bacterial protease 160 K, която се задълбочава с удължаване времето на въздействие на ензима върху месните суровини. Използването на по-

високо съдържание на готварска сол / II и III моделен опит/ е съпроводено и с повишаване на разтворимостта, вследствие съвместното действие на ензимния препарат и готварската сол.

От данните в таблица 1 се вижда, че количеството отделена мазнина в течността след термична обработка намалява с удължаване продължителността на въздействие на ензима върху месните суровини при всички моделни опити. Този факт свидетелства за подобряване на емулгиращата способност на ензимно обработените проби. Повишената разтворимост на белтъчините и по-добрата емулгираща способност на обработените с ензим месни суровини довежда до промени в добива на готов продукт.

Таблица 1. Промени в количеството вода и мазнина, отделени в течността след термична обработка и добив на готов продукт, n=3.

Проба	1-ви моделен опит / без сол /			2-ри моделен опит / 0,8% сол /			3-ти моделен опит / 2,2% сол /		
	Добив, %	Отделена течност		Добив, %	Отделена течност		Добив, %	Отделена течност	
		Вода, %	Мазнина, %		Вода, %	Мазнина, %		Вода, %	Мазнина, %
100% св. месо	79,93	61,82	38,18	85,31	65,163	34,37	87,38	66,61	33,39
30/70% :									
контрола	72,81	55,36	44,64	79,91	56,87	43,13	83,80	59,89	40,11
15 min	78,54	61,04	38,96	84,35	67,50	32,50	86,64	68,43	31,57
30 min	82,39	63,78	36,22	85,04	69,44	30,56	84,07	72,70	27,27
60 min	84,62	67,65	32,35	86,51	70,59	29,41	88,72	76,58	23,42
120 min	85,78	67,13	32,87	86,13	72,43	27,57	89,65	78,22	21,78

* - стойностите са осреднени от три измервания

При контролните проби от трите моделни опита, съдържащи необработени с ензим

телешки сърца и прибавяне на сол съответно 0%, 0,08% и 2,2%, добивите са по-ниски в

сравнение с контролите от моделните проби – 100% свинско едносортно месо. Това показва, че телешката сърдечна мускулатура притежава ниски функционални свойства. Добивите след термична обработка при I моделен опит / с 0,02% ензим, без сол / се увеличават от 72,81% до 84,62% и 85,78% за продължителност на ензимно обработване 60 и 120 min, при III моделен опит / с 0,02% ензим, с 2,2 сол / от 83,80% до 89,60% за продължителност на ензимно обработване 120 min.

Забелязва се, че пробите съдържащи обработена 60 и 120 min телешка сърдечна мускулатура с ензимен препарат Enzeco® neutral bacterial protease 160 K без и с 0,8% готварска сол имат по-високи добиви съответно 84,62% и 85,78%; 86,51% и 86,13% в сравнение с тези на контролите от III моделен опит – 83,80%.

Не се наблюдава съществена разлика между добив на ензимно третирани проби 60 min от I и II моделен опит със съответните контроли от 100% свинско едносортно месо. Също така не са установени значителни различия и между добивите на моделните проби, съдържащи телешка сърдечна мускулатура обработена с ензимен препарат за 15 и 30 min от трите моделни опита със съответните контролни проби от 100% свинско едносортно месо.

Заклучение

1. Частичната протеолиза, предизвикана от действието на бактериален ензимен препарат Enzeco neutral bacterial protease 160 K подобрява функционалните свойства на телешката сърдечна мускулатура.

2. Ензимната обработка на нискофункционалните телешки сърца позволява оползотворяването им чрез влагане във варени малотрайни колбаси.

3. Протеолитичният ензимен препарат Enzeco neutral bacterial protease 160 K създава технологична възможност за използване на

ензимната обработка на месните суровини, като потенциален заместител на готварската сол и позволява произвеждане на месни продукти със значително редуцирано съдържание на сол.

Литература

1. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 11th ed., Washington, D. C., (1995), p. 253.
2. Ashie, I.N.A., T.L. Sorensen, and P.M. Nielsen. Effect of papain and a microbial enzyme on meat proteins and beef tenderness. *J. Food Sci.*, (2002), **vol.** 67, p. 2138-2142.
3. FDA. 1999. Carbohydrase and protease enzyme preparations derived from *Bacillus subtilis* or *Bacillus amyloliquefaciens*; Affirmation of GRAS status as direct food ingredients. 21 CFR. Part 184. Federal Register, 23 April (1999), **vol.** 64, No. 78, p. 19887-19896.
4. Foegeding, E.A. and D.K. Larick. Tenderization of beef with bacterial collagenase. *Meat Sci.*, (1986), **vol.** 18, p. 201-214.
5. McKeith, F.K., M.S. Brewer, and K.A. Bruggen. Effects on enzyme application on sensory, chemical, and processing characteristics of beef steaks and roasts. *J. Musc. Foods.*, (1994), **vol.** 5, p. 149-164.
6. Miller, M.F., M.A. Carr, C.B. Ramsey, K.L. Crockett, and L. C. Hoover. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. *J. Anim. Sci.*, (2001), **vol.** 79, p. 3062-3068.

Diana Indzhelieva, Dr.
„Prof. Dr. Assen Zlatarov” University
College of Tourism
Burgas, Park „Ezero”

e-mail: dindjelieva@abv.bg



СТАБИЛНОСТ НА ФОЛИА ОТ ПОЛИЕТИЛЕН, ПОЛИПРОПИЛЕН И ПОЛИЕТИЛЕН ОКСИД ПРИ ЕКСПОЗИЦИЯ С УВ- СВЕТЛИНА

Димитрина Кирякова, Атанас Атанасов, Антония Илиева

STABILITY OF POLYETHYLENE, POLYPROPYLENE AND POLYETHYLENE OXIDE FOILS UNDER EXPOSURE TO UV- LIGHT

Dimitrina Kiryakova, Atanas Atanassov, Antoniya Ilieva

ABSTRACT: The effect of exposure to UV- light on the stability of three commercially polymers with a different chemical structure and properties was studied. The foils of high density polyethylene, polypropylene and polyethylene oxide were subjected to irradiation for different time under accelerated conditions. The increase of exposure time of the polyethylene oxide films to 90 hours resulted in lower melting temperature - 64.1°C and higher degree of crystallinity – 82% compared to these of the non-irradiated films. The melting temperature and the degree of crystallinity for the materials of polyethylene and polypropylene remained unchanged. It was found that the presence of the oxygen or tertiary carbon atoms in the main polymer chain leads to a decrease of stability under exposure. By their stability to oxidation the above mentioned polymer foils can be arranged in the following order: polypropylene < polyethylene oxide < high density polyethylene.

Key words: High density polyethylene, polypropylene, polyethylene oxide, UV- irradiation, properties.

Въведение

Повечето синтетични полимери са податливи на разрушаване, инициирано от УВ- и видима светлина. Обикновено близката УВ-светлина с дължина на вълната 290 – 400 nm определя срока на експлоатация на полимерните материали при използването им на открито. Структурата на полимерите оказва силно влияние върху механизма на фоторазрушаване, физичните и най-вече механичните свойства [1], промяната в молекулната маса и молекулномасовото разпределение [2–5]. Изменението на посочените свойства е резултат от влиянието на редица фактори. Основният фактор, който довежда до деструкцията на полимерите, е експозицията им на УВ- светлина. При това се формират радикали в макроверигите с последващо разкъсване на химичните връзки [6]. Най-важните реакции, настъпващи в полимерите при облъчването им с УВ- светлина са: разкъсване на главната верига, окисление, откъсване на странични групи или деструкция [6, 7].

Фотоокислението на полимерните материали се осъществява по два основни метода: в естествени условия на открито и в изкуствени условия (ускорено стареене). При първия метод експозицията се извършва върху

образци, монтирани на стелажи. Те са ориентирани така, че полимерните материали да бъдат изложени на пълния спектър излъчване и на влиянието на температурата и влажността. Вторият метод включва използването на изкуствени източници на светлина в лабораторни условия, които приблизително имитират външните условия. Предимство на този метод е намаленото време за изпитване при контролирани условия и възможността бързо да се оцени окислителната стабилност на изследвания полимерен материал [8]. За установяване на стареенето на материалите в последствие те се охарактеризират по отношение на механичните им свойства (удължение и якост при опън), визуално (образуване на пукнатини, помътняване и промени в цвета) или с помощта на различни методи за анализ [9].

За изследванията в настоящата работа са избрани три търговски полимера (полиетилен висока плътност, полипропилен и полиетилен оксид) с различна химична структура и физични свойства. Всеки един от тях намира широко приложение в ежедневието и различни отрасли на индустрията, където са изложени на действието на слънчева светлина. Това определи и целта на настоящата работа, а именно да се проследи влиянието на експо-

зицията с УВ- светлина върху стабилността на посочените полимерни фолиа.

Експеримент

Материали

За получаване на филмите са използвани: прахообразен полиетилен висока плътност (ПЕВП) с температура на топене 130°C, индекс на стопилка 0,16 g/10 min (190°C; 2,160 kg) и плътност 0,948 g/cm³; полипропилен (ПП) с температура на топене 160°C, индекс на стопилка 2,25 g/10 min (190°C; 2,160 kg) и плътност 0,910 g/cm³, производство на „Лукойл Нефтохим Бургас“ АД; полиетилен оксид (ПЕО) с температура на топене 68°C и молекулна маса 2,7×10⁶, производство на „Неохим“ АД, Димитровград.

Получаване на композициите

ПЕВП и ПЕО са хомогенизирани в прахообразно състояние в лабораторен смесител тип MPW-802 (Полша) при скорост 10 s⁻¹ в продължение на 15 min. Те са таблетирани (поради сравнително ниската си насипна маса) и пресовани на лабораторна преса тип РНІ (Англия) между алуминиево фолио при следните условия: дебелина на образците 400 μm, температура 190°C, време на затапяне 3 min при 190°C, налягане при пресоване 22 МРа за 1 min и скорост на охлаждане 40°C/min. ПП също е хомогенизиран в прахообразно състояние и след това гранулиран при температура 200°C. Образците от поли-пропилен са пресовани на лабораторна преса тип РНІ (Англия) при следните условия: дебелина на образците 200 μm, температура 190°C, време на затапяне 2 min, налягане при пресоване 22 МРа и скорост на охлаждане 40°C/min.

УВ- експозиция

Получените фолиа с дебелина около 400 или 200 μm са облъчени с УВ- светлина с дължина на вълната в интервала 185 – 254 nm от пет лампи по 8 W всяка при стайна температура. Продължителността на експозицията с УВ- светлина е: 35, 60, 90, 150, 250 и 300 часа за филмите на основа ПЕВП; 1, 5, 10 и 20 часа – за ПП и 1,5; 5; 10 и 90 часа – ПЕО.

Диференциалносканираща калориметрия (DSC)

Отнасянията при стапяне и кристализация на образците с маса около 4 mg в азотна атмосфера са анализирани чрез симултантен термичен анализатор „STA 449F3 Jupiter“ (Netzsch, Германия) при следните условия: първо нагряване от 20 до 200°C при скорост 12°C/min, последващо охлаждане до 20°C и повторно нагряване до 600°C при същата скорост. Степента на кристалност на образците е изчислена при $\Delta H_{100\%} = 293$ J/g [10], $\Delta H_{100\%} = 209$ J/g [11] и $\Delta H_{100\%} = 197$ J/g [12], съответно за 100% кристален ПЕВП, ПП и ПЕО.

Деформационно-якостни свойства

Якостта и относителното удължение при опън на изходните и облъчени фолиа са определени на динамометър „INSTRON“, модел 4203 (Англия), при скорост 50 mm/min и стайна температура.

Резултати и обсъждане

Степента на окисление полимерните материали се определя най-вече от интензивността на слънчевата светлина, дължината на вълната на експозиция, наличието на третични въглеродни атоми, типа и вида на използваните адитиви във филмите и др. Устойчивостта на окисление на полиолефините се увеличава с повишаване на тяхната плътност. Причината е тази, че по-малко разклонените полимери имат ограничена пропускливост на газове и по-малък брой третични въглеродни атоми в макромолекулите си, които са чувствителни места за атака [13, 14].

Известно е, че ПЕО е много нестабилен полимер. При експозицията му с УВ- светлина той не претърпява реакции на съшиване. Фоторазрушаването му настъпва в аморфната фаза, докато кристалната част остава относително устойчива на фотоокисление. Въмъкването на кислород в главната верига на алифатните полимери, води до термична нестабилност – връзката С–С–О е по-нестабилна от връзката С–С [15]. При действието на въздушна или кислородна среда ПЕО претърпява окислителна деструкция както в маса, така и в разтвор [16]. Деструкцията може да се ускори при повишаване на температурата и при действие на ултравиолетова светлина.

В Таблица 1 са посочени степента на кристалност (α , %), температурата на топене (T_m)

и кристализация (T_c) на фолиата от ПЕО преди и след експозицията им с УВ- светлина в продължение на 1,5; 5; 10 и 90 часа. Облъченият до 5 часа полимер има температура на топене, близка до тази на изходния необлъчен полимер – 67,8°C. Увеличаването на времето на експозиция на фолиата от ПЕО на 90 часа понижава T_m на 64,1°C.

От същата таблица се вижда, че при ускорени условия на облъчване с УВ- светлина на фолиата от ПЕО степента на кристалност се повишава. Тя се променя от 70 на 82%, съответно за необлъчен и облъчен 90 часа ПЕО. Понижението на T_m и увеличаването на α вероятно се дължи на факта, че по време на фотодеструкцията аморфната фаза се отстранява под формата на летливи продукти (алкени, етилов и метилов алкохол, етилен оксид, вода, СО, СО₂ и др.), а оставащите кристали се характеризират с по-висока устойчивост. Освен това, след експозиция с УВ- светлина е възможна реорганизация на късите деструктурирани вериги от повърхността на ПЕО. Това подобрява подреждането на макромолекулите и повишава степента на кристалност. Температурата на кристализация T_c на всички изследвани образци от ПЕО преди и след облъчване остава в границите 143,3 – 147,4°C.

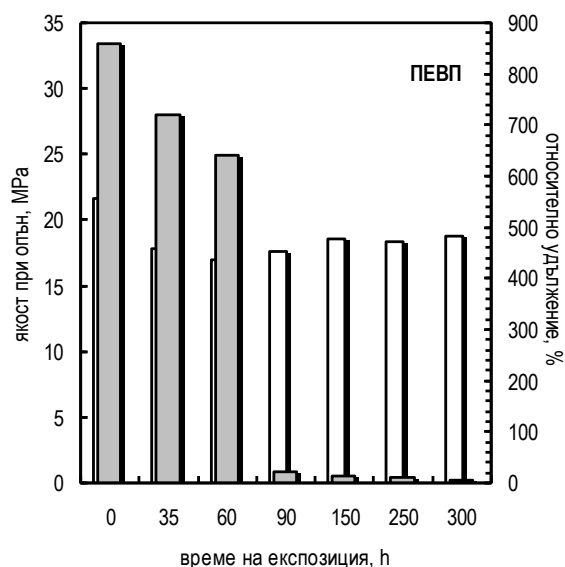
Таблица 1. DSC- характеристики на изходен и облъчен ПЕО

В предходна наша работа е установено, че

Образец	Време на експозиция, часа	T_m (°C)	α (%)	T_c (°C)
ПЕО	0	67,8	69,9	143,3
	1,5	69,2	75,4	144,1
	5	68,1	81,6	145,1
	90	64,1	82,3	147,4

за филмите на основа ПП облъчването почти не оказва влияние върху T_m , T_c и α и те са в границите съответно 164,0 – 162,4°C, 113 – 114°C и 42 – 44% [17]. Подобна тенденция е наблюдавана и за температурата на топене на материалите от ПЕВП. Тя остава непроменена при действието на УВ- светлина, което е в съответствие с докладваните от Chrissafis *et al.* резултати [18]. За изходните и облъчени в продължение на 150 часа филми от ПЕВП изменението на степента на кристалност също е незначително – от 67 до 72% [19].

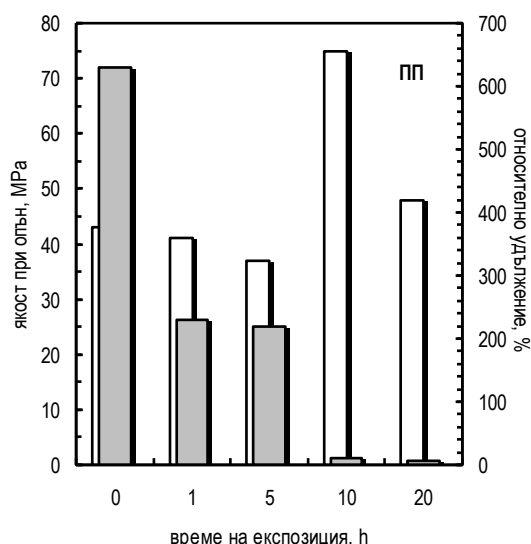
На следващите **Фиг. 1, 2 и 3** са показани зависимостите на якостта и относителното удължение при опън на трите типа полимерни филми, подложени на експозиция с УВ- светлина. След облъчването на фолиата с УВ- светлина за време над 90 часа (за ПЕО), 20 часа (за ПП) и над 300 часа (за ПЕВП) образците не могат да бъдат тествани, т. к. стават крехки и се разрушават.



Фиг. 1. Зависимост на якостта (□) и относителното удължение (■) при опън на фолия от ПЕВП при различно време на експозиция с УВ- светлина

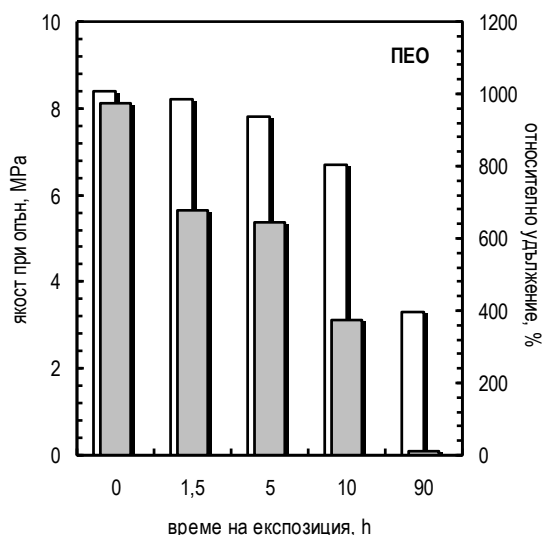
Фиг. 1 показва, че за образците от ПЕВП облъчването над 60 часа води до повишаване на якостта при опън, поради протичането на процеси на частично съшиване [20, 21]. Едва при увеличаване на продължителността на експозиция над 90 часа, за материалите от ПЕВП се наблюдава силно понижаване на относителното удължение – от 860 на 22%. Запазването на стойностите на якостта след 90 часа време на експозиция и на относителното удължение при опън до 90 часа за фолиата от ПЕВП означава, че поради по-малката степен на разклоненост и малкия брой третични атоми в макромолекулата му той се окислява по-трудно. Това го прави по-устойчив при облъчване с УВ- светлина [14, 22].

За фолиата от ПП е установено, че процеси на съшиване протичат след 10 часа облъчване. След 20 часа експозиция якостта започ-



Фиг. 2. Зависимост на якостта (□) и относителното удължение (■) при опън на фолия от ПП при различно време на експозиция с UV- светлина

ва да намалява, вероятно поради факта, че след това време започват да протичат процеси на деструкция – **Фиг. 2**. Тези резултати са в съответствие с докладваните в литературата, че фотоокислителното разрушаване в началните етапи при ПЕ води до съшиване, а при ПП до разкъсване на полимерните макромолекули [23]. От същата **Фиг. 2** се вижда, че при по-малките времена на облъчване относителното удължение на фолиата от полипропилен намалява рязко.



Фиг. 3. Зависимост на якостта (□) и относителното удължение (■) при опън на фолия от ПЕО при различно време на експозиция с UV- светлина

Якостта при опън на фолиата от ПЕО се променя от 8,4 до 6,7 МРа за тези, подложени на облъчване 10 часа – **Фиг. 3**. С увеличаване на продължителността на експозицията с UV- светлина до 90 часа, тя се понижава до 3,3 МРа. Изменението на относителното удължение следва хода на зависимостта за якостта при опън и показва почти нулеви стойности при 90 часа облъчване.

Резултатите от анализа на данните от DSC и от деформационно-якостните свойства потвърждават, че стабилността на филмите от ПЕО, ПП и ПЕВП при фотоокислението им намалява с увеличаване на времето на облъчване и при въвеждането на кислородни и особено третични въглеродни атоми атоми във веригата на полимерите. По своята стабилност на действието на UV- светлина най-устойчив е ПЕВП, а най-нестабилна е ПП.

Заклучение

Получени и подложени на експозиция с UV- светлина са фолия на основа полиетилен висока плътност, полипропилен и полиетилен оксид. Получените резултати показват, че относителното удължение на фолиата от полипропилен намалява рязко още при по-малките времена на облъчване, докато за тези на основа полиетилен удължението намалява след 90 часа облъчване. За образците от полиетилен оксид този показател има стойности близки до нула при същото време на експозиция. Доказано е, че най-нестабилни при излагане на действието на UV- светлина са фолиата от полипропилен.

Литература

1. Ward, I. M. and D. W. Hadley. 1993. *An introduction to the mechanical properties of solid polymers*. Chichester: Wiley.
2. Martin, J. W., J. W. Chin, T. Nguyen. 2003. Reciprocity law experiments in polymeric photodegradation: a critical review. *Progress in Organic Coatings*, 47, 3: 292–311.
3. Obadal, M., R. Čermák, M. Raab, V. Verney, S. Commereuc, F. Fraisse. 2006. Study on photodegradation of injection-moulded β -polypropylenes. *Polymer Degradation and Stability*, 91, 3: 459–463.
4. Marek, A., L. Kaprálková, P. Schimdt, J. Pflieger, J. Humlíček, J. Pilař. 2006. Spatial resolution of degradation in stabilized polystyrene and polypropylene plaques exposed to

- accelerated photodegradation or heat aging. *Polymer Degradation and Stability*, 91, 3: 444–458.
5. Torikai, A. 2000. Wavelength sensitivity of the photodegradation of polymers. In: Hamid, S. H. (Ed.), *Handbook of polymer degradation*, 2nd ed., New York, Marcel Dekker, pp. 573–604.
 6. Rabek, J. F. 1993. *Polymer photodegradation - mechanisms and experimental methods*. London: Chapman & Hall.
 7. Decker, C. 1989. Effect of UV radiation on polymers. In: Cheremisinoff, N. P. (Ed.), *Handbook of polymer science and technology*, vol. 3, New York, Marcel Dekker, pp. 541–608.
 8. ASTM D4674-89. Standard test method for accelerated testing for color stability of plastics exposed to indoor fluorescent lighting and window filtered daylight. *ASTM International*, 1989.
 9. White, C. C., E. Embree, W. E. Byrd, A. R. Patel. 2004. Development of a High Throughput Method Incorporating Traditional Analytical Devices. *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology*, 109, 465–477.
 10. Mark, E. J. 2007. *Physical Properties of Polymers Handbook*, New York: Springer.
 11. Na, B., Q., K. Wang, Q. Zhang, R. Du, Q. Fu. 2005. Tensile properties in the oriented blends of high-density polyethylene and isotactic polypropylene obtained by dynamic packing injection molding. *Polymer*, 46, 9: 3190–3198.
 12. Wunderlich, B. 1973. *Macromolecular Physics*. New York: Academic Press.
 13. Feldman, D. 2002. Polymer weathering: photo-oxidation. *Journal of Polymers and the Environment*, 10, 163–173.
 14. Chiellini, E., A. Corti, S. D'Antone, R. Baciù. 2006. Oxo-biodegradable carbon backbone polymers – Oxidative degradation of polyethylene under accelerated test conditions. *Polymer Degradation and Stability*, 91, 11: 2739–2747.
 15. Mandorsky, S. L., S. Straus. 1959. Thermal degradation of polyethylene oxide and polypropylene oxide. *Journal of Polymer Science*, 36, 183–194.
 16. McGary, C. W. 1960. Degradation of poly(ethylene oxide). *Journal of Polymer Science*, 42, 51–57.
 17. Miheleva, S., D. Kiryakova, A. Atanassov. 2015. Photooxidative degradation with UV-light of polypropylene, induced by iron (III) acetylacetonate as pro-oxidant. *Industrial Technologies*, Vol. II, 1: 133–138.
 18. Chrissafis, K., K. M. Paraskevopoulos, E. Pavlidou, D. Bikiaris. 2009. Thermal degradation mechanism of HDPE nanocomposites containing fumed silica nanoparticle. *Thermochimica Acta*, 485, 65–71.
 19. Kiryakova, D., S. Mihaleva, A. Atanassov, M. Tavlieva. 2014. Thermal and tensile behavior of high density polyethylene films containing iron (III) acetylacetonate after UV irradiation. *International Polymer Processing*, 29, 5: 588–593.
 20. Torikai, A, S. Asada, K. Fueki. 1986. Photodegradation of crosslinked polyethylene. *Polymer Photochemistry*, 7, 1: 1–11.
 21. Torikai, A., A. Takeuchi, S. Nagaya, K. Fueki. 1986. Photodegradation of polyethylene: Effect of crosslinking on the oxygenated products and mechanical properties. *Polymer Photochemistry*, 7, 3: 199–211.
 22. Barr-Kumarakuiasinghe, S. A. 1994. Modelling the thermal oxidative degradation kinetics of polyethylene film containing metal pro-oxidants. *Polymer*, 35, 5: 995–1003.
 23. Eyenga, I. I., W. W. Focke, L. C. Prinsloo, A. T. Tolmay. 2002. Photodegradation: a solution for the shopping bag “visual pollution” problem?. *Macromolecular Symposia*, 178, 139–152.
-
- Atanas Atanassov, Prof.
Assen Zlatarov University
Department of Materials Science
Y. Yakimov Str. 1, Burgas 8010, Bulgaria
e-mail: atanassov@btu.bg
- Dimitrina Kiryakova, Assoc. Prof.
Assen Zlatarov University
Department of Materials Science
Y. Yakimov Str. 1, Burgas 8010, Bulgaria
e-mail: dkiryakova@abv.bg
- Antoniya Ilieva, Assist. Prof. PhD
Assen Zlatarov University
Department of Organic Chemical Technologies
Y. Yakimov Str. 1, Burgas 8010, Bulgaria
e-mail: a_s_dimitrova@abv.bg



ТЕРМОГРАВИМЕТРИЧЕН АНАЛИЗ НА ФОЛИА ОТ ПОЛИЕТИЛЕН ОКСИД, ОБЛЪЧЕНИ С УЛТРАВИОЛЕТОВА СВЕТЛИНА

Мариана Тавлиева, Димитрина Кирякова, Атанас Атанасов

THERMOGRAVIMETRIC ANALYSIS OF POLYETHYLENE OXIDE FILMS IRRADIATED WITH UV LIGHT

Mariana Tavlieva, Dimitrina Kiryakova, Atanas Atanassov

ABSTRACT: Series of thermogravimetric analyses was performed in order to determine the influence of irradiation with UV light on the activation energy and other kinetic parameters characterizing the process of thermal destruction of polyethylene oxide films, as well as the mechanism of the reaction. On the basis of the most probable mechanism function the lifetime of the investigated films was calculated.

Key words: TGA, polyethylene oxide films, UV light, kinetic parameters, lifetime, kinetic mechanism

Introduction

Polyethylene oxide $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-)_n$ is a thermoplastic, semicrystalline, biocompatible and biodegradable polymer. It is produced by a heterogeneous catalytic polymerization of the monomer ethylene oxide. Polyethylene oxide (PEO) dissolved in water and other solvents and has a melting range of $57-73^\circ\text{C}$ and glass transition temperature of -56°C . There are different grades of PEO in a wide range of molecular weights from 20 000 to 8 000 000 which are used in various fields of industry – in the preparation of paints, coatings, fibers, films, etc. Currently PEO is used in medicine, cosmetics and pharmaceutical industries as delivery systems and controlled-release drugs [1–3].

The available data in the literature on the kinetics of degradation of polyethylene oxide are related mainly to determination of kinetic parameters at different molecular weight of the polymer or at addition of various additives to it, but there are no data for the effect of exposure of PEO to ultraviolet (UV) light. Depending on the molecular weight of PEO, the average values of the activation energy E_A under non-isothermal kinetics of decomposition was determined in the range of 174.6 ± 1.4 to 207.5 ± 7.6 kJ/mol by the Flynn-Wall-Ozawa (FWO) method [3, 4]; of 172.5 ± 1.5 to 207.1 ± 8.2 kJ/mol by the Kissinger-Akahira-Sunose (KAS) method [3]; and of 172.7 ± 10.0 to 204.0 ± 16.1 kJ/mol by the Friedman (FR) method [3, 4]. The values of the

invariant kinetic parameters of PEO, E_{inv} and $\ln A_{\text{inv}}$, were determined at an interval of 171.8 to 203.9 kJ/mol and of 28.4 to 34.2 1/min, respectively [3, 4]. The most probable kinetic models describing the process of thermal degradation of PEO with a molecular weight $M_w = 1 \times 10^5 - 5 \times 10^6$ were of the type Avrami-Erofeev: $A_{0.5}$, A_1 , $A_{1.5}$ and A_2 [3, 4]. Erceg *et al.* [4], using Coats-Redfern (CR) method, obtained values of E_A equal to 314 and 206 kJ/mol with the most probable theoretical kinetic models A_1 and $A_{1.5}$, respectively.

Assuming reaction order $n = 0.5$ for the thermal degradation of PEO ($M_w = 3.65 \times 10^5$) in nitrogen atmosphere under non-isothermal conditions by the Freeman-Carroll (FC) method, Calahorra *et al.* [5] obtained values for the activation energy of 129.8 kJ/mol. Applying non-linear regression method Pielichowski and Flejtuch [1] determined that the best fit of the $f(\alpha)$ function describing the kinetic model of thermal decomposition in nitrogen atmosphere of PEO was R_3 , i.e. the rate-determining step was a phase boundary-controlled reaction (contracting volume or spherical symmetry) which can have a character either of a surface chemical reaction or of diffusion. Using the isoconversional FWO method they calculated that the activation energy was at the level of 140 to 185 kJ/mol.

The aim of the present work is to study the non-isothermal kinetics of thermal degradation of PEO films exposed to UV light for different period of times by the CR method.

Experimental

Materials

Powdery polyethylene oxide (PEO), product of Neochim Co., Dimitrovgrad, Bulgaria, with melting temperature 68°C and molecular weight $M_w = 2.7 \times 10^6$ was used for the preparation of the films.

Samples preparation

The initial PEO was homogenized in a laboratory mixer (MPW-802, Poland) at a rate of 10 s^{-1} for 15 min and then pressed in a laboratory press PHI (England) between aluminium foils under the following conditions: samples thickness about 200 μm , temperature 190°C, melting period 3 min at 190°C, pressing pressure 22 MPa for 1 min and cooling rate 40°C/min.

UV exposure

The samples formed as 200 μm thick films were irradiated by UV light with wavelengths in the interval 185–254 nm emitted by 5 lamps of 8 W each, at room temperature for 1.5, 5, and 90 h.

Differential scanning calorimeter (DSC) measurements

The thermogravimetric measurements (TG-DTG-DSC) were carried out in a flow of nitrogen at a rate of $10 \text{ cm}^3/\text{min}$ under non-isothermal conditions using a simultaneous thermal analyzer STA 449F3 Jupiter (Netzsch, Germany). Samples of about $4.9 \pm 0.1 \text{ mg}$ mass were used for the experiments at a heating rate of $12^\circ\text{C}/\text{min}$ up to 600°C. The samples were loaded without pressing in an open (6 mm diameter and 3 mm height) platinum crucible, without using of a standard reference material.

Results and discussion

The kinetics of thermal degradation of polyethylene oxide films exposed to UV light for 0, 1.5, 5, and 90 h was based on the results obtained by thermogravimetric analysis (TGA). The reaction rate in the thermogravimetric (TG) studies can be expressed by the formula:

$$\alpha = \frac{m_i - m_t}{m_i - m_f} \quad (1)$$

where α is the degree of conversion, and m_i , m_f and m_t are the initial, final and current sample

mass at moment t . The kinetic model of thermal degradation can be given by the expression:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(T)f(\alpha) \quad (2)$$

where T is the absolute temperature; t is the time and α is the degree of conversion, and $f(\alpha)$ is a function which type depends on the reaction mechanism and $k(T)$ is the dependence of the rate constant on the temperature.

The dependence $k(T)$ can be expressed by the Arrhenius equation:

$$k = A \exp\left(-\frac{E_A}{RT}\right) \quad (3)$$

where A is the pre-exponential factor, R is the universal gas constant equal to $8.314 \text{ J}/(\text{mol}\cdot\text{K})$ and E_A is the activation energy.

Substituting Eq. (3) in (2) the following equation can be written:

$$\frac{d\alpha}{dt} = A \exp\left(-\frac{E_A}{RT}\right) f(\alpha) \quad (4)$$

For kinetic analysis of solid materials using experimental data obtained under non-isothermal conditions Eq. (4) is fundamental.

At constant heating rate, i.e.:

$$\frac{dT}{dt} = q = \text{const} \quad (5)$$

and after some mathematical transformations the following equation is obtained:

$$\int_0^\alpha \frac{d\alpha}{f(\alpha)} = \frac{A}{q} \int_0^T \exp\left(-\frac{E_A}{RT}\right) dT \quad (6)$$

If the left-hand side of the Eq. (6) is denoted as:

$$g(\alpha) = \int_0^\alpha \frac{d\alpha}{f(\alpha)} \quad (7)$$

then

$$g(\alpha) = \frac{A}{q} \int_0^T \exp\left(-\frac{E_A}{RT}\right) dT \quad (8)$$

The algebraic expression in differential form, i.e. the $f(\alpha)$ functions, and in integral form, i.e. the $g(\alpha)$ functions, of the most common reaction

mechanisms of thermal decompositions for solid state reactions depending on the kinetic model are shown in Table 1.

Table 1. Algebraic expressions of the functions $g(\alpha)$ and $f(\alpha)$ and their mechanisms [6].

N ^o	Symbol	Name of the function	$g(\alpha)$	$f(\alpha)$	Rate-determining mechanism
<i>1. Chemical process or mechanism non-invoking equations</i>					
1.	$F_{1/3}$	One-third order	$1 - (1 - \alpha)^{2/3}$	$(3/2)(1 - \alpha)^{1/3}$	Chemical reaction
2.	$F_{3/4}$	Three-quarters order	$1 - (1 - \alpha)^{1/4}$	$4(1 - \alpha)^{3/4}$	Chemical reaction
3.	$F_{3/2}$	One and a half order	$(1 - \alpha)^{-1/2} - 1$	$2(1 - \alpha)^{3/2}$	Chemical reaction
4.	F_2	Second order	$(1 - \alpha)^{-1} - 1$	$(1 - \alpha)^2$	Chemical reaction
5.	F_3	Third order	$(1 - \alpha)^{-2} - 1$	$(1/2)(1 - \alpha)^3$	Chemical reaction
<i>2. Acceleratory rate equations</i>					
6.	$P_{3/2}$	Mampel power law	$\alpha^{3/2}$	$(2/3)\alpha^{-1/2}$	Nucleation
7.	$P_{1/2}$	Mampel power law	$\alpha^{1/2}$	$2\alpha^{1/2}$	Nucleation
8.	$P_{1/3}$	Mampel power law	$\alpha^{1/3}$	$3\alpha^{2/3}$	Nucleation
9.	$P_{1/4}$	Mampel power law	$\alpha^{1/4}$	$4\alpha^{3/4}$	Nucleation
10.	E_1	Exponential law	$\ln \alpha$	α	Nucleation
<i>3. Sigmoid rate equations or random nucleation and subsequent growth</i>					
11.	A_1, F_1	Avrami-Erofeev eq.	$-\ln(1 - \alpha)$	$(1 - \alpha)$	Assumed random nucleation and its subsequent growth, $n = 1$
12.	$A_{3/2}$	Avrami-Erofeev eq.	$[-\ln(1 - \alpha)]^{2/3}$	$(3/2)(1 - \alpha)[- \ln(1 - \alpha)]^{1/3}$	Assumed random nucleation and its subsequent growth, $n = 1.5$
13.	A_2	Avrami-Erofeev eq.	$[-\ln(1 - \alpha)]^{1/2}$	$2(1 - \alpha)[- \ln(1 - \alpha)]^{1/2}$	Assumed random nucleation and its subsequent growth, $n = 2$
14.	A_3	Avrami-Erofeev eq.	$[-\ln(1 - \alpha)]^{1/3}$	$3(1 - \alpha)[- \ln(1 - \alpha)]^{2/3}$	Assumed random nucleation and its subsequent growth, $n = 3$
15.	A_4	Avrami-Erofeev eq.	$[-\ln(1 - \alpha)]^{1/4}$	$4(1 - \alpha)[- \ln(1 - \alpha)]^{3/4}$	Assumed random nucleation and its subsequent growth, $n = 4$
16.	A_n	Prout-Tomkins eq.	$\ln[\alpha/(1 - \alpha)]$	$\alpha(1 - \alpha)$	Branching nuclei
<i>4. Deceleratory rate equations</i>					
<i>4.1. Phase boundary reaction</i>					
17.	R_1, F_0, P_1	Power law	α	$(1 - \alpha)^0$	Contracting disk
18.	$R_2, F_{1/2}$	Power law	$1 - (1 - \alpha)^{1/2}$	$2(1 - \alpha)^{1/2}$	Contracting cylinder (cylindrical symmetry)
19.	$R_3, F_{2/3}$	Power law	$1 - (1 - \alpha)^{1/3}$	$3(1 - \alpha)^{2/3}$	Contracting sphere (spherical symmetry)
<i>4.2. Based on the diffusion mechanism</i>					
20.	D_1	Parabola low	α^2	$1/2\alpha$	One-dimensional diffusion
21.	D_2	Valensi eq.	$\alpha + (1 - \alpha)\ln(1 - \alpha)$	$[-\ln(1 - \alpha)]^{-1}$	Two-dimension diffusion
22.	D_3	Jander eq.	$[1 - (1 - \alpha)^{1/3}]^2$	$(3/2)(1 - \alpha)^{2/3}[1 - (1 - \alpha)^{1/3}]^{-1}$	Three-dimensional diffusion, spherical symmetry
23.	D_4	Ginstling-Brounshtein eq.	$1 - 2\alpha/3 - (1 - \alpha)^{2/3}$	$(3/2)[(1 - \alpha)^{-1/3} - 1]^{-1}$	Three-dimensional diffusion, cylindrical symmetry
24.	D_5	Zhuravlev, Lesokin, Tempelman eq.	$[(1 - \alpha)^{-1/3} - 1]^2$	$(3/2)(1 - \alpha)^{4/3}[(1 - \alpha)^{-1/3} - 1]^{-1}$	Three-dimensional diffusion
25.	D_6	anti-Jander eq.	$[(1 + \alpha)^{1/3} - 1]^2$	$(3/2)(1 + \alpha)^{2/3}[(1 + \alpha)^{1/3} - 1]^{-1}$	Three-dimensional diffusion, spherical symmetry
26.	D_7	anti-Ginstling-Brounshtein eq.	$1 + 2\alpha/3 - (1 + \alpha)^{2/3}$	$(3/2)[(1 + \alpha)^{-1/3} - 1]^{-1}$	Three-dimensional diffusion, spherical symmetry
27.	D_8	anti-Zhuravlev, Lesokin, Tempelman eq.	$[(1 + \alpha)^{-1/3} - 1]^2$	$(3/2)(1 + \alpha)^{4/3}[(1 + \alpha)^{-1/3} - 1]^{-1}$	Three-dimensional diffusion, spherical symmetry
<i>5. Another kinetic equations with unjustified mechanism</i>					
28.		G_1	$1 - (1 - \alpha)^2$	$1/2(1 - \alpha)$	
29.		G_2	$1 - (1 - \alpha)^3$	$1/3(1 - \alpha)^2$	
30.		G_3	$1 - (1 - \alpha)^4$	$1/4(1 - \alpha)^3$	
31.		G_4	$[-\ln(1 - \alpha)]^2$	$(1/2)(1 - \alpha)[- \ln(1 - \alpha)]^{-1}$	
32.		G_5	$[-\ln(1 - \alpha)]^3$	$(1/3)(1 - \alpha)[- \ln(1 - \alpha)]^{-2}$	
33.		G_6	$[-\ln(1 - \alpha)]^4$	$(1/4)(1 - \alpha)[- \ln(1 - \alpha)]^{-3}$	
34.		G_7	$[1 - (1 - \alpha)^{1/2}]^{1/2}$	$4\{(1 - \alpha)[1 - (1 - \alpha)]^{1/2}\}^{1/2}$	
35.		G_8	$[1 - (1 - \alpha)^{1/3}]^{1/2}$	$6(1 - \alpha)^{2/3}[1 - (1 - \alpha)^{1/3}]^{1/2}$	

The right-hand side of Eq. (8) can be solved in different ways. On the basis of the TG curve at a single heating rate Coats-Redfern [7], Mahusudanan-Krishnan-Ninan [8], Tang *et al.* [9], etc., suggested various methods.

Using CR method at constant heating rate equal to 12.236°C/min it was possible to calculate the values of E_A , A and to determine the most probable mechanism of the reaction studied.

According to the TG data (Fig. 1) the thermal degradation of the non-irradiated PEO films (PEO0) and these irradiated with UV light for 1.5 h (PEO1.5), 5 h (PEO5) and 90 h (PEO90) in all cases was a single-step process.

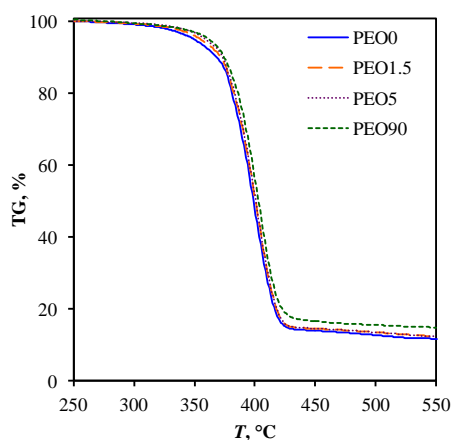


Fig. 1. TG curves at a heating rate of 12.236°C/min for non-irradiated PEO films (PEO0) and PEO films exposed to UV light for 1.5 h (PEO1.5), 5 h (PEO5) and 90 h (PEO90).

From the TG curves can be seen the onset of decomposition temperature T_{onset} and the end of decomposition temperature T_{end} . These values were found to be close to the ones determined by other authors [1, 10], and are given in Table 2. For the initial and final temperature of thermal degradation was determined *ca.* 268.9°C for $T_{initial}$ and 499.5°C for T_{final} , respectively. It can

be seen in Table 2 that the temperatures were shifted towards higher temperatures with the increase of irradiation times, as for the initial and onset temperatures the shift was about 21.5°C and 4.4°C, and for the end and final temperatures the shift was twofold less, namely about 2.5°C and 13.0°C.

Using the data of the DTG curves (Fig. 2) the peak temperatures T_{peak} of each sample were determined (see Table 2). The value for the initial PEO was 400.1°C which was almost the same as that determined in the references [1, 3, 10]. The shift of this temperature with the UV exposure was about 3.5°C, and the average value of T_{peak} was about 402.0°C.

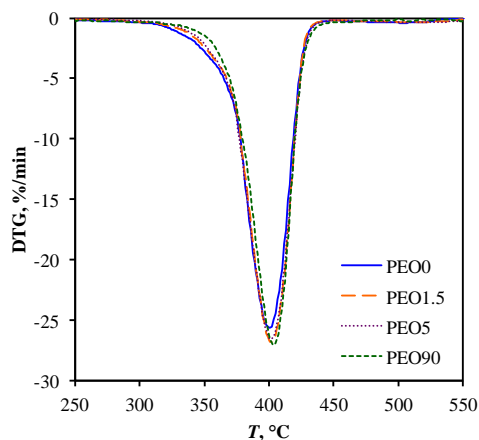


Fig. 2. DTG curves at a heating rate of 12.236°C/min for non-irradiated PEO films (PEO0) and PEO films exposed to UV light for 1.5 h (PEO1.5), 5 h (PEO5) and 90 h (PEO90).

In Fig. 3 are shown the DSC curves of the studied PEO films. It can be seen that the decomposition process was accompanied by endothermic effect with two peaks. The peak temperatures are given in Table 2. As can be seen therein that the values of $T_{peak(I)}$ decreased while the values of $T_{peak(II)}$ increased with the exposure time.

Table 2. Characteristic temperatures of TG, DTG, and DSC curves obtained by thermal degradation of PEO films irradiated with UV light for different period of times.

Sample	$T_{initial}$, °C	T_{onset} , °C	T_{peak} , °C	T_{end} , °C	T_{final} , °C	$T_{peak(I)}$, °C	$T_{peak(II)}$, °C
PEO0	259.7	375.4	400.1	416.1	490.8	374.0	438.5
PEO1.5	262.7	376.8	401.8	417.4	501.5	372.7	440.9
PEO5	272.1	377.0	401.7	417.3	501.9	371.3	441.5
PEO90	281.1	379.8	403.6	418.7	503.8	368.2	449.5
T_{av} , °C	268.9	377.3	401.8	417.4	499.5	371.6	442.6
ΔT_{90-0} , °C	21.4	4.4	3.5	2.6	13.0	-5.8	11.0

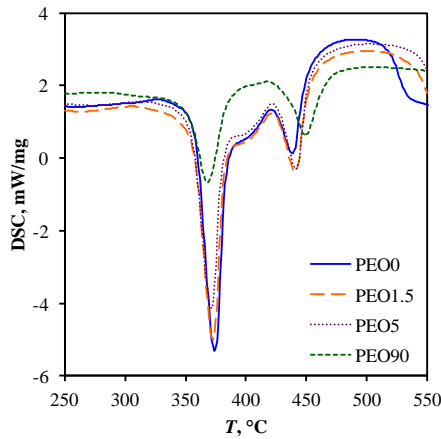


Fig. 3. DSC curves at a heating rate of 12.236°C/min for non-irradiated PEO films (PEO0) and PEO films exposed to UV light for 1.5 h (PEO1.5), 5 h (PEO5) and 90 h (PEO90).

Data from the TG curves in the range of degree of conversion α of 0.05 to 0.95 were used to determine the kinetic parameters E_A , A by the linear form of Coats-Redfern equation [7]:

$$\ln \frac{g(\alpha)}{T^2} = \ln \frac{AR}{qE_A} - \frac{E_A}{RT} \quad (9)$$

where $g(\alpha)$ is the integral conversion function and the other symbols are the same as those in Eq. (8).

The dependence of $\ln[g(\alpha)/T^2]$ versus $1/T$ were plotted (not shown) using the functions $g(\alpha)$ given in Table 1. If the correct $g(\alpha)$ function is used the plot should give a straight line, with determination coefficient R^2 close to unity. In Table 3 are presented the tenth $g(\alpha)$ functions with higher values of R^2 in decreasing order and the corresponding values of activation energy E_A .

Table 3. Calculated values of the activation energy E_A of PEO films irradiated with UV light for different period of times by the tenth best fitting kinetic models (types of $g(\alpha)$ functions).

№	PEO0		PEO1.5		PEO5		PEO90	
	Mechanism	E_A , kJ/mol	Mechanism	E_A , kJ/mol	Mechanism	E_A , kJ/mol	Mechanism	E_A , kJ/mol
1	D ₂	337.71	D ₃	399.72	F _n	221.58	F _n	223.99
2	D ₄	348.26	F _n	191.90	G ₆	955.76	G ₆	964.61
3	F _n	164.45	R ₃	194.39	G ₅	714.07	G ₅	720.71
4	F _{1/3}	164.14	R ₂	185.58	F _{3/4}	214.46	G ₄	476.80
5	R ₂	171.56	D ₄	375.68	G ₄	472.39	A ₁ , F ₁	232.90
6	D ₁	312.25	F _{3/4}	199.02	A ₁ , F ₁	230.70	F _{3/4}	215.40
7	P _{3/2}	231.47	G ₈	91.73	A _{3/2}	150.14	A _{3/2}	151.60
8	D ₃	369.82	G ₇	87.32	D ₃	429.73	A ₂	110.95
9	D ₇	295.65	F _{1/3}	177.32	A ₂	109.86	A ₃	70.30
10	R ₁	150.68	D ₂	363.93	R ₃	209.37	D ₃	430.89

As can be seen from Table 3 the most probable mechanism function for PEO5 and PEO90 films was F_n. The difference between the determination coefficients for PEO0 and PEO1.5 films obtained by the D₂, D₃ and D₄ mechanism functions, respectively, and the F_n mechanism function was insignificant (<0.0004). Consequently the F_n function was chosen as the most probable mechanism function for all of the PEO films.

The value of the reaction order n for each sample was calculated using the Excel solver tool. They are presented in Table 4 together with the values of the activation energy E_A and the pre-exponential factor A in the Arrhenius equation. As can be see in Table 4 the reaction order

increased from sample PEO0 to sample PEO90, and tended to a constant value.

The reaction order n for the PEO0 films was around 1/3 which corresponded to a chemical process or mechanism of thermal degradation non-involving equations. Moreover, if it was assumed that the degradation mechanism was of D₂ or D₄ instead of F_n, the calculated value of E_A would be inexplicably high. Therefore, the value of E_A was used as another criterion in the selection of the mechanism function. The obtained value of E_A for PEO0, namely 164.45 kJ/mol, was within the range 140–185 kJ/mol given by Pielichowski and Flejtuch [1].

Considering the results presented in the work by Criado *et al.* [11] and the values of x obtained

using the simple formula $x = E_A/RT$, x was in the range 25–50, it could be concluded that the error of the activation energy determined by CR method was lower than 1.3%.

The activation energy of the irradiated PEO samples was higher than that of PEO0. Probably this trend was due to cross-linking of the polymer upon irradiation, i.e. the UV exposure led to enhanced thermal stability of the studied films.

The values of the pre-exponential factor A for solid state reactions usually vary in wide range

(six or seven orders). For first-order reactions, the pre-exponential factor may vary in the range 10^5 – 10^{16} 1/min [6]. The low factor often indicates a surface reaction, but if the reaction is not dependent on surface area, the low factor may indicate a “tight” complex. The high factors usually indicate a “loose” complex. As can be seen in Table 4 the exposure of the PEO films to UV light resulted in the increase of this kinetic parameter, i.e. the complex became more “loose” with the increase in the irradiation time.

Table 4. Values of the reaction order n , activation energy E_A , pre-exponential factor A in the Arrhenius equation, change of enthalpy ΔH^\ddagger , change of entropy ΔS^\ddagger , and change of Gibbs free energy ΔG^\ddagger for PEO films irradiated with UV light for different period of times.

Sample	n	E_A , kJ/mol	A , 1/min	R^2	ΔS , J/(mol.K)	ΔH , kJ/mol	ΔG , kJ/mol
PEO0	0.3405	164.45	1.27×10^{12}	0.9901	-62.34	158.85	200.82
PEO1.5	0.6207	191.90	1.32×10^{14}	0.9941	-23.75	186.29	202.32
PEO5	0.8624	221.58	1.18×10^{16}	0.9971	13.65	215.97	206.76
PEO90	0.8757	223.99	1.69×10^{16}	0.9985	16.59	218.38	207.18

From the theory of Eyring [12] for the activated complex (transition state), it can be written for the pre-exponential factor A in the Arrhenius equation that:

$$A = \frac{e\chi k_B T_{\text{peak}}}{h} \exp\left(\frac{\Delta S^\ddagger}{R}\right) \quad (10)$$

where $e = 2.7183$ is the Napier number, χ is the transmission coefficient which is unity for monomolecular reactions, k_B is the Boltzmann constant, h is the Planck constant, and T_{peak} is the peak temperature on the DTG curve. Since

$$\Delta H^\ddagger = E_A - RT_{\text{peak}} \quad (11)$$

the change of the enthalpy ΔH^\ddagger and the change of Gibbs free energy ΔG^\ddagger can be calculated for the formation of the activated complex using the thermodynamic equation:

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T_{\text{peak}} \Delta S^\ddagger \quad (12)$$

The values of ΔS^\ddagger , ΔH^\ddagger and ΔG^\ddagger for the formation of the activated complex by the thermal degradation of the PEO films were calculated at T_{peak} (Table 2), since this temperature characterizes the highest rate of the process, and they are shown in Table 4.

It can be seen from Table 4 that the change of Gibbs free energy ΔG^\ddagger for the PEO films was

positive values (about 204.3 kJ/mol) which indicate that the process of degradation of the studied materials was not a spontaneous one. The values of the change of enthalpy ΔH^\ddagger were positive either, i.e. the process of thermal degradation of the PEO films was connected with the introduction of heat. It could be concluded that as much the films were more irradiated, the greater was the need of heat introduction for their thermal destruction.

The formation of the activated complex was accompanied with the increase of the value of the change of the entropy ΔS^\ddagger with the increase of the exposure time. Furthermore, a growing linear dependence between E_A and ΔS^\ddagger was observed. For the samples PEO0 and PEO1.5 ΔS^\ddagger was negative value, i.e. the activated complex formed was more structured or “organized” than the initial reagents. While for the samples PEO5 and PEO90 ΔS^\ddagger was positive values, and it could be suggested that the formation of activated complex for these samples was a reaction of dissociation of complex molecules (reagents) to simpler fragments (radicals). It could be assumed that at the thermal degradation of polyethylene oxide films in an inert atmosphere two competing processes occurred – destruction and recombination. The obtained macroradicals probably recombine with each other, and the formed fractions of the polymer with higher molecular weight which require a higher energy of destruction.

The parameter lifetime t_f is very useful in the selection of polymers for different applications

especially where long-term usage is essential. The lifetime is usually determined under conditions of accelerated ageing, but it can be determined on the basis of data from the thermal analysis either. This parameter is defined as the time when the mass loss reaches 5 mass%. If the reaction mechanism is F_n , and if $n \neq 1$, then it can be calculated by one of the three definitional equations, in particular [6]:

$$t_f = \frac{(1 - 0.95^{1-n})}{A(1-n)} \exp\left(\frac{E_A}{RT}\right) \quad (13)$$

where n is the reaction order.

Using Eq. (13) the time required for degradation of 5 mass% of the polyethylene oxide films in the temperature range of 25 to 200°C was calculated. In Fig. 4 are shown the plotted curves of the dependence of the lifetime on the temperature by the thermal degradation of the PEO films.

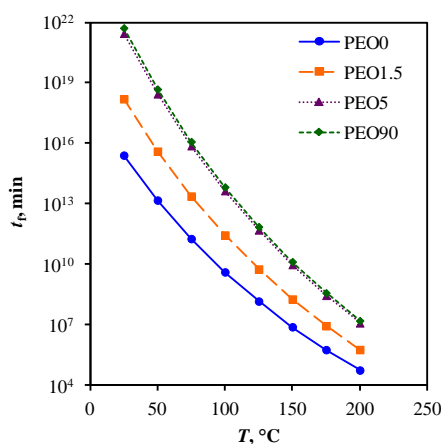


Fig. 4. Dependence of the lifetime t_f on the temperature for non-irradiated PEO films (PEO0) and PEO films exposed to UV light for 1.5 h (PEO1.5), 5 h (PEO5) and 90 h (PEO90).

As can be seen in Fig. 4 the lifetime t_f in nitrogen atmosphere of the PEO films steeper decreased with the increase in the temperature. For the irradiated PEO films this parameter was higher, but the difference between t_f of PEO5 and PEO90 was insignificant. Therefore, the optimal time for irradiation of PEO film with aim they to be more stable was determined to be 5 h.

Conclusions

The kinetic parameters at non-isothermal degradation of PEO films in nitrogen atmosphere were determined using data at a constant single

heating rate by the Coats-Redfern method. On the basis of the obtained kinetic parameters for non-irradiated PEO foils and PEO foils irradiated with UV light for different times it was concluded that the exposure to the UV light resulted in an increase of activation energy with about 60 kJ/mol, and it was connected with the introduction of extra heat. F_n was suggested as the most probable mechanism function, and the reaction order was determined to increase with the irradiation time and tended to a constant value of about 0.88. The lifetime estimation showed increase of the stability of the irradiated films than non-irradiated, and the optimal irradiation time was determined to be 5 hours.

References

1. Pielichowski, K., K. Flejtuch. 2005. Non-oxidative thermal degradation of poly(ethylene oxide): kinetic and thermoanalytical study. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 73, 131–138.
2. Crowley, M. M., F. Zhang, J. J. Koleng, J. W. McGinity. 2002. Stability of polyethylene oxide in matrix tablets prepared by hot-melt extrusion. *Biomaterials*, 23, 4241–4248.
3. Vrandečić, N. S., M. Erceg, M. Jakić, I. Klarić. 2010. Kinetic analysis of thermal degradation of poly(ethylene glycol) and poly(ethylene oxide)s of different molecular weight. *Thermochimica Acta*, 498, 71–80.
4. Erceg, M, J. Makrić, T. Kovačić. 2010. Kinetic analysis of the non-isothermal degradation of PEO nanocomposites. *14th European Conference of Composite Materials*, 7–10 June 2010, Budapest, Hungary, Paper ID: 245–ECCM145, 1–10.
5. Calahorra, E., M. Cortazar, G. M. Guzmán. 1985. Thermal decomposition of poly(ethylene oxide), poly(methyl methacrylate), and their mixtures by thermogravimetric method. *Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition*, 23, 257–260.
6. Vlaev, L. T., V. G. Georgieva, M. P. Tavlieva. 2015. “On the kinetic mechanism of non-isothermal degradation of solids”, in A. Tiwari and B. Raj eds., *Reactions and mechanisms in thermal analysis of advanced materials*. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey, and Scrivener Publishing LLC, Salem, Massachusetts, pp. 547–578.
7. Coats, A. W., J. P. Redfern. 1964. Kinetic parameters from thermogravimetric data. *Nature*, 201 693–694.

8. Madhusudanan, P. M., K. Krishnan, K. N. Ninan. 1993. New equations for kinetic analysis of non-isothermal reactions. *Thermochimica Acta*, 221, 31–21.
 9. Tang, W., Y. Liu, H. Zhang, C. Wang. 2003. New approximate formula for Arrhenius temperature integral. *Thermochimica Acta*, 408, 39–43.
 10. Bizarria, M., M. Ávila, L. Mei. 2014. Non-woven nanofiber chitosan/PEO membranes obtained by electrospinning. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 31, 57–68.
 11. Criado, J. M., L. A. Pérez-Maqueda, P. E. Sánchez-Jiménez. 2005. Dependence of the preexponential factor on temperature: Errors in the activation energies calculated by assuming that A is constant. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 82, 671–675.
 12. Gerasimov, Ya. I., V. P. Dreving, E. N. Eremin, A. V. Kiselev, V. P. Lebedev, G. M. Panchenkov, A. Shlygin. 1973. *Course of physical chemistry*, Vol. 2, Moscow: Khimiya (in Russian).
-
- Mariana Tavlieva, Assistant professor, PhD
Assen Zlatarov University
Department of Physical Chemistry
Y. Yakimov Str. 1, 8010 Burgas, Bulgaria
e-mail: mariana_tavlieva@yahoo.com
- Dimitrina Kiryakova, Associate professor, PhD
Assen Zlatarov University
Department of Materials Science
Y. Yakimov Str. 1, 8010 Burgas, Bulgaria
e-mail: dskiryakova@abv.bg
- Atanas Atanassov, Professor, PhD
Assen Zlatarov University
Department of Materials Science
Y. Yakimov Str. 1, 8010 Burgas, Bulgaria
e-mail: aatanassov@btu.bg



МЕТОДИКИ ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ДНЕВНИТЕ СУМИ НА СУМАРНАТА СЛЪНЧЕВА РАДИАЦИЯ

Здравка Николаева

METHODS FOR DETERMINATION OF DAILY AMOUNT OF TOTAL SOLAR RADIATION

Zdravka Nikolaeva

ABSTRACT: In this paper theoretical equation for calculating of total solar radiation is displayed. Used data are measured values of total solar radiation for four counts of monitoring (AIS Dolno Ezerovo, AIS Meden Rudnik, DOAS OPSIS and Mobile station). Proposed is a regression model that estimates are significantly lighter and suitable for testing the hourly distribution of total solar radiation. A statistical evaluation of the quality of displayed models. The coefficient values of determination are high enough to assume that the models are characterized by good quality and reliability, and the values of the F-statistics support their significance. The methods are suitable for practice (design of solar systems, greenhouses, photovoltaic and others.).

Key words: total solar radiation, regression model, coefficient of determination, F – statistics

Въведение

Слънчевата радиация е важен природен фактор, формиращ климата на планетата и влияещ върху всички живи организми и околната среда. При нейното преминаване през земната атмосфера около 35% се отразява обротно в космоса, около 23% се разсейва от молекулите на въздуха, твърдите примеси, водните пари и капчици и др., а около 15% се поглъща от водните пари, въглеродния диоксид, озона и твърдите примеси на въздуха. До земната повърхност достига около 27% от радиацията, която се нарича пряка слънчева радиация (Александров et. al., 2010). Тя и частта от дифузната радиация, която достига до земната повърхност, образуват сумарната слънчева радиация.

Известни са следните типове методи за определяне на дневните суми на сумарната слънчева радиация върху хоризонтална повърхност:

- регресионен анализ на експериментални данни;
- теоретично изведени формули.

В таблица 1 са представени някои известни от литературата регресионни методи за определяне на сумарна слънчева радиация върху хоризонтална повърхност.

Означения в табл. 1:

G – сумарна слънчева радиация върху еднина площ за единица време (интензитет, инсолация), W/m^2 ;

G_o – обща извънземна слънчева радиация (сумарна глобална инсолация), W/m^2 ;

n – продължителност на слънчевото греене, h ; N – максимална (астрономическа) продължителност на слънчевото греене, h ; n/N – относителна продължителност на слънчевото греене;

T_{max} , T_{min} – средна максимална и минимална температури, K ;

c – средна денонощна облачност, %;

a_i , b – регресионни коефициенти.

В литературата има и методи за изчисляване на сумарната слънчева радиация чрез използване на изведени формули. Например (Sabziparvar, 2007) използва зависимостта на слънчевите радиационни потоци от облачния слой във видимия диапазон и ги тества за реално измерени данни за слънчевата радиация за различни градове. Неговите променливи включват височината на Слънцето и разстоянието Земя-Слънце. (Rehman, 1998) използва географската ширина и дължина, продължителността на слънчевото греене и албедото. Neamah, 2011 разработва модели на радиацията, за предсказване на почасова пряка, дифузна и сумарна слънчева радиация.

Към настоящия момент, особено за България, усилията и дейностите по изследване на слънчевата радиация са концентрирани главно в натрупване и статистическа обработка на данни от измервания, които се използват най-

вече за практическо приложение, като направата на слънчеви колектори, проектиране на отоплителни и хладилни системи за дома, парници и др.

Таблица 1. Методи за изчисляване на дневните суми на сумарната слънчева радиация върху хоризонтална повърхност

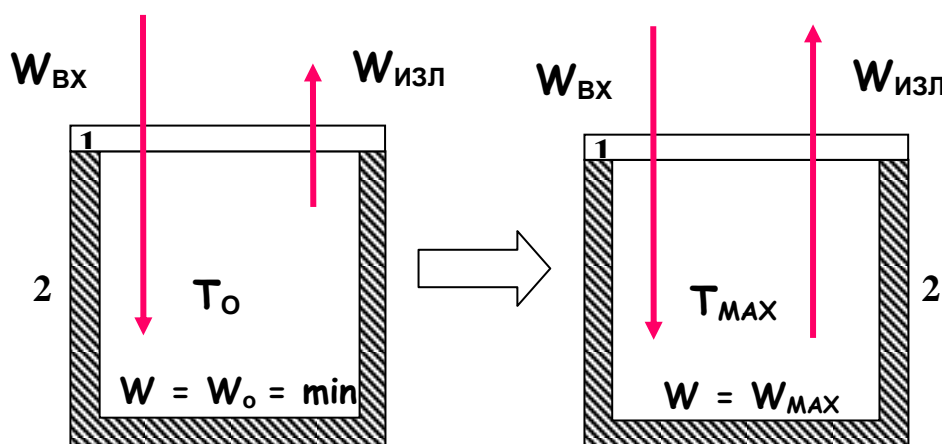
Методи	Регресионни уравнения
(Angström, 1924)	$\frac{G}{G_o} = b + a \cdot \frac{n}{N}$
(Bahel, 1987)	$\frac{G}{G_o} = b + a_1 \cdot \frac{n}{N} + a_2 \cdot \left(\frac{n}{N}\right)^2 + a_3 \cdot \left(\frac{n}{N}\right)^3$
(Ahmad, 2004)	$\frac{G}{G_o} = b + a_1 \cdot \frac{n}{N} + a_2 \cdot \left(\frac{n}{N}\right)^2$
(Ivancheva и Koleva, 2008)	$G = b + a_1 \cdot n + a_2 \cdot T_{\max} + a_3 \cdot T_{\min} + a_4 \cdot c$
(Okundamija и Nzeako, 2011)	$\frac{G}{G_o} = b + a_1 \cdot R_T + a_2 \cdot T_{\max} ; R_T = \frac{T_{\min}}{T_{\max}}$

В работата е изведено теоретично уравнение за пресмятане на слънчевата радиация, което може да се използва по-скоро за по-задълбочени научни изследвания и не е удобно за ежедневно практическо приложение. Предложен е и регресионен модел, с който изчисленията са значително облекчени и са подходящи за изследване на часовото разпределение на сумарната слънчева радиация. Методиката е удобна за практиката (при проектиране на соларни системи, парници, фотоволтаици и др.). Направена е статистическа оценка на качеството на изведените модели.

Методи на изследване

Направено е моделиране на сумарна слънчева радиация чрез опростена формула на затопляне с отчитане на енергийните потоци. Разглежда се изменението на температурата в затворено пространство с форма на куб, изолиран и почернен отвътре. Слънчевите лъчи падат перпендикулярно на прозрачната горна стена на куба.

Предполага се, че входящата енергия от Слънцето $W_{ВХ}$ и близката околна среда е постоянна (фиг. 1).



Фиг. 1. Схема към математичния модел

Означения на фиг. 1:

1 – прозрачен капак (от стъкло или полимерно фолио); 2 – топлоизолация;

W_{BX} – входяща енергия;

$W_{ИЗЛ}$ – излъчена енергия от откритата за слънчевите лъчи стена на куба;

W , T – енергия и температура във вътрешността на куба;

T_o – температура във вътрешността на куба в началния момент $t_o = 0$;

W_o – енергия във вътрешността на куба в началния момент ($W_o = \min$).

При достигане на стационарно равновесно състояние, входящата и излъчената енергия са равни: $W_{BX} = W_{ИЗЛ}$. Тогава вътрешната енергия е максимална W_{MAX} .

В процеса на нагряването, ако в момент t , вътрешната енергия е W , то във момент $t + dt$ тя е $W + dW$.

Изменението на енергията е по-голямо от нула ($dW > 0$), тъй като протича процес на нагряване. Нарастването на енергията във всеки момент е пропорционално на разликата между максималната енергия и енергията във вътрешността на парника, както и на интервала от време (основна хипотеза в първо приближение):

$$dW = \mu(W_{MAX} - W)dt, \quad (1)$$

където: μ – коефициент на пропорционалност, който зависи от размера на куба, стените, обема, материала, външната температура и др.

След решаване на уравнение (1) за енергията W във вътрешността на куба се получава следната формула:

$$W = W_{MAX} - (W_{MAX} - W_o)e^{-\mu t} \quad (2)$$

Предложен е и регресионен модел, с който изчисленията са значително облекчени и са също подходящи за изследване на часовото разпределение на сумарната слънчева радиация, който има вида:

$$G = b + a_1.t + a_2.t^2 + a_3.t^3 + a_4.t^4 + a_5.t^5 + a_6.t^6, \quad (3)$$

където: b , a_1 , a_2 , ..., a_6 – регресионни коефициенти, t – време.

За оценка на качеството на регресионните модели (2) се използва коефициентът на детерминация R^2 , който определя степента на линейна зависимост между включените в модела регресори и предсказаната стойност на изходната величина (Марков, 1997). Задължително условие в този случай е проверката на значимостта на R^2 , за което се използва критерият на Fisher

$$F = \frac{R^2}{(1 - R^2)} \cdot \frac{(N_1 - k)}{(k - 1)}, \quad (4)$$

където: k – броят на оценяваните параметри на модела; N_1 – обемът на извадката от експериментални данни.

Критерият на Fisher е със степени на свобода $v_1 = k - 1$ и $v_2 = N_1 - k$.

При $F > F(\alpha, v_1, v_2) = F_{crit}$, стойността на R^2 е значима и може да се използва за оценка на адекватността на модела. Колкото по-висока е изчислената стойност на R^2 , толкова по надежден е изведеният регресионен модел при ниво на значимост α .

Предложените методики предлагат възможности за почасово изчисляване на дневните стойности на сумарната слънчева радиация в дадена област.

Резултати и обсъждане

Необходимо условие, за да бъде използвана зависимостта (2), е коефициентът μ да бъде оценен. За тази цел са използвани данни за измерени стойности на сумарната слънчева радиация от PVGIS-CMSAF (Solar Radiation Databases) за дванадесет годишен период време. Веднага трябва да се отбележи, че стойността на μ е различна за различните години, месеци, дни и 0.25-часови (15 минутни) периоди в конкретен ден.

В съответствие със световната практика (Klein, 1977), за всеки месец от годината се избира един „представителен“ ден (обикновено 15^{-то} число). Разпределението на 15-минутните измерени стойности на радиацията за „представителния“ ден се определя посредством осредняване на съответните данни от дванадесет годишния период на наблюдение. Именно това разпределение се

използва за оценяване на коефициента μ за конкретния месец и за конкретното място. Това се осъществява по следния начин:

За всеки 15-минутен интервал от представителния ден коефициентът μ се определя по формулата

$$\mu = \frac{\ln \frac{G_2 - G_o}{G_2 - G_1}}{t}, \quad (5)$$

където:

G_2 – измерената стойност на сумарната слънчевата радиация за текущия 15-минутен интервал, W/m^2 ;

G_1 – измерената стойност на сумарната слънчевата радиация за предходния 15-минутен интервал, W/m^2 ;

G_o – най-ниската стойност на измерената сумарна слънчева радиация за представителния ден от месеца, W/m^2 ;

t – време от началния момент на измерване на радиацията до текущия 15-минутен интервал, h .

Таблица 2. Изчислени по уравнение (2) и измерени часови стойности на сумарната слънчевата радиация по месеци за пункт АИС Долно Езеро

Месец	μ	Време, h	$G_{calc.}, W/m^2$	$G_{meas.}, W/m^2$	ε %
Януари	1.123378	11.12	331.686	337	- 1.58
		12.12	346.157	348	- 0.53
		13.12	324.410	329	- 1.40
Февруари	1.043158	11.12	429.375	435	- 1.29
		12.12	445.877	448	- 0.47
		13.12	422.215	427	- 1.12
Март	0.928605	11.12	501.428	508	- 1.29
		12.12	517.149	520	- 0.55
		13.12	495.407	500	- 0.92
Април	0.869915	11.12	589.400	595	- 0.94
		12.12	604.445	607	- 0.42
		13.12	582.436	587	- 0.78
Май	0.851073	11.12	714.893	719	- 0.57
		12.12	733.138	735	- 0.25
		13.12	705.528	709	- 0.49
Юни	0.735029	11.12	707.214	714	- 0.95
		12.12	726.532	730	- 0.47
		13.12	698.328	704	- 0.81
Юли	0.723815	11.12	771.864	780	- 1.04
		12.12	793.834	798	- 0.52
		13.12	761.193	768	- 0.89
Август	0.747627	11.12	795.489	808	- 1.55
		12.12	821.766	828	- 0.75
		13.12	783.622	794	- 1.32
Септември	0.909868	11.12	664.349	671	- 0.99
		12.12	684.186	687	- 0.41
		13.12	654.634	660	- 0.81
Октомври	1.012466	11.12	507.088	513	- 1.15
		12.12	524.704	527	- 0.44
		13.12	499.158	504	- 0.96
Ноември	1.090676	11.12	420.547	428	- 1.74
		12.12	439.318	442	- 0.61
		13.12	411.924	418	- 1.45
Декември	1.194931	11.12	328.835	334	- 1.55
		12.12	343.418	345	- 0.46
		13.12	322.436	327	- 1.40

Изчислява се средната стойност на коефициентите μ , и тя се използва в уравнение (2) за конкретния месец и конкретната област.

За да бъде проверена точността на изведения модел, са изчислени почасовите стойности на сумарната слънчева радиация за четири пункта за мониторинг на територията на Община Бургас:

- АИС Долно Езеро (европейски код BG0044A);
- АИС Меден Рудник (европейски код BG0063A);
- ДООС OPSIS (европейски код BG0056A);
- Мобилна станция.

Източникът на данните е (Solar Radiation Databases). Измерените стойности са от 4.87 до 19.87 h със стъпка 0.25 h (15 минути).

Точността на предсказване е проверена посредством сравнение на измерените с изчислените по (2) стойности за всеки от пунктовете на мониторинг и за всеки от месеците. Предвид големия обем на данните, сравнението е направено за двучасов период от деня, а именно от 11.12 до 13.12 часа (формат *час.стотни*).

Резултатите от направеното сравнение например за пункт АИС Долно Езеро са представени в таблица 2, в която са използвани следните означения:

G_{calc} – изчислена по (2) стойност на сумарната слънчева радиация, W/m^2 ;

G_{meas} – измерена стойност на сумарната слънчева радиация, W/m^2 ;

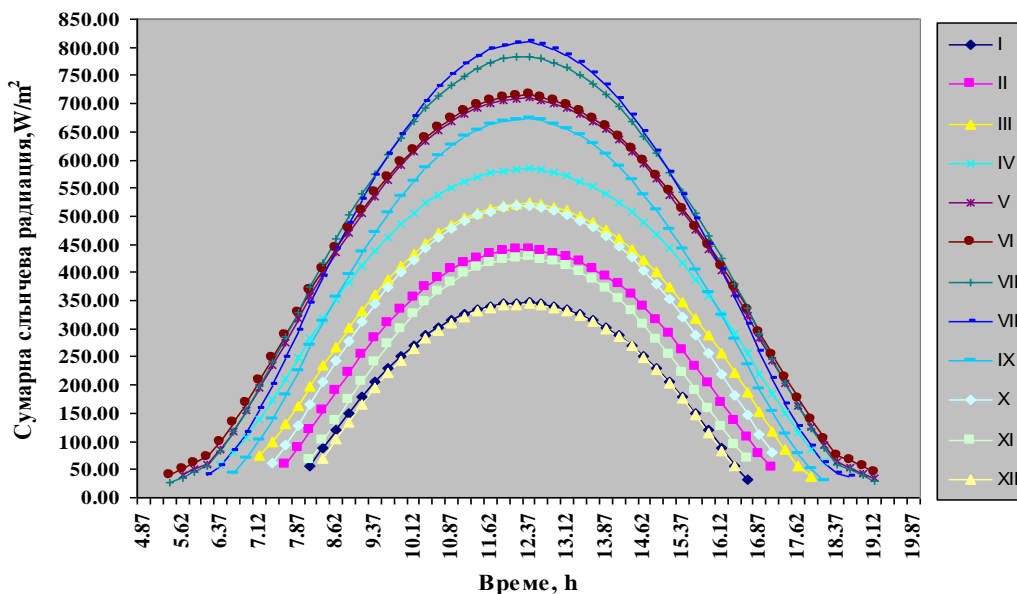
ε – относителна грешка, %.

Анализът на резултатите от изследването показва следното:

- Максималната грешка на предсказване се получава за пункт ДООС OPSIS и възлиза на 1.94 %;
- Средната грешка на предсказване за отделните пунктове за мониторинг е, както следва:
 - АИС Меден Рудник - 0.80 %;
 - АИС Долно Езеро - 0.91 %;
 - ДООС OPSIS - 0.94;
 - Мобилна станция - 0.92;
- Прави впечатление, че абсолютно всички грешки са отрицателни. Най-вероятно става дума за системна грешка, свързана с експерименталното изследване. Но трябва да се отбележи, че макар и системна, грешката е достатъчно малка, за да предизвика каквото и да е притеснение.

На фиг. 2, в графичен вид, е представено изменението на сумарната слънчева радиация, изчислена за АИС Долно Езеро, по модел (2). Обхванат е периодът от изгрева до залеза на Слънцето, а всяка от кривите съответства на конкретен месец.

АИС Долно Езеро, Бургас



Фигура 2. Изчислени часови стойности на сумарната слънчева радиация по месеци за АИС Долно Езеро

Таблица 3. Регресионни модели за АИС Долно Езеро

Месец	Регресионни уравнения
Януари	$G = 17222.4 - 9592.86.t + 2135.06.t^2 - 245.573.t^3 + 15.6407.t^4 - 0.526726.t^5 + 0.00733.t^6$
Февруари	$G = -867.225 + 697.870.t - 225.671.t^2 + 35.2139.t^3 - 2.63527.t^4 + 0.091525.t^5 - 0.001183.t^6$
Март	$G = 75.96798 + 75.2990.t - 67.5705.t^2 + 15.7994.t^3 - 1.387924.t^4 + 0.051316.t^5 - 0.000673.t^6$
Април	$G = 897.130 - 480.702.t + 75.7225.t^2 - 1.92684.t^3 - 0.237071.t^4 + 0.01355.t^5 - 0.000181.t^6$
Май	$G = 95.3680 + 97.5032.t - 90.3152.t^2 + 21.9555.t^3 - 2.00041.t^4 + 0.07741.t^5 - 0.001082.t^6$
Юни	$G = -59.8870 + 185.1432.t - 107.208.t^2 + 23.4959.t^3 - 2.07574.t^4 + 0.07944.t^5 - 0.001106.t^6$
Юли	$G = -259.736 + 381.231.t - 177.057.t^2 + 34.7035.t^3 - 2.94039.t^4 + 0.110952.t^5 - 0.001543.t^6$
Август	$G = 195.482 + 134.151.t - 128.364.t^2 + 30.0073.t^3 - 2.68801.t^4 + 0.103306.t^5 - 0.001439.t^6$
Септември	$G = 431.912 - 37.5374.t - 72.5827.t^2 + 20.6628.t^3 - 1.92667.t^4 + 0.073990.t^5 - 0.001009.t^6$
Октомври	$G = -467.980 + 481.306.t - 183.602.t^2 + 31.8039.t^3 - 2.52350.t^4 + 0.091123.t^5 - 0.001218.t^6$
Ноември	$G = -4959.88 + 3192.82.t - 836.232.t^2 + 111.514.t^3 - 7.77514.t^4 + 0.268911.t^5 - 0.003641.t^6$
Декември	$G = -4581.84 + 2833.02.t - 719.388.t^2 + 93.8218.t^3 - 6.44506.t^4 + 0.220638.t^5 - 0.002964.t^6$

В заключение, за предложения модел за определяне на сумарната слънчева радиация (2) може да се каже следното:

- моделът е универсален;
- моделът има физически смисъл;
- на базата на неголям обем измервания той може да се адаптира и да се използва за различни области в България и Света;
- точността на предсказване на сумарната слънчева радиация е висока;
- моделът би могъл да бъде използван по-скоро за по-задълбочени научни изследвания, но не е удобен за ежедневно практическо приложение.

Направени са изчисления и с изведения регресионен модел (3), с който пресмятанията са значително облекчени и са подходящи за изследване на часовото разпределение на сумарната слънчева радиация.

Получените регресионни уравнения например за пункт Долно Езеро са представени в таблица 3.

Всички изведени модели включват еднакъв брой коефициенти: $b, a_1 \div a_6$.

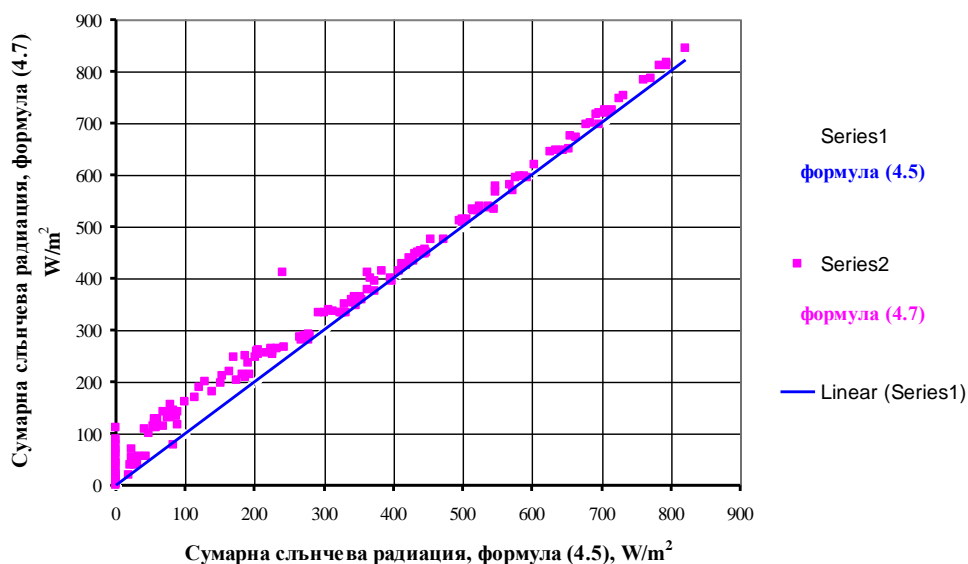
Наличните измерени стойности на сумарната слънчева радиация обаче са различни за отделните месеци, като варират от 36 до 61.

Таблица 4. Коэффициенты на детерминация R^2 за модели (2) и (3) по месеци

Месец	АИС Долно Езеро		АИС Меден Рудник	
	R^2 , модел (2)	R^2 , модел (3)	R^2 , модел (2)	R^2 , модел (3)
Януари	0.9974	0.9976	0.9971	0.9988
Февруари	0.9975	0.9951	0.9973	0.9951
Март	0.9957	0.9967	0.9956	0.9964
Април	0.9966	0.9964	0.9964	0.9964
Май	0.9992	0.9968	0.9991	0.9968
Юни	0.9985	0.9969	0.9983	0.9969
Юли	0.9984	0.9973	0.9984	0.9974
Август	0.9964	0.9970	0.9963	0.9970
Септември	0.9969	0.9965	0.9969	0.9965
Октомври	0.9978	0.9966	0.9964	0.9966
Ноември	0.9954	0.9968	0.9953	0.9969
Декември	0.9942	0.9967	0.9976	0.9964

Месец	АИС Долно Езеро		АИС Меден Рудник	
	R^2 , модел (2)	R^2 , модел (3)	R^2 , модел (2)	R^2 , модел (3)
Януари	0.9970	0.9977	0.9971	0.9977
Февруари	0.9957	0.9958	0.9958	0.9957
Март	0.9955	0.9964	0.9956	0.9964
Април	0.9964	0.9962	0.9964	0.9963
Май	0.9992	0.9967	0.9992	0.9968
Юни	0.9982	0.9968	0.9983	0.9969
Юли	0.9984	0.9974	0.9985	0.9975
Август	0.9961	0.9969	0.9962	0.9969
Септември	0.9968	0.9964	0.9968	0.9964
Октомври	0.9964	0.9967	0.9964	0.9966
Ноември	0.9952	0.9970	0.9954	0.9970
Декември	0.9938	0.9964	0.9975	0.9964

АИС Долно Езеро



Фигура 3. Изчислени по моделите (2) и (3) стойности на сумарната слънчева радиация за АИС Долно Езеро

Предвид това, параметрите на критерия на Фишер се определят както следва: $\alpha = 0.05$; $\nu_1 = 6$; $\nu_2 = 29 \div 54$. Оттук следва, че критичната стойност е от 2.27 до 2.42.

Логично е да бъде направена проверка дали опростеният модел (3) запазва качеството на модела (2).

В таблица 4 са дадени получените коефициенти на детерминация за модели (2) и (3) по пунктове и месеци.

На фиг. 3 са представени графически изчисленията по моделите (2) и (3) стойности на сумарната слънчева радиация например за АИС Долно Езеро.

От таблица 4 се вижда, че коефициентите на детерминация за всички месеци имат стойности, много близки до единица ($R^2 > 0.99$), а фигура 3 илюстрира твърде добро съвпадение на предсказваните стойности по двата модела.

Изчисленията с предложения регресионен модел са значително облекчени и са подходящи за изследване на часовото разпределение на сумарната слънчева радиация. Методиката е удобна и за практиката (при проектиране на соларни системи, парници, фотоволтаици и др.).

Изводи

1. Изведено е теоретично уравнение за пресмятане на часовите стойности на сумарната слънчева радиация. Прави впечатление, че грешките са отрицателни, което най-вероятно се дължи на системна грешка, свързана с експеримента. Моделът е универсален, има физически смисъл и може да бъде използван по-скоро за по-задълбочени научни изследвания.

2. Направени са изчисления и с регресионния модел. При сравнение на двата метода се вижда, че коефициентите на детерминация имат стойности, много близки до единица, което показва, че могат да се използват за анализ и прогноза. Методиките са удобни и за практиката (при проектиране на соларни системи, парници и др.).

Литература

1. Александров, В., П. Симеонов, В. Казанджиев, Г. Корчев, А. Йотова. 2010 *Климатични промени*. НИМХ–БАН, София.

2. Марков, С. 1997 Математическо моделиране. Наука, София.

3. Ahmad F., I. Ulfat. 2004 *Empirical Models for the Correlation of Monthly Average Daily Global Solar Radiation with Hours of Sunshine on a Horizontal Surface at Karachi, Pakistan*. Turkish Journal Physics, Vol. 28, pp. 301-307.

4. Angström, A. 1924 *Solar and Terrestrial Radiation*. Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society, Vol. 50, pp. 121-125.

5. Bahel et al. 1987 *Calculation of Monthly Mean Solar Radiation for Horizontal Surfaces*. Journal of Solar Energy, Vol. 12, p. 131.

6. Ivancheva, J., E. Koleva. 2008 *An Estimation of the Global Solar Radiation over Bulgaria*. Balwois, Ohrid, Republic of Makedonia, May 27-31.

7. Klein, S. 1977 *Calculation of Monthly Average Insolation on Tilted Surfaces*. Journal of Solar Energy, Vol. 19, pp. 325-329.

8. Neamah, A. 2011 *A Simple Model for Estimating Solar Radiation on Horizontal Surfaces*. Tikrit Journal of Pure Science. Vol. 16, pp. 102-105.

9. Okundamija, M., A. Nzeako. 2011 *Empirical Model for Estimating Global Solar Radiation on Horizontal Surfaces for Selected Cities in the Six Geopolitical Zones in Nigeria*. Journal of Control Science and Engineering, Vol. 2011, Article ID 356405.

10. Sabziparvar, A. 2007 *A Simple Formula for Estimating Global solar Radiation in Central Arid Deserts of Iran*. Journal of Renewable Energy, Vol. 33, pp. 1002-1010.

11. Rehman, Sh. 1998 *Solar Radiation over Saudi Arabia and Comparisons with Empirical Models*. Journal of Solar Energy, Vol. 23, pp. 1077-1082.

12. Solar Radiation Databases. 2012 www.photovoltaic-software.com/solar-irradiation-database.php.

Гл. ас. д-р Здравка Николаева
Университет „Проф. д-р Асен Златаров”
Катедра „Математика и физика”
Ул. „Проф. Якимов” 1
8010 Бургас, България

e-mail: z.v.burieva@gmail.com



КВАНТОВО-ХИМИЧНИ ИЗЧИСЛЕНИЯ НА КОМПЛЕКСИ НА ПРЕХОДНИ МЕТАЛИ С *N,N*- ДИМЕТИЛБЕНЗИЛАМИН

Виктория Трифонова, Емилия Иванова, Севдалина Турманова, Красимир Василев

QUANTUM CHEMICAL CALCULATION OF TRANSITION METAL COMPLEXES WITH *N,N*-DIMETHYLBENZYLAMINE

Viktoriya Trifonova, Emilya Ivanova, Sevdalina Turmanova, Krassimir Vassilev

ABSTRACT: *The complexes of N,N-Dimethylbenzylamine (DMBEA) with various of salts such as CuCl₂·2H₂O, CoCl₂·6H₂O, FeSO₄·2H₂O, NiSO₄·7H₂O and Na₂MoO₄·2H₂O were obtained in aqueous solutions at room temperature. The complexes were identified by IR-FT spectroscopy. The geometry of the resulting compounds was optimized and their electronic structures were estimated. The semi-empirical quantum chemical method ZINDO/1 was used for all calculations. The full energy of the investigated complexes was calculated and the probable structure of the compounds was suggested.*

Key words: heavy metal complexes, stereostructure, geometric optimization, quantum chemical methods

Въведение

Йоните на преходни метали изпълняват изключително важна роля в много и разнообразни химикотехнологични процеси. Една голяма част от тези процеси изискват точно определени йони за осъществяване на строго специфични реакции. В тези процеси е необходимо металният йон да бъде в подходяща степен на окисление, за да съответства на необходимите каталитични и структурни изисквания. Процесите, които се регулират от метални йони се отличават с изключителна специфичност. Така напр., йоните на мангана, магнезия, желязото, кобалта, медта, молибдена и цинка влизат в състава на ензимните системи, катализиращи процеси като пренос на функционални групи, окислително-редукционни реакции или хидролизни процеси. Комплексите на Mo(VI) са едни от най-добрите катализатори за селективни окислителни реакции, катализиращи преноса на кислороден атом към органичен субстрат (Bagherzadeh, Haghdoost, Ghanbarpour, 2014). Видът на лигандите, структурата на комплексите и реакционните условия имат определящ и значим ефект върху каталитичната активност на Mo(VI) комплекси.

С цел да се проучи ефекта на лиганда и сложната хелатна структура върху каталитичната активност на комплексите е необходимо

да бъде оценена геометрията на мономерните фрагменти, изграждащи комплексната система (Vassilev, Turmanova, Ivanova, 2013, Турманова, Иванова, Василев, 2015). Получените комплексни съединения могат да послужат като модели за оценка на последващата им каталитична активност. Химичните подходи в бионеорганичната химия на ензимите, в чиито активен център е молибденилен катион или волфрамилен катион, са използвани за окисление на биоподобните (биомиметични) структури (Majumdar, Sarkar, 2011). Приложени са два подхода за моделиране в бионеорганичната химия - „структурно моделиране“ и „функционално моделиране“. „Структурното моделиране“ е подход на биоподобните комплекси, които трябва да съдържат почти същите донорни атоми, каквито се съдържат около йона в същинските ензимни системи. „Функционалното моделиране“ е подход, в който синтезираните моделни комплекси по своите функции трябва да бъдат много близки до природните ензими.

Чрез подбор на подходящи лиганди е възможно да се синтезират молибденови/ волфрамови комплекси, които да изпълняват функциите на активни центрове на следните ензимни системи: сулфитоксидаза, алдехид-дехидрогеназа, ацетиленхидратаза и ферредоксиноксидоредуктаза (Majumdar, et al., 2011).

Чрез кондензация на 1,8- диаминонафта-лен и бензил са получени серии от макроциклически комплекси на Cr(III), Fe(III) и Mn(III) (Singh, Kumar and Sharma, 2009). Комплексите са охарактеризирани с елементарен анализ, ЯМР, ИЧ- и мас- спектроскопия. Анти-микробиалната активност е изследвана срещу : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (Грам-положителни бактерии), *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* (Грам- отрицателни бактерии), *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* (плесени) и *Candida albicans* и *Saccharomyces cerevisiae* (дрожди). Всички комплекси са тествани и показват добра антибактериална активност срещу Грам- положителните бактерии, но не са ефективни срещу Грам-отрицателните такива. Изследвана е активността на комплекси на Ni(II), Zn(II), Co(II), Fe(II), Cu(II), V(IV), W(VI) и Mo(VI) с незаменимите аминокиселини лизин и метионин (Vassilev, et al., 2013). За получаване на комплекси на Fe(II), Co(II), Cu(II), V(IV), W(VI) и Mo(VI) са използвани молекули с дендритни структури, съдържащи 8 и 32 първични amino групи (Vassilev, et al., 2009), като получените и охарактеризирани комплекси са изследвани в реакцията окисление на циклохексен с *трет*-бутилхидропероксид, етилбензенхидропероксид и кумилхидропероксид.

Комплексите на молибдена с 32 първични amino групи са изследвани в реакцията епоксидиране на различни по структура алкени с *трет*-бутилхидропероксид. Получени са имобилизирани комплекси на базата на Шифови бази и е установено, че тяхната каталитична активност е по-висока в сравнение с хомогенните им аналози (Gupta, et al., 2008). Комплексите на Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II) и Zn(II) са използвани като катализатори за епоксидиране на циклохексен и окисление на фенол. Различни полимер-метални комплекси на Шифови бази с успех са изследвани като катализатори за окисление на стирен, стилбен, лимонен, циклооктен, бензилов алкохол и др. (Gupta, et al., 2009).

Получени са различни по структура Шифови бази чрез кондензация на първични амини и алдехиди. Те могат да образуват комплексни съединения с йони на преходни метали чрез свободната електронна двойка при азотния атом. Комплекси на пиридил бис(имиде) и пиридил бис(имине) с Co(II), Fe(II) са използвани като катализатори за полимеризация на етен и пропен (Gupta, et al., 2008). Различни комплекси на Шифови бази

са използвани за окисление на сулфиди, тиоанизоли, алдехиди, фенол, стирен, разграждане на водороден пероксид, изомеризация и др. Синтезирани са комплекси на поли-4-винилпиридин (Turmanova, 2008; Turmanova, Dimitrov, 2015) и аминокиселината хистидин (Vassilev, et al., 2013) с йони на преходни метали - Ni(II), Mn(II), Zn(II), Co(II), Cu(II), W(VI), Mo(VI) и V(IV). За охарактеризиране на комплексите са използвани ИЧ-, УВ спектроскопия и ЕПР. Изследвано е приложението на комплексите като катализатори за окисление на циклохексен с *трет*-бутилхидропероксид. Продуктите на реакцията са идентифицирани с газ хроматография с мас-спектроскопия. Установено е, че при всички тест реакции, молибденовите комплекси са ефективни по отношение на реакцията епоксидиране, докато останалите комплекси ефективно катализират реакцията хидроксилиране.

Настоящото изследване е насочено към анализиране на факторите, които влияят на геометрията на стабилизиране на комплексите на йони на преходни метали (Cu(II), Co(II), Fe(II) и Ni(II)), както и за комплексите на Mo(VI) с третичен амин *N,N*-диметилбензиламин, чрез провеждане на оптимизация с квантово-химични методи.

Експеримент

1. Използвани материали и реактиви

CuCl₂·2H₂O, CoCl₂·6H₂O, FeSO₄·2H₂O, NiSO₄·7H₂O, Na₂MoO₄·2H₂O, HNO₃, C₂H₅OH (Fluka, Switzerland), *N,N*-Диметилбензиламин (ДМБЕА), NaOH (Sigma-Aldrich, USA).

2. Получаване на комплекси на йони на преходни метали - Cu(II), Co(II), Fe(II), Ni(II) и Mo(VI) с *N,N*-диметилбензиламин във водни разтвори.

Към 20 cm³ бидестилирана H₂O се прибавят 1,2 g от Na₂MoO₄·2H₂O (4,96×10⁻³ M) и разтворът се подкислява с разредена HNO₃ (1:1) до pH 2,0- 2,2. Към 20 cm³ бидестилирана H₂O се прибавят 1,0 g *N,N*-диметилбензиламин (1,38 cm³, 9,92×10⁻³ M) и разтворът се подкислява до pH 2,0 - 2,2. Двата разтвора се смесват при интензивно разбъркване при стайна температура. Получената утайка се филтрува и промива с бидестилирана H₂O до неутрална реакция. Суши се под вакуум до постоянно тегло (Турманова и съавт., 2015).

Комплексите на $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($4,2 \times 10^{-3}$ M), $\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($5,31 \times 10^{-3}$ M), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($7,43 \times 10^{-3}$ M) и $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($3,56 \times 10^{-3}$ M) са получени по подобен начин, както молибденовите, но без подкисляване на водните разтвори. Всички комплекси са получени при съотношение метал: лиганд = 1:2.

3. Методи за анализ

3.1. Квантово-химичен метод

Геометричната оптимизация на изследваните мономерни фрагменти от бидентатни комплексни съединения на йони на преходни метали (Cu(II), Co(II), Ni(II), Fe(II) и Mo(VI)) с *N,N*-диметилбензиламин във вакуум е извършена с помощта на полуемпиричния квантово-химичен метод ZINDO/1 от про-грамния пакет HyperChem 7.0 (9), използвайки стандартната параметризация за атомите (Anderson, Sundary, Zerne, 1991). Комплекси-те са предварително определени с метода на Молекулна механика от същия програмен пакет.

При квантово-химичните изчисления е приложен оптимизационният алгоритъм на Fletcher-Reeves. Молекулите със затворени обвивки обикновено се изчисляват в приближението на ограничителния метод на Hartree-Fock (ОХФ, RHF-Restricted Hartree-Fock), известен също като спин-ограничителен метод на Hartree-Fock.

3.2. Инфрачервена спектроскопия

Инфрачервените спектри на образците са регистрирани във вид на таблетки от KBr на спектрофотометър Bruker (Germany), FT-IR Tensor-27, в интервала $4000-400 \text{ cm}^{-1}$.

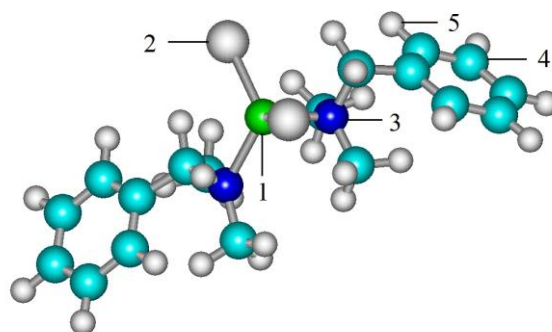
Резултати и обсъждане

Получени са комплекси на основа азотсъдържащо моделно съединение третичен амин, чрез комплексообразуване с йони на преходни метали от водни разтвори на соли. Формирането на координационната структура на комплексите се извършва при комплексообразуване на азотсъдържащи лиганди с метален йон при реагирането на индивидуалното съединение.

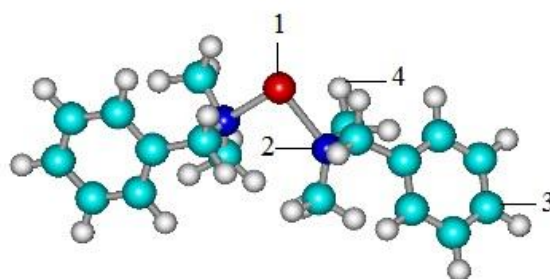
Получените комплекси на йони на преходни метали са охарактеризирани с ИЧ-спектроскопия. Третичният амин с ароматна структура се характеризира със симетрични трептения на $\text{C}=\text{C}$ връзките на бензеновото ядро при $844-702 \text{ cm}^{-1}$, присъщи на извънравнинните деформационни трептения на $\text{C}-$

H връзката от ароматното ядро (Турманова и съвт., 2015). ИЧ спектрите показват характеристични ивици, отнасящи се за симетрични и асиметрични валентни трептения на връзката $\text{Mo}=\text{O}$, ДМБЕА-Mo при 949 и 881 cm^{-1} , съответно. След комплексообразуване се наблюдава и ивица, която характеризира връзката $\text{Mo}-\text{N}$, съответно при 462 cm^{-1} (Colorado-Peralta 2012; Lei, 2013; Pickett, 1982). За останалите комплекси на ДМБЕА с йоните на преходни метали Cu(II), Co(II), Fe(II) и Ni(II) са регистрирани ивици съответно при 458 , 492 , 443 и 452 cm^{-1} , които характеризират връзките метал-азот.

На база на анализирания ИЧ спектри и от литературни данни, на фигури 1 и 2 са представени вероятните стереоструктури на бидентатни комплекси на йони на преходни метали с ДМБЕА, изчислени с метода ZINDO/1.



Фиг. 1. Вероятна стереоструктура на комплекса Cu(II)-(ДМБЕА)₂- мономерен фрагмент, символ: Cu- 1, Cl-2, N-3, C-4, H-5.



Фиг. 2. Вероятна стереоструктура на комплекса Fe(II)-(ДМБЕА)₂- мономерен фрагмент, символ: Fe- 1, N- 2, C- 3, H- 4.

Изчислителните процедури от програмния пакет довеждат до определяне на най-стабилната електронна конфигурация за геометрията на молекулата, определена от Z-

матрицата. След геометричното оптимизиране на молекули на съединенията е избрана геометрията с минимална енергия. Квантовохимичните изчисления са извършени при вариране на всички дължини на химични връзки, на валентни и торзионни ъгли, с прилагане на оптимизационния алгоритъм на Fletcher-Reeves.

В таблици 1 и 2 са представени резултати от изчислените електронна структура и пълна енергия на бидентатни комплекси на йони на преходни метали с ДМБЕА в изследваните мономерни фрагменти. Разликата в енергиите

ΔE , (eV) на най-високата заета молекулна орбитала (НОМО) и тази на най-ниската свободна орбитала (ЛУМО) в изследваните комплекси показват резултати, които варират в близки стойности от 9.3870 до 10.0246, (eV).

В оптимизираната структура на комплекса Mo(VI)-(ДМБЕА)₂, валентният ъгъл между атомите O=Mo=O има стойност 108,035, deg. (Трифенова, съавт., 2015). Валентният ъгъл между металния йон и азотните атоми от бидентатния лиганд на третичен амин в изследваните комплекси приема стойности, описани в таблица 3.

Таблица 1. Резултати от изчисления на електронна структура на мономерни фрагменти на комплекси на йони на преходни метали с ДМБЕА

Комплекс	$E_{\text{НОМО}}$ (eV)	$E_{\text{ЛУМО}}$ (eV)	ΔE (НОМО-ЛУМО) (eV)
Cu(II)-(ДМБЕА) ₂	-8.1895	1.7173	9.9068
Co(II)-(ДМБЕА) ₂	-4.4670	4.9509	9.4179
Ni(II)-(ДМБЕА) ₂	-4.7342	5.2904	10.0246
Fe(II)-(ДМБЕА) ₂	-4.8581	4.5919	9.4501
Mo(VI)-(ДМБЕА) ₂	-4.6210	4.7660	9.3870

Таблица 2. Резултати от изчислената пълна енергия на мономерни фрагменти на комплекси на йони на преходни метали с ДМБЕА

Комплекс	Пълна енергия (a.u)	Пълна енергия (kcal/mol)
Cu(II)-(ДМБЕА) ₂	-239.173	-150086.753
Mo(VI)-(ДМБЕА) ₂	-197.955	-124221.193
Ni(II)-(ДМБЕА) ₂	-196.926	-123575.488
Co(II)-(ДМБЕА) ₂	-186.864	-117261.608
Fe(II)-(ДМБЕА) ₂	-178.358	-111923.848

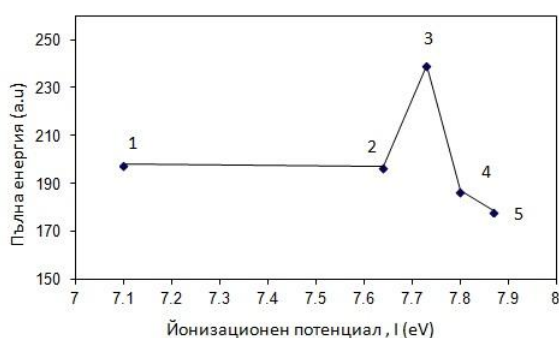
Таблица 3. Стойности на валентния ъгъл между металния йон и азотните атоми от лигандите и йонизационен потенциал на атомите

Комплекс	Валентен ъгъл, N-Me-N, (deg.)	Йонизационен потенциал, I, (eV)
Cu(II)-(ДМБЕА) ₂	98.813	7.73
Fe(II)-(ДМБЕА) ₂	92.8649	7.87
Ni(II)-(ДМБЕА) ₂	97.0212	7.64
Co(II)-(ДМБЕА) ₂	90.4893	7.80
Mo(VI)-(ДМБЕА) ₂	82.3838	7.10

Въз основа на получените данни за пълната енергия с отрицателна стойност, (a.u) от таблица 2 и йонизационния потенциал (I) на

атомите (Pearson, 1988) за изследваните комплекси на йони на преходните метали с

ДМБЕА, е построена следната графична зависимост (фигура 3).



Фиг. 3. Зависимост между пълната енергия E, (a.u) и йонизационния потенциал I (eV) на съответния атом. Където: 1- Mo; 2- Ni; 3- Cu; 4- Co; 5- Fe.

Заклучение

Получени са комплекси между йони на преходни метали и третичния амин *N,N*-диметилбензиламин във водни разтвори при стайна температура. Комплексообразуването е доказано с ИЧ- спектроскопия. Дефинирани са стереструктурите на комплексните системи чрез използване на полуемпиричен квантовохимичен метод от програмен продукт.

Въз основа на изчислената пълна енергия, по стабилност комплексите могат да се подредят в следния ред: Cu(II) > Mo(VI) > Ni(II) > Co(II) > Fe(II). Получените комплексни съединения ще бъдат изследвани като катализатори за окисление на алкени с органични хидроперокси.

Литература

1. Трифонова, В., С. Турманова, Е. Иванова и др. 2015. Геометрична оптимизация на мономерни фрагменти от молибденови комплекси с квантовохимични методи. *Годишник на Университет "Проф. д-р Асен Златаров", Бургас*, т. XLIV(1), с. 20-25.
2. Турманова, С., Е. Иванова, К. Василев и др. 2015. Изследване на комплексообразуването на третични амини с йони на преходни метали. *Сборник от Научни трудове на Русенския университет, филиал Разград*, т. 54, серия 10.1, с. 202-207.
3. Anderson, W., T. Cundari and M. Zerner. 1991. An intermediate neglect of differential overlap model for second row transition metal

species. *International Journal Quantum Chemistry*, 39, p. 31–45.

4. Bagherzadeh, M., M. Haghdoost, A. Ghanbarpour et al. 2014. New molybdenum(VI) catalyst for the epoxidation of alkenes and oxidation of sulfides: An experimental and theoretical study. *Inorganica Chimica Acta*, 411, p. 61–66.

5. Colorado-Peralta, R., M. Sanchez-Vazquez, I. Hernández-Ahuactzi et al. 2012. Structural study of molybdenum(VI) complexes containing bidentate ligands: Synthesis, characterization and DFT calculations. *Polyhedron*, 48, p. 72–79.

6. Gupta K., A. Sutar. 2007. Polymer anchored Schiff base complexes of transition metal ions and their catalytic activities in oxidation of phenol. *Journal of Molecular catalysis. A: Chemical*, v. 272, p. 64-74.

7. Gupta K., A. Sutar. 2008. Catalytic activities of Schiff base transition metal complexes. *Coordination Chemistry Reviews*, v.252, p. 1420-14-50.

8. Gupta K., Sutar, A. and Lin, C. 2009. Polymer-supported Schiff base complexes in oxidation reactions. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 253, p. 1926-1946.

9. HyperChem for Windows, Release 7.0. *Hypercube, Inc.*

10. Lei, X. and N. Chelamalla. 2013. Dioxomolybdenum(VI) complexes with linear and tripodal tetradentate ligands: Synthesis, structures and their use as olefin epoxidation catalysts. *Polyhedron*, 49, p. 244–251.

11. Majumdar A., S. Sarkar. 2011. Bioinorganic chemistry of molybdenum and tungsten enzymes: A structural–functional modeling approach. *Coordination Chemistry Reviews*, v.255, p. 1039-1054.

12. Pearson, R. G. 1988. Absolute Electronegativity and Hardness: Application to Inorganic Chemistry. *Inorg. Chem.*, 27, p. 734-740.

13. Pickett, C., S. Kumar, P. Vella et al. 1982. Investigations of the coordination chemistry of molybdenum with facultative tetradentate ligands possessing N₂S₂ donor sets. 2. Preparation, chemical characterization, and electrochemical study of the molybdenum(VI), molybdenum(V), and molybdenum(VI) oxo complexes. *Inorganic Chemistry*, 21, p. 908–917.

14. Singh D., K. Kumar and C. Sharma, 2009. Antimicrobial active macrocyclic complexes of Cr(III), Mn(III) and Fe(III) with their spectroscopic approach. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v.44, p. 3299-3304.

15. Турманова С., Василев К., Бонева С., 2008. Preparation, structure and properties of

metal-copolymers of poly-4-vinilpyridine radiation-grafted onto polymer films. *Reactive Functional Polymers*, 68, p. 759-767.

16. Turmanova S., Dimitrov, I., Ivanova, E. et al. 2015. Complexes of hybrid copolymers with heavy metals: preparation, properties and application as catalysts for oxidation. *Polymer Bulletin*, v.72, p. 1301-1317.

17. Vassilev K., Turmanova, S., Dimitrova, M. et al. 2009. Poly(propylene imine) dendrimer complexes as catalysts for oxidation of alkenes. *European Polymer Journal*, v. 45, p. 2269-2278.

18. Vassilev K., Dimitrova, M., Turmanova, S. et al. 2013. Catalytic Activity of Histidine-Metal Complexes in oxidation Reactions. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal chemistry*, v. 43, p. 243-249.

19. Vassilev K., Turmanova, S., Ivanova, E. et al. 2013. Catalytic Activity of Amino Acids-Metal Complexes in Oxidation Reactions. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, v.4, p. 28-36.

Красимир Георгиев Василев, професор, доктор, Университет „Проф. д-р Асен Златаров“- Бургас, Катедра “Биотехнология”, ул. „Проф. Якимов”, 1, kvasilev@btu.bg

Виктория Трифонова Трифонова, асистент, Университет „Проф. д-р Асен Златаров“- Бургас, Катедра “Неорганична и аналитична химия”, ул. „Проф. Якимов”, 1, wiki_trend@abv.bg

Севдалина Христова Турманова, доцент, доктор, Университет „Проф. д-р Асен Златаров” - гр. Бургас, Катедра “Технология на материалите и материалознание”, ул. „Проф. Якимов”, 1, sturmanova@btu.bg

Емилия Дечева Иванова, доктор, Университет „Проф. д-р Асен Златаров” - гр. Бургас, Катедра “Индустриални технологии и мениджмънт”, ул. „Проф. Якимов”, 1, e.d.ivanova@abv.bg



ВЛИЯНИЕ НА ТЕМПЕРАТУРАТА В РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ ВЪРХУ ЕМИСИИТЕ ОТДЕЛЯНИ ОТ РЕЗЕРВОАРИ ЗА СЪХРАНЕНИЕ НА ОРГАНИЧНИ ТЕЧНОСТИ

Радостин Куцаров, Иван Чобанов

EFFECT OF TEMPERATURE IN REPUBLIC OF BULGARIA ON THE EMISSION FROM ORGANIC LIQUID STORAGE TANKS

Radostin Kutsarov, Ivan Chobanov

ABSTRACT: *The geographical position of the Republic of Bulgaria is a reason for significant changes in air temperature. The processes of evaporation of organic substances in the air are strongly influenced by the ambient temperature. In this work the effect of temperature on the emission from organic liquid storage tanks was studied. Calculations for 144 geographic points in Bulgaria were performed. The obtained results show that the highest emissions are in Petrich and Sandansky (and many cities in southwestern Bulgaria). The lowest emissions are in Petrokhan. For the five largest cities in Bulgaria, the highest emissions are in Plovdiv, followed by Rousse, Bourgas and Varna.*

Key words: organic liquid storage tanks, air emissions, climate of Bulgaria

Въведение

Географското положение на нашата страна обуславя значителните промени в температурата на въздуха и наличието на два противоположни по характеристика годишни сезона - зима и лято, и преходните между тях - пролет и есен.

Средната годишна температура за по-голямата част от България е между 10 и 14°C, но в различните части на страната тя силно се променя. Средните годишни температури показват силна зависимост от надморската височина и с нейното увеличаване те се понижават. По-слабо изразени са промените под влияние на промените в географската ширина.

От своя страна, някои процеси на емитиране на органични вещества в атмосферния въздух силно се влияят от температурата на околната среда.

Цел на настоящата работа е да изследва влиянието на температурата в различни населени места в България върху процесите на емитиране на органични вещества в атмосферния въздух. За изпълнението на поставената цел бяха формулирани следните задачи:

- Подготовка на набор от данни за температурата в множество географски точки на територията на Република България,

които да обхващат всички пет климатични области в нея;

- Избор на подходящо съоръжение, за което да бъдат извършени изчислителни процедури за определяне влиянието на температурата върху процесите на емитиране на замърсителите;
- Анализ на получените количествени резултати и определяне на местата с благоприятни и неблагоприятни условия за емитиране на замърсителите в атмосферния въздух.

Изчислителна част

За извършването на количествена оценка на влиянието на температурата върху емитирането на органични вещества от резервоари бе използван резервоар с неподвижен покрив, чийто емисии бяха изчислени при климатичните условия на 144 географски точки на територията на Република България.

Изборът именно на този тип съоръжение бе направен предвид следните съображения. Емисиите от резервоарите с неподвижен покрив се влияят силно от температурата и почти не се влияят от скоростта и посоката на вятъра. Формирането им става вследствие на два процеса. Първият е процесът на пълнене и изпразване на резервоара – така наречените работни загуби – вследствие на които насите-

ният с пари въздух се изтласква в атмосферата (при пълнене) или се засмуква атмосферен въздух (при изпразване на резервоара). При втория процес, вследствие на температурните промени се променя и обемът на съхраняваната в резервоара течност, което отново води или до изтласкване на пари в атмосферата или до засмукване на свеж въздух.

Параметрите на резервоара са посочени в таблица **Error! Reference source not found.**

Като замърсител, чийто емисии да бъдат изчислявани бе избран бензен, тъй като е ароматно съединение и е летлив в достатъчно висока степен, а освен това е интересен от екологична гледна точка понеже е особено опасен замърсител.

Таблица 1. Параметри на резервоара с неподвижен покрив

Вид покрив	Неподвижен, конусовиден
Цвят	Бял
Височина	10 m
Диаметър	15,2 m
Средно ниво на течността	4,75 m
Работен обем	1542 m ³
Брой запълвания	5 броя за година
Годишен дебит	7710 m ³ /yr

Изчислителен алгоритъм:

Определянето на загубите на бензен от резервоара с неподвижен покрив бе извършено по следния алгоритъм:

1. Изчисляване на обема на парното пространство на резервоара

$$V_V = \frac{\pi}{4} D^2 H_{VO} \quad (1)$$

където V_V – обем на парното пространство на резервоара, m³; D – диаметър на резервоара, m; H_{VO} – височина на пространството за пари, m;

$$H_{VO} = H_S - H_L + H_{RO} \quad (2)$$

където H_S – височина на цилиндричната част на резервоара, m; H_L – височина на нивото на течността в резервоара, m; H_{RO} – височина на покрива на резервоара, m;

$$H_{RO} = \frac{1}{3} H_R = \frac{1}{3} S_R R_S \quad (3)$$

където H_R – височина на цилиндричната част на резервоара, m; S_R – наклон на покрива на резервоара, m; R_S – радиус на резервоара, m;

2. Пресмятане на плътността на парите.

$$W_V = 0,01609 M_V \frac{P_{VA}}{T_{LA}} \quad (4)$$

където W_V – плътност на парите, kg/m³; M_V – молна маса на парите, kg/kmol; P_{VA} – налягане на парите при среднодневна температура на повърхността на течността, mmHg; T_{LA} – средна дневна температура за повърхността на течността, K.

$$T_{LA} = 0,44T_{AA} + 0,56T_B + 0,03328\alpha I \quad (5)$$

където T_{AA} е средна температура на околния въздух, K, T_B – температура на течността, K, α – безразмерна константа на абсорбция на слънчевата радиация, I – дневна интензивност на слънчевата радиация, W/m².

$$T_{AA} = \frac{T_{AX} + T_{AN}}{2} \quad (6)$$

където T_{AX} е максимална дневна температура на околния въздух, °C или K, T_{AN} – минимална дневна температура на въздуха, °C или K.

$$T_B = T_{AA} + 6\alpha - I \quad (7)$$

където T_B – средната обемна температура на течността, K.

$$\ln P_{VA} = A - \frac{B}{C + T_{LA}} \quad (8)$$

$$\begin{aligned} A &= 15,9008 \\ B &= 2788,51 \\ C &= -52,36 \end{aligned}$$

3. Изчисляване на коефициента на разширение на парното пространство.

$$K_E = \frac{\Delta T_V}{T_{LA}} + \frac{\Delta P_V - \Delta P_B}{P_A - P_{VA}} \quad (9)$$

където K_E - коефициент на разширение на парното пространство, безразмерен; ΔT_V - средна дневна температурна разлика, °C или K; ΔP_V - средна дневна разлика в налягането на парите, mmHg; ΔP_B - разлика внастройката на налягането на респираторния вентил, mmHg; P_A - атмосферно налягане, mmHg.

$$\Delta T_V = 0,72 \Delta T_A + 0,118368 \alpha \cdot I \quad (10)$$

където ΔT_A е средна разлика в температурата на околния въздух, °C или K.

$$\Delta T_A = T_{AX} - T_{AN} \quad (11)$$

където T_{AX} е дневна максимална околна температура, °C или K, T_{AN} - дневна минимална околна температура, °C или K.

$$\Delta P_V = P_{VX} - P_{VN} \quad (12)$$

където P_{VX} е налягане на парите при максималната дневна температура на повърхността на течността, mmHg; P_{VN} - налягане на парите при минималната дневна температура на повърхността на течността, mmHg.

$$T_{LX} = T_{LA} + 0,25 \Delta T_V \quad (13)$$

$$T_{LN} = T_{LA} - 0,25 \Delta T_V \quad (14)$$

$$\Delta P_B = P_{BP} - P_{BV} = 3,1 \text{ mmHg} \quad (15)$$

където P_{BP} - свръхналягане за настройка на респираторния вентил, mmHg, P_{BV} - вакуум за настройка на респираторния вентил, mmHg.

4. Изчисляване на коефициента на насищане на вентилираните пари.

$$K_S = \frac{I}{1 + 0,0033624 P_{VA} \cdot H_{VO}} \quad (16)$$

където P_{VA} е налягане на парите при среднодневна температура на повърхността на течността, mmHg, H_{VO} - височина на парното пространство, m.

5. Изчисляване на загубите от съхранение

$$L_S = 365 W_V \cdot V_V \cdot K_E \cdot K_S \quad (17)$$

6. Изчисляване на работните загуби

$$L_W = 5,517 \cdot 10^{-5} \cdot M_V \cdot P_{VA} \cdot Q \cdot K_N \cdot K_P \quad (18)$$

където L_W са работни загуби, kg/yr., M_V - молекулна маса на парите, kg/kmol, P_{VA} - налягане на парите при среднодневна температура на повърхността на течността, mmHg, Q - годишна нетна производителност, K_N - коефициент на броя на запълванията, безразмерен, (когато броят на запълванията е повече от 36 за година, $K_N = (180 + N) / 6N$, а когато броят на запълванията е по-малък или равен на 36, ($K_N = 1$), N - брой на запълванията (обороти) за година, безразмерен, K_P - коефициент на работните загуби, безразмерен. За суров петрол стойността му е 0.75, а за всички други органични течности е равен на единица.

7. Изчисляване пълните загуби

$$L_T = L_S + L_W \quad (19)$$

Получени резултати и анализ

От получените резултати за всички 144 географски точки от територията на Република България, на фигури 1 до 3 са представени по-важните и интересни резултати.

На фигура 1 е направено сравнение на получените емисии за петте най-големи града в България. От фигурата се вижда, че най-големи емисии се получават в град Пловдив (приблизително 4200 kg/yr.), следван от Русе (около 3900 kg/yr.). Бургас и Варна имат приблизително еднакъв порядък на емитираните количества бензен (около 3700 kg/yr.). Най-малки са емисиите в София – приблизително 3500 kg/yr.

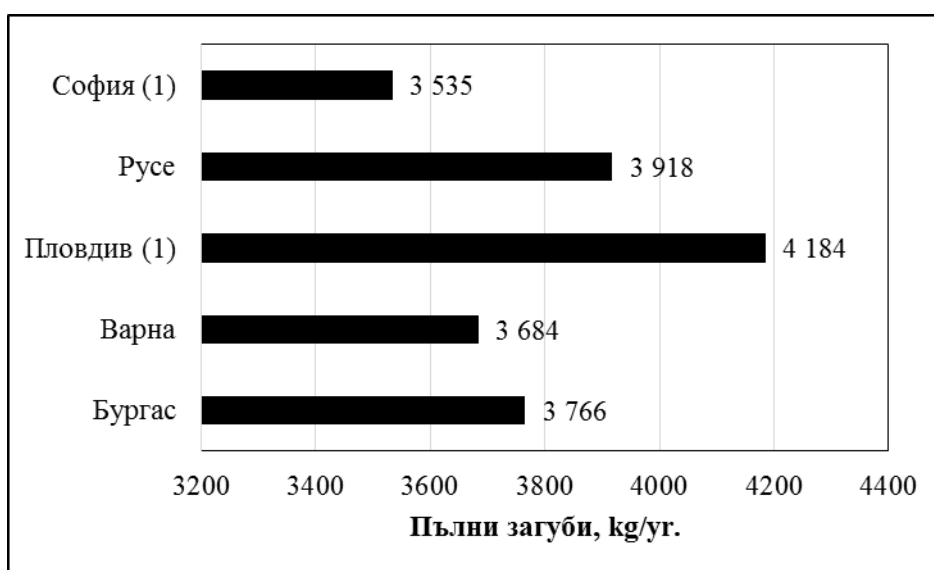
На фиг. 2 са обобщени резултатите за населените места в България с най-големи емисии от резервоари за съхранение на органични течности. Както може да се забележи, най-неблагоприятните резултати са за градове разположени в югозападната част на страната ни, последвани от населени места в южните части на България. Изцяло липсват градове от северните и източните части на страната ни. Този факт може да се обясни с големите температурни разлики между максималните и минимални денонощни температури в южните и югозападни части на България. Големите температурни амплитуди благоприятстват по-голямото разширение и свиване на парите течността в резервоарите, което води и до по-големи емисии.

На фиг. 3 са показани резултатите за населените места в България с най-малки емисии от резервоари за съхранение на органични течности. Тук вече се наблюдава значително по-голямо разнообразие на географските точки – могат да се видят населени места и от северните региони на България, но като цяло

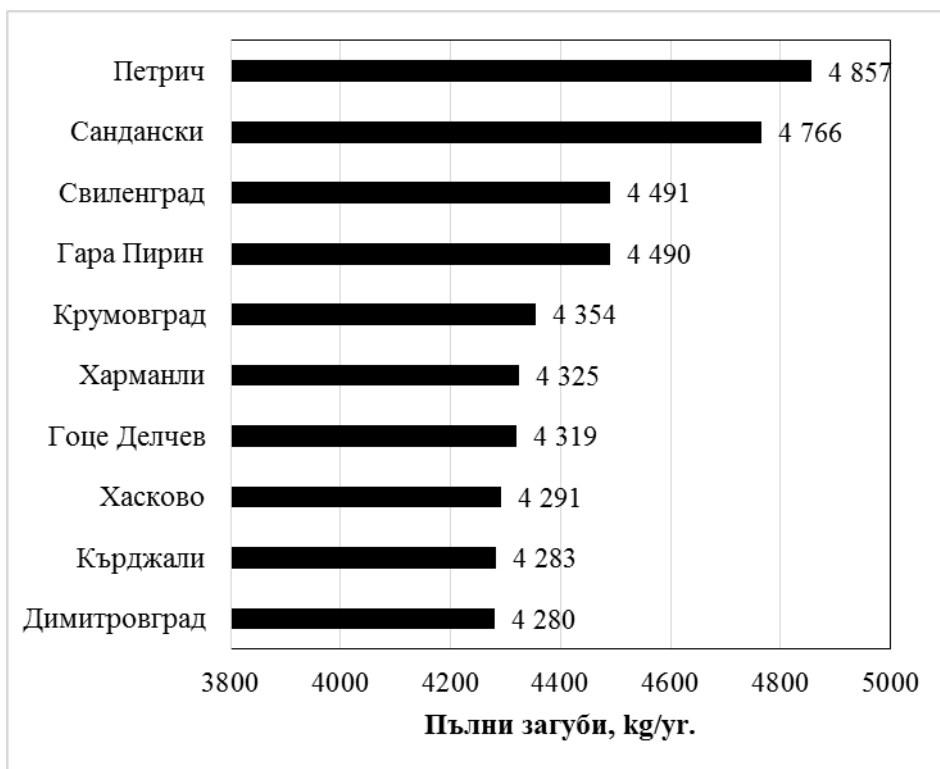
не отсъстват и точки от южните части на България, за които според изводите от фиг. 2 по принцип трябва да се очакват по-високи емисии.

Това привидно противоречие намира своето логично обяснение ако се разгледа и надморската височина на изследваните точки. Получените резултати показват силна зависимост от надморската височина, като увеличаването на височината води до намаляне на емисиите. На високите места, разликите между максималните и минимални средноденонощни температури са по-малки, откъдето и предизвиканите емисии в атмосферния въздух са по-малки.

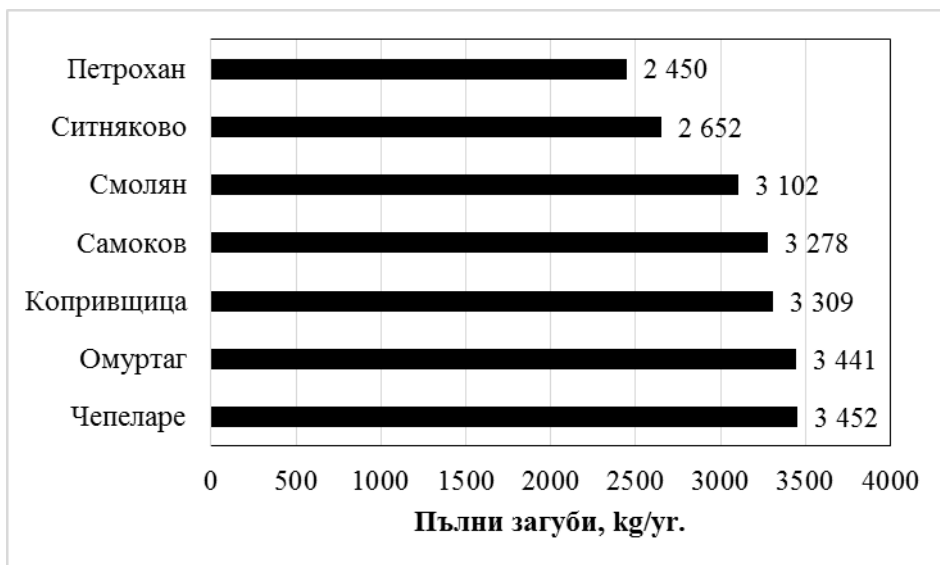
Интересно е сравнението на резултатите за населените места с най-висока и най-ниска емисия – това са градовете Петрич и прохода Петрохан. Разликата е около 2400 kg/yr. – стойност, което надхвърля с около 1.5 пъти работния обем на резервоара.



Фиг. 1. Изчислени емисии (пълни загуби от съхранение в резервоар) за петте най-големи града в Република България



Фиг. 2. Резултати за населените места в България с най-големи емисии от резервоари за съхранение на органични течности



Фиг. 3. Резултати за населените места в България с най-малки емисии от резервоари за съхранение на органични течности

Заклучение.

Въз основа на изложеното дотук, могат да бъдат направени следните изводи:

Изследвано е влиянието на температурата, върху процесите на емитиране на замърсителите в атмосферния въздух на Република България, като за тази цел:

1. Подготовен е набор от климатични данни за 144 географски точки на територията на страната, които да обхванат всички пет климатични области в нея;
2. Приложена е изчислителна процедура за определяне на емитираните количества бензен от резервоар за съхранение с неподвижен покрив;

3. Получените резултати показват, че от петте най-големи града в България, най-големи емисии се получават в град Пловдив (приблизително 4200 kg/yr.), следван от Русе (около 3900 kg/yr.). Обобщението за населените места в България показва, че най-неблагоприятни резултати са за градове разположени в югозападната част на страната ни, последвани от населени места в южните части на България. Сред най-неблагоприятните резултати изцяло липсват градове от северните и източните части на страната ни. Сравнението на резултатите за населените места с най-висока и най-ниска емисия – (Петрич и прохода Петрохан) показва, че разликата е около 2400 kg/yr. – стойност, която надхвърля надхвърля с около 1,5 пъти работния обем на резервоара.

Литература

Векилска Б. *Обща климатология*. София. Университетско издателство „Климент Охридски“, 1991 г.

Георгиев М. *Физическа география на България*. София., Университетско издателство „Св. Климент Охридски“, 1991 г.

Иванов А. *География и икономика. Учебен речник* (второ допълнено и преработено издание). София. изд. „Делфи“ 2005 г.

Иванов А. *Физическа география на България*. София., изд. „Тилиа“, 1998 г.

Институт по хидрология и метеорология, *Климатичен справочник за Народна Република България, том 3: “Температура на възду-*

ха и почвата, изд. “Наука и изкуство”, София, 1982.

Куцаров Р. *Замърсяване на въздуха*. Печатна база при Университет „Проф. д-р Ас. Златаров“ – Бургас, 2001 г.

Куцаров, Р., Чобанов. И., *Емисии от резервоари за съхранение на органични течности*, печатна база при Университет “Проф. д-р Ас. Златаров” – Бургас, 2001 г.

Benzene Emissions from Benzene Storage Tanks – Background Information for Proposed Standards, EPA-450/3-81-003a, U. S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC, December 1980

Ferry, R. L., *Estimating Storage Tank Emissions – Changes are Coming*, TGB Partnership, 1994.

VOC Emissions from Volatile Organic Liquid Storage Tanks – Background Information for Proposed Standards, EPA-450/3-81-003a, U. S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC, July 1984

Radostin Konstantinov Kutsarov
Ivan Stoykov Chobanov
Burgas Prof. Assen Zlatarov University
Department of Ecology and Protection of the
Environmental
1, Prof. Jakimov Str., 8010 Burgas, Bulgaria.

e-mail : rkutsarov@btu.bg
ichobanov@btu.bg



ВЛИЯНИЕ НА СКОРОСТТА НА ВЕТРОВЕТЕ В РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ ВЪРХУ ИЗ- ПАРЯВАНЕТО НА ОРГАНИЧНИ ВЕЩЕСТВА ОТ ВОДНА ПОВЪРХНОСТ

Радостин Куцаров, Иван Чобанов

EFFECT OF WIND SPEED IN REPUBLIC OF BULGARIA ON THE EVAPORATION OF ORGANIC COMPOUNDS FROM WATER SURFACE

Radostin Kutsarov, Ivan Chobanov

ABSTRACT: Considering its relatively small area, Bulgaria has variable and complex climate. It is subdivided into five climatic zones. In this work effect of wind speed in Republic of Bulgaria on the evaporation of organic compound from water surface was studied. Calculations for 161 geographic points in Bulgaria were performed. The obtained results show that the highest emissions are in the east and northeast part of the country. The lowest emissions are located mostly in the central and western part of Bulgaria. The difference between the highest and lowest emission is 400 kg (about 60 times).

Key words: water-air mass transfer, lagoons, air emissions, climate of Bulgaria

Въведение

Режимът на вятъра над дадена територия се определя от редица фактори, между които основни са атмосферната циркулация, формата на релефа и характерът на постилащата повърхност.

България е разположена в умерените ширини на северното полукълбо, поради това ветровият ѝ режим се формира под влиянието на особеностите на атмосферната циркулация над тях. Посоката и скоростта на вятъра над територията на страната се определят главно от постоянния характер на действие на баричните центрове, които стационарират в северните части на Атлантическия океан, и сезонния характер на действие на тези над Средиземно море и Евроазиатския субконтинент

Въпреки малката площ на България, климатът в нея се отличава с голямо разнообразие. В България могат да бъдат разграничени общо 5 климатични области, всяка със свои специфични характеристики на климата, а съответно и на скоростта на вятъра.

От своя страна, някои процеси на емитиране на органични вещества в атмосферния въздух силно се влияят от скоростта на вятъра.

Цел на настоящата дипломна работа е да изследва влиянието на скоростта на вятъра в различни населени места в България върху процесите на емитиране на органични вещества в атмосферния въздух. За изпълнението

на поставената цел бяха формулирани следните задачи:

- Подготовка на набор от данни за скоростта на вятъра в множество географски точки на територията на Република България, които да обхващат всички пет климатични области в нея;
- Избор на подходящо съоръжение, за което да бъдат извършени изчислителни процедури за определяне влиянието на скоростта на вятъра върху процесите на емитиране на замърсители в атмосферния въздух;
- Анализ на получените количествени резултати и определяне на местата с благоприятни и неблагоприятни условия за емитиране на замърсителите в атмосферния въздух.

Изчислителен алгоритъм:

Определянето на емисиите на бензен от водната повърхност на лагуната бе извършено по следния алгоритъм:

1. Изчисляване на коефициента на масопре-насяне в течната фаза:

$$K_L = 2,605 \cdot 10^{-9} \frac{F}{D} + 1,277 \cdot 10^{-7} \cdot U_{10}^2 \cdot \left(\frac{D_w}{D_{ether}} \right)^{2/3}$$

където: K_L – коефициент на масопренасяне на бензена в течната фаза, m/s; F – площ на лагуната, m^2 ; D – дълбочина на лагуната, m; U_{10} – скорост на вятъра на 10 m над земната повърхност, m/s; D_w – дифузия на замърсителя (бензен) във вода, m^2/s ; D_{ether} – дифузия на етер във вода, m^2/s ;

2. Изчисляване на коефициента на масопренасяне в газовата фаза:

$$K_G = 4,82 \cdot 10^{-3} \frac{F}{D} \cdot U_{10}^{0,78} \cdot Sc^{-0,67} \cdot d_e^{-0,11}$$

където: K_G – коефициент на масопренасяне на бензена в течната фаза, m/s; F – площ на лагуната, m^2 ; D – дълбочина на лагуната, m; U_{10} – скорост на вятъра на 10 m над земната повърхност, m/s; Sc – критерий на Шмидт, безразмерен; d_e – еквивалентен диаметър на лагуната, m;

3. Определяне на коефициента на фазово равновесие:

$$K_{eq} = \frac{H}{R.T}$$

където: K_{eq} – константа на фазово равновесие, безразмерна; H – константа на Хенри, ; T – температура, $^{\circ}C$.

4. Изчисляване на общия коефициент на масопренасяне:

$$K = \frac{K_L \cdot K_{eq} \cdot K_G}{K_{eq} \cdot K_G + K_L}$$

където: K – общ коефициент на масопренасяне, m/s; K_L – коефициент на масопренасяне на бензена в течната фаза, m/s; K_G – коефициент на масопренасяне на бензена в течната фаза, m/s; K_{eq} – константа на фазово равновесие, безразмерна;

5. Изчисляване на емисиите в атмосферния въздух:

$$E = \left(1 - \frac{C_t}{C_0}\right) \cdot \frac{C_0}{Q}$$

където $\frac{C_t}{C_0} = e^{\left(\frac{-K.F}{Q}\right)}$

където: E – емисия на замърсителя, g/s; C_0 – концентрация на замърсителя в началния момент, g/m^3 ; C_t – концентрация на замърсителя след време на престой в резервоара, g/m^3 ; Q – дебит на водата, m^3 .

Таблица 1. . Параметри на лагунното езеро

Дължина на лагуната	50 m
Широчина на лагуната	20 m
Дълбочина	1,5 m
Дебит на водата	8000 m^3 /денонощие (0,093 m^3/s)
Температура на водата	25 $^{\circ}C$

Таблица 1. Свойства на бензен, атмосферен въздух и вода

Коеф. на дифузия на бензен във вода	0,0000098 cm^2/s
Коеф. на дифузия на бензен във въздух	0,088 cm^2/s
Константа на Хенри за бензен	0,00555 $atm \cdot m^3 \cdot mol^{-1}$
Плътност на въздуха	0,0012 g/cm^3
Коеф. на дифузия на етер във вода	0,0000085 cm^2/s
Вискозитет на вода	0,00893 $g \cdot cm^{-1} \cdot s^{-1}$
Плътност на вода	1 g/cm^3
Вискозитет на въздух	0,000181 $g \cdot cm^{-1} \cdot s^{-1}$
Коеф. на дифузия на кислород във вода	0,000024 cm^2/s

Получени резултати и анализ

От получените резултати за всички 161 географски точки от територията на Република България е направена извадка на по-важните и интересни резултати, която е представена на фигури 1 до 3

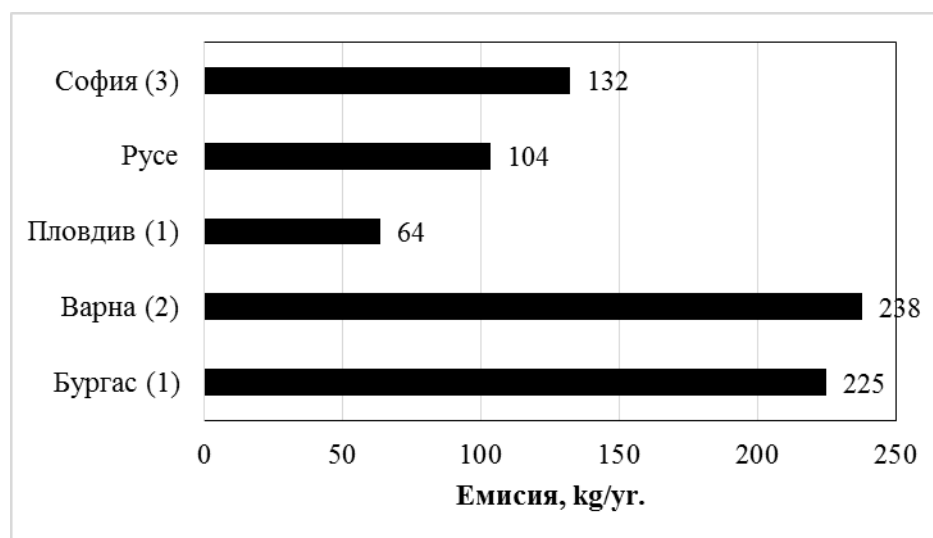
На фигура 1 е направено сравнение на получените емисии за петте най-големи града в България. От фигурата се вижда, че най-големи емисии се получават във Варна и Бургас, като стойностите и в двата града са близки (около 230 kg/yr.). Следват град София (приблизително 130 kg/yr.) и Русе (около 100 kg/yr.). Най-малки са емисиите в Пловдив – приблизително 60 kg/yr.

На фиг. 2 са обобщени резултатите за населените места в България с най-големи емисии на бензен, получени вследствие на изпарение от открита водна повърхност. Както може да се забележи, най-неблагоприятните резултати са за градове разположени в източната и североизточната част на страната ни. Тези резултати не са неочаквани. Целогодишното наличие на морски бриз, а и на ветрове с високи скорости определят и по-

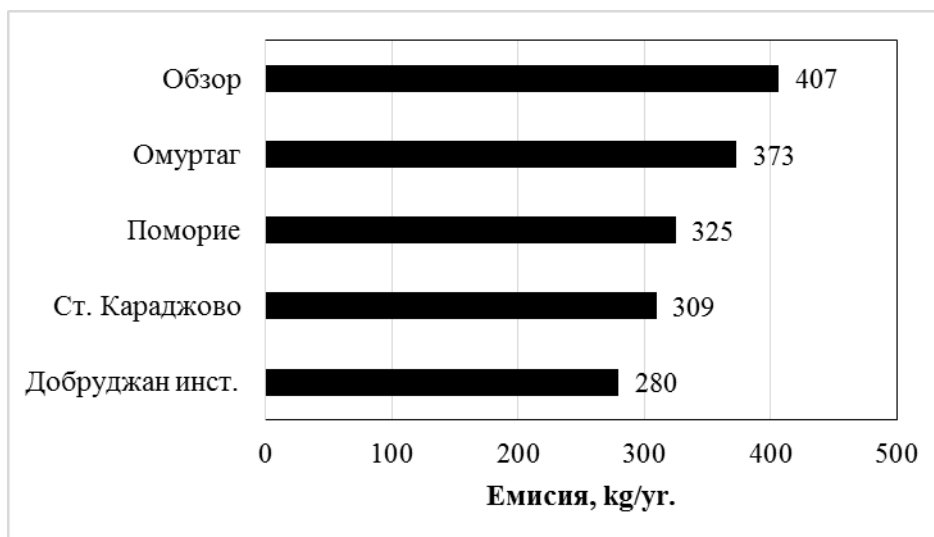
доброто разсейване на замърсителите по Черноморието. От друга страна, липсата на естествени прегради, препятстващи силата на вятъра в северните части на България води до по-високи емисии по тези места.

На фиг. 3 са показани резултатите за населените места в България с най-малки емисии на бензен, получени вследствие на изпарение от открита водна повърхност. Както може да се види от фигурата, всички населени места са разположени преобладаващо в централната и югозападната част на България. От всички обследвани точки, най-малка емисия е получена за Станке Димитров – приблизително 7 kg/yr.

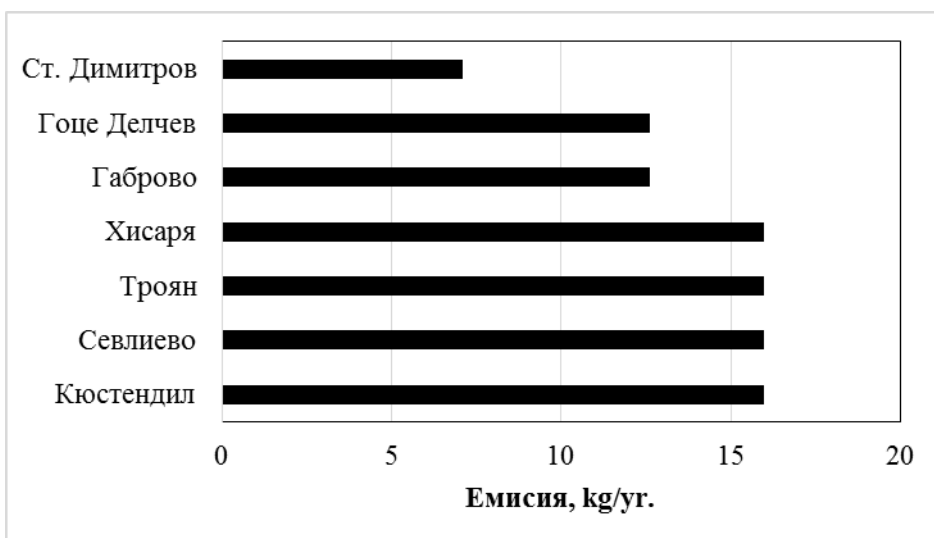
Интересно е сравнението на резултатите за населените места с най-висока и най-ниска емисия – това са градовете Обзор и Станке Димитров. Разликата е 400 kg/yr., което прави около 60 пъти по-висока емисия в Обзор, в сравнение с тази в Станке Димитров, която разлика се дължи единствено на различието в климатичните условия в двете населени места.



Фиг. 1. Изчислени емисии за петте най-големи града в Република България



Фиг. 2. Резултати за населените места в България с най-големи емисии на бензен, получени вследствие на изпарение от открита водна повърхност



Фиг. 3. Резултати за населените места в България с най-малки емисии на бензен, получени вследствие на изпарение от открита водна повърхност

Заклучение.

Въз основа на изложеното дотук, могат да бъдат направени следните изводи:

Изследвано е влиянието на температурата, върху процесите на емитиране на замърсителите в атмосферния въздух на Република България, като за тази цел:

1. Подготвен е набор от климатични данни за 161 географски точки на територията на страната, които да обхванат всички пет климатични области в нея;

2. Приложена е изчислителна процедура за определяне на емитираните количества бензен, получени вследствие на процесите на изпарение от открита към атмосферата водна повърхност;

3. Получените резултати показват, че от петте най-големи града в България, най-високи емисии се получават в Бургас и Варна (около 230 kg/yr.). Най-големите емисии за цялата страна се получават в най-високите точки – върховете Мургащ, Черни връх, Ботев и Мусала. От изследваните населени места, най-големи емисии са получени за градовете Обзор, Омуртаг и Поморие (370-410 kg/yr.), а

най-малки за Станке Димитров, Гоце Делчев и Габрово (7=12 kg/yr).

Литература

Векилска Б. *Обща климатология*. София. Университетско издателство „Климент Охридски“, 1991 г.

География на България. Физическа и социално-икономическа география. София. Изд. на Географски институт на БАН и „Форком“, ISBN 954-464-123-8, 2002 г.

Георгиев М. *Физическа география на България*. София., Университетско издателство „Св. Климент Охридски“, 1991 г.

Иванов А. *География и икономика. Учебен речник (второ допълнено и преработено издание)*. София. изд. „Делфи“ 2005 г.

Иванов А. *Физическа география на България*. София., изд. „Тилиа“, 1998 г.

Институт по хидрология и метеорология, *Климатичен справочник за Народна Република България , том 4 : Вятър*, изд. “Наука и изкуство”, София, 1983.

Климатът на България. София., изд. на БАН, 1991 г.

Куцаров Р. *Замърсяване на въздуха*. Печатна база при Университет „Проф. д-р Ас. Златаров“ – Бургас, 2001 г.

Radostin Konstantinov Kutsarov
Ivan Stoykov Chobanov
Burgas Prof. Assen Zlatarov University
Department of Ecology and Protection of the
Environmental
1, Prof. Jakimov Str., 8010 Burgas, Bulgaria.

e-mail : rkutsarov@btu.bg
ichobanov@btu.bg



ИНВЕРСИОННО - ВОЛТАМПЕРОМЕТРИЧНО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ТЕЖКИ МЕТАЛИ В ПОЧВИ

Денчо Станев

HE STRIPPING - VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF THE HEAVY METALS IN SOILS

Dencho Stanev

ABSTRACT: *The present work demonstrates the possibility to determine several heavy metals in soils with the help of an up-to-date instrumental electroanalytical method.*

The optimal conditions were found to determine Pb^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} using the stripping voltammetry with the intermediate change of the solution without opening of the electrochemical circuit.

The concentration ranges, the precision and the reproducibility of the results obtained for the above elements are determined.

Taking into account increased the productivity of the above method; this method provides an improved system for the continuous automatic monitoring when analyzing the above analytical objects.

Key words: Voltammetry, stripping, determination, pH and heavy metals in soils

Въведение

Замърсяването на почвите от антропогенната дейност през последните десетилетия нараства многократно. Този проблем придобива глобален характер. Република България се намира в рамките на Европейския съюз и към нея се предявяват европейски изисквания и за опазване на околната среда. Повишените изисквания по отношение качеството на екологичния мониторинг поставят редица задачи пред химико-аналитичните лаборатории по отношение на надеждността и качеството на аналитичния контрол на почвите. Поради сложността на обекта много често се срещат трудности при анализ на редица замърсители като тежките и токсични метали. Особено опасни са токсичните метални елементи Pb, Cd, Cu, Zn, поради това, че не са биоразградими и се акумулират в екологичните системи (въздух, вода, почва), а оттам в живите организми. Провеждането на екологичен мониторинг на почви среда е от голямо значение за защита здравето на населението.

За определянето на тежки и токсични метали в почви широко се прилагат фотометрични и атомно-абсорбционни методи. При мътни разтвори някои от тези методи са малко приложими, което налага извършването на допълнителни процедури. Атомно-

абсорбционните методи широко се прилагат за определяне на тежки и токсични метали, но при почви, анализът бива затруднен поради редица причини. Друг недостатък на атомно-абсорбционните методи е високата себестойност на анализа.

Всичко това налага да се търсят нови методи за анализ, които да са с ниска себестойност, висока чувствителност и сравнително добра точност, каквито са електрохимичните методи. От електрохимичните методи като най-чувствителен се явява инверсионната волтамперометрия, сравнима с чувствителността на неутронно-активационния анализ [1], а така също се явява надежден, чувствителен и точен метод при сравняване резултатите на анализа, получени по метода на атомна абсорбция [2].

В литературата се е оформило мнение, че този метод е пригоден за определяне на редица тежки метали в обекти на околната среда [3-5]. В класическата волтамперометрия, както и в някои случаи на инверсионната волтамперометрия се наблюдава деформация на волтамперните криви, което е свързано вероятно с високата концентрация на соли, но независимо от това природата на явлениято не е изяснена докрай [6].

В настоящата работа е осъществено определяне на цинк, олово и мед в различни поч-

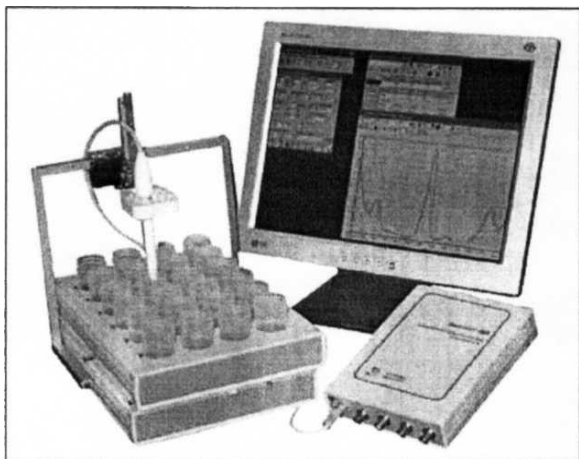
вени извлекци. В този вариант предварително се отлага живачна ципа върху работния електрод в първата електролитна клетка, след което без прекъсване на веригата се пренася електродната система в изследвания обект и натрупва определения метален йон във втората клетка, след което на същия принцип се прехвърля в разтвор за регистрация, който не съдържа първоначалната висока концентрация на соли. Всичко това благоприятства провеждането на инверсионните волтампетрични определения на концентрирани разтвори на почвени извлекци, като се получават характеристики, подобни на водни разтвори: предел на откриваем минимум 0.05 g/dm^3 и средно квадратично отклонение не повече от 10 %.

При определянето на цинк се срещат трудности в присъствието на мед. В литературата се предлагат различни способности за отстраняването на влиянието на медните йони, но досега не е намерено окончателно решение на този проблем.

Експериментална част

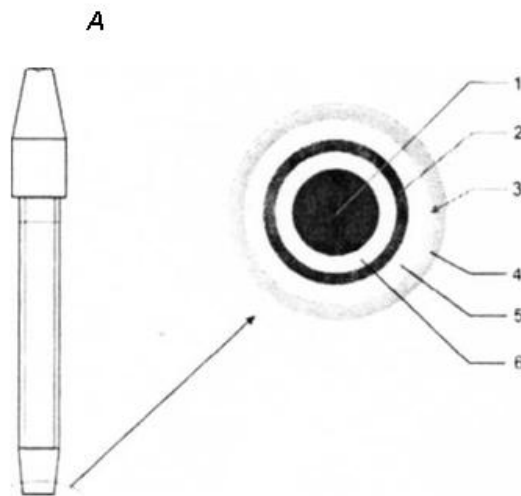
Апаратура

В работата е използван волтампетричен анализатор "Екотест-ВА" в комплект с IBM- съвместим компютър. За автоматична замяна на разтворите се използва роботизиран комплекс "Експертиза- ВА- 2D", представени на Фигура 1.



Фиг. 1. Външен вид на автоматичната уредба, състояща се от инверсионен волтампетър «Екотест- ВА», автосамплер «Експертиза- ВА- 2D и компютър с работна програма

Като сравнителен електрод беше използван наситен сребърнохлориден електрод, включен в системата "3 в1".



Фиг. 2. Електродна система на датчик "3 в 1" Външен вид (А) и работна повърхност (Б): 1- работен въглеситалов електрод, 2- спомагателен пирографитов електрод, 3- ключ на сребърнохлориден сравнителен електрод, 4- стъклен корпус на датчика, 5 и 6- тефлонови изолационни пръстени

Реагенти и разтвори

Изходен разтвор на Hg^{2+} с концентрация 5 g/dm^3 . Работен разтвор на Hg^{2+} (100 mg/dm^3) се приготвя от изходния разтвор в деня на експеримента.

Изходен разтвор на Zn^{2+} с концентрация 5 g/dm^3 . Работен разтвор на Zn^{2+} ($100 \mu\text{g/dm}^3$) се приготвя от изходния разтвор на Zn^{2+} в деня на експеримента, чрез междинен разтвор- 50 mg/dm^3 .

Разтворите на стандартните добавки за олово, мед, цинк бяха с концентрации $1,25 \text{ mg/dm}^3$.

Резултати и дискусия

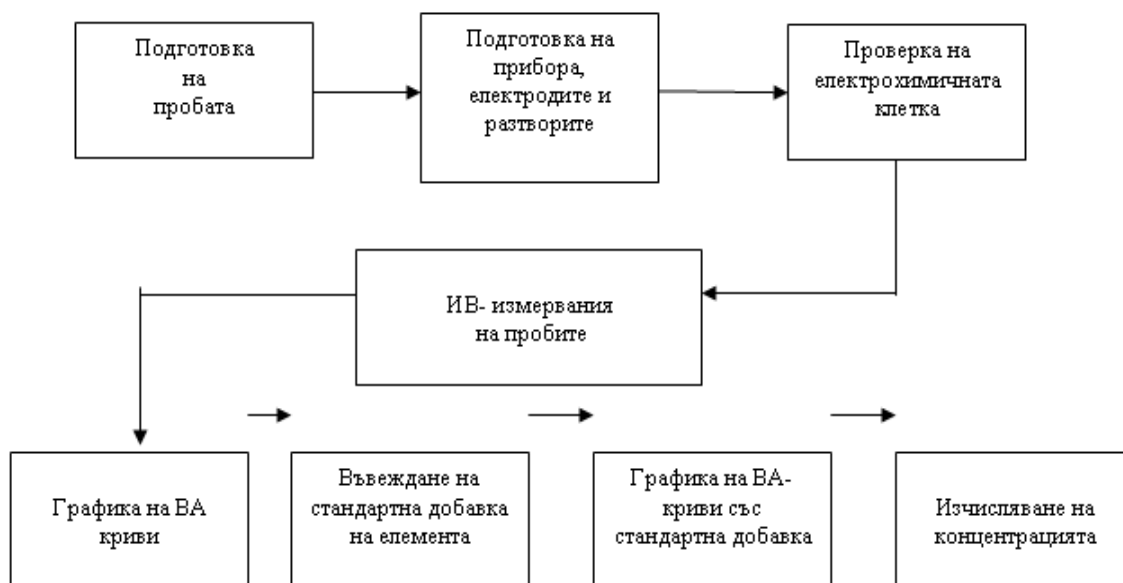
Приложеният метод за анализ е основан на електрохимическо натрупване (отлагане) на определяемите елементи на повърхността на работния електрод във вид на амалгами при зададен потенциал на поляризация с последваща регистрация на техните анодни токове на електоразтварянето им, които се представят във вид на пикове. Височината (площта) на пика е пропорционална на концентрацията на йона на метала в разтвора. Потенциалът на

пика се определя от природата на определяемия йон и фоновия електролит. Приблизителните значения на потенциалите на пиковите на определяемите йони на фон 0.05M HCl са представени в таблица 1.

Присъствието на Cu^{2+} в анализираната проба пречи на определянето на Zn^{2+} поради факта, че двата елемента образуват набор от интерметални съединения, чиито стандартни потенциали се отличават от стандартния потенциал на Zn^{2+} . Това налага отделянето на Cu^{2+} от изследвания разтвор. Общият ход на анализа е представен на Фигура 3.

Таблица 1. Потенциали на пиковите на изследваните елементи

Определяем елемент	Потенциал на пика, mV
Мед	-50 до -200
Олово	-400 до -500
Цинк	-900 до -1100



Фиг. 3. Основни етапи на анализ на проби по метода на ИВ

Таблица 2. Съдържание на водоразтворимите форми на олово, мед и цинк в почви

Проба №	Район	Pb, mg/kg	Cu, mg/kg	Zn, mg/kg
1	Място за калолечение	46.2	497	5960
2	15 m от морето	1.00	19.0	19.0
3	40 m от морето	2.80	1.25	59.5
4	50 m от главния път Бургас-Сарафово	2.20	1.85	
5	20 m от главния път Бургас-Сарафово	2.50	2.80	
6	5 m от главния път Бургас-Сарафово	4.50	1.25	
7	Мандренско езеро	0.20	0.80	
8	Бургаско езеро	0.20	3.50	
9	Засолен участък край м.с. Черно море	0.40	0.40	0.10

Пробовземането и пробоподготовката са направени по стандартна методика на БДС [7]. Районите на вземане на проби от почви са посочени в Таблица 2 и Таблица 3.

Определенията се провеждат по метода на стандартната добавка. Този метод включва регистрирането на пиковите при едни и същи параметри на измерването в следната последователност: разтвор на контролната проба, анализиран разтвор, анализиран разтвор с добавка на стандартен разтвор на определяемите елементи.

Съдържанието на йоните на металите в анализираните проби се определя по величината на аналитичните сигнали (площта) на пиковите на анализираните проби и пробите с добавка на стандартен разтвор.

Таблица 3. Общо съдържание на тежките метали в почви

Проба №	Район	Pb, mg/kg	Cu, mg/kg
1	Място за калолечение	3720	9940
2	25 m от морето	460	876
3	50 m от морето	-	580
4	50 m от главния път Бургас-Сарафово	420	520
5	20 m от главния път Бургас-Сарафово	840	1520
6	5 m от главния път Бургас-Сарафово	1023	1552

Възпроизводимостта при определяне на концентрациите на Pb²⁺ и Cu²⁺ е ±12 и ±10 %.

Изводи

1. С използването на метода ИВ без прекъсване на основната верига при замяна на

разтворите се постига по-добра възпроизводимост и точност при определяне на някои тежки метали като Pb²⁺, Cu²⁺ и Zn²⁺ в почви.

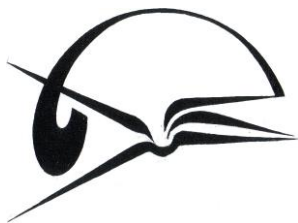
2. Данните, получени при анализа на тежки метали в почви показват, че съдържанието на водоразтворимите форми на изследваните тежки метали в изследваните почви са под ПДК.

Литература

1. Другов Ю. С., А. А. Родин, 2002 *Экологическая аналитическая химия*, "Анатолия", Санкт-Петербург.
2. Бонд, А.М. и съавтори, 2006 *Електроаналитические методы*, "Бином", Москва.
3. Брайнина, Х. З., Е. Я. Нейман, 1982 *Тведофазные реакции в электроаналитической химии*, "Химия" Москва.
4. Брайнина, Х. З., Е. Я. Нейман, В. В. Слепушкин, 1988 *Инверсионные электроаналитические методы*, Москва, Химия, 1988.
5. Брайнина, Х.З., 1972 *Инверсионная волтамперометрия твердых фаз*, "Химия", Москва.
6. Зайцев, Н. К., Е. В. Супрун, Е. Б. Сведерский, Е. А. Осипова, Д. С. Станев, 2006, "Инверсионно-вольтамперометрическое определение микроэлементов в объектах окружающей среды и продукции сельскохозяйственного производства", *Материалы IV международная конференция Современное приборное обеспечение и методы анализа почв, кормов, растений и сельскохозяйственного сырья*, Москва, ВВЦ, стр. 57-63.
7. Сборник Български Държавни Стандарти, том 2, 1989, „Стандартизация”. София.

Dencho Stanev, Dr

“Prof. Dr. Assen Zlatarov” University
 Department of Inorganic and Analytical Chemistry
 8010 Bourgas, Bulgaria
 e-mail: stanev.dencho@abv.bg



ИНДУСТРИАЛНИ ТЕХНОЛОГИИ

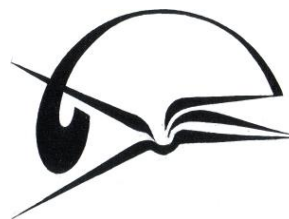
Технически редактор
Иван Димитров

Художник на корицата
Красимир Николов
Издателство

Университет „Проф. д-р Асен Златаров”

Формат – 206 / 290

Излязла от печат – 22 юни 2016



INDUSTRIAL TECHNOLOGIES

Technical Editor
Ivan Dimitrov

Cover Design
Krasimir Nikolov
House Press

Prof. Dr Assen Zlatarov University

Format – 206 / 290

Published – 22 June 2016