

TABLE OF CONTENTS

A CONVOLUTIONAL NEURAL NETWORK APPLICATION FOR THE CLASSIFICATION OF LUNG CANCER TYPES	7
H. Sencuk Nogay, T.Cetin Akinci, Gokhan Erdemir	
ESTIMATION OF HEAD & NECK CANCER STAGE BY USING DEEP CONVOLUTIONAL NEURAL NETWORKS	13
H. Sencuk Nogay, T.Cetin Akinci, Gokhan Erdemir	
APPLICATION OF A BACTERIOCIN ISOLATED FROM <i>BACILLUS METHYLOTROPHICUS</i> BM47 AS A BIOPRESERVATIVE IN RAW COW'S MILK	20
Yulian Tumbariski, Velichka Yanakieva, Radosveta Nikolova, Gergana Mineva, Ivelina Deseva, Dasha Mihaylova and Ivan Ivanov	
LAVENDER WASTE – PROMISING SOURCE OF TRITERPENOIDS AND POLYPHENOLS WITH ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY	26
Ivan Ivanov, Nadezhda Petkova, Yulian Tumbariski, Radka Vrancheva, Magdalena Stoyanova	
RESEARCH ON CYCLOISOMERIZATION REACTION OF PHOSPHORYLATED α-HYDROXYALLENES	33
Ismail Ismailov, Mehtab Kechidzhi, Hatidzhe Urucheva, Ivaylo Ivanov and Valerij Christov	
POLYPHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ELEVEN DIFFERENT AROMATIC PLANTS USED IN BULGARIAN CULINARY	40
Nadezhda Petkova, Mariana Topuzova, Mina Todorova, Ivan Ivanov, Panteley Denev	
REACTIONS OF 4-(DIMETHOXYPHOSPHORYL)- AND 4-(DIPHENYLPHOSPHORYL)-ALLEN CARBOXYLATES WITH ELECTROPHILIC REAGENTS	48
Ivaylo Parushev, Silviq Guneva, Arzu Eshref, Ivaylo Ivanov, Valerij Christov	
ELECTROPHILIC REACTIONS OF 1,2,4- AND 1,3,4- ALKATRIENYL PHOSPHINE OXIDES	52
Ivaylo Ivanov, Hasan Hasanov, Tzvetan Tzenov, Seda Latif, Valerij Christov	
APPLICATION OF INVENTOR FOR THE DESIGN OF A SHAFT TEST RIG	57
Georgi Tonkov, Gergana Tonkova	
DESIGN OF A SHAFT-MASS MECHANICAL SYSTEM IN MITCALC ENVIRONMENT	65
Georgi Tonkov, Gergana Tonkova	
ANALYSIS OF THE STRENGTH-DEFORMATION CONDITION OF A DYNAMICALLY LOADED SHAFT	70
Gergana Tonkova	
STUDY ON THE SELF-PURIFICATION OF MLADEZHKA RIVER	78
Blagovesta Midyurova, Ivan Chobanov, Maria Dimova-Todorova	
SIMULTANEOUS ENERGY GENERATION AND ORGANIC MATTER REMOVAL IN A SINGLE CHAMBER MICROBIAL FUEL CELL	83
Blagovesta Midyurova, Valentin Nenov	
OPERATING MODES OF THE THERMOELECTRIC ELEMENTS	89
Ivaylo Belovski	
STUDY OF THE EFFICIENCY OF A THERMOELECTRIC COOLING MODULE POWERED BY A PWM REGULATOR	96
Ivaylo Belovski, Anatoliy Aleksandrov	
DETERMINATION OF MANGANESE IN NATURAL OBJECTS BY ANODIC STRIPPING VOLTAMMETRY	101
Nikolay Zaitsev, Dencho Stanev, Veska Shivacheva, Hristivlina Jecheva, Viktoria Trifonova, Kezvan Hasan, Krasimira Stancheva	

EFFECTS OF VANILLIN ON BEHAVIOR IN ANIMAL MODEL WITH AFFECTIVE DISTURBANCES Andrey Popatanasov	108
STUDY OF YOUNG PEOPLE'S READINESS IN THE EVENT OF NATURAL DISASTERS AND CRITICAL SITUATIONS Plamena Atanasova, Sabina Nedkova	113
INTERLABORATORY COMPARIOS FOR THE DETECTION OF SALMONELLA IN SKIMMED-MILK POWDER Galina Grigorova, Galina Yordanova	117
A NEW METHOD OF ESTABLISHING UNCERTAINTY BUDGETS IN TESTING MICROBIOLOGICAL LABORATORIES Dobromir Yordanov, Galina Yordanova, Galina Grigorova	121
INVESTIGATION OF ASPHALT PLANT (MODEL DS1172K) AS SOURCE OF AIR EMISSIONS Ivan Chobanov, Aydzhan Hodzha	130
OIL STORAGE TANK STOCKS OF OIL TERMINAL „ROSENETS“ (LUKOIL – BURGAS) AS SOURCE OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS AIR EMISSIONS Ivan Chobanov, Alexandrina Staykova	136
NETWORK MANAGEMENT SYSTEMS Svetlana Siarova, Ekaterina Otsetova-Dudin, Anna Otsetova	143
DESULFURISATION OF GASOIL FRACTIONS Yordanka Tasheva, Stanislava Tasheva	148
COMPOSITIONAL STUDIES ON HEAVY FUEL FRACTIONS Yordanka Tasheva, Todor Palichev	152
CHIRALITY THROUGH THE EYES OF A PHARMACIST Sonya Ivanova, Iliyan Kolev	156
CAROTENOIDS – CHEMISTRY, ANALYSIS, APPLICATION Sonya Ivanova, Iliyan Kolev	161
ALKENES – CHEMISTRY AND ANALYSIS Iliyan Kolev	166
DISSOLUTION OF BIOACTIVE GLASSES – FACTORS AFFECTING THE PROCESS AND BIOLOGICAL RESPONSE Tanya Dimova, Lachezar Radev, Iliyan Kolev	171

СЪДЪРЖАНИЕ

ПРИЛОЖЕНИЕ НА КОНВУЛЮЦИОННИТЕ НЕВРОННИ МРЕЖИ ЗА КЛАСИФИЦИРАНЕ НА ВИДОВЕТЕ БЕЛОДРОБЕН РАК Н. Селджук Ногай, Т.Четин Акинджи, Гьоркан Ердемир	7
ОЦЕНЯВАНЕ НА ЕТАПА НА КАРЦИНОМ НА ГЛАВАТА И ШИЯТА ЧРЕЗ ИЗПОЛЗВАНЕ НА ДЪЛБОКО КОНВУЛЮЦИОННИ НЕВРОННИ МРЕЖИ Н. Селджук Ногай, Т.Четин Акинджи, Гьоркан Ердемир	13
ПРИЛОЖЕНИЕ НА БАКТЕРИОЦИН, ИЗОЛИРАН ОТ <i>BACILLUS METHYLOTROPHICUS</i> BM47 КАТО БИОКОНСЕРВАНТ В СУРОВО КРАВЕ МЛЯКО Юлиан Тумбарски, Величка Янакиева, Радосвета Николова, Гергана Минева, Ивелина Десева, Даша Михайлова и Иван Иванов	20
ОТПАДЪЦИ ОТ ЛАВАНДУЛА – ИЗТОЧНИК НА ТРИТЕРПЕНОИДИ И ПОЛИФЕНОЛИ С АНТИОКСИДАНТНО И АНТИМИКРОБНО ДЕЙСТВИЕ Иван Иванов, Надежда Петкова, Юлиан Тумбарски, Радка Вранчева, Магдалена Стоянова	26
ИЗСЛЕДВАНЕ НА РЕАКЦИИТЕ НА ЦИКЛОИЗОМЕРИЗАЦИЯ НА ФОСФОРЛИРИРАНИ α-ХИДРОКСИАЛЕНИ Исмаил Исмаилов, Мехтаб Кечиджи, Хатидже Уручева, Ивайло Иванов и Валерий Христов	33
СЪДЪРЖАНИЕ НА ПОЛИФЕНОЛИ И АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНОСТ В ЕДИНАДЕСЕТ РАЗЛИЧНИ АРОМАТИЧНИ РАСТЕНИЯ ИЗПОЛЗВАНИ В БЪЛГАРСКАТА КУЛИНАРИЯ Надежда Петкова, Марияна Топузова, Мина Тодорова, Иван Иванов, Пантелей Денев	40
РЕАКЦИИ НА 4-(ДИМЕТОКСИФОСФОРИЛ)- И 4-(ДИФЕНИЛФОСФОРИЛ)- АЛЕНКАРБОКСИЛАТИ С ЕЛЕКТРОФИЛНИ РЕАГЕНТИ Ивайло Парушев, Силвия Гунева, Арзу Ешреф, Ивайло Иванов, Валерий Христов	48
ЕЛЕКТРОФИЛНИ РЕАКЦИИ НА 1,2,4- И 1,3,4-АЛКАТРИЕНИЛ ФОСФИН ОКСИДИ Ивайло Иванов, Хасан Хасанов, Цветан Ценов, Седа Ляtif, Валерий Христов	52
ИЗПОЛЗВАНЕ НА INVENTOR ПРИ ПРОЕКТИРАНЕ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН СТЕНД ЗА ИЗПИТВАНЕ НА ВАЛОВЕ Георги Тонков, Гергана Тонкова	57
ПРОЕКТИРАНЕ НА МЕХАНИЧНА СИСТЕМА ВАЛ-МАСИ В СРЕДАТА НА MITSALC Георги Тонков, Гергана Тонкова	65
ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЯКОСТНО-ДЕФОРМАЦИОННОТО СЪСТОЯНИЕ НА ДИНАМИЧНО НАТОВАРЕН ВАЛ Гергана Тонкова	70
ИЗСЛЕДВАНЕ НА САМОПРЕЧИСТВАТЕЛНАТА СПОСОБНОСТ НА РЕКА МЛАДЕЖКА Благовеста Мидюрова, Иван Чобанов, Мария Димова-Тодорова	78
ДОБИВ НА ЕНЕРГИЯ И ДЕГРАДАЦИЯ НА ОРГАНИКА В ЕДНОКАМЕРНА МИКРОБИОЛОГИЧНА ГОРИВНА КЛЕТКА Благовеста Мидюрова, Валентин Ненов	83
РЕЖИМИ НА РАБОТА НА ТЕРМОЕЛЕКТРИЧЕСКИТЕ ЕЛЕМЕНТИ Ивайло Беловски	89
ИЗСЛЕДВАНЕ ЕФЕКТИВНОСТТА НА ТЕРМОЕЛЕКТРИЧЕСКИ ОХЛАЖДАЩ МОДУЛ ЗАХРАНВАН С ШИМ РЕГУЛАТОР Ивайло Беловски, Анатолий Александров	96
ОПРЕДЕЛЯНЕ НА МАНГАН В ПРИРОДНИ ОБЕКТИ ЧРЕЗ ИНВЕРСИОННА ВОЛТАМПЕРОМЕТРИЯ Николай Зайцев, Денчо Станев, Веска Шивачева, Красимира Станчева, Христивелина Жечева, Виктория Трифонова, Кезван Хасан	101

ВЛИЯНИЕ НА ВАНИЛИНА ВЪРХУ ПОВЕДЕНИЕТО ПРИ ЖИВОТИНСКИ МОДЕЛ С АФЕКТИВНИ НАРУШЕНИЯ Андерей Попатанасов	108
ПРОУЧВАНЕ ГОТОВНОСТТА ЗА РЕАГИРАНЕ НА МЛАДИТЕ ХОРА ПРИ ВЪЗНИКВАНЕ НА ПРИРОДНИ БЕДСТВИЯ И КРИТИЧНИ СИТУАЦИИ Пламена Атанасова, Сабина Недкова	113
МЕЖДУЛАБОРАТОРНО СРАВНЕНИЕ ЗА ОТКРИВАНЕ НА САЛМОНЕЛА В ОБЕЗМАСЛЕНО МЛЯКО НА ПРАХ Галина Григорова, Галина Йорданова	117
НОВ МЕТОД ЗА СЪСТАВЯНЕ НА БЮДЖЕТ НА НЕОПРЕДЕЛЕНОСТТА В ИЗПИТВАТЕЛНИТЕ МИКРОБИОЛОГИЧНИ ЛАБОРАТОРИИ Добромир Йорданов, Галина Йорданова, Галина Григорова	121
ОБСЛЕДВАНЕ РАБОТАТА НА АСФАЛТОСМЕСИТЕЛ (МОДЕЛ ДС1172К) КАТО ИТОЧНИК НА ЕМИСИИ В АТМОСФЕРНИЯ ВЪЗДУХ Иван Чобанов, Айджан Ходжа	130
РЕЗЕРВОАРНИТЕ ПАРКОВЕ НА НЕФТЕН ТЕРМИНАЛ „РОСЕНЕЦ“ КАТО ИЗТОЧНИК НА ЕМИСИИ НА ЛЕТЛИВИ ОРГАНИЧНИ СЪЕДИНЕНИЯ В АТМОСФЕРНИЯ ВЪЗДУХ Иван Чобанов, Александрина Стайкова	136
СИСТЕМИ ЗА УПРАВЛЕНИЕ НА МРЕЖИ Светлана Сярова, Екатерина Оцетова-Дудин, Анна Оцетова	143
ДЕСУЛФУРИРАНЕ НА ГАЗЪЛОВИ ФРАКЦИИ Йорданка Ташева, Станислава Ташева	148
ИЗСЛЕДВАНИЯ ЗА СЪСТАВА НА ТЕЖКИ ФРАКЦИИ Йорданка Ташева, Тодор Паличев	152
ХИРАЛНОСТТА ПРЕЗ ПОГЛЕДА НА ФАРМАЦЕВТА Соня Иванова, Илиан Колев	156
КАРОТЕНОИДИ – ХИМИЯ, АНАЛИЗ, ПРИЛОЖЕНИЕ Соня Иванова, Илиан Колев	161
АЛКЕНИ – ХИМИЯ И АНАЛИЗ Илиан Колев	166
РАЗТВАРЯНЕ НА БИОАКТИВНИ СЪГЛА – ФАКТОРИ ПОВЛИЯВАЩИ ПРОЦЕСА И БИОЛОГИЧЕН ОТГОВОР Таня Димова, Лъчезар Радев, Илиан Колев	171



A CONVOLUTIONAL NEURAL NETWORK APPLICATION FOR THE CLASSIFICATION OF LUNG CANCER TYPES

H. Selcuk Nogay, T.Cetin Akinci, Gokhan Erdemir

ПРИЛОЖЕНИЕ НА КОНВУЛЮЦИОННИТЕ НЕВРОННИ МРЕЖИ ЗА КЛАСИФИЦИРАНЕ НА ВИДОВЕТЕ БЕЛОДРОБЕН РАК

Н. Селджук Ногай, Т.Четин Акинджи, Гьоркан Ердемир

ABSTRACT: Lung cancer is the leading cause of death in cancer types. Classification of the types of lung cancer based on image data is of great importance in this sense. In this study, the goal is to achieve a classification with 100% accuracy. Because the treatment of lung cancer depends on which type, together with the staging. Two convolutional neural network models were designed in the study. Although both models have a simple architectural structure, more layers are used in the second model. In the second model, the initial learning rate is also reduced. It can be seen from the accuracy rates in both models that these changes are correct. As a result, lung cancer types were classified with 100% accuracy using convolutional neural networks.

Key words: Convolutional neural networks, lung cancer type, maxpooling layer

Introduction

In the world, human beings have many death causes. Diseases constitute a significant part of these causes of death. Today, with the developing technology, there are also treatments for many diseases. However, studies on the treatment of some diseases are still continuing. Cancer is one of the serious diseases that cannot be treated completely. Especially in the case of very serious studies on lung cancer and scientific articles, it is still the second most common cause of cancer death today [1]. Scientists are working to help early detection and treatment of cancer and other more fatal diseases. In particular, processes such as classification of types, stages and properties of diseases, feature extraction, etc. are currently being tried using artificial intelligence techniques and deep learning approaches [2-5]. Predictive and diagnostic applications that started with artificial neural networks today are the basis of convolutional neural networks. As a result of the developments in the computer world, the digital data used in the past has been replaced by the image data, and furthermore the artificial intelligence models have begun to be trained with a relatively large number of data. Parallel to all this, the accuracy of prediction, classification and diagnostic artificial intelligence techniques is much higher than the previous models. Today,

the field of medicine and many other in-depth deep learning approaches are used [2-5].

Convolutional neural networks are the most important tool of the deep learning approaches [2-5]. In this study, lung cancer types were classified using convolution neural networks. In the second part, which is the next part of the study's introduction, general and brief information on lung cancer and its classes is given. In the third part, the data set and materials used in the study are mentioned. In the fourth chapter, it is explained which method is used to work. The deep convolutional neural network model used in the study is introduced. In the fifth section, the results and graphics obtained in the study are presented. In the sixth chapter, the results obtained are evaluated and discussed.

Brief description of lung cancer types

There are different types of lung cancer cells. These are named according to the images of the cancer under the microscope. Lung cancer in different cell structure has different rates of progression, different spreading ways and different treatment methods. For this reason, it is extremely important to know which lung cancer we are facing [6-9].

Basically, lung cancer is divided into 2 main groups:

1. Small-cell lung cancer
2. Non-small cell lung cancer

Small cell lung cancers:

Figure 1 shows the image of small cell lung cancer. This group is rare. Among lung cancers, small cell cancers account for 15%. It's a fast-moving species. The tendency to spread to other organs (such as the brain, bone and adrenal gland) is higher than other species.

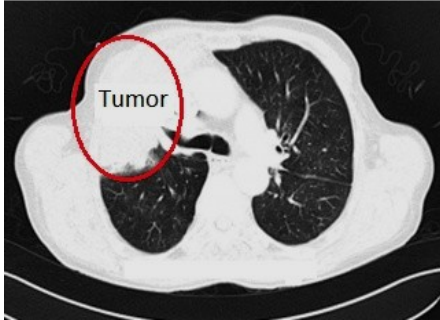


Fig. 1. Small-cell carcinoma in the right lung

Chemotherapy (drug therapy) and radiotherapy (radiation therapy) are usually used in small cell lung cancer. However, if small-cell lung cancer is detected as being small, it is possible to remove it with surgery. Small cell lung cancer is also associated with smoking as other types. In patients with small-cell lung cancer, brain metastasis (metastasis) in the brain is important to prevent future spread of radiation (protective radiotherapy). Although there is a possibility of complete cure (complete cure) in small-cell lung cancer, this rate is unfortunately not high [7-9].

Non-small cell lung cancers:

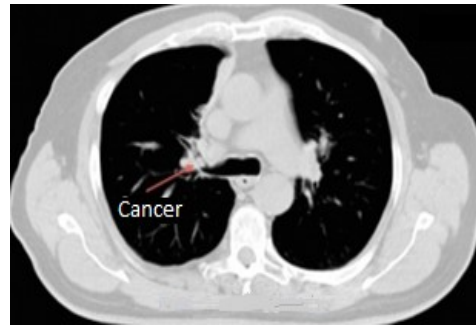


Fig. 2. Non-small cell lung cancer within the right lung upper lobe bronchus

Figure 2 shows a non-small cell lung cancer sample. The majority of lung cancers are non-small cell lung cancers (85%). The tendency to spread to other organs is less than that of the small-cell lung cancer group. The choice of treatment depends on the stage of the disease and the general condition of the patient. There are different types within this group:

- Epidermoid (squamous cell) lung cancer
- Adenocarcinoma (bronchoalveolar carcinoma and solid tumors are included in this group)
- Large-cell lung cancer [7-9].

The abbreviations and cancer types used for the four lung cancer types in the data set used in the study are shown in Table 1 below.

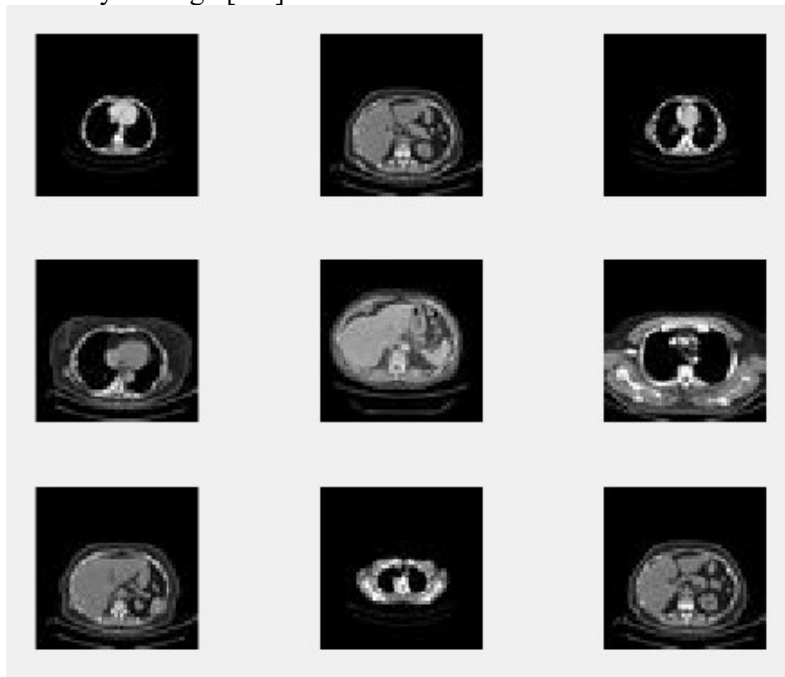


Fig. 3. Data set example

Table 1 Types of lung cancer used in data set

Lung cancer type	Abbreviation	Numbering
Squamous Cell Carcinoma	S	1
Adenocarcinoma	A	2
Non-Small Cell	N	3
Solid Type And Acinar	SOL	4

Methodology

Two convolutional neural networks with the same data set were trained in the study. The first convolutive neural network (CNN1) consists of the input layer, convolution layer, relu, maxpooling, fullyconnected and softmax, respectively, as shown in figure 4.

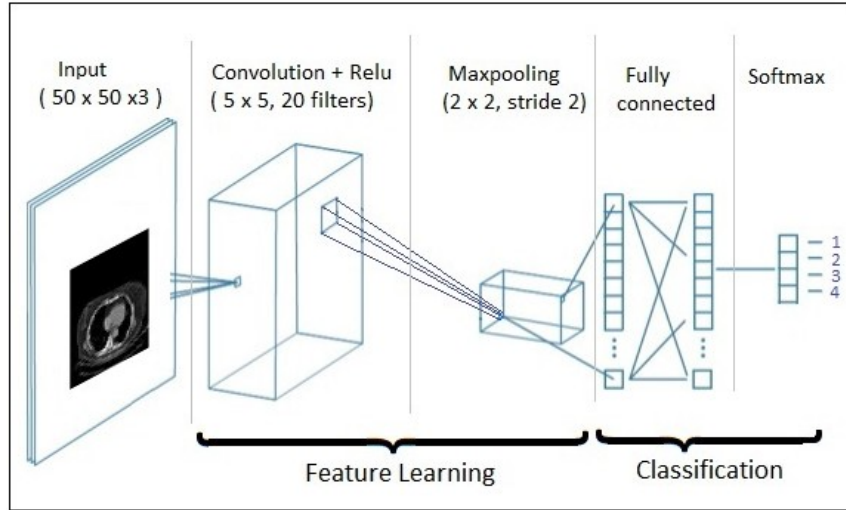


Fig. 4. Architecture of CNN1

The architecture of the second CNN model (CNN2) is shown in figure 5. This model has an excess convolution layer and a maxpooling layer. Since the main goal in the study was to produce a

faultless classification, only the number of layers was changed between the first model and the second model.

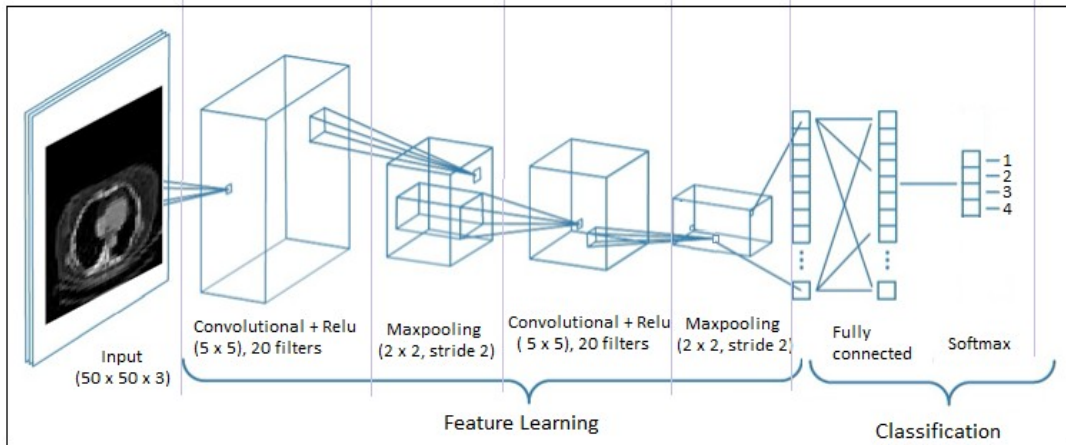


Fig. 5. Architecture of CNN2

In both models, 20 filters of size 5 x 5 were used in the convolution layer. In all the maxPooling layers used in both models 2 x 2 filters were used with 2 strides. The total number of neurons in the Fully connected layer is 4 because the output is 4. A total of 400 data were used, 100 data for each of the four types of lung cancer used in the study. From these data, 75 data for each type of cancer were allocated to

train the model and 25 data to test the model. In the CNN1 model, the initial learning rate was accepted as 0.0001 and in the second model this number was taken as 0.001. The activation function used for both models is the ReLu activation function.

Results

Table 2 shows CNN1's training process. According to this process the accuracy rate is 100% in the 25th epoch. The error rate in the 50th iteration has

also dropped to zero. The error curve obtained in the test result of CNN1 is shown in Figure 6. It can be observed from the 20th epoch that this error is followed by the error on the negative side and then to zero.

Table 2. CNN 1 training prosses

Epoch	Iteration	Time elapsed (seconds)	Mini-batch loss	Mini-batch Accuracy (%)	Base learning rate
1	1	0.12	4.7269	26.56	1.00e-04
25	50	4.49	0	100	1.00e-04
50	100	8.60	0	100	1.00e-04

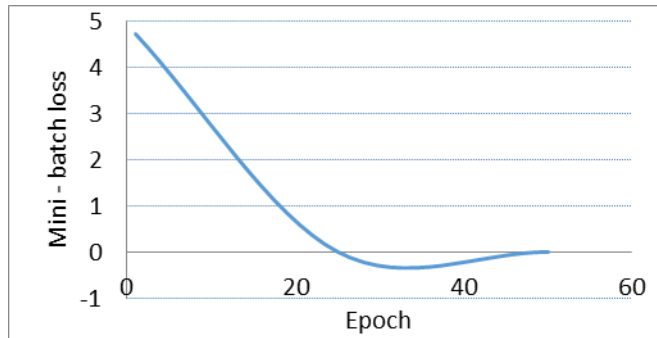


Fig. 6. CNN1 mini-batch loss for testing

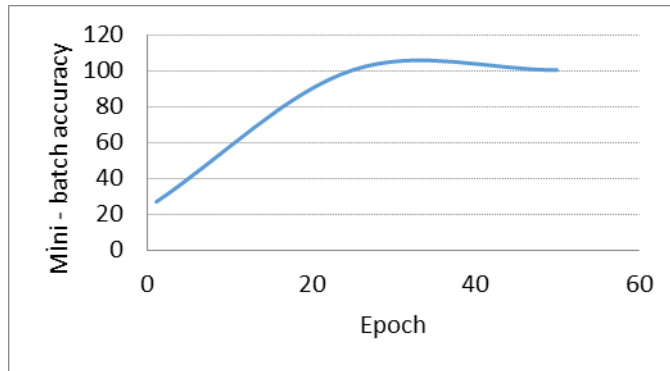


Fig. 7. CNN1 accuracy for testing

Figure 7 shows the accuracy curve for the CNN1 testing process. According to this curve, it can be observed that the 30th Epoch reached a 100% accuracy. With the designed CNN1 model, classification with an accuracy rate of 0.98 was realized. Table 3 shows the training process of the CNN2 model created in the study and the

20th and 1st epoch results in these processes. Accuracy according to Table 3 is 100% for 20th Epoch.

Figure 8 shows the CNN2 accuracy curve. With the designed CNN2 model, the classification was realized with an accuracy rate of 100%.

Table 3 CNN2 training prosses

Epoch	Iteration	Time elapsed (seconds)	Mini-batch loss	Mini-batch Accuracy (%)	Base learning rate
1	1	0.42	1.45	27.34	0.001
20	40	4.78	0	100	0.001

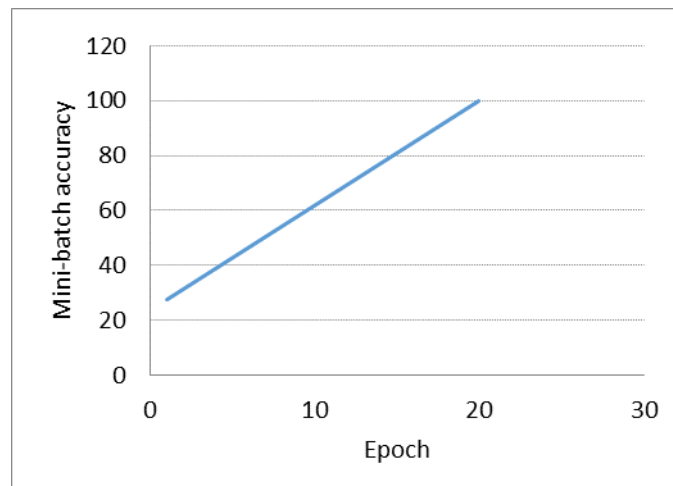


Fig. 8. CNN2 accuracy for testing

Conclusion

CNN1 and CNN2 models are designed for the study. The first model is simpler than the second. So the number of layers is two layers less. However, 100% success in the study was targeted. In the first model, this achievement is very close, but it can be concluded that it cannot be reached. In the second model, the model is less developed because the number of data is limited. For this purpose, a convolutional layer and a maxpooling layer are added to the architecture of the second model. In both models, the dimensions of the filters used in the convolutional layers and the maxpooling layers were chosen to be the same. It is very important to determine the type of lung cancer disease with image data. Although the number of data used in this study is limited to 400, maximum accuracy is obtained with the modification made in the used model. The first model reached its goal in 8.6 seconds. The second model has achieved 100% accuracy rate in 4.78 seconds, although there are more layers and filters. In other words, success has been achieved in two aspects of the study. First, 100% accuracy is achieved in the study. Secondly, the training and testing time is shorter than the first model. So the time to reach the target has been reduced by about half.

References

1. Ambrosini V. (2012). et al. PET/CT imaging in different types of lung cancer: An overview, *European Journal of Radiology*, 81, pp.988-1001.
2. Fabio A. Spanhol, Luiz S. Oliveira, Caroline Petitjean, and Laurent Heutte, Breast Cancer Histopathological Image Classification using Convolutional Neural Networks, Saint Etienne du Rouvray, France (2017)
3. Zheng Y., Zhiguo Jiang, Xie J. F., Zhang H., Ma Y., Shi H., Zhao Y. (2017). Feature extraction from histopathological images based on nucleus-guided convolutional neural network for breast lesion classification, *Pattern Recognition* 71, pp.14–25.
4. Teramoto A., et al., (2017). Automated Classification of Lung Cancer Types from Cytological Images Using Deep Convolutional Neural Networks, Hindawi, *BioMed Research International*, Article ID 4067832.
5. Lopes U.K., Valiati J.F. (2017). Pre-trained convolutional neural networks as feature extractors for tuberculosis detection, *Computers in Biology and Medicine*, 89, pp.135–143
6. Gilad S, et al., (2012). Classification of the Four Main Types of Lung Cancer Using a MicroRNA-Based Diagnostic Assay, *The Journal of Molecular Diagnostics*, 14(5).
7. Nishino M., et al., (2011). Imaging of Lung Cancer in the Era of Molecular Medicine, *Academic Radiology*, 18(4).
8. Peter N. Lee, et al., (2016). Time trends in never smokers in the relative frequency of the different histological types of lung cancer, in particular adenocarcinoma, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 74, 12e22.
9. Sturgeon C., Markers T. (2017). Book Chapter, Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 31, pp.436-478.e8.
10. Vallières, M. et al. (2017). Radiomics strategies for risk assessment of tumour failure in head-and-neck cancer, *Sci Rep*, 7, p.10117.

11. <http://www.cancerimagingarchive.net/> , date of access: 10 Jan 2018,
 12. http://www.tiplopedi.com/TNM_evreleme_sistemi, date of access: 13 Jan 2018
 13. <https://www.mathworks.com/help/nnet/examples/create-simple-deep-learning-network-for-classification.html> , date of access: 13 Jan 2018.
-

H. Selcuk, Nogay
Erciyes University

Mustafa Cikrikci Vocational Sch.
e-mail: nogay@erciyes.edu.tr

T.Cetin, Akinci
Istanbul Technical University
Depert. of Electrical Engineering
e-mail: akincitc@itu.edu.tr

Gokhan Erdemir
Istanbul Sabahattin Zaim University
Dep. of Electrical and Electronics Eng.
e-mail: gokhan.erdemir@izu.edu.tr



ESTIMATION OF HEAD & NECK CANCER STAGE BY USING DEEP CONVOLUTIONAL NEURAL NETWORKS

H. Selcuk Nogay, T.Cetin Akinci, Gokhan Erdemir

ОЦЕНЯВАНЕ НА ЕТАПА НА КАРЦИНОМ НА ГЛАВАТА И ШИЯТА ЧРЕЗ ИЗПОЛЗВАНЕ НА ДЪЛБОКО КОНВУЛЮЦИОННИ НЕВРОННИ МРЕЖИ

Н. Селджук Ногай, Т.Четин Акинджи, Гьоркан Ердемир

ABSTRACT: Five deep convolutional neural networks (DCNN) modes were designed in this study. In order to contribute to the staging of head and neck cancer, stage prediction was performed using classification approach with convolutional neural network models. The same dataset was used for each model, and only the certain structural differences were tried to obtain the most satisfactory accuracy. As a result, all five models produced highly successful estimates. However, the fifth and third models, which are also the most successful among these models, attract attention.

Key words: Deep convolutional neural networks, head and neck cancer, staging, classification, estimation

Introduction

Cancer is a general name given to malignant tumors and is now the second most common cause of human deaths. Head and neck cancers also cause psychological disturbances as well as complaints of patients with external appearance openings and direct appearance findings in terms of settlements. In particular, mainly head and neck cancer types are throat, mouth, tongue, chin, nasal and face. In recent years, environmental pollution, food deficiencies, chemical substances used for food spoilage, GMO foods, environmental pollution, industrial wastes, natural water sources of acid fumes and natural disasters, smoking, alcohol consumption, pollution of our atmosphere etc. cause negative effects on human health and life and cause health problems [1, 2]. A precautionary part of head and neck cancer is caused by well known causes and therefore it is possible to prevent them. In addition, when the disease is diagnosed early, extremely high survival rates can be achieved with existing treatment methods. Early diagnosis is very important in head and neck cancers as it is in all cancers. When the diagnosis is delayed, the treatment becomes very difficult. Therefore, prevention and early diagnosis are very important. As in other types of cancer, treatment of head and neck cancer also depends on diagnosis and staging. The "Tumor Node Metastases" (TNM)

staging system and the "International Union for Cancer Control" (UICC) systems in staging of head and neck cancers are used for staging. The TNM staging system is based on this study [1, 2].

Scientific studies for classification, segmentation and diagnosis have been carried out in recent years using deep learning methods. Deep convolutional neural networks are the most popular method for image processing, pattern recognition and segmentation among deep learning methods. Deep convolutional neural networks are based on artificial neural networks. The use of thousands of image data through the appropriate layers for prediction and classification purposes constitutes the basis of the convolutional neural network [3 - 6]. In this study, stage estimation for head and neck cancer was performed with deep convolutional neural networks. Five deep convolutional neural network models were designed with some modifications in terms of interpretation and comparison of the classification accuracy of the phase estimation study, which has a very large preliminary design for staging. In the second section after the introduction, the theoretical information about head and neck cancer is given. In the third section, information about the materials and data set used in the study are given. In the fourth section, the methods used in the study are given. In the fifth section, the results

obtained are presented. In the sixth and final section, the results were evaluated.

Brief description of head and neck cancer

Head and neck cancer is the sixth most common cancer in all cancers and accounts for about 5% of all cancers. The incidence in the world is ½ million people per year. Head and neck cancer is any cancer in the head and neck region outside the dice that surrounds the lungs with the membrane surrounding the brain, including the hair with hair. Head and neck cancers arise from different parts of the head and neck and from different structures. The head and neck region contains different structures and cell types. For example, squamous epithelium, glandular structures (salivary gland, thyroid gland, parathyroid gland) sinuses, bone structures, cartilage structures, muscles, nerves, vascular structures and lymphoid structures. Appropriately, head and neck cancers have a wide range of histological subtypes [6-7]. The World Health Organization only identifies more than 50 different histological subtypes for nasal cavity and paranasal sinus cancers. The great majority of head and neck cancers arise from the upper aerodigest tract and include squamous cell cancers. Squamous cell carcinomas are the most common histologic type (90% frequency). Historically, the most important risk factors are tobacco and alcohol use. Human papilloma virus (HPV) has been found to be an important etiologic factor especially in oropharyngeal carcinomas. HPV-associated head and neck cancers arise primarily from the oropharynx region. It is stated that the carcinogenesis process developed differently in HPV-negative and HPV-positive squamous cell head and neck cancers. These two groups (HPV + and HPV-) have different biologic, clinical and prognostic features. This point is important in the selection and maintenance of treatment. HPV-positive head and neck cancers are associated with better response and better survival, but are seen at an earlier age [7-10].

Most of the patients with head and neck cancer are local advanced stage, some of them are metastatic. Head and neck cancers arise as oral cavity and pharyngeal carcinoma, gut cancer, tongue cancer, salivary gland cancer, intranasal and sinus cancer. There may be other types of cancer in the head and neck region. However, diagnosis and treatment are very different. Brain tumors, esophageal cancer, eye cancer, parathyroid cancer, sarcoma and thyroid cancer may be

examples of these cancer types. If a person has head and neck cancer symptoms, the doctor will have a complete medical history, specifying all the symptoms and risk factors. In addition, physical examination / blood and urine tests, HPV testing, endoscopy, biopsy, molecular examination of the tumor, x-ray / barium swallowing, panoramic radiography, ultrasonography, computed tomography (CT) scanning, magnetic resonance imaging (MRI), bone scan, positron emission tomography (PET), or PET-CT scanning can be performed. Imaging methods are used for local invasion depth, evaluation of regional lymph nodes, in addition to the results obtained by physical examination, to investigate the presence of second primer malignancy in the presence of distant metastasis. Computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI) and positron emission tomography (PET) have an important role in the diagnosis and staging of head and neck cancer patients. The most common metastatic regions are the lungs, liver, bones, and the second most common cancer regions are head and neck region, lungs and esophagus. Ideally, pre-biopsy imaging should be done. Computerized tomography, MRI, PET and PET / CT local infiltration is an important technique for evaluating regional lymph node involvement and distant metastasis. Magnetic resonance imaging is superior to computed tomography in the evaluation of soft tissues. MRI is a good imaging modality for evaluation of tongue cancers and is very good for the evaluation of superficial tumors. At the same time, MRI is better than computed tomography in the removal of the mucinous tumor and bone marrow invasion. MRI is good in assessing cartilage invasion. On the other hand, computed tomography in bone cortex evaluation gives better information than MRI. MR is superior to computed tomography in evaluating perineural spread, evaluation of skull base invasion and assessment of intracranial extension. The "Tumor Node Metastases" (TNM) staging system and the "International Union for Cancer Control" (UICC) systems are used for staging of head and neck cancers. Table 1 shows the TNM staging system [7-10].

In the TNM system, T, shown in Table 1, is the stage associated with tumor growth and is referred to as the primary tumor. N is the Regional Lymph Nodules. M means distant metastasis. There are many sources in the literature on the TNM staging system. Further information can be referred to the following sources [11-15].

Table 1. TNM Staging system [K11]

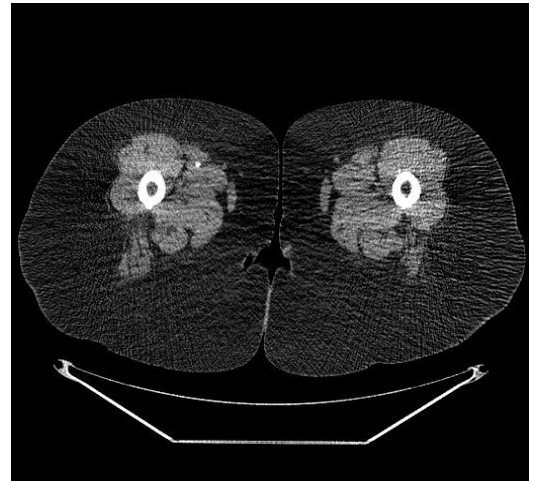
Stage Grouping				Numbering
Stage 0	Tis	N0	M0	1
Stage I	T1	N0	M0	2
Stage II	T2	N0	M0	3
Stage III	T3	N0	M0	4
	T1	N1	M0	
	T2	N1	M0	
	T3	N1	M0	
Stage IVA	T4a	N0	M0	5
	T4a	N1	M0	
	T1	N2	M0	
	T2	N2	M0	
	T3	N2	M0	
	T4a	N2	M0	
Stage IVB	Any T	N3	M	6
	T4B	Any N	M0	
Stage IVC	Any T	Any N	M1	7

The treatment of head and neck cancers is complex because of the importance of the anatomical complex and the continuity of organ function. A multidisciplinary approach where surgeons, medical oncologists, radiation oncologists, dentists, dieticians, rehabilitation specialists are involved is very important in the treatment of head and neck cancers. Approximately 30-40% of squamous cell carcinomas of the head and neck refer to early stage (stage I and II). In general, these patients are treated by surgery or radiotherapy. The 5-year overall survival rate ranges between 70-90% in stage I and II patients. However, in patients with cigarette and alcohol related head and neck cancer, the probability of second primary malignancy occurring at 5 years is around 20%. Surgical suitability, functional outcomes and morbidity are important in the choice of treatment because the results of surgery and radiotherapy are generally similar. The use of local treatment alone in local advanced head and neck cancers (stage III, IVA, IVB) resulted in high local recurrence, distant metastasis, morbidity and mortality. The addition of chemotherapy to local treatments has resulted in more effective treatments for organ prolongation and survival. Modalities used for the treatment of local advanced head and neck cancers include postoperative radiotherapy or chemoradiotherapy; induction chemotherapy followed by surgery or radiotherapy or chemoradiotherapy; definitive chemoradiotherapy. The order of treatment should be decided by multidisciplinary approach. The expectation of the patient in treatment deci-

sion is very important in comorbidities. Surgical oral cavity is the preferred treatment for the treatment of squamous cancers. The ease of reaching the operative site and the possibility of reconstruction make surgical treatment an important alternative. Treatment of these patients with radiotherapy + chemotherapy is being continued in the postoperative period due to the high recurrence potential of oral cavity cancers. Definitive radiotherapy, chemoradiotherapy, or consecutive use of these treatment modalities is the preferred treatment in patients who are inoperable, unresectable, and in whom functional outcomes are unacceptable. Studies on organ-protective treatments in patients with oropharynx, hypopharynx and larynx cancer continue. Simultaneous chemoradiotherapy is the standard treatment of organ conservative treatment. However, it is an important treatment method in sequential treatments and is preferred in some patients. Definitive radiotherapy is the preferred treatment option for poor performance status patients and elderly patients [8-15].

Materials

The data set used in the study was obtained from the website of The Cancer Imaging Archive (TCIA) [16, 17]. 200 Magnetic Resonance Imaging (MRI) image data were used for each stage in the study. In total, 1400 data were used for 7 stages. Figure 1 shows a randomly selected sample data from the image data.

**Fig. 1.** Randomly selected sample image data

The MRI image data was in 512x512 size and was obtained with three channels. The sample data in Figure 1 is 512x512 pixels in

size. Five deep convolutional neural network models were designed in the study. For each model, the image size is used differently. In

Figure 2, examples of real data sets used for each model are presented.

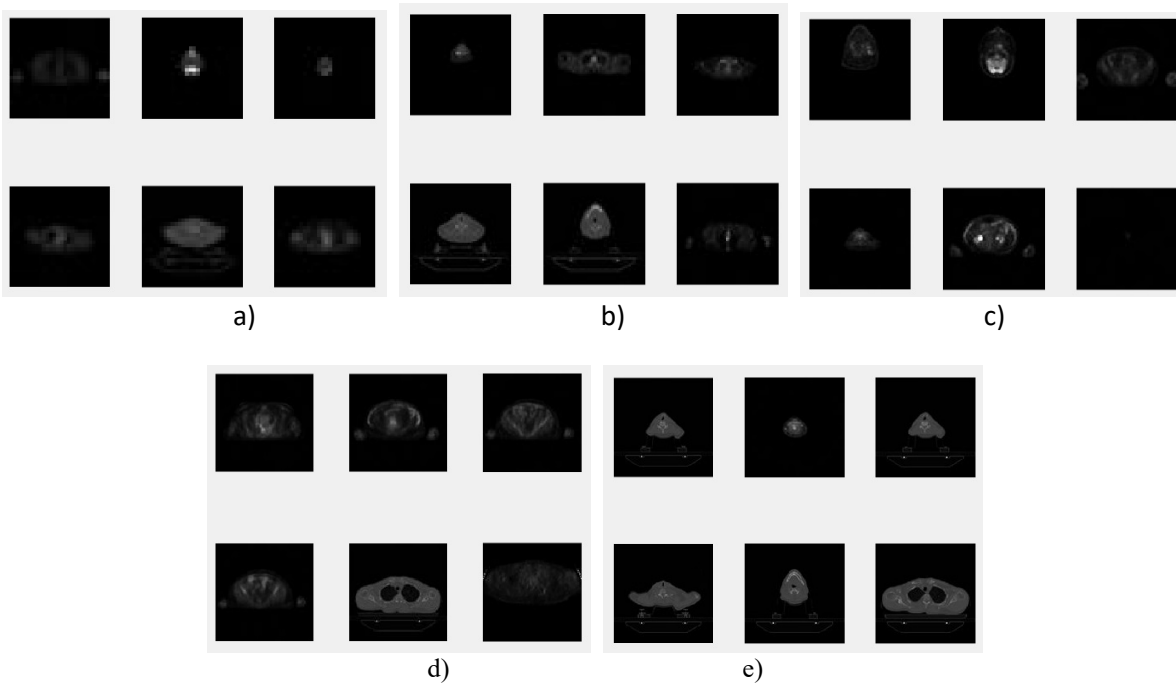


Fig. 2. Sample data sets for DCNN1 (a), DCNN2 (b), DCNN3 (c), DCNN4 (d), DCNN5 (e)

The MR images of the patient were used from different age groups with head and neck cancers in the data set. Data sets have been used by being saved as folders with tags.

Methodology

Five deep convolutional neural networks models were designed and implemented in the study. The data set for each model is the same number, totaling 1400. For each stage, 75% of the 200 data sets (150) were used for the training of the models and the remaining 50 data were used for the testing of the models. The activation function selected for each model is the ReLu activation function. The number of layers used for each model is the same and the filter dimensions and image dimensions are different. The maximum epoch numbers and initial learning rates were chosen to be the same to be able to compare with the graphics. The maximum number of epochs selected is 15. Initial learning rates were also chosen as 0.001. The picture sizes are square, with 28, 56, 84, 100 and 128 pixels, respectively, with the condition being three channels in all. The designed models and their differences are shown in figure 3. The

number of filters used in the convolutional layers was chosen differently for each model. To determine these numbers, the number of neurons and folds in the output layer were taken as basis and no specific criteria was used. The filter sizes used for each convolution layer were also chosen differently for each model, as can be seen in Figure 3 and Table 2. The stride number used for the Max pooling layer is 2 for each model. Also the filter used for max pooling was chosen the same for each model as 2x2 in size. The staging system used in the data set in the study is the TNM staging system. In other words, since the data set contains clinical data recorded according to the TNM grading system, the TNM staging system has been compulsory in this study. Table 1 shows the TNM staging system. In all models, there are 7 neurons in the output layer, which is naturally the last layer. Classified in this layer. There are many sources about the choice of architecture of convolutional neural networks, the filters of layers, the number of filters, the selection and decision of activation functions, and even the design of the architecture.

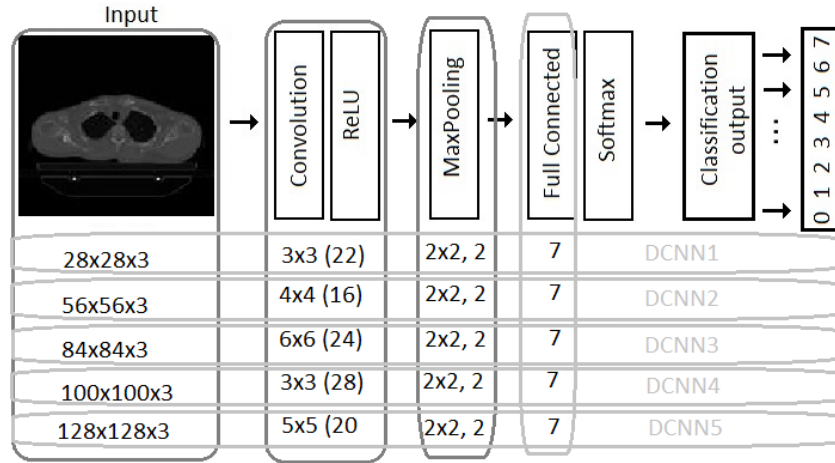


Fig. 3. Designed DCNN models and their differences

Results

Separate results were obtained for each DCNN model designed in the study. Table 2 shows the structural properties of the models as well as the resulting classification (estimation) accuracy rates. Table 3 shows the accuracy rates of the 15th epoch, the latest epoch for each model, and the time to reach the result. Based on this table, error and accuracy curves are obtained for each model. Figure 4 shows the faults for the test process over 15 epochs. In this way, it can be

observed which model produced the lowest error and highest error. In Figure 5, the accuracy rates obtained during the testing process are given separately for each model, as opposed to the error curve. From these curves, it can be easily observed which model produces the highest accuracy predictions. Considering the graphics and tables, it is understood that the results are quite satisfactory in terms of obtaining the results.

Table 2. Structure of DCNN models and accuracy results

Models	DCNN1	DCNN2	DCNN3	DCNN4	DCNN5
Input image size	28x28x3	56x56x3	84x84x3	100x100x3	128x128x3
Convolutional layer /filters number	3x3 /22	4x4/16	6x6/24	3x3/28	5x5/20
Maxpooling layer/stride	2x2 / 2	2x2 / 2	2x2 / 2	2x2 / 2	2x2 / 2
Fully connected layer	7	7	7	7	7
Accuracy	0.86	0.9514	0.98	0.9771	0.9829
Time elapsed (Seconds)	15.18	8.33	30.51	33.31	62.78

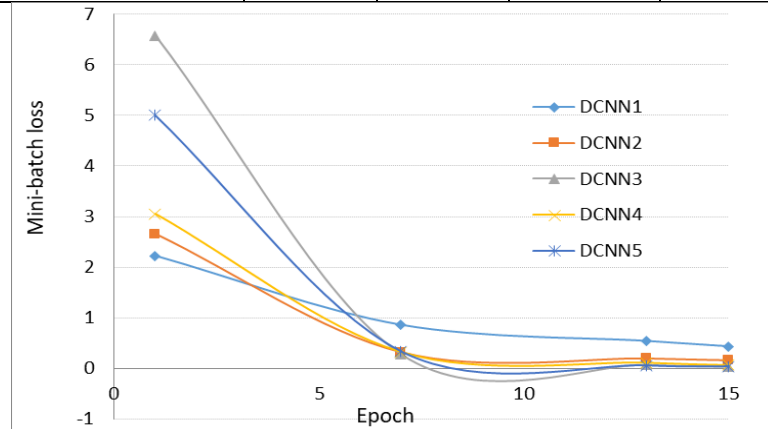
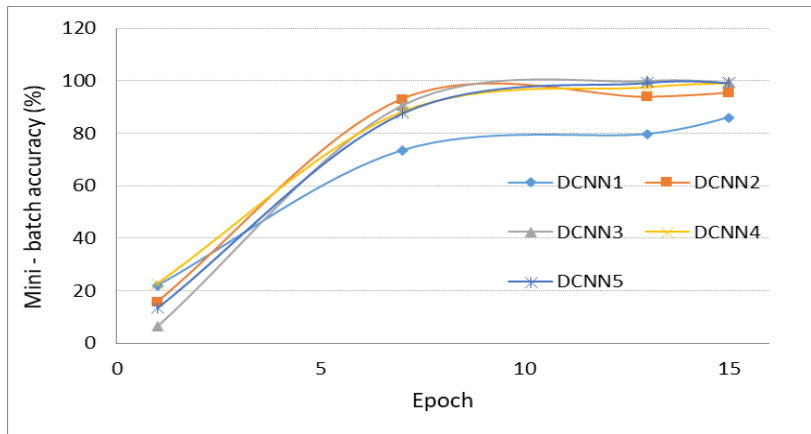


Fig. 4. Error curves of DCNN models

Table 3. Testing procces of the DCNN models

Models	Epoch	1,00	7,00	13,00	15,00
	Iteration	1,00	50,00	100,00	120,00
DCNN1	Time Elapsed (seconds)	10,73	13,14	14,61	15,18
	Mini-batch loss	2,22	0,86	0,54	0,43
	Mini-batch Accuracy (%)	21,88	73,44	79,69	85,94
DCNN2	Time Elapsed (seconds)	0,21	3,7	7,01	8,33
	Mini-batch loss	2,65	0,32	0,20	0,16
	Mini-batch Accuracy (%)	15,63	92,97	93,75	95,31
DCNN3	Time Elapsed (seconds)	0,37	12,74	25,39	30,51
	Mini-batch loss	6,5796	0,2828	0,0733	0,0376
	Mini-batch Accuracy (%)	6,25	90,63	100	99,22
DCNN4	Time Elapsed (seconds)	0,41	13,77	27,81	33,31
	Mini-batch loss	3,06	0,32	0,11	0,06
	Mini-batch Accuracy (%)	22,66	88,28	97,66	99,22
DCNN5	Time Elapsed (seconds)	9,94	32,7	54,18	62,78
	Mini-batch loss	5,0033	0,3345	0,0572	0,0391
	Mini-batch accuracy (%)	13,28	87,5	99,22	99,22

**Fig. 5.** Accuracy rate curves of DCNN models

Conclusion

When the results of five DCNN models designed in the study are examined in Table 2 and Table 3, it can be said that the DCNN5 model produced the highest classification accuracy rate with 98.2%. In this case, it is possible to say that the DCNN1 model produces the lowest accuracy rate of 86%. This difference in accuracy rates is directly related to the size of the image data used and the filters used in the layers. As the image size increases, accuracy increases. The same can be said for the size and number of filters. You may need to compare DCNN3 and DCNN4 to see how the filter size in the layers and the num-

ber of filters affect the model's operation. Although DCNN3 has image data in a smaller size than DCNN4, DCNN3 has a higher accuracy rate. The advantage of DCNN4 is not only that the image size is higher than DCNN3. At the same time, although the number of filters used in the convolutional layer is more advantageous than DCNN3, DCNN3 achieves even better accuracy. It is clear that the filter size is important. Because the filter size used in the convolutional layer in DCNN3 is less than that in DCNN4, the filter size is larger than that of DCNN4. It is also possible to make an interpretation that there is not a significant difference between the image dimensions which would affect the end result.

When the graphs are examined, the error value of DCNN3 is also the smallest value in the 13th Epoch compared to DCNN5 and others. Also DCNN3 at the end of the process has the lowest error rate. There is another important situation in this type of staging and diagnostic study as well as accuracy. This is how long the process lasts. The DCNN5 with the highest accuracy rate can achieve this result after 62.80 seconds of the 15th Epoch, while the DCNN3 with a very close accuracy rate reaches this result after 30.51 seconds. In this study, it can be said that DCNN3 is the most successful model to propose, although DCNN5 is the model that produces the best classification rate.

References

1. <https://www.doktorsitesi.com/article/bas-boyun-kanserlerinin-belirtileri>, access date: April 7, 2018
2. <http://www.drserkankeskin.com/bas-boyun-kanseri.php>, access date : April 6, 2018.
3. Acharya U. R., Oh S . L., Hagiwara Y., Tan J. H., and Adeli H 2017. Deep convolutional neural network for the automated detection and diagnosis of seizure using EEG signals, *Computers in Biology and Medicine*, pp.1–9.
4. Zheng Y, Jiang Z., Xie F., Zhang H., Yibing Ma, Shi H., Zhao Y. (2017). Feature extraction from histopathological images based on nucleus-guided convolutional neural network for breast lesion classification, *Pattern Recognition*, 71, pp.14–25,
5. Paoletti M. E., Haut J.M., Plaza J., Plaza A. (2017). A new deep convolutional neural network for fast hyperspectral image classification, *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 31, May, 2017, 1-28
6. Khosravi P., Kazemi E., Imielinski M., Elemento O., Hajirasouliha I. (2017). Deep Convolutional Neural Networks Enable Discrimination of Heterogeneous Digital Pathology Images, *EbioMedicine*, pp.1-12
7. Sean T. Massa et al., (2017). Competing causes of death in the head and neck cancer population, *Oral Oncology*, 65, pp.8–15
8. Kırca K., Kutlutürkan S. (2018). Rehabilitation Nursing in Head and Neck Cancer Patients, *J Nurs Sci*, 10(1), pp.70-78.
9. Lester S., Yang W. Y. (2015). Principles and management of head and neck cancer, *Surgery*, Elsevier Ltd., 33/12, pp.620-627.
10. Lin J. J., Liang F. W., Li C. Y. Tsung-Hsueh Lu (2018). Leading causes of death among decedents with mention of schizophrenia on the death certificates in the United States, *Schizophrenia Research*, journal homepage: www.elsevier.com/locate/schres.
11. Marc P. van der Schroeff, Robert J. Baatenburg de Jong (2009). Staging and prognosis in head and neck cancer, *Oral Oncology*, 45, pp.356–360.
12. Manikantan K., et al, (2009). Challenges for the future modifications of the TNM staging system for head and neck cancer: Case for a new computational model?, *Cancer Treatment Reviews*, 35, pp.639–644
13. Hye In Kima, et al., (2018). Refining the eighth edition AJCC TNM classification and prognostic groups for papillary thyroid cancer with lateral nodal metastasis, *Oral Oncology* 78, pp.80–86.
14. Sekine T. et al., (2017). PET+MR versus PET/CT in the initial staging of head and neck cancer, using a trimodality PET/CT+MR system, *Clinical Imaging*, 42, pp.232–239.
15. Quick Reference Guide to TNM Staging of Head and Neck Cancer and Neck Dissection Classification, 4th ed. Alexandria, VA: American Academy of Otolaryngology–Head and Neck Surgery Foundation, 2014.
16. Vallières, M. (2017). Radiomics strategies for risk assessment of tumour failure in head-and neck cancer, *Sci Rep*, 7, 10117.
17. <http://www.cancerimagingarchive.net/>, date of access: 10 Jan 2018,

H. Selcuk, Nogay
Erciyes University
Mustafa Cikrikci Vocational Sch.
e-mail: nogay@erciyes.edu.tr

T.Cetin, Akinci
Istanbul Technical University
Depert. of Electrical Engineering
e-mail: akincitc@itu.edu.tr

Gokhan Erdemir
Istanbul Sabahattin Zaim University
Dep. of Electrical and Electronics Eng.
e-mail: gokhan.erdemir@izu.edu.tr



ПРИЛОЖЕНИЕ НА БАКТЕРИОЦИН, ИЗОЛИРАН ОТ *BACILLUS METHYLOTROPHICUS* BM47 КАТО БИОКОНСЕРВАНТ В СУРОВО КРАВЕ МЛЯКО

Юлиан Тумбарски, Величка Янакиева, Радосвета Николова, Гергана Минева, Ивелина Десева,
Даша Михайлова и Иван Иванов

APPLICATION OF A BACTERIOCIN ISOLATED FROM *BACILLUS METHYLOTROPHICUS* BM47 AS A BIOPRESERVATIVE IN RAW COW'S MILK

Yulian Tumbarski, Velichka Yanakieva, Radosveta Nikolova, Gergana Mineva, Ivelina Deseva,
Dasha Mihaylova and Ivan Ivanov

ABSTRACT: In recent years, the increasing consumers' demands for fresh-tasting, safe, naturally preserved and minimally-processed food products without chemical preservatives stimulated the research interest in development of new strategies for food preservation with application of biologically active compounds with antimicrobial activity such as bacteriocins. Bacteriocins are compounds of proteinaceous nature synthesized by a large number of bacteria, which exhibit antimicrobial activity against different saprophytic and pathogenic microorganisms. The bacteriocins which possess the highest potential for application in food biopreservation are those produced by the members of genus *Bacillus* and lactic acid bacteria (LAB). Therefore, the aim of the present study was to evaluate the antimicrobial effect and possibilities for application of a bacteriocin isolated from *Bacillus methylotrophicus* strain BM47 as a potential biopreservative of raw cow's milk. The results demonstrated that the addition of a bacteriocin led to decrease of the titratable acidity and reduction of the total plate count of microorganisms, without a change of the organoleptic properties of the raw milk.

Key words: bacteriocin, *Bacillus methylotrophicus*, biopreservation, milk

Introduction

Milk is an excellent medium for microbial growth and acts as a vector for various foodborne pathogens and spoilage microorganisms. Therefore, pasteurization of raw milk before human consumption or for the manufacture of dairy products is important and required technological process. The different methods of pasteurization (high temperature, short time pasteurization – HTST; ultra-pasteurization and vat-pasteurization) significantly decrease the number of microorganisms in milk, but do not provide a sterile product.

Until now, in the food industry approaches for improving the food safety have been related to the use of more efficient chemical preservatives or to the application of more drastic physical treatments (high temperatures). Nevertheless, these types of solutions have many disadvantages: the proven toxicity of many of the commonest chemical preservatives (nitrites) and the alteration of the organoleptic and nutritional properties of foods (Ananou et al., 2007).

In recent years, the increasing consumers' demands for fresh-tasting, safe, naturally preserved and minimally-processed food products led to avoidance of the use of chemical preservatives and stimulated the scientific efforts to the application of biologically active compounds with antimicrobial activity such as bacteriocins. Bacteriocins are compounds of proteinaceous nature produced by a large number of bacteria, including members of genus *Bacillus* and lactic acid bacteria (LAB), which possess antimicrobial activity against different saprophytic and pathogenic microorganisms. Bacteriocins are considered as a perspective approach for biopreservation of food, in particular of milk and dairy products due to their broad antibacterial and antifungal spectrum, effectiveness, safety and low costs for obtaining and application (Tumbarski et al., 2018).

Therefore, the aim of the present study was to evaluate the antimicrobial effect and possibilities for application of a bacteriocin isolated from *Bacillus methylotrophicus* strain BM47 as a potential biopreservative of raw cow's milk.

Materials and methods

1. Materials

1.1. Bacteriocin

Purified by fast protein liquid chromatography (FPLC) and lyophilized substance containing a protein of intermediate molecular size (19578 Da) was used. This bacteriocin was synthesized by *Bacillus methylotrophicus* strain BM47 isolated from natural thermal spring water in Haskovo region, Bulgaria.

1.2. Test microorganisms

Eight test microorganisms including Gram-positive bacteria (*Listeria monocytogenes* – our isolate), Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 and *Salmonella* sp. – our isolate) and fungi (*Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Fusarium moniliforme* and *Penicillium* sp. – our isolates) from the collection of the Department of Microbiology at University of Food Technologies, Plovdiv, Bulgaria, were selected for determination of minimal inhibitory concentration (MIC) of the purified bacteriocin.

1.3. Culture media

Luria-Bertani glucose agar (LBG-agar). This medium was used for cultivation of test bacteria and determination of MIC. LBG-agar medium was prepared by the following prescription: 10 g tryptone, 5 g yeast extract, 10 g NaCl, 10 g glucose and 15 g agar dissolved in 1 L of deionized water. The final pH was adjusted to 7.5 and the medium was autoclaved for 20 min at 121°C.

Malt extract agar (MEA). This medium was used for cultivation of test fungi. MEA was prepared by the following prescription: 20 g malt extract, 20 g dextrose, 6 g peptone and 15 g agar dissolved in 1L of deionized water. The final pH was corrected to 5.5 and the medium was autoclaved for 15 min at 121°C.

Plate count agar (PCA). This medium was used for determination of total plate count of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms in milk. PCA was prepared by the following prescription: 5 g tryptone, 2.5 g yeast extract, 1 g dextrose and 9 g agar dissolved in 1 L of deionized water. The final pH was adjusted to 7.0 and the medium was autoclaved for 15 min at 121°C.

Chloramphenicol glucose agar (CGA). This selective medium was used for enumeration of colony-forming units of yeasts and fungi in milk. CGA was prepared by the following prescription:

20 g dextrose, 5 g yeast extract, 0.1 g chloramphenicol and 15 g agar dissolved in 1L of deionized water. The final pH was corrected to 6.6 and the medium was autoclaved for 15 min at 121°C.

1.4. Milk

Fresh, homogenized and pasteurized cow's milk with pH 6.7 and titratable acidity of 16.5°T was used. The milk was delivered by BCC Handel Ltd., town of Elena, Bulgaria.

2. Methods

2.1. Preparation and inoculation of agar media for minimal inhibitory concentration (MIC) determination

The test bacteria were cultured on LBG-agar medium at 37°C for 24 h, while the test fungi were grown on MEA at 30°C for 7 days or until sporulation. The inocula of bacteria were prepared by homogenization of a small amount of biomass in 5 mL of sterile 0.5% NaCl. The inocula of fungi were prepared by addition of 5 mL of sterile 0.5% NaCl into the tubes. After vigorous shaking they were filtered and replaced in another tubes before use. The number of viable cells and fungal spores was determined using a Thoma's haemocytometer. Their final concentrations were adjusted to 1.0×10^8 cfu/mL (for bacterial cells) and 1.0×10^5 cfu/mL (for fungal spores) and then inoculated in preliminarily melted and tempered at 45-48°C LBG-agar media. The inoculated media were transferred in quantity of 16 mL in sterile Petri dishes (d=9 cm). After hardening, six wells (d=6 mm) per dish were cut.

2.2. Minimal inhibitory concentration (MIC) of purified bacteriocin (PB) and determination of the arbitrary units

MIC of the purified bacteriocin was determined by the conventional method – series of two-fold dilutions of the bacteriocin ranging from 10.0 to 0.079 mg/mL were prepared. Duplicate samples of each dilution were pipetted in quantity of 60 µL into the agar wells. The Petri dishes were incubated at 37°C (for pathogenic bacteria) and 30°C (for fungi) for 24h and 48h, respectively.

The MIC values were determined as the lowest concentrations of the bacteriocin inhibiting completely the growth of each test microorganism around the agar well (Tumbariski et al., 2017). The calculation of arbitrary units (AU) was based on the obtained MIC values.

2.3. Application of PB in raw cow's milk

Fresh, homogenized and pasteurized cow's milk (400 mL) was placed in each of four sterile banks. The purified bacteriocin in different concentrations (1 AU/mL, 2 AU/mL and 3 AU/mL) was added to three of the banks, and the fourth was kept as a control. All samples were placed for storage under refrigeration conditions (4°C). The morphological, biochemical and microbiological changes in milk were monitored for 3 weeks.

2.4. Determination of titratable acidity

Determination of titratable acidity was implemented according to the Bulgarian State Standard BSS 1111:1980.

Ten mL of milk samples were mixed with 20 mL of distilled water. The titratable acidity was determined by titration of each sample with 0.1 N NaOH using phenolphthalein as an indicator until the appearance of a pale pink colour persisting over 1 min. One Torner degree (°T) corresponds to 1 mL of 0.1 N NaOH, needed for neutralisation of an equivalent amount of organic acid, contained in 100 mL of milk.

2.5. Enumeration of colony-forming units (cfu) of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms in milk

Total plate count of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms was determined by colony-count technique on PCA at 30°C according to the Bulgarian State Standard BSS ISO 4833-1:2013.

2.6. Enumeration of colony-forming units (cfu) of yeasts and/or fungi in milk

Colony-count technique for yeasts and/or fungi in milk was implemented on CGA at 25°C

according to the Bulgarian State Standard BSS ISO 6611:2006.

Results and discussion

1. Determination of MIC of PB and calculation of the dose for application in milk

As seen from the results presented in Table 1, the purified bacteriocin of *B. methylotrophicus* BM47 demonstrated significant activity against the fungi *F. moniliforme*, *Penicillium* sp., *A. awamori* and *A. niger*. Contrary to this, the pathogenic bacteria used as indicator microorganisms remained unaffected. Despite the absence of antibacterial activity, the antifungal activity of the bacteriocin is also important due to the frequent presence of fungi or their spores in the raw milk. The most commonly detected fungi in raw milk belong to the genera *Penicillium*, *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Mucor* and *Fusarium* (Quigley et al., 2013).

After estimation of MIC (2.5 mg/mL), the arbitrary units (AU) of PB were calculated to its amount in 60 µL - 0.15 mg. This dose was accepted as an equivalent of 100 AU. To provide the desirable concentrations of 1 AU/mL, 2 AU/mL and 3 AU/mL, in the experimental procedure 0.6 mg, 1.2 mg and 1.8 mg of the bacteriocin was added in 400 mL of milk.

2. Application of PB as biopreservative in raw cow's milk

As mentioned above, the morphological, biochemical and microbiological changes in milk were monitored for 3 weeks. The results from the effect of the PB of *B. methylotrophicus* BM47 on some physicochemical and microbiological parameters of raw milk are summarized in Table 2.

Table 1. MIC of the purified bacteriocin of *B. methylotrophicus* strain BM47.

Test microorganism	MIC, mg/mL
<i>Fusarium moniliforme</i>	2.5
<i>Penicillium</i> sp.	2.5
<i>Aspergillus awamori</i>	2.5
<i>Aspergillus niger</i>	2.5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	-
<i>Salmonella</i> sp.	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	-

Table 2. Effect of the purified bacteriocin of *B. methylothrophicus* BM47 on some physicochemical and microbiological parameters of raw cow's milk.

Day	Milk + PB (1 AU/mL)			Milk + PB (2 AU/mL)			Milk + PB (3 AU/mL)			Milk (control)		
	TA (°T)	TPC (cfu/ mL)	Y/F (cfu/ mL)	TA (°T)	TPC (cfu/ mL)	Y/F (cfu/ mL)	TA (°T)	TPC (cfu/ mL)	Y/F (cfu/ mL)	TA (°T)	TPC (cfu/ mL)	Y/F (cfu/ mL)
1	16.5	15	<1	16.5	15	<1	16.5	15	<1	16.5	15	<1
3	17.0	40	<1	17.0	35	<1	17.0	30	<1	17.0	40	<1
6	17.7	7.5×10^2	<1	17.6	7.0×10^2	<1	17.5	6.5×10^2	<1	18.1	8.0×10^2	<1
9	20.1	7.5×10^2	<1	19.0	7.0×10^2	<1	18.1	6.5×10^2	<1	21.0	1.0×10^3	<1
12	21.0	3.4×10^3	<1	21.0	3.0×10^3	<1	21.0	3.0×10^3	<1	22.0	4.4×10^3	<1
15	33.3	6.5×10^3	<1	33.3	6.4×10^3	<1	33.3	6.3×10^3	<1	34.8	7.8×10^3	<1
18	36.9	4.8×10^4	<1	36.5	4.6×10^4	<1	36.5	4.6×10^4	<1	38.6	6.0×10^4	<1
21	40.7	8.7×10^4	<1	40.4	6.7×10^4	<1	40.0	6.0×10^4	<1	41.4	1.0×10^5	<1

Legend: PB – purified bacteriocin; AU – arbitrary units; TA - titratable acidity; TPC – total plate count of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms; Y/F – yeasts and fungi.

The results presented in Table 2 showed that the addition of bacteriocin at three different concentrations (1 AU/mL, 2 AU/mL and 3 AU/mL) in the raw milk did not significantly affect its titratable acidity and microbiological parameters during the first three days of its storage under refrigeration conditions. After six days of storage, decrease of the titratable acidity values and reduction of the total plate count of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms (TPC) of the milk with PB were observed, which were most pronounced in the sample with highest bacteriocin concentration (3 AU/mL). An increase of the same parameters of the control sample was recorded. No yeasts and fungi in all samples were detected. No visible changes in the organoleptic characteristics of milk (colour, smell and consistency) were observed (Fig. 1).

After the ninth day of storage until the end of the monitoring period, the same trend was observed – decrease of the titratable acidity values and reduction of TPC of milk samples with addition of bacteriocin. The higher concentrations of bacteriocin in milk (2 AU/mL and 3 AU/mL) were more effective and influenced beneficially the physicochemical and microbiological parameters, compared with the lower bacteriocin dose (1 AU/mL) and the control sample. No yeasts and fungi were detected. Until the 18-th day of storage no visible changes in the organoleptic

characteristics of raw milk (colour, smell and consistency) were observed. However, on the 21-st day of storage, changes in some of the organoleptic properties - unpleasant smell, appearance of precipitates and fermentation of the control sample (without bacteriocin) were observed, while the samples of addition of PB were not affected. Thus, the results of this study revealed the potential possibilities for application of bacteriocin of *B. methylothrophicus* BM47 as a biopreservative in raw milk.

The application of *Bacillus* bacteriocins in raw milk and their effectiveness as natural preservatives against different foodborne pathogenic and spoilage microorganisms was previously studied by some other authors.

Martirani et al. (2002) described the properties of a bacteriocin named bacillocin 490 isolated from the thermophilic strain *Bacillus licheniformis*. Bacillocin 490 showed broad antimicrobial spectrum against *Listeria innocua*, *Staphylococcus epidermidis* and other *Bacillus* spp. This bacteriocin has also shown thermal and pH stability, and displayed promising antimicrobial activity when applied in milk.

Another *Bacillus* bacteriocin tested in milk and dairy products to control the development of *Listeria monocytogenes* was cerein 8A produced by *Bacillus cereus* 8A (Bizani and Brandelli, 2002; Bizani et al., 2005 a,b).



Fig. 1. Effect of the purified bacteriocin of *B. methylotrophicus* BM47 in raw cow's milk – no visible changes in the samples after 18 days of storage (from left to right: control; milk + PB - 1AU/mL; milk + PB - 2AU/mL; milk + PB - 3AU/mL).

The addition of 160 AU/mL cerein 8A to ultra-high-temperature milk resulted in a decrease of 3 log cycles in viable cells within the 14-day period of storage at 4°C (Bizani et al., 2008).

Sharma et al. (2009) reported application of a partially purified bacteriocin produced by *Bacillus* sp. MTCC 43 in raw milk, which effectively inhibited the growth of some foodborne pathogens such as *Staphylococcus aureus* and *Aeromonas hydrophila*. No spoilage of the raw milk was observed up to the 20-th day of preservation when bacteriocin was added at dose 2.66×10^5 AU/mL.

Some studies discussed the effectiveness and potential application of bacteriocins synthesized by LAB in milk biopreservation and shelf life extension. Benkerroum et al. (2002) reported the promising inhibitory activity of the strain *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCMM/IAV/BK1 against the foodborne pathogen *L. monocytogenes* ATCC 7644 by *in situ* bacteriocin production during the processing and storage of the traditional Arabic milk product lben made from pasteurized cow's milk.

Other authors proposed different techniques as advanced approaches for effective inactivation of foodborne pathogens in raw milk. Alpas and Bozoglu (2000) described the combined antimicrobial effect of hydrostatic pressure (345 MPa) with heat (50°C) and bacteriocins nisin and pediocin (5000 AU/mL) for a short time (5 min) on some foodborne pathogens such as *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* sp. in pasteurized milk.

The encapsulation of nisin in nanovesicles prepared from partially purified soy lecithin revealed decrease of 3–4 log cycles in *L. monocytogenes* counts in whole and skim milk, which could offer a good alternative to control this foodborne pathogen in milk as well as other microorganisms capable to grow under refrigeration conditions (Da Silva Malheiros et al., 2010).

Conclusion

This is the first report describing the possibilities for application of a bacteriocin synthesized by *B. methylotrophicus* BM47 as a biopreservative in milk. The addition of bacteriocin in raw cow's milk led to decrease of the titratable acidity and reduction of the total plate count of microorganisms, without alteration of the organoleptic properties. Thus, the bacteriocin of *B. methylotrophicus* BM47 could be considered as a potential agent for milk biopreservation and suitable for application in the dairy industry.

References

1. Alpas H., F. Bozoglu, 2000 "The combined effect of high hydrostatic pressure, heat and bacteriocins on inactivation of foodborne pathogens in milk and orange juice", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16, pp. 387-392.
2. Ananou S., M. Maqueda, M. Martínez-Bueno, E. Valdivia, 2007 "Biopreservation, an ecological approach to improve the safety and

shelf life of foods”, *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, pp. 475 - 486.

3. Benkerroum N., Y. Ghouati, H. Ghalfi, T. Elmejdoub, D. Roblain, P. Jacques, P. Thonart, 2002 “Biocontrol of *Listeria monocytogenes* in a model cultured milk (Iben) by *in situ* bacteriocin production from *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*”, *International Journal of Dairy Technology*, 55 (3), pp. 145-151.

4. Bizani D., A. Brandelli, 2002 “Characterization of a bacteriocin produced by a newly isolated *Bacillus* sp. strain 8A”, *Journal of Applied Microbiology*, 93, pp. 512-519.

5. Bizani D., A. P. Dominguez, A. Brandelli, 2005a “Purification and partial chemical characterization of the antimicrobial peptide cerein 8A”, *Letters of Applied Microbiology*, 41, pp. 269-273.

6. Bizani D., A. S. Motta, J. A. Morrissy, R. M. Terra, A. A. Souto, A. Brandelli, 2005b “Antibacterial activity of cerein 8A, a bacteriocin-like peptide produced by *Bacillus cereus*”, *International Microbiology*, 8, pp. 125-131.

7. Bizani D., J. A. Morrissy, A. P. Dominguez, A. Brandelli, 2008 “Inhibition of *Listeria monocytogenes* in dairy products using the bacteriocin-like peptide cerein 8A”, *International Journal of Food Microbiology*, 121, pp. 229-233.

8. Bulgarian State Standard BSS 1111:1980. “Milk and milk products – Determination of acidity”.

9. Bulgarian State Standard BSS ISO 6611:2006. “Milk and milk products - Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or moulds - Colony-count technique at 25 degrees C”.

10. Bulgarian State Standard BSS ISO 4833-1:2013. “Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique”.

11. Da Silva Malheiros P., D. J. Daroit, N. P. Da Silveira, A. Brandelli, 2010 “Effect of nanovesicle-encapsulated nisin on growth of *Listeria monocytogenes* in milk”, *Food Microbiology*, 27, pp. 175-178.

12. Martirani L., M. Varcamonti, G. Naclerio, M. De Felice, 2002 “Purification and partial characterization of bacillocin 490, a novel bacteriocin produced by a thermophilic strain of *Bacillus licheniformis*”, *Microbial Cell Factories*, 1, pp. 1-5.

13. Quigley L., O. O’Sullivan, C. Stanton, T. P. Beresford, R.P. Ross, G. F. Fitzgerald, P.D. Cotter, 2013 “The complex microbiota of raw milk”, *FEMS Microbiology Reviews*, 37, pp. 664-698.

14. Sharma N., G. Kapoor, N. Gautam, B. Neopaney, 2009 “Characterization of a partially purified bacteriocin of *Bacillus* sp. MTCC 43 isolated from Rhizosphere of radish (*Raphanus sativus*) & its application as a potential food biopreservative”, *Journal of Scientific and Industrial Research*, 68, pp. 881 – 886.

15. Tumbariski Y., V. Lincheva, N. Petkova, R. Nikolova, R. Vrancheva, I. Ivanov, 2017 “Antimicrobial activity of extract from aerial parts of potentilla (*Potentilla reptans* L.)”, *Industrial Technologies*, 4(1), pp. 37-43.

16. Tumbariski Y., A. Lante, A. Krastanov, 2018 “Immobilization of Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria and Possibilities for Application in Food Biopreservation”, *The Open Biotechnology Journal*, 12, pp. 25-32.

Yulian Tumbariski,
Velichka Yanakieva,
Radosveta Nikolova,
Gergana Mineva
University of Food Technologies
Department of Microbiology
26, Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: tumbariski@abv.bg

Ivelina Deseva,
University of Food Technologies
Department of Analytical Chemistry and
Physicochemistry
26, Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: ivelina_hristova_vn@abv.bg

Dasha Mihaylova
University of Food Technologies
Department of Biotechnology
26, Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: dasp@abv.bg

Ivan Ivanov
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry and Inorganic
Chemistry
26, Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: ivanov_ivan.1979@yahoo.com



ОТПАДЪЦИ ОТ ЛАВАНДУЛА – ИЗТОЧНИК НА ТРИТЕРПЕНОИДИ И ПОЛИФЕНОЛИ С АНТИОКСИДАНТНО И АНТИМИКРОБНО ДЕЙСТВИЕ

Иван Иванов, Надежда Петкова, Юлиан Тумбарски, Радка Вранчева, Магдалена Стоянова

LAVENDER WASTE – PROMISING SOURCE OF TRITERPENOIDS AND POLYPHENOLS WITH ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Ivan Ivanov, Nadezhda Petkova, Yulian Tumbarski, Radka Vrancheva, Magdalena Stoyanova

ABSTRACT: The lavender is among the most famous and valuable industrially plant for the production of essential oil. After the production of essential oil, waste biomass present a potential valuable source of biologically active substances. In this study the content of polyphenols and triterpenes in various extracts (methanol, ethanol and acetone) obtained by various extraction techniques (maceration, under reflux and ultrasound-assisted extraction) were investigated. The antimicrobial and antioxidant activity of the extracts were evaluated. The highest values of total pentacyclic triterpenes were established in extract obtained by ultrasound-assisted extraction with methanol (MUS) – 227.3 mg/g extract and 963.5 mg/100 g DW (14.8 mg/g extract betulinic acid, 251.5 mg/g extract oleanolic acid and 153.1 mg/g extract ursolic acid, respectively). In general, all extracts obtained by ultrasound-assisted extraction demonstrated the highest levels of total polyphenolic content and antioxidant activity. Lavender waste was evaluated as a perspective and promising alternative source of pentacyclic triterpenes with potential application in cosmetics and the pharmaceutical industry.

Key words: lavender waste, pentacyclic triterpenes, betulinic acid, oleanolic acid, ursolic acid

Introduction

The genus *Lavandula* belongs to the Lamiaceae family. This genus includes annual or short-lived herbaceous perennial plants, and shrub-like perennials, subshrubs or small shrubs (Upson and Andrews, 2004). The natural distribution area for lavender is the Mediterranean region (Basch et al., 2004), as well as the Canary Islands and India (Upson and Andrews, 2004, Verma et al., 2010). Native species of the genus can be also found in Northern, Eastern and Southern Africa, Russia, Australia and the USA (Kara and Baydar, 2013). The genus *Lavandula* represents one of the most economic important and popular ornamental and medicinal plants. (Woronuk et al., 2011, Andrys et al., 2017). *In vitro* tests have demonstrated that the different extracts from lavender possessed analgesic (Silva et al., 2015), anaesthetic effects (Ghelardini et al., 1999), antimicrobial (Cavanagh and Wilkinson, 2002, Adaszyńska et al., 2013), antifungal (Moon et al., 2007) and antioxidant (Spiridon et al., 2011) activities. The lavender waste has been determined as a rich source of phenolic acid (*p*-coumaric, neochlorogenic, caffeic and rosmarinic acid) and flavonoids (quercetin-3-β-

glucoside, quercetin and mircetine) with the antioxidant and antimicrobial activity (Vasileva et al., 2018, Slavov et al., 2018). However, the pentacyclic triterpenes can be also found in lavender plant (Stoyanova et al., 2016, Furtado et al., 2017). Indeed, this class of compounds presents several biological activities, including anti-inflammatory (Pádua et al., 2014), antioxidant (Smina et al., 2011), anti-viral (Cichewicz et al., 2004), anti-diabetic (Alqahtani et al., 2013), anti-tumor (Laszczyk et al., 2009), hepato-protective (Prasad et al., 2007) and cardio-protective (Shaik et al., 2012) activities.

The present study aimed to develop an efficient method for extraction of pentacyclic triterpenes from lavender waste and to determine the antioxidant and antimicrobial activity of obtained extracts.

Materials and methods

1. Plant material and extraction procedure

Lavender flowers were purchased from local drugstore (Plovdiv, Bulgaria). The plant material was used to obtain lavender oil by hot water vapor distillation. Lavender flowers residues after distillation process were dried and then they were finely ground to the particle sizes 1 mm.

Three different extraction procedures were performed with three solvent (methanol, 95 % v/v ethanol and acetone).

1.1. Ultrasound-assisted extraction (UAE)

Ten grams lavender flower wastes were placed in an Erlenmeyer flask and 100 mL solvent was added. The extraction was performed in the ultrasonic bath (VWR, Malaysia) (operating at frequency 45 kHz and 30 W power) at 45 °C for 30 min. The obtained extract was filter through a filter paper and the residue was extracted again with the same volume of used solvent under above mentioned conditions. The second extract was combined with the first one and then evaporated to dryness under vacuum.

1.2. Extraction under reflux

Ten grams lavender flower wastes were placed in a round bottom flask of 250 mL and the plant material was extracted with 100 mL solvent under a reflux and boiling for 1 h. The obtained extract was filter through filter paper and the residue was extracted again with the same volume of used solvent. The both extracts were combined and then evaporated to dryness.

1.3. Maceration

Ten grams lavender flower wastes were placed in an Erlenmeyer flask and 100 mL of solvent was added. The sample was placed on a magnetic stirrer and extraction was performed at 24 °C for 24 h. The extract was filtered and then evaporated to dryness.

2. HPLC-DAD analysis of triterpenes

Chromatographic separations and determination of triterpenes was performed on a HPLC instrument Elite Chrome Hitachi, coupled with diode-array detector (DAD) and ELITE LaChrome software. The separation was performed on a reverse-phase column Supelco, Discovery® HS C18 (5 µm, 25 cm x 4.6 mm) operating at 26 °C. Detection was done at wavelength 210 nm. Elution was performed with mobile phase methanol: formic acid (92:8 v/v) isocratic mode at the flow rate 0.4 mL/min. The sample injection volume was 20 µL.

3. Total phenolics content (TPC)

The total phenolic contents were measured using a Folin-Ciocalteu assay. Folin-Ciocalteu reagent (1 mL) (Sigma) diluted five times was mixed with 0.2 mL sample and 0.8 mL 7.5% Na₂CO₃. The reaction was performed for 20 min at room temperature in darkness. Then the absorbance of the sample was measured at 765 nm against blank sample, developed by the same

way but without extract. The results were expressed in mg equivalent of gallic acid (GAE) per g extract and 100 g dry weight (DW), according to calibration curve, build in range of 0.02 - 0.10 mg gallic acid (Sigma) used as a standard.

4. Antioxidant activity

4.1. DPPH assay

Each analyzed extract (0.15 mL) was mixed with 2.85 mL freshly prepared 0.1 m mol solution of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH, Sigma) in methanol (Merck). The reaction was performed at 37 °C in darkness and the absorptions at 517 nm were recorded after 15 min against methanol. The antioxidant activity was expressed as m mol Trolox equivalents (TE) per g dry weight (DW) by using calibration curve, build with 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 m mol 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox, Fluka) dissolved in methanol (Sigma).

4.2. FRAP assay

The assay was performed according to method, as follow: the FRAP reagent was freshly prepared before analyzes by mixing 10 parts 0.3 M acetate buffer (pH 3.6), 1 part 10 mmol 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ, Fluka) in 40 mmol HCl (Merck) and 1 part 20 m mol FeCl₃.6H₂O (Merck) in d. H₂O. The reaction was started by mixing 3.0 mL FRAP reagent with 0.1 mL of investigated extract. Blank sample, prepared with methanol instead of extract was developed as well. The reaction time was 10 min at 37 °C in darkness and the absorbance at 593 nm of sample against blank was measured. Antioxidant activity was expressed as mmol TE/g extract an 100g DW by using calibration curve, build in the range of 0.05-0.5 m mol Trolox (Fluka) dissolved in methanol (Merck).

5. Test microorganisms

Eleven microorganisms including Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* – ATCC 25923; *Enterococcus faecalis*; *Curtobacterium flaccumfaciens*; *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis* – ATCC 6633), Gram-negative bacteria (*Salmonella* sp., *Escherichia coli* - ATCC 8739; *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* - ATCC 9027 and *Klebsiella pneumoniae*) and yeasts (*Candida albicans*) from the collection of the Department of Microbiology at University of Food Technologies, Plovdiv, Bulgaria, were selected for the antimicrobial test.

6. Culture media

6.1. Luria-Bertani glucose agar (LBG-agar).

This medium was used for cultivation of test microorganisms and determination of MIC. LBG-agar medium was prepared by the following prescription: 10 g tryptone, 5 g yeast extract, 10 g NaCl, 10 g glucose and 15 g agar dissolved in 1 L of deionized water. The final pH was adjusted to 7.5 and the medium was sterilized by autoclaving at 121°C for 20 min.

7. Antimicrobial activity

The antimicrobial activity of methanol extract from lavender waste was determined by using the standard agar well diffusion method on LBG agar medium (Tumbariski et al., 2017). The test bacteria and yeasts were cultured on LBG agar medium at 37 °C for 24 h. The suspensions of test bacteria and yeasts were prepared by homogenization of a small amount of biomass in 5 mL of sterile 0.5% NaCl. The final concentration of the viable cells in the suspensions for inoculation was adjusted to 1.0×10^8 cfu/mL. Then the suspensions were inoculated in a preliminarily melted and tempered at 45-48 °C LBG agar media. The inoculated LBG agar media were transferred in quantity of 16 mL in sterile Petri dishes (d=9 cm). After hardening, six wells (d=6 mm) per dish were cut. Duplicate samples were pipetted in quantity of 50 µL into the agar wells. As controls the antibiotics Ampicillin (10 µg/mL), Streptomycin (6 mg/mL) and Nystatin (40 µg/mL), and methanol were used. The inoculated Petri dishes were incubated at 37 °C (for test bacteria and yeasts) The antimicrobial activity was

determined by measuring and recording the diameter of the inhibition zones around the wells on the 24th and 48th h of incubation.

8. Minimal inhibitory concentration (MIC)

Minimal inhibitory concentration (MIC) of the lavender extract was determined by the conventional method – series of two fold dilutions, ranging from 10.0 to 0.079 mg/mL were prepared. The samples were pipetted in quantity of 50 µL per well in a preliminarily inoculated with the test microorganisms LBG agar media. The Petri dishes were incubated at the conditions shown above.

The MIC values were determined as the lowest concentration of the extract inhibiting completely the growth of each test microorganism around the agar well. The determined and recorded MIC values as mg/mL were calculated and expressed as mg/50 µL (Tumbariski et al., 2017).

Results and discussion

After steam distillation of *Lavandula* sp. flowers for production of essential oil the waste was used for analysis. Different solvents (methanol, ethanol and acetone) and extraction technique (ultrasound-assisted extraction, maceration and extraction under reflux) (Table 1.) for optimization of the extraction procedure and isolation of pentacyclic triterpenes were investigated. After each extraction the yield of extract was calculated (Table 1). The yield of the extracts strongly depended on the extraction method and the used solvents. The highest extract yield was obtained under the following extraction conditions – maceration with solvent methanol MM (6.0 ± 0.1 %) (Table 1).

Table. 1. Extractive yields under different extraction techniques and solvents from lavender waste.

Solvent	Extraction	Abbreviation	Yield, %
Methanol	Ultrasound-assisted extraction	MUS	4.2 ± 0.1
Methanol	Maceration	MM	6.0 ± 0.1
Ethanol	Ultrasound-assisted extraction	EUS	3.3 ± 0.1
Ethanol	Under reflux	EUR	5.0 ± 0.1
Ethanol	Maceration	EM	4.3 ± 0.1
Acetone	Under reflux	AUR	2.5 ± 0.1
Acetone	Ultrasound-assisted extraction	AUS	3.0 ± 0.1
Acetone	Maceration	AM	3.8 ± 0.1

The obtained extracts from lavender waste were analyzed for their total phenolic content and antioxidant activity. The obtained results from the analysis were summarized in Table 2.

From all extracts, EUS showed the highest total polyphenolic content and antioxidant activity. The lavender waste extracts were evaluated as a potential source of antioxidants, which was in

agreement with reports of Vasileva et al. (2018). The highest total polyphenolic content was established in EUS extracts from lavender waste obtained by ultrasound-assisted extraction - 10.8 mg GAE/ g extract and 36.4 mg GAE/100g DW. The same extract possessed the highest antioxidant activity - 36.1 m mol TE/g extract (DPPH method) and 142.3 m mol TE/g extract (FRAP method). In comparison our results for total phenolics content were lower than reported by

Slavov et al 2018 and Vasileva et al., 2018 – 10-11 mg/g DW. The differences in the amount of polyphenols content extracted are most likely due to extraction procedure and used solvent. However, in our case the application of ultrasound-assisted extraction, significantly reduce the time for extraction of phenolic compounds in comparison with the maceration procedure.

Table 2. Total phenolics content and antioxidant activity of different extracts from lavender waste

Sample	Total phenolics content		Antioxidant activity			
			DPPH		FRAP	
	Extract, mg GAE / g	Dry weight, mg GAE / 100g	Extract, m mol /TE g	Dry weight, m mol/ TE 100g	Extract, m mol /TE g	Dry weight, m mol/ TE 100g
MUS	7.3	30.8	27.0	114.4	105.6	447.2
MM	7.5	45.0	23.1	138.7	108.5	650.5
EUS	10.8	36.4	36.1	120.0	142.3	447.0
EUR	3.2	15.7	14.8	73.7	64.3	320.0
EM	2.8	7.8	26.6	115.5	81.6	454.0
AUR	2.4	9.2	8.4	21.3	92.0	350.2
AUS	2.4	6.1	1.4	4.9	72.0	199.1
AM	2.5	9.5	1.3	3.0	66.5	183.3

In addition, the *Lavandula* sp. was evaluated as a good source for ursolic acid (UA), oleanolic acid (OA) and betulinic acid (BA), reaching the highest concentration in flowers (Stoyanova et al., 2016). In the present study, individual triterpenic acids in lavender waste were determined. Three terpenoids - betulinic, oleanolic and ursolic acids were found in lavender waste (Figure 1) as oleanolic and ursolic acids were in the highest concentration in all of the analyzed samples obtained with different solvents and extraction techniques (Table 3). That was of the great importance, because of many valuable biological activities of these terpenoids (Jäger et al., 2009). The highest total triterpenes were established in methanol extracts (MUS) from lavender waste obtained by ultrasound-assisted extraction – 227.3 mg/g extract and 963.5 mg /100 g DW (Figure 2). The same extract possessed the highest content ursolic acid – 153.1 mg/g extract (648.4 mg/100g DW), oleanolic acid - 59.4 mg/g extract (251.5 mg/100g DW) and betulinic acid – 14.8 mg/g extract (62.5 mg/100g DW) (Table 3). Our results are in agreement with most of the previous work reported that the oleanolic and ursolic acid are the major pentacyclic terpenoids in *L. angustifolia*. Moreover, Jäger et al. (2009) reported that lavender flowers contain ursolic

acid (1.05 %), oleanolic acid (0.40 %) and betulinic acid (0.12 %). Similar results for pentacyclic triterpenoids content in lavender flowers were also found by Sanicsák et al., (2006) and Stoyanova et al., (2016). Betulinic acid was in lower concentration in the investigated samples than ursolic and oleanolic acids. However, they also possess valuable biological activities. Betulinic acid is a minor compound but exhibits a variety of biological and medicinal properties such as anti-HIV, antibacterial, anti-malarial, antiinflammatory, anthelmintic, antinociceptive, anti-HSV, and anticancer activities (Moghaddam et al., 2012).

The antimicrobial activity of MUS sample has been investigated. Eleven microorganisms including were used - Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*), Gram-negative bacteria (*Salmonella* sp., *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) and *Klebsiella pneumoniae*, and yeast (*Candida albicans*).

Table 3. Amount of isolated pentacyclic triterpenes (betulinic, oleanolic and ursolic acid) of different extracts from lavender waste.

Sample	Pentacyclic triterpenes							
	Betulinic acid		Oleanolic acid		Ursolic acid		Total	
	Extract, mg/g	Dry weight, mg/100g	Extract, mg/g	Dry weight, mg/100g	Extract, mg/g	Dry weight, mg/100g	Extract, mg/g	Dry weight, mg/100g
MUS	14.8	62.5	59.4	251.5	153.1	648.4	227.3	962.5
MM	11.0	66.0	43.3	259.7	106.7	640.3	161.0	966.0
EUS	13.6	45.4	53.1	177.8	135.5	454.1	202.1	677.4
EUR	10.4	51.7	42.2	210.0	109.7	545.8	162.3	807.6
EM	12.4	54.0	46.7	203.0	120.5	523.9	179.6	780.9
AUR	14.5	36.9	53.4	136.0	136.0	346.3	203.9	519.3
AUS	12.8	38.4	49.5	148.4	129.5	387.9	191.8	574.6
AM	11.2	42.5	44.3	168.6	112.5	427.9	168.0	639.0

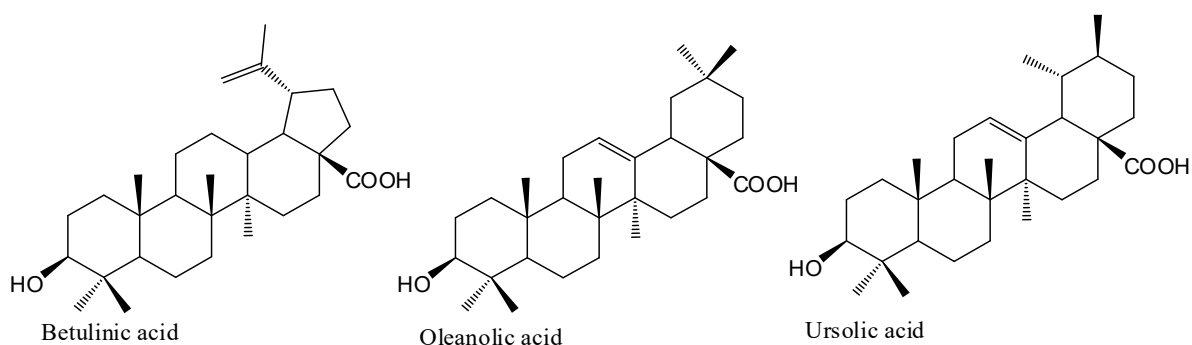


Figure 1. Chemical structures of isolated pentacyclic triterpenes from lavender waste.

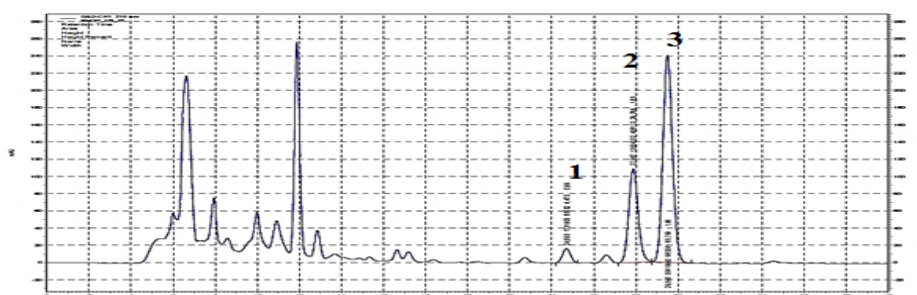


Figure 2. HPLC chromatograms of MUS extracts from lavender waste, where 1. betulinic acid, 2. oleanolic acid and 3. ursolic acid

The screening for antimicrobial activity showed that the MUS extract possessed a moderate inhibitory effect only on the Gram-negative bacterium *Escherichia coli* ATCC 8739. The other test microorganisms remained unaffected. The minimal inhibitory concentration (MIC) val-

ues summarized in Table 4, showed that the test microorganism *E. coli* ATCC 8739 was sensitive to very low concentrations of the tested extract, ranging from 313 µg/mL. Methanol used as a solvent also demonstrated negative results.

Table 4. Minimal inhibitory concentration (MIC) values of methanol extract from lavender waste

Test microorganisms	MIC		Controls (IZ, mm)			
	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g}/50\mu\text{L}$	MeOH	Amp.	Str.	Nyst.
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	40	27	n/a
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	29	21	n/a
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	27	22	n/a
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	-	-	-	36	30	n/a
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	-	-	-	35	33	n/a
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	313	16	-	25	17	n/a
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	-	-	-	-	23	n/a
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-	18	17	n/a
<i>Salmonella</i> sp.	-	-	-	18	12	n/a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	16	n/a
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	n/a	n/a	13

Legend: IZ – inhibition zone; MeOH – methanol; Amp. - Ampicillin (10 $\mu\text{g/mL}$); Str. - Streptomycin (6 mg/mL); Nyst. - Nystatin (40 $\mu\text{g/mL}$); n/a – not applicable; $d_{\text{well}} = 6$ mm.

Conclusion

The current study demonstrated that lavender waste present a good alternative source of biologically actives pentacyclic triterpenes (betulinic, oleanolic and ursolic acid) with potential application in cosmetics and the pharmaceutical industry. Maximum amount of triterpenes (about 1 %) were extracted from lavender waste with methanol by application of accelerated green method for extraction - ultrasound-assisted extraction. Moreover, obtained extracts possessed antioxidant and antimicrobial potential.

References

- Alqahtani A., Hamid K., Kam A., Wong K., Abdelhak Z., Razmovski-Naumovski V., Chan K., Li K. Groundwater P., Li G. (2013) The pentacyclic triterpenoids in herbal medicines and their pharmacological activities in diabetes and diabetic complications. *Curr. Med. Chem.*, 20, 908–931.
- Andrys D., Kulpa D., Grzeszczuk M., Bihun M., Dobrowolska A. (2017) Antioxidant and antimicrobial activities of *Lavandula angustifolia* Mill. field-grown and propagated *in vitro*. *Folia Hort.*, 29(2), 161-180
- Basch E., Foppa I., Liebowitz R., Nelson J., Smith M., Sollars D., Ulbricht C., (2004) Lavender (*Lavandula angustifolia* Miller). *J. Herbal Pharmacother.* 4(2), 63-78.
- Cichewicz R., Kouzi S. (2004) Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection. *Med. Res. Rev.*, 24, 90–114.
- Jäger S., Trojan H., Kopp T., Laszczyk M N., Scheffler A. (2009) Pentacyclic triterpene distribution in various plants – rich sources for a new group of multi-potent plant extracts. *Molecules*, 14, 2016-2031.
- Kara N., Baydar H. (2013) Determination of lavender and lavandin cultivars (*Lavandula* sp.) containing high quality essential oil in Isparta, Turkey. *Turk. J. Field Crops.* 18(1), 58-65.
- Laszczyk, M. (2009) Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy. *Planta Med.*, 75, 1549–1560.
- Moghaddam M., Ahmad F., Samzadeh-Kermani A. (2012). Biological activity of betulinic acid: A review. *Pharmacology and Pharmacy*, 3, 119-123.
- Pádua T., de Abreu B., Costa T., Nakamura M., Valente L., Henriques M., Siani A., Rosas E. (2014) Anti-inflammatory effects of methyl ursolate obtained from a chemically derived crude extract of apple peels: Potential use in rheumatoid arthritis. *Arch. Pharm. Res.*, 37, 1487–1495.
- Prasad S., Kalra N., Shukla Y. (2007) Hepatoprotective effects of lupeol and mango pulp extract of carcinogen induced alteration in Swiss albino mice. *Mol. Nutr. Food Res.*, 51, 352–359.

11. Shaik A., Rasool S., Abdul Kareem M., Krushna G., Akhtar P., Devi K. (2012) Maslinic acid protects against isoproterenol-induced cardiotoxicity in albino Wistar rats. *J. Med. Food.*, 15, 741–746.
 12. Slavov A., Karneva K., Vasileva I., Denev P., Denkova R., Shikov V., Manolova M., Lazarova Y., Ivanova V. (2018) Valorization of lavender waste – obtaining and characteristics of polyphenol rich extracts, *Food Science and Applied Biotechnology*, 1(1), 11-18
 13. Smina T., Mathew J., Janardhanan K., Devasagavam T. (2011) Antioxidant activity and toxicity profile of total triterpenes isolated from *Ganoderma lucidum* (Fr.) P. Karst occurring in South India. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 32, 438–446.
 14. Stoyanova M., Vrancheva R., Stoyanova A., Perifanova-Nemska M. (2016) HPLC analysis of terpenoid content of flowers of lavender. *Scientific Works of University of Food Technologies*, 63 (1), 187-192
 15. Tumbarski Y., Lincheva V., Petkova N., Nikolova R., Vrtancheva R., Ivanov I. (2017) Antimicrobial activity of extract from aeral parts of potentilla (*Potentilla reptans* L.) *Industrial Technologies*, 4(1), 37-43
 16. Upson T., Andrews S. (2004) The genus *Lavandula*. Timber Press. Inc., USA.
 17. Vasileva I., Denkova R., Chochkov R., Teneva D., Denkova Z., Dessev T., Denev P., Slavov A. (2018) Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) and melissa (*Melissa officinalis*) waste on quality and shelf life of bread. *Food Chemistry*, 253, 13–21
 18. Verma R., Rahman L., Chanotiya C., Verma R., Chauhan A., Yadav A., Singh A., Yadav A.K. (2010) Essential oil composition of *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India. *J. Serb. Chem. Soc.*, 75, 343-348.
 19. Woronuk G., Demissie Z., Rheault M., Mahmoud S. (2011) Biosynthesis and therapeutic properties of *Lavandula* essential oil constituents. *Planta Med.*, 77(1), 7-15.
-

Ivan Ivanov
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry and Inorganic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: ivanov_ivan.1979@yahoo.com

Nadezhda Petkova
University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry and Inorganic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: petkovanadejda@abv.bg

Yulian Tumbarski
University of Food Technologies,
Department of Microbiology,
26 Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: tumbarski@abv.bg

Radka Vrancheva
University of Food Technologies,
Department of Analytical Chemistry and Physical Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: radka_vrancheva@yahoo.com

Magdalena Stoyanova
University of Food Technologies,
Department of Analytical Chemistry and Physical Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002 Plovdiv, Bulgaria
E-mail: magdalena.stoianova@abv.bg



RESEARCH ON CYCLOISOMERIZATION REACTION OF PHOSPHORYLATED α -HYDROXYALLENES

Ismail Ismailov, Mehtab Kechidzhi, Hatidzhe Urucheva, Ivaylo Ivanov and Valerij Christov

ИЗСЛЕДВАНЕ НА РЕАКЦИИТЕ НА ЦИКЛОИЗОМЕРИЗАЦИЯ НА ФОСФОРЛИРИРАНИ α -ХИДРОКСИАЛЕНИ

Исмаил Исмаилов, Мехтаб Кечиджи, Хатидже Уручева, Ивайло Иванов и Валерий Христов

ABSTRACT: Phosphorylated α -hydroxyallenes **1** and **2** were smoothly converted into the corresponding 2,5-dihydrofurans **3** and **4** in an 5-endo-trig cycloisomerization reaction by using 5 mol % of coinage metal salts as catalyst. Experimental conditions such as the type of the solvent, the reaction temperature, the mol % and the type of the catalyst were optimized. This mild and efficient cyclization method can be applied to dimethyl 1-hydroxyalkyl-alka-1,2-dienephosphonates **1** and 2-diphenylphosphinoyl-2,3-dien-1-ols **2a-c** and 3-diphenylphosphinoyl-3,4-dien-2-ols **2d,e**, furnishing 3-phosphorylated 2,5-dihydrofurans **3** and **4** in very good yields.

Key words: phosphorylated α -hydroxyallenes; cycloisomerization; coinage metal catalysts; 2,5-dihydrofurans.

Introduction

2,5-Dihydrofurans and their derivatives are structural subunits found frequently in a wide variety of natural products which find application as flavor and fragrance compounds and pharmaceuticals [1] and represent pivotal structural elements in a wide variety of different biologically active molecules. For instance, they can be found in mycotoxins such as verrucosidine [2] and the structurally related citreoviridine [3], as well as vitamin A metabolites [4], polyether antibiotics [5], spiroketals [6] and even amino acids [7]. 2,5-Dihydrofurans are also important intermediates in organic synthesis due to the presence of the C=C bond as well as the five-membered ring. Consequently, much attention has been paid to the development of efficient and diverse synthetic methods for construction of this five-membered ring system [8].

Transition metal-catalyzed cyclization of functionalized allenes bearing a nucleophilic center has attracted considerable attention in recent years [9]. Particularly, the cyclization reactions of allenols catalyzed by Ag(I) [10], Hg(II) [11], Pd(0) [12], Pd(II) [13], or Ru(III) [14] have become quite useful methodologies for the synthesis of five-, or six-membered oxygen-containing heterocycles. Krause's group has reported a highly efficient and stereoselective synthesis of 2,5-

dihydrofurans by Au(I)- and Au(III)-catalyzed [15] cycloisomerization of α -hydroxyallenes [16]. Moreover, the method is not restricted to the cycloisomerization of α -hydroxyallenes to 2,5-dihydrofurans [16], rather, it was recently extended by Krause's group to the corresponding endo-cyclization of β -hydroxyallenes, α -/ β -aminoallenes [17], and α -thioallenes [18] to the corresponding five- or six-membered O-, N-, or S-heterocycles. The method of choice, however, is the use of transition metal catalysts since this combines high reactivities and excellent yields with a tolerance to many functional groups.

On the other hand, the literature data on the reactions of phosphorylated allenes with electrophilic reagents reveal that the reactions proceed with cyclization of the allenic system bearing the phosphoryl group (O=P-C=C=C) to give heterocyclic compounds in most cases and the outcome depends on the structure of the starting allenic compound as well as the type of electrophile used [19]. Several diethylphosphono-substituted α -allenic alcohols [20] and glycols [21] were prepared by Brel [22] directly from alcohols by Horner-Mark rearrangement of unstable propargylic phosphites and used as starting materials for study of the cyclization in the presence of AgNO₃ [21,23] and CuCl₂ [22].

Our long-standing research program focuses on the development of efficient cyclization reac-

tions of 1,1- [24] and 1,3-bifunctionalized allenes [25]. More specifically, our attention is drawn to phosphorylated hydroxyallenes as 1,1-bifunctionalized allenes that comprise a phosphoryl and a hydroxyalkyl group. The applications of these groups as temporary transformers of chemical reactivity of the allenic system in the synthesis of eventually heterocyclic compounds are of particular interest. These molecules can be considered a combination of an allenephosphonate or allenyl phosphine oxide and a hydroxyallene and they are supposed to have different reactivity profiles in cycloisomerization reactions. Our recent research has led to a significant result, whereby we have developed a convenient and efficient method for the regioselective synthesis of phosphorylated α -hydroxyallenes using an atom economical [2,3]-sigmatropic rearrangement [26]. In this paper, we present recent results of ongoing studies dedicated towards the optimization of the experimental conditions and the catalyst efficiency in the coinage metal salts-catalyzed cycloisomerization of α -hydroxyalkyl-allenephosphonates and phosphine oxides to 3-phosphorylated 2,5-dihydrofurans, which strongly improve the scope of this method.

Results and Discussion

In addition to our previously reported preparation [27] of 2,5-dihydro-1,2-oxaphospholes by electrophilic cyclization of the 1-hydroxyalkyl-allenephosphonates **1** and allenyl phosphine oxides **2** due to the participation of the phosphonate neighboring group in the 5-*endo-trig* cyclization, we carried out the cycloisomerization reaction of the abovementioned compounds **1** and **2** in the presence of coinage metal salts as catalysts. Our initial work began with the cycloisomerization reaction of the model α -hydroxyalkyl-allenephosphonate **1a** with AgNO₃ in order to optimize the reaction conditions such as the influence of the solvent, the reaction temperature, the mol % and the type of the catalyst. The reaction occurred with formation of the dimethyl (5-ethyl-5-methyl-2,5-dihydrofuran-3-yl) phosphonate (**3a**, Scheme 1). The results are summarized in Table 1.

At the very beginning, the reaction occurred in 1,2-dichloroethane at -20 °C with 10 mol % of catalyst (Table 1, entry 1). The yield was 41%. On the other hand, when we used 5 mol % of catalyst to carry out the reaction at 0 °C or room temperature in the same solvent the yield in-

creased considerably (Table 1, entries 2 and 3). Lower yield was obtained at reflux in the same solvent (Table 1, entry 4). It is obvious that the optimal temperature for the cycloisomerization reaction of compound **1a** is room temperature. The use of polar solvents such as chloroform, ethanol, acetonitrile and THF at room temperature with 5 mol % AgNO₃ produces the product in relatively good yields (Table 1, entries 5–8). A lower yield occurred in toluene (Table 1, entry 9). When the solvent was a mixture of acetone and H₂O [10] at room temperature the yield was 77% with 5 mol % of catalyst (Table 1, entries 11 and 12). The data confirm that the optimal conditions for cycloisomerization of model compound **1a** (Table 1, entry 14) are methylene chloride, 5 mol % catalyst and room temperature. We found that reactions occurring at low or high reaction temperatures different from the optimum afford lower yields (Table 1, entries 2, 4 and 13). We also saw a lower yield when we used 10 mol % of catalyst at room temperature in dichloromethane (Table 1, entry 15). The type of catalyst and its influence on the yields of the cycloisomerization products of the α -hydroxyalkyl-allenephosphonates **1a-e** was also of great interest to us. We thus conducted a series of experiments to optimize the reaction conditions of the model compound **1a** (Scheme 2). We applied the following coinage metal salts as catalysts: AgNO₃, AgClO₄, AuCl, AuCl₃, ZnCl₂, NiCl₂, PtCl₂, SnCl₂, AlCl₃, PdCl₂, Pd(PPh₃)₄, CuCl₂, CuCl, CuBr, and CuI. The data reveal that both Au and Ag are excellent catalysts. Pd, Cu(II) and Pt are very good catalysts for our experiments. It becomes obvious that Zn, Ni, Sn and Al are relatively good catalysts. It is the Cu(I) catalysts that are bad. Table 2 presents the characteristics of all the above-mentioned catalysts in the cycloisomerization reaction of the model compound **1a**.

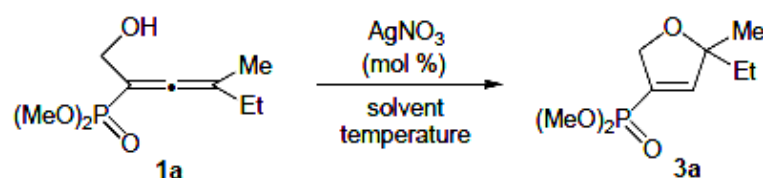
The next step in our study was to explore the possibilities of the cycloisomerization reactions of the α -hydroxyalkyl-allenyl phosphine oxides **2a-e** synthesized by us. At the very beginning, we used 2-diphenylphosphinoyl-4-methylhexa-2,3-dien-1-ol (**2a**) as a model compound. The optimal cycloisomerization conditions included dichloromethane as solvent, 5 mol % catalyst and room temperature. The reaction occurred via an 5-*endo-trig* cyclization to give 4-(diphenylphosphinoyl)-2-ethyl-2-methyl-2,5-dihydrofuran (**4a**, Scheme 2). We performed a series of experiments with the sole intention of determining the best catalysts bearing in mind

two criteria-highest yield and shortest reaction time. The model compound **2a** reacts with the catalysts shown in Table 2, in which the yields obtained and the reaction time of the preparation of isomer **4a** are presented. The experimental data reveals that the best catalytic characteristics correspond to Au, Ag and Pd catalysts (Table 2). The Cu(II), Zn and Pt catalysts that show very good results. The Sn, Al and Ni are relatively good.

The investigation on the cycloisomerization reaction of the synthesized series of α -hydroxyalkyl-allenephosphonates **1a-e** was intended to be systematical. We applied the optimized reaction temperature, type of the solvent and molar ratio of the catalyst conditions in regard to the substrate. Having in mind that gold catalysts are expensive and sensitive to moisture, we decided to use AgClO₄ as a main catalyst in cycloisomerization reaction in order to extend our study (Scheme 3). The results are explicit

enough-a catalytic 5-endo-trig cycloisomerization occurs and the hydroxy group participates as an internal nucleophile to give the 2,5-dihydrofuran-3-yl phosphonates **3** in very good yields.

Our study was systematized also on the cycloisomerization of a series of α -hydroxyalkyl-allenyl phosphine oxides **2a-e** in methylene chloride at room temperature (Scheme 3). Moreover, it was the AgClO₄ catalyst, which is easily accessible and relatively good, that was used in our research. The results are undisputable-the 3-diphenylphosphinoyl-2,5-dihydrofurans **4** are produced as a result of the participation of the neighboring hydroxy group as an internal nucleophile in the cyclization process. Table 3 shows the reaction times and yields of the cycloisomerization reaction of the α -hydroxyalkyl-allenephosphonates **1a-e** and allenyl phosphine oxides **2a-e**.

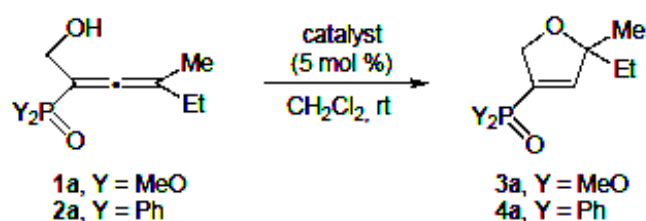


Scheme 1. AgNO₃-catalyzed cycloisomerization of the model dimethyl 1-hydroxymethyl-3-methylpenta-1,2-dienephosphonate (**1a**).

Table 1. Optimization of the AgNO₃-catalyzed cycloisomerization of the model dimethyl 1-hydroxymethyl-3-methylpenta-1,2-dienephosphonate (**1a**).

Entry	Solvent ^a	Reaction temperature (°C)	AgNO ₃ (mol %)	Yield ^b (%)
1	ClCH ₂ CH ₂ Cl	-20	10	41
2	ClCH ₂ CH ₂ Cl	0	5	55
3	ClCH ₂ CH ₂ Cl	rt	5	63
4	ClCH ₂ CH ₂ Cl	reflux	5	45
5	CHCl ₃	rt	5	58
6	EtOH	rt	5	46
7	MeCN	rt	5	45
8	THF	rt	5	40
9	toluene	rt	5	28
10	acetone	rt	5	51
11	acetone/H ₂ O	rt	5	75
12	acetone/H ₂ O	rt	10	77
13	CH ₂ Cl ₂	-20	5	72
14	CH ₂ Cl ₂	rt	5	84 ^c
15	CH ₂ Cl ₂	rt	10	82

^a Reaction was carried out in the appropriate solvent (10 mL); ^b Yields determined by ¹H and ³¹P-NMR analysis; ^c Isolated yield by chromatographic purification on silica gel.

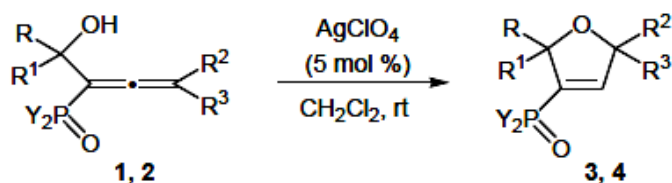


Scheme 2. Coinage metal-catalyzed cycloisomerization of the model dimethyl 1-hydroxymethyl-3-methylpenta-1,2-dienephosphonate **1a** and the model 2-diphenylphosphinoyl-4-methylhexa-2,3-dien-1-ol **2a**.

Table 2. Optimization of the coinage metal-catalyzed cycloisomerization of the model compound **1a** and the model dien-1-ol **2a**.

Entry	Catalyst	Reaction time ^a (min)		Yield ^b (%)	
		1a	2a	1a	2a
1	AuCl	20	30	97	91
2	AuCl ₃	30	35	94	89
3	AgClO ₄	30	55	83 ^c	85 ^c
4	AgNO ₃	50	65	80	80
5	PdCl ₂	100	115	73	80
6	Pd(PPh ₃) ₄	105	120	74	77
7	CuCl ₂	115	110	77	74
8	PtCl ₂	135	180	66	78
9	ZnCl ₂	160	135	50	75
10	NiCl ₂	225	395	53	36
11	SnCl ₂	310	255	38	57
12	AlCl ₃	345	340	34	32
13	CuCl	530	635	27	27
14	CuBr	545	690	29	22
15	CuI	600	725	24	23

^a On the average; ^b Yields determined by ¹H- and ³¹P-NMR analysis; ^c Isolated yield by chromatographic purification on silica gel.



Scheme 3. AgClO₄-Catalyzed cycloisomerization of the phosphorylated α-hydroxyallenes **1** and **2**.

Table 3. AgClO₄-Catalyzed cycloisomerization of the phosphorylated α-hydroxyallenes **1** and **2**.

Entry	Allene	Y	R	R ¹	R ²	R ³	Reaction time ^a (min)	Product, Yield ^b (%)
1	1a	MeO	H	H	Me	Et	30	3a , 83
2	1b	MeO	H	H	Me	Bu	35	3b , 75
3	1c	MeO	H	H	-(CH ₂) ₅ -		41	3c , 73
4	1d	MeO	H	Me	Me	Et	33	3d , 77
5	1e	MeO	Me	Me	Me	Bu	40	3e , 74
6	2a	Ph	H	H	Me	Et	55	4a , 85
7	2b	Ph	H	H	Me	Bu	58	4b , 85
8	2c	Ph	H	H	-(CH ₂) ₅ -		75	4c , 82
9	2d	Ph	H	Me	Me	Et	57	4d , 84
10	2e	Ph	Me	Me	Me	Bu	64	4e , 82

^a On the average; ^b Isolated yield by chromatographic purification on silica gel.

Conclusions

In conclusion, we have developed a coinage metal-catalyzed cycloisomerization of phosphorylated α -hydroxyallenes, which provides an efficient route to 3-phosphorylated 2,5-dihydrofurans. Due to the ready availability of the starting materials and the catalyst, the convenient operation and mild conditions (room temperature, short reaction time), the very good yields and the usefulness of the resulting 2,5-dihydrofuran products, the reaction shows potential and will be useful in organic synthesis as well in the application of the method in target-oriented synthesis. Further investigation on the chemistry of other phosphorylated allenols for the synthesis of different heterocyclic systems is being intensively carried out in our laboratory. Moreover, results of an initial investigation of the biological activity of the compounds prepared were encouraging, and the antibacterial and antifungal activities of selected compounds are now under investigation in our University.

Acknowledgments

Support from the Research Fund of the Konstantin Preslavsky University of Shumen (Projects No. RD-08-158/2018) is acknowledged.

References

1. (a) Heaney, H.; Ahn, J.S. Five-membered rings with one heteroatom and fused carbocyclic derivatives. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*; Katritzky, A.R., Rees, C.W., Scriven, E.F.V., Eds.; Pergamon Press: Oxford, UK, **1996**; Volume 2, pp. 297–436; (b) Eicher, T.; Hauptmann, S. *The Chemistry of Heterocycles: Structure, Reactions, Syntheses, and Applications*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **2003**; (c) Lipshutz, B.H. Five-membered heteroaromatic rings as intermediates in organic synthesis. *Chem. Rev.* **1986**, *86*, 795–819.
2. Ganguli, M.; Burka, L.T.; Harris, T.M. Structural studies of the mycotoxin verrucosidin. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3762–3766.
3. Franck, B.; Gehrken, H.-P. Citreoviridins from *Aspergillus terreus*. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, *19*, 461–462.
4. Yamaguchi, R.; Miyake, N.; Kato, K.; Ueno, Y. Peroxyl-radical reaction of retinyl acetate in solution. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1992**, *56*, 1529–1532.
5. (a) Boivin, T.L. B. Synthetic routes to tetrahydrofuran, tetrahydropyran, and spiroketal units of polyether antibiotics and a survey of spiroketals of other natural products. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 3309–3362; (b) Koert, U.; Stein, M.; Wagner, H. Bidirectional and convergent routes to oligo(tetrahydrofurans). *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1170–1180.
6. Perron, F.; Albizati, K.F. Chemistry of spiroketals. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1617–1661.
7. Erdsack, J.; Krause, N. Synthesis of furanomycin derivatives by Gold-catalyzed cycloisomerization of α -hydroxyallenes. *Synthesis* **2007**, 3741–3750, doi:10.1055/s-2007-990860.
8. (a) Review on synthesis of dihydrofurans: Kilroy, T.G.; O'Sullivan, T.P.; Guiry, P.J. Synthesis of dihydrofurans substituted in the 2-position. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 4929–4949; (b) Buzas, A.; Istrate, F.; Gagosz, F. Gold(I)-catalyzed stereoselective formation of functionalized 2,5-dihydrofurans. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1957–1959; (c) Liu, Y.; Song, F.; Song, Z.; Liu, M.; Yan, B. Gold-catalyzed cyclization of (*Z*)-2-en-4-yn-1-ols: Highly efficient synthesis of fully substituted dihydrofurans and furans. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5409–5412.
9. Zimmer, R.; Dinesh, C.U.; Nananan, E.; Hhan, F.A. Palladium-catalyzed reactions of allenes. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 3067–3125.
10. (a) Olsson, L.-I.; Claesson, A. Synthesis of 2,5-dihydrofurans and 5,6-dihydro-2*H*-pyrans by silver(I)-catalyzed cyclization of allenic alcohols. *Synthesis* **1979**, 743–745, doi:10.1055/s-1979-28825; (b) Nikam, S.S.; Chu, K.H.; Wang, K.K. The cyclization of trimethylsilyl-substituted α -allenic alcohols to 3-(trimethylsilyl)-2,5-dihydrofurans and their facile autoxidation to 3-(trimethylsilyl)furanones or 4-(trimethylsilyl)-2(5*H*)-furanones. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 745–747; (c) Marshall, J.A.; Sehon, C.A. Synthesis of furans and 2,5-dihydrofurans by Ag(I)-catalyzed isomerization of allenones, alkynyl allylic alcohols, and allenyl carbinols. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5966–5968; (d) Marshall, J.A.; Yu, R.H.; Perkins, J.F. Diastereo- and enantioselective synthesis of allenylcarbinols through SE2' addition of transient nonracemic propargylic stannanes to aldehydes. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5550–5555.
11. (a) Chilot, J.-J.; Doutheau, A.; Gore, J. Heterocyclisation de diols $\beta\gamma'$ -alleniques. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 4693–4696; (b) Gelin, R.; Gelin, S.; Albrand, M. Oxymercuration-demercuration d'alcools α -alleniques. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1972**, 1946–1949.

12. (a) Uemura, K.; Shiraishi, D.; Noziri, M.; Inoue, Y. Preparation of cyclic carbonates from alkadienols, CO₂, and aryl or vinylic halides catalyzed by a palladium complex. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1999**, *72*, 1063–1069; (b) Kang, S.-K.; Baik, T.-G.; Kulak, A.N. Palladium(0)-catalyzed coupling cyclization of functionalized allenes with hypervalent iodonium salts. *Synlett* **1999**, 324–326, doi:10.1055/s-1999-2613; (c) Kang, S.-K.; Yamaguchi, T.; Pyun, S.-J.; Lee, Y.-T.; Baik, T.-G. Palladium-catalyzed arylation of α -allenic alcohols with hypervalent iodonium salts: Synthesis of epoxides and diol cyclic carbonates. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2127–2130.
13. (a) Ma, S.; Gao, W. Efficient synthesis of 4-(2-alkenyl)-2,5-dihydrofurans via PdCl₂-catalyzed coupling-cyclization reaction of 2,3-allenols with allylic halides. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 8933–8936; (b) Ma, S.; Gao, W. Efficient Synthesis of 4-(2'-alkenyl)-2,5-dihydrofurans and 5,6-dihydro-2H-pyrans via the Pd-catalyzed cyclizative coupling reaction of 2,3- or 3,4-allenols with allylic halides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6104–6112.
14. (a) Yoneda, E.; Kaneko, T.; Zhang, S.-W.; Onitsuka, K.; Takahashi, S. Ruthenium-catalyzed cyclic carbonylation of allenyl alcohols. Selective synthesis of γ - and δ -lactones. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 441–443; (b) Trost, B.M.; Pinkerton, A.B. A Ruthenium-catalyzed alkylative cycloetherification. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10842–10843.
15. (a) Hoffmann-Röder, A.; Krause, N. The golden gate to catalysis. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 387–391; (b) Widenhoefer, R.A.; Han, X. Gold-catalyzed hydroamination of C-C multiple bonds. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 4555–4563, doi:10.1002/ejoc.200600399; (c) Hashmi, A.S. K.; Hutchings, G.J. Gold catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7896–7936; (d) Jimenez-Nunez, E.; Echavarren, A.M. Molecular diversity through gold catalysis with alkynes. *Chem. Commun.* **2007**, 333–343; (e) Gorin, D.J.; Toste, F.D. Relativistic effects in homogeneous Gold catalysis. *Nature* **2007**, *446*, 395–403; (f) Bongers, N.; Krause, N. Golden opportunities in stereoselective catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2178–2181.
16. (a) Hoffman-Röder, A.; Krause, N. Gold(III) chloride catalyzed cyclization of α -hydroxyallenes to 2,5-dihydrofurans. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2537–2538; (b) Krause, N.; Hoffman-Röder, A.; Canisius, J. From amino acids to dihydrofurans: Functionalized allenes in modern organic synthesis. *Synthesis* **2002**, 1759–1774, doi:10.1055/s-2002-33707; (c) Deutsch, C.; Gockel, B.; Hoffmann-Röder, A.; Krause, N. Golden opportunities in stereoselective catalysis: Optimization of chirality transfer and catalyst efficiency in the Gold-catalyzed cycloisomerization of α -hydroxyallenes to 2,5-dihydrofurans. *Synlett* **2007**, 1790–1794, doi:10.1055/s-2007-982561.
17. (a) Gockel, B.; Krause, N. Golden times for allenes: Gold-catalyzed cycloisomerization of α -hydroxyallenes to dihydropyrans. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4485–4488; (b) Morita, N.; Krause, N. Gold catalysis in organic synthesis: Efficient cycloisomerization of α -aminoallenes to 3-pyrrolines. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4121–4123; (c) Morita, N.; Krause, N. Gold-Catalyzed cycloisomerization of α -aminoallenes to 3-pyrrolines—optimization and mechanistic studies. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 4634–4641, doi:10.1002/ejoc.200600438.
18. Morita, N.; Krause, N. The First Gold-catalyzed C-S bond formation: Cycloisomerization of α -thioallenes to 2,5-dihydrothiophenes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1897–1899.
19. (a) Angelov, C.M. Five-membered heterocyclization of phosphorus-containing allenes by their reaction with electrophiles—possibilities and restrictions. *Phosphorus Sulfur* **1983**, *15*, 177–193; (b) Khusainova, N.G.; Pudovik, A.N. Phosphorylated allenes. Methods of synthesis and properties. *Russ. Chem. Rev.* **1987**, *56*, 564–578; (c) Alabugin, I.V.; Brel, V.K. Phosphorylated allenes: structure and interaction with electrophilic reagents. *Russ. Chem. Rev.* **1997**, *66*, 205–224; (d) Ma, S. Electrophilic addition and cyclization reactions of allenes. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 1679–1688.
20. Brel, V.K. Phosphonoallenes for building organophosphorus derivatives. *Heteroatom Chem.* **2006**, *17*, 547–556.
21. Brel, V.K. Synthesis and intramolecular cyclization of diethylphosphono-substituted allenic glycols. *Synthesis* **2001**, 1539–1545, doi:10.1055/s-2001-16078.
22. (a) Brel, V.K. Synthesis and cyclization of diethylphosphono-substituted α -allenic alcohols to 4-(diethylphosphono)-2,5-dihydrofurans. *Synthesis* **1999**, 463–466, doi:10.1055/s-1999-3420; (b) Brel, V.K.; Abramkin, E.V. Cyclization of allenyl phosphonates to 3-chloro-4-(diethylphosphono)-2,5-dihydrofurans induced by CuCl₂. *Mendeleev Commun.* **2002**, *12*, 64–66.
23. Brel, V.K.; Belsky, V.K.; Stash, A.I.; Zavodnik, V.E.; Stang, P.J. Synthesis and mo-

lecular structure of new unsaturated analogues of nucleotides containing six-membered rings. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 512–521.

24. (a) Christov, V.C.; Ivanov, I.K. Alkatrienyl sulfoxides and sulfones. Part VI. Cheletropic addition of sulfur dioxide to 1- and 3-vinylallenyl sulfoxides and sulfones. *Heterocycles* **2004**, 63, 2203–2206; (b) Christov, V.C.; Ivanov, I.K.; Ismailov, I.E. Bifunctionalized allenes. Part X. An electrophilic cyclization protocol for convenient highly regioselective synthesis of 3-sulfonyl-furan-2(5*H*)-ones from 2-sulfonyl-allenoates. *Heterocycles* **2013**, 87, 1903–1916.

25. (a) Ivanov, I.K.; Parushev, I.D.; Christov, V.C. Bifunctionalized allenes. Part XII. Electrophilic cyclization and addition reactions of 4-sulfinylated or 4-sulfonylated allenoates. *Phosphorus Sulfur* **2014**, 189, 1503–1513; (b) Ivanov, I. K.; Parushev, I. D.; Christov, V. Ch. Bifunctionalized allenes. Part XI. Competitive electrophilic cyclization and addition reactions of 4-phosphorylated allenecarboxylates. *Heteroatom Chem.* 2014, 25, 60-71; (c) Parushev, I.; Ivanov, I.; Christov, V. Regioselective Synthesis and Competitive Electrophilic Cyclization Reactions of 1,3-Bifunctionalized Allenes, *Acta Scientifica Naturalis*, **2014**, 1, 72-81; (d) Parushev, I.; Ivanov, I.; Christov, V. Study on the Electrophilic Reactions of 4-Heteroatom-functionalized Allenecarboxylates, *Acta Scientifica Naturalis*, **2015**, 2, Special Issue, 65-72; (e) Hasanov, H., H.; Ivanov, I., K.; Christov, V., Ch. Bifunctionalized Allenes. Part XIX. Synthesis, electrophilic cyclization/addition, and coinage metal-catalyzed cycloisomerization of phosphorylated 3-(beta-Hydroxy)allenes. *Heteroatom Chem.* **2017**, 28:e21357; (f) Christov, V. Ch.; Hasanov, H. H.; Ivanov, I. K.; Bifunctionalized Allenes. Part XVIII. Synthesis of 2,5-dihydro-1,2-oxaphospholes and 2-Phosphoryl-2,5-dihydrofurans by Electrophilic Cyclization and Coinage Metal-catalyzed Cycloisomerization of Phosphorylated 3-(alpha-Hydroxy)allenes. *Global J. Pure Applied Chem. Reports (GJPACR)* **2015**, 3, 20-36; (g) Hasanov, H. H.; Ivanov, I. K.; Christov, V. Ch. Designing Synthesis and Regioselective Cyclization Reactions of 4-Hydroxy-1,3,4-triphenylallenyl Phosphonate and Phosphine Oxide, *Acta Scientifica Naturalis*, **2015**, 2, 120-128; (h) Hasanov, H. H.; Ivanov, I. K.; Christov, V. Ch. Synthesis, Electrophilic Cyclization and Cycloisomerization Reactions of Phosphorylated

3-(alpha-Hydroxy)allenes. *Acta Scientifica Naturalis*, 2015, 2, Special Issue, 47-51; (j) Hasanov, H.; Liubenova, B.; Ivanov, I.; Christov, Ch. Synthesis and Cyclization Reactions of Phosphorylated 3-(beta-Hydroxy)allenes. *Proceedings of the XIV Conference "Natural Sciences 2016"* **2017**, 10-15.

26. Ismailov, I.E.; Ivanov, I.K.; Christov, V.C. Bifunctionalized allenes. Part XIII. A convenient and efficient method for regioselective synthesis of phosphorylated α -hydroxyallenes with protected and unprotected hydroxy group. *Molecules* **2014**, 19, 6309–6329.

27. Ismailov, I.E.; Ivanov, I.K.; Christov, V.C. Bifunctionalized allenes. Part XV. Synthesis of 2,5-dihydro-1,2-oxaphospholes by electrophilic cyclization reaction of phosphorylated α -hydroxyallenes. *Molecules* **2014**, 19, 11056–11076.

Ismail ISMAILOV
Konstantin Preslavsky University of Shumen
Department of Chemistry
115 Universitetska Str. 9700 Shumen
e-mail: i.ismailov@shu.bg

Mehtab KECHIDZHI
Konstantin Preslavsky University of Shumen
Department of Chemistry
115 Universitetska Str. 9700 Shumen
e-mail: mexatabbb.ke@abv.bg

Hatidzhe URUCHEVA
Konstantin Preslavsky University of Shumen
Department of Chemistry
115 Universitetska Str. 9700 Shumen
e-mail: atimo_1995@abv.bg

Ivaylo IVANOV
Konstantin Preslavsky University of Shumen
Department of Chemistry
115 Universitetska Str. 9700 Shumen
e-mail: i.ivanov@shu.bg

Valerij CHRISTOV
Konstantin Preslavsky University of Shumen
Department of Chemistry
115 Universitetska Str. 9700 Shumen
e-mail: v.christov@shu.bg



СЪДЪРЖАНИЕ НА ПОЛИФЕНОЛИ И АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНОСТ В ЕДИНАДЕСЕТ РАЗЛИЧНИ АРОМАТИЧНИ РАСТЕНИЯ ИЗПОЛЗВАНИ В БЪЛГАРСКАТА КУЛИНАРИЯ

Надежда Петкова, Марияна Топузова, Мина Тодорова, Иван Иванов, Пантелей Денев

POLYPHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ELEVEN DIFFERENT AROMATIC PLANTS USED IN BULGARIAN CULINARY

Nadezhda Petkova, Mariana Topuzova, Mina Todorova, Ivan Ivanov, Panteley Denev

ABSTRACT: In the present work eleven of the most widely used culinary herbs (parsley, dill, lovage, thyme, savory, oregano, basil, peppermint, spearmint, rosemary and fenugreek leaves) in the Bulgarian traditional kitchen were analyzed for biologically active substances as total phenolic content, derivatives of caffeic acids, total flavonoids content, natural pigments (chlorophylls and carotenoids). The antioxidant activity of water extracts was evaluated by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay. The highest total phenolic content and the highest antioxidant activity were found in lovage and spearmint water extracts – 86.62 and 66.67 mg GAE/g dw (total phenols) and 473 and 350 mM TE/g dw (DPPH assay). The highest total carotenoids were found in peppermint and oregano – 2285 µg/g dw and 1493 µg/g dw, respectively. The obtained herbal extracts were evaluated as rich sources of bioactive compounds with antioxidant potential. Their use in culinary technology and nutrition could improve health status of consumers. Therefore, the consumption of aromatic plant in nutrition supplied human organism with antioxidants.

Key words: polyphenols, antioxidant activity, aromatic herbs, culinary purposes

Introduction

Medicinal and aromatic plants possess many beneficial effects. These herbs and their extracts find wide application in nutrition, pharmacy, herbal and ethno medicine and cosmetics as well. Herbs and spices are sources of bioactive polyphenols that improve human health status. They act as digestive stimulant, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant and anti-carcinogenic activities (Shobana and Naidu, 2000; Zheng and Wang, 2001). In addition to phenolic compounds, these aromatic herbs contain numerous phytochemicals such as nitrogen compounds, carotenoids, and ascorbic acid.

Essential oils of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* plants has antioxidant (Şahin et al., 2004; Kulišić et al., 2007; Kaurinovic et al., 2011), antimicrobial and antifungal activities and can be used as a natural preservative ingredient in food industry (Şahin et al., 2004; Elbanna, 2017). Some extracts (Et₂O, CHCl₃, EtOAc, n-BuOH and H₂O) of this herb possessed antioxidant activities (Kaurinovic et al., 2011). The aqueous infusion inhibited LDL oxidation (Kulišić et al., 2007).

Dill (*Anethum graveolens* L.), its seeds and essential oils are used widely in the culinary industry. Dill essential oil has antibacterial activity and be used as a natural preservative in food industry (Stavri and Gibbons, 2005; Hojjati, 2017).

Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) is an important medicinal plant that exerts various pharmacological activities such as antibacterial, antimycotic, antidiabetic, anti-inflammatory, antitumor and antioxidant. The herb has also the culinary application. The rosemary extracts (E392) and essential oils are used as a natural antioxidant (Hernández et al., 2016; Andrade et al., 2018).

Parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss) is an aromatic, culinary, and medicinal plant and is used in the cosmetic, food, pharmaceutical industries (Douglas et al., 2011; Linde et al., 2016) and folk medicine. A parsley essential oil (Linde et al., 2016; Alattwani et al., 2016) and water and ethanol extracts (Farzaei et al., 2013) from its leaves possess antioxidant, antibacterial and antifungal activities. Thyme (*Thymus vulgaris* L.) is a culinary and medical plant and rich source of minerals (potassium, calcium, iron,

manganese, magnesium and selenium) and vitamins. Thyme volatile oils possess antibacterial activity (Dauqan and Abdullah, 2017).

Basil (*Ocimum basilicum* L.) is medicinal and aromatic plant and uses in culinary and folk medicine (Stanojković-Sebić et al., 2017). Basil essential oil and extracts have high antioxidant,

antibacterial and antifungal activity (Avetisyan et al., 2011; Marwat et al., 2011).

The detail information about culinary uses and medicinal properties were summarized in Table 1.

Table 1. Application of aromatic plants for culinary purpose and in traditional medicine (Meyer, 1998, Kiselova et al., 2006; Ланджев, 2010; Jana and Shekhawat, 2010; Krachanova et al., 2010; Petkova et al., 2017)

Plant Family Latin name	Common name	Used Parts	Culinary purpose	Medical use/disease treated
Apiaceae <i>Anethum graveolens</i>	Копър/ Dill leaf tips	leaf tips	salads, sauces, soups, soft cheeses, pickled cucumbers, with baked potatoes or zucchini	to relieve colic pain in babies and flatulence in young children, urinary complaints, piles and mental disorders
Apiaceae <i>Petroselinum crispum</i>	Магданоз Parsley	leaves	in salads, as a garnish, especially on potato and rice dishes, on rice dishes, on fish, fried chicken, lamb, goose, and steaks, as well in meat or vegetable stews	for diseases of the liver, stomach and urinary tract, in cardiovascular diseases, as well as in thyroid diseases
Lamiaceae <i>Ocimum basilicum</i>	Босилек Basil	leaves	As spices for pasta, roast meat, especially beef and chicken, ingredients in pesto, fresh in salads	antiseptic, spasmolytic, expectorant gastrointestinal diseases
Lamiaceae <i>Origanum vulgare</i>	Риган Oregano	leaves	for flavoring meat, especially for mutton and lamb, fish, for dressings and sauces	antioxidant, antimicrobial, antitussive
Lamiaceae <i>Rosmarinus officinalis</i>	Розмарин/ Rosemary	leaves	for breads, fish, sauces soups, different meats, soft cheeses, potatoes	antioxidant, antimicrobial,
Fabaceae <i>Trigonella foenum-graecum</i>	Сминдух/ Fenugreek	seeds	bakery products, frozen dairy products, meat products, condiments, candy, gravy sauces, in alcoholic, non-alcoholic beverages	antiviral, antimicrobial, anticancer, antioxidant metabolic syndrome and diabetes, arthritis, bronchitis, ulcer, digestive and kidney problems
Lamiaceae <i>Mentha spicata</i>	Джоджен Spearmint	leaves	soups and broths, spinach puree, lamb, sheep, stewed meats and boiled pork	indigestion, jaundice, liver diseases, gastric disorders, spasmolytic, sedative
Apiaceae <i>Levisticum officinale</i>	Девисил/ Lovage	leaves	salads, soup or season broths, as a spice for fish soup and various lamb dishes, for chicken soups, beans, sauces and meats.	stimulates secretion from the gastrointestinal tract and the lungs, acts beneficial to the cardiovascular system and the nervous system
Lamiaceae <i>Thymus vulgaris</i> L.	Мащерка/ Thyme	aerial parts	for eggs, pork, lamb, fish and game. for stuffing, stews and marinades, soups, stewed meals and sauces	expectorant, antitussive, asthma, whooping-cough, insomnia, headache, anemia, gastritis, colics and diarrhea
Lamiaceae <i>Satureja hortensis</i>	Чубрица/ Savory	aerial parts	In Bulgarian national cuisine, as a spice for lentils, green beans, peas, beans, stuffed cabbage, potatoes, in egg and meat dishes	against vomiting, in some cases with kidney, liver, bile and heart disease, for high blood pressure, headache, dizziness
Lamiaceae <i>Mentha piperita</i>	Мента/ Peppermint	leaves	herbal infusions, for flavoring icecream, candy, fruit preserves, beverage	spasmolytic, antiseptic, gastric disorders, indigestion neuralgia, myalgia, antiemetic

Most of the researches present information about antioxidant potential and bioactive compounds in infusions or extracts with organic solvents obtained from medicinal plants applied. In our study the evaluation of bioactive potential of water extracts is the most important task. Therefore, the aim of the current study was to evaluate the content of biologically active substances and antioxidant potential of green spices typically used for culinary purposes in Bulgarian kitchen.

Material and methods

Plant material

Dry culinary herbs under different trade marks were purchased from a local market in Plovdiv, Bulgaria. Some of plant materials were grown in home medicinal herb garden in Kostievo village (Plovdiv region) and Chirpan (Stara Zagora region) (Table 2). All herbs were finely ground and used for water extraction.

Extraction and determination of pigments

Total chlorophylls and carotenoids were determined spectrophotometrically with 95 % ethanol as solvent and calculated according to Lichtenthaler and Wellburn (1985).

Extraction of phenolic compounds

For the analysis of total phenolics, derivatives of caffeic acid total flavonoids and antioxidant activity, samples (2 g) were extracted with 25 mL d. H₂O. The extraction procedure was performed in an ultrasonic bath (SIEL, Gabrovo, Bulgaria, 35 kHz and 300 W) for 20 min, at 75 °C. The obtained extract was filtered and the residue was extracted again under the above mentioned conditions. The combined extracts were used for further analysis.

Total phenolics content

Total phenolic content was measured using a Folin-Ciocalteu reagent

Table 2. List of aromatic plants

№	Sample	Producer	Origin	LOT
1	Копър/ Dill leaf tips	Bioiset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	Egypt	L3026
		Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	-	L011N1711136
2	Магданоз/Parsley	Bioiset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	Egypt	L1057
3	Босилек/Basil	Giardena, Mia Foods 21 Ltd, Sofia Bulgaria	Egypt	L241117110
		Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	Egypt	L1708058
4	Риган/Oregano	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	Germany	L1709017
		Home garden	Bulgaria	-
5	Розмарин/ Rosemary	Bioiset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	Morocco	L1126
		Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	Morocco	L1711081
		Kotanyi, Gmbh, Wolkensdorf, Austria	absent	L171025 1045
		Home garden	Bulgaria	-
6	Сминдук/ Fenugreek	Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	absent	L1216N1610439
7	Джоджен/ Spearmint	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	Egypt	L1708059
		Giardena, Mia Foods 21 Ltd, Sofia Bulgaria	Egypt	
		Home garden	Bulgaria	
8	Мащерка/ Thyme	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	Egypt	L1711019
		Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	absent	L1711092
9	Девисил/ Lovage leaves	Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	absent	L0217
10	Чубрица/ Savory	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	Bulgaria	L1711021
		Bioiset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	Bulgaria	L1077
11	Мента/ Peppermint	Home garden	Bulgaria	-

Briefly, 1 ml Folin-Ciocalteu reagent diluted five times was mixed with 0.2 ml sample and 0.8 ml

7.5% Na₂CO₃. The reaction was performed for 20 min at room temperature in darkness. The absorbance was measured at 765 nm against

blank using a Camspec VIS spectrophotometer (UK). The results were expressed as mg equivalent of gallic acid (GAE) per g dried weight (dw) (Ivanov et al., 2014).

Total caffeic acid derivates

The herbal water extract (1 ml) was added to 2 ml 0.5 M HCl, 2 ml Arnow's reagent, 2 ml NaOH (2.125 M) and 3 ml of water. Each solution was compared with the same mixture without Arnow's reagent. Absorbance was read at 525 nm. Total dihydroxycinnamic acid content (including caffeoyl derivatives) was expressed as mg chlorogenic acid derivates (CAE) per g dw (Ivanov et al., 2014).

The total flavonoids content

The total flavonoids content was measured using the aluminium nitrate colorimetric method at 415 nm against blank. The results were presented as mg equivalents quercetin (QE) per g dry weight (dw) (Ivanov et al., 2014).

The DPPH radical-scavenging ability

Water extract (0.15 ml) was mixed with 2.85 ml freshly prepared 0.1mM solution of DPPH in methanol. The sample was incubated for 15 min at 37 °C in darkness. The reduction of absorbance was measured at 517 nm in comparison to the blank containing methanol and % inhibition was calculated (Ivanov et al., 2014).

Results and discussion

Total chlorophylls and carotenoids

The bioactive compounds in culinary herbs were evaluated. The detailed information about natural pigment as chlorophylls and carotenoids were listed in Table 3. The content of all remaining green pigments was also proposed as a tool to measure the impact of drying treatments on aromatic herb (Lafeuille et al., 2014).

Table 3. Natural pigments in aromatic plants

№	Sample	Producer	Chl a	Chlb	Chl a+b	Total carotenoids
1	Копър/ Dill leaf tips	Bioset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	416.1	196.2	612.3	57.2
		Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	421.3	108.8	517.5	42.5
2	Магданоз/ Parsley	Bioset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	1817.0	650.1	2450.5	316.7
3	Босилек/ Basil	Giardena, Mia Foods 21 Ltd, Sofia Bulgaria	16.3	9.6	25.9	1138
		Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	231.8	152.4	384.0	34.2
4	Риган/ Oregano	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	194.3	84.0	278.0	1493.0
		Home garden	897.4	323.2	1220.6	205.5
5	Розмарин/ Rosemary	Bioset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	58.9	35.9	94.71	20.2
		Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	62.6	57.4	119.1	17.9
		Kotanyi, Wolkensdorf, Austria	102.3	-	146.4	-
		Home garden	64.3	36.8	101.0	18.8
6	Сминдух/ Fenugreek	Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	166.3	106.3	272.2	24.6
7	Джоджен/ Spearmint	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	465.8	283.1	309.5	53.2
		Giardena, Mia Foods 21 Ltd, Sofia Bulgaria	186.2	94.5	280.5	45.3
		Home garden Chirpan	290.5	150.8	441.0	63.8
8	Мащерка/ Thyme	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	105.2	366.1	471.3	156.6
		Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	475.9	456.9	635.6	124.6
9	Девисил/ Lovage	Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	298.6	156.5	446.8	56.9
10	Чубрица/ Savory	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	47.3	182.0	568.3	133.5
		Bioset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	212.5	88.6	301.8	68.2
		Home garden	113.4	43.6	157.0	36.4
11	Мента/ Peppermint	Home garden	4570.5	2507.2	7080.0	2285.0

The highest total chlorophylls content was detected in the peppermint leaves – 7080 µg/g dw, followed by the parsley– 2450 µg/g dw and the oregano leaves – 1220.6 µg/g dw. The total chlorophylls content in parsley were higher than previous report of Yamauchi and Watada (1995). Both plants (peppermint and oregano) were grown in home herbal gardens and shade dried. In comparison with home garden oregano, in the commercial oregano leaves the level of chlorophylls was six time lower, but the content of carotenoids were the highest. The highest total carotenoids were found in peppermint and oregano – 2285 µg/g dw and 1493 µg/g dw, respectively (Table 3). The lowest level of chlorophylls was detected in basil packed by Giardena, Mia Foods 21 Ltd, Sofia Bulgaria – 25.9 µg/g dw. In comparison with previous reports the investigated trademarks basil showed lower levels of chlorophylls content (Kopsell et al., 2005). In general among the investigated aromatic plants rosemary showed the lowest values of natural pigments – chlorophylls and carotenoids.

The consumption of aromatic plants as culinary herb provided the significant level of carotenoids was strongly associated with decreasing risk of cancer and eye diseases (Kopsell et al., 2005).

Total phenolic content and total flavonoid content

Total phenolic content, total flavonoid content and derivatives of caffeic acid of water extracts of aromatic plants were evaluated (Table 4). The total phenolic content ranges from 7.3 to 86.6 mg GAE/g dw. The highest results demonstrated the lovage water extract – 86.6 mg GAE/g and the lowest values were found in parsley – 7.3 mg GAE/g dw. The total phenolic content lower in the following order: lovage>spearmint>savory>> thyme> peppermint> rosemary>oregano> fenugreek>basil>dill>parsley. Our data for total phenolic content of basil water extracts were in good agreement and higher than previous reports of Kaurinovic et al. (2011).

Nour et al. (2017) reported that significant part of phenolic acids, in lovage is due to ellagic acid whereas sinapic and vanillic acids were prevalent in dill. The obtained results for total

phenolic contents in lovage water extracts were significantly higher than previously reported data (Zheng and Wang, 2001; Nour et al., 2017). However, the observed values for total phenols in dill and parsley were in good agreement with reports of Nour et al., (2017) - 418 mg GAE/100 g for dill and 360.89 mg GAE/100 g. Our results for total phenolic content of water extracts of rosemary, thyme, fenugreek and oregano were higher than the reported values of Wojdylo et al., (2007). Our results for total phenols content in water extract of fenugreek, spearmint and basil were in accordance with Krachanova et al., (2010), while their values for peppermint and thyme were higher than our observation.

The highest content of caffeic acid derivatives was found in lovage -21.3 mg CAE/g dw and home garden savory - 20.1 mg CAE/g dw (Table 4). The difference between herbs and the content of total phenolic even in equal aromatic plants were likely due to genotypic and environmental differences (climate, location, temperature, fertility, diseases and pest exposure) within species, choice of parts tested, time of taking samples and determination methods (Wojdylo et al., 2007).

The highest content of flavonoids was determined in rosemary and lovage leaves. The lowest levels of total flavonoids were found in fenugreek and some trademarks of spearmint (Table 4). The total flavonoids content lower in the following order: rosemary>lovage>oregano >savory> thyme> dill> basil> parsley> peppermint> spearmint >> fenugreek. According to Nour et al. (2017) among flavonoids, myricetin was predominant in parsley leaves whereas rutin was predominant in dill and lovage.

Antioxidant activity

Total antioxidant activity evaluated by the DPPH method, ranged from 6.7 to 473 mM TE/g dw (Table 4). The highest antioxidant activity was detected in water extracts of lovage - 473 mM TE/g. The highest level of total phenolic content influence on antioxidant potential of lovage extracts. The same tendency was reported by Nour et al., (2017) however their data was for methanol extract of this plant.

Table 4. Biologically active substances and antioxidant activity in water herbal extracts

№	Sample	Producer	TPC, mg GAE/g dw	TF, mg QE/g dw	DCA, mg CAE/g dw	DPPH, mM TE/g dw
1	Копър/ Dill leaf tips	Bioset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	15.3	5.6	-	72.5
		Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	14.2	4.6	6.8	62.5
2	Магданоз/ Parsley	Bioset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	7.3	3.5	1.8	26.2
3	Босилек/ Basil	Giardena, Mia Foods 21 Ltd, Sofia Bulgaria	12.9	2.4	8.8	100.7
		Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	19.0	4.0	15.0	118.8
4	Риган/ Oregano	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	18.3	13.55	-	182.5
		Home garden	17.3	6.2	-	89.1
5	Розмарин/ Rosemary	Bioset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	19.3	4.3	18.1	122.5
		Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	21.8	8.8	18.1	152.5
		Kotanyi, Gmbh, Wolkensdorf, Austria	14.7	17.2	13.5	79.9
		Home garden	14.7	1.5	12.9	70.6
6	Сминдух/ Fenugreek	Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	19.8	0.1	-	6.7
7	Джоджен / Spearment	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	66.8	0.2	21.3	350.0
		Giardena, Mia Foods 21 Ltd, Sofia Bulgaria	18.8	1.9	5.3	187.8
		Home garden	21.7	3.6	7.9	200.0
8	Мащерка/ Thyme	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	16.2	4.1	9.3	87.5
		Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	24.3	5.9	13.3	149.9
9	Девисил Lovage leaves	Mercury P&P Co, Gabrovo, Bulgaria	86.6	13.5	5.5	473
10	Чубрица/ Savory	Picantina, Kendy Ltd, Bankia Bulgaria	28.5	7.7	7.7	156.9
		Bioset Ltd, Plovdiv, Bulgaria	21.0	6.2	6.7	130.0
		Home garden	56.0	9.9	20.1	190.4
11	Мента/ Peppermint	Home garden	16.2	2.3	6.7	42.7

- not detected

In our study, five aromatic plants (lovage, spearmint, thyme, rosemary and savory) demonstrated higher antioxidant activity. All investigated savory samples showed promising antioxidant potential 150-200 mM TE/g dw. In the current study only four aromatic plants possessed antioxidant activity below 100 mM TE/g dw – dill, parsley, peppermint and fenugreek. In addition, peppermint and thyme showed lower values for total phenolic content and antioxidant activity in water extracts in comparison with our previous

reports (Kolaneva et al., 2016; Petkova et al., 2017). This could be explained with growth conditions of the plants and extraction procedure.

Conclusion

The current research demonstrated the values of bioactive compounds in eleven culinary herbs, widely used in the traditional Bulgarian cuisine, but among them lovage, spearmint, savory, rosemary and oregano were distinguished in

terms of antioxidant activity and polyphenol compounds. This study enriched information about commonly used aromatic plants in culinary technology and demonstrated the potential beneficial effect after consumption of this plants.

References

1. Ланджев, И. 2010. *Енциклопедия на лечебните растения в България*. София, Книгоиздателска къща Труд.
2. Alattwani R. R. H., R. Kh. Abudaljalil, R. Al. Ha. Alhashimi, 2016 „Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of *Petroselinum crispum* (Mill) nym essential oil isolated from Maysan city Iraq, “Global Journal of Advanced Research”, 3(3), pp. 151-156.
3. Andrade J. M., C. Faustino, C. Garcia, D. Ladeiras, C.P. Reis, P. Rijo, 2018 “*Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity”, *Future Sci. OA*, FSO283.
4. Avetisyan A., A. Markosian, M. Petrosyan, N. Sahakyan, A. Babayan, S. Aloyan, A. Trchounian, 2017 “Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars”, *BMC Complement Alternative Medicine*, 17, pp. 60.
5. Dauqan E. M. A., A. Abdullah, 2017 “Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb”, *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 5(2), pp. 017-022.
6. Douglas S. A. Chavea, Flávia S. Frattani, Mariane Assafim, A. P. de Almeida, Russolina B. Zingal, Sônia S. Costa, 2011 “Phenolic chemical composition of *Petroselinum crispum* extract and its effect on haemostasis, *Natural Product Communications*, 6(7) pp. 961-964.
7. Elbanna Kh., 2017 “The Oil of Oregano (*Origanum vulgare*)”, *Inform*, 28(3), 19.
8. Farzaei M. H., Z. Abbasabadi, M. R. Shams Ardekani, R. Rahimi, F. Farzaei, 2013 “Parsley: a review of ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities”, *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 33(6): 815-826.
9. Hernández M. D., J. A. Sotomayor, Á. Hernández, M. J. Jordán, 2016. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Oils. In: Preedy, V.R. (Ed.), *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Academic Press, pp. 677–688.
10. Hojjati M., Chemical constituents and antibacterial activity of dill (*Anethum graveolens*) essential oil, *Proceedings of the 15th ASEAN Conference on Food Science and Technology*, November 14-17, 2017, Ho Chi Minh, Vietnam.
11. Ivanov I., R. Vrancheva, A. Marchev, N. Petkova, I. Aneva, P. Denev, V. Georgiev, Pavlov A., 2014. “Antioxidant activities and phenolic compounds in Bulgarian *Fumaria* species”, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(2), pp. 296- 306.
12. Jana S. and G. S. Shekhawat 2010 “*Anethum graveolens*: An Indian traditional medicinal herb and spice”, *Pharmacognosy Review*, 4(8), pp. 179-184.
13. Kaurinovic B., M. Popovic, S. Vlasisavljevic, Sv. Trivic, 2011 “Antioxidant capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. extracts”, *Molecules*, 16, pp. 7401-7414.
14. Kiselova Y., D. Ivanova, T. Chervenkov, D. Gerova, B. Galunska, T. Yankova, 2006 „Correlation between the in vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs“. *Phytotherapy Research*, 20(9) pp. 61-965.
15. Kolaneva, S., I. Ivanov, N., Petkova, D. Mihaylova, 2016 “Polyphenolic profile and in vitro antioxidant activities of herbal infusions from commercially available *Mentha piperita*”. *Proceedings of the XIII National Conference “Natural Science” 2015*, 25-27 September, Varna,; 11- 15
16. Kratchanova M., P. Denev, M. Ciz, An. Lojek, At. Mihailov, 2010 “Evaluation of antioxidant activity of medicinal plants containing polyphenol compounds. comparison of two extraction systems”, *Acta Biochimica Polonica*, 57(2) pp. 229–234.
17. Kulišić T., An. Kriško, V. Dragović-Uzelac, Ml. Miloš, Gr. Pifat, 2007 “The effects of essential oils and aqueous tea infusions of oregano (*Origanum vulgare* L. spp. *hirtum*), thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) on the copper-induced oxidation of human low-density lipoproteins”, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58(2), pp. 87-93
18. Lafeuille J.-L. , St. Lefèvre, J. Lebuhotel, 2014 “Quantitation of chlorophylls and 22 of their colored degradation products in culinary aromatic herbs by HPLC-DAD-MS and cor-

- relation with color changes during the dehydration process”, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 62(8), pp 1926-1935.
19. Lichtenhaler H.K., A.R. Wellburn, 1985 “Determination of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf in different solvents, *Biol. Soc. Trans.*, 11, pp. 591-592.
 20. Linde G.A., Z.C. Gazim, B.K. Cardoso, L.F. Jorge, V. Tešević, J. Glamočlija, M. Soković, N.B. Colauto, 2016. “Antifungal and antibacterial activities of *Petroselinum crispum* essential oil”, *Genetics and Molecular Research* 15 (3): gmr.15038538.
 21. Maroufpoor M., A. Ebadollahi, Y. Vafaei, Ed. Badiee, 2016 “Chemical composition and toxicity of the essential oil of *Coriandrum sativum* L. and *Petroselinum crispum* L. against three stored-product insect pests, *TEOP* 19 (8), pp. 1993 – 2002.
 22. Marwat S. Kh., Fazal-Ur-Rehman, M. Shoaib Khan, S. Ghulam, N. Anwar, Gh. Mustafa, Kh. Usman, 2011 “Phytochemical constituents and pharmacological activities of sweet basil-*Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae)”, *Asian Journal of Chemistry*, 23(9) pp. 3773-3782.
 23. Meyer, J. 1998. Authentic Hungarian Heirloom Recipes Cookbook, ed. 2. Meyer & Assoc.
 24. Nour V., I. Trandafir, S. Cosmulescu, 2017 “Bioactive compounds, antioxidant activity and nutritional quality of different culinary aromatic herbs”, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45(1), pp. 179-184.
 25. Petkova N., L. Ivanova, G. Filova, I. Ivanov, P. Denev, 2017 “Antioxidants and carbohydrate content in infusions and microwave extracts from eight medicinal plants”, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7 (10), pp. 055-061.
 26. Şahin F., M. Güllüce, D. Daferera, A. Sökmen, M. Sökmen, M. Polissiou, G. Agar, H. Özer, 2004 “Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey, *Food Control*, 15, pp. 549–557.
 27. Shobana S, A. K. Naidu, 2000 “Antioxidant activity of selected Indian spices”, *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 62, pp. 107-110.
 28. Stanojković-Sebić A., Z. Dinić, R. Ilić, R. Pivić, Dr. Jošić, 2017 “Effect of indigenous *Pseudomonas chlororaphis* strain on morphological and main chemical growth parameters of basil (*Ocimum basilicum* L.), *Ratarstvo i povrtarstvo*, 54(2) pp. 42-47.
 29. Stavri M., S. Gibbons, 2005 “The antimycobacterial constituents of dill (*Anethum graveolens*), *Phytotherapy Research*, 19, pp. 938–941.
 30. Wojdyło A., J. Oszmianski, R. Czemerys 2007 “Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs,”. *Food Chemistry*, 105, pp. 940-949.
 31. Yamauchi, N., Al. E. Watada, 1993 “Pigment changes in parsley leaves during storage in controlled or ethylene containing atmosphere”, *Journal of Food Science*, 58(3), pp. 616-618.
 32. Zheng W., S. Wang, 2001 “Antioxidant activity and phenolic composition in selected herbs”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), pp. 165-517.

Nadezhda Petkova

e-mail: petkovanadejda@abv.bg

University of Food Technologies, Department of Organic Chemistry and Inorganic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002, Plovdiv, Bulgaria

Mariana Topuzova

e-mail: marianagt@mail.bg

University of Food Technologies, Department of Organic Chemistry and Inorganic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002, Plovdiv, Bulgaria

Mina Todorova

e-mail: mm_todorova@abv.bg

University of Food Technologies, Department of Organic Chemistry and Inorganic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002, Plovdiv, Bulgaria

Ivan Ivanov

e-mail: ivan.ivanov1979@yahoo.com

University of Food Technologies, Department of Organic Chemistry and Inorganic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002, Plovdiv, Bulgaria

Panteley Denev

e-mail: denev57@abv.bg

University of Food Technologies, Department of Organic Chemistry and Inorganic Chemistry
26 Maritza Blvd., 4002, Plovdiv, Bulgaria



РЕАКЦИИ НА 4-(ДИМЕТОКСИФОСФОРИЛ)- И 4-(ДИФЕНИЛФОСФОРИЛ)- АЛЕН-КАРБОКСИЛАТИ С ЕЛЕКТРОФИЛНИ РЕАГЕНТИ

Ивайло Парушев, Силвия Гунева, Арзу Ешреф, Ивайло Иванов, Валерий Христов

REACTIONS OF 4-(DIMETHOXYPHOSPHORYL)- AND 4-(DIPHENYLPHOSPHORYL)-ALLEN CARBOXYLATES WITH ELECTROPHILIC REAGENTS

Ivaylo Parushev, Silviya Guneva, Arzu Eshref, Ivaylo Ivanov, Valerij Christov

ABSTRACT: Reaction of alkyl 4-(dimethoxyphosphoryl)- and 4-(diphenylphosphinoyl)-allenecarboxylates with different electrophilic reagents such as sulfur chloride, bromine, benzenesulfonyl and benzeneselenyl chlorides takes place with 5-endo-trig cyclization or 2,3-addition reaction depending on the kind of the substituents in phosphoryl group.

Key words: bifunctionalized allenes, 2,5-dihydro-1,2-oxaphospholes, furan-2(5H)-ones, 2,3-adducts.

Introduction

The synthetic potential of functionalized allenes has been explored extensively in recent years, and this has led to the development of novel methods for the construction of a variety of functionalized heterocyclic and carbocyclic systems [1]. Allenic compounds are interesting also for their potential biological activities [1a, 2].

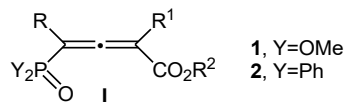
The literature data on the reactions of functionalized allenes with electrophilic reagents show that depending on the structure of the starting allenic compound as well as the type of the electrophile, the reactions proceed with obtained of the heterocyclic, or/and acyclic compounds or a mixture of them [3-6].

α -Allenecarboxylic acids and their esters, disubstituted on the γ -carbon atom, underwent electrophilic attack on the central atom and ring closure to furan-2(5H)-ones (γ -lactones) when treated with electrophile [3].

On the other hand, literature data on the reactions of phosphorylated allenes (phosphonates, phosphinates and phosphine oxides) with electrophilic reagents show that depending on the structure of the starting allenic compound as well as the type of the electrophile, the reactions proceed with cyclization of the allenic system bearing phosphoryl group ($O=P-C=C=C$) to give heterocyclic compounds in most cases [4].

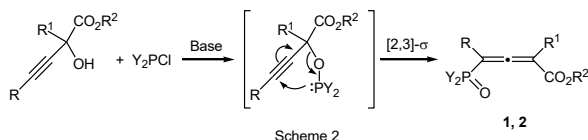
Results and Discussion

As a part of our long-standing studies directed toward the development of efficient electrophilic cyclization reactions of bifunctionalized allenes [5], we become interested in 1,3-bifunctionalized allenes comprising a phosphoryl and an ester groups such as **I** (Scheme 1).



Scheme 1

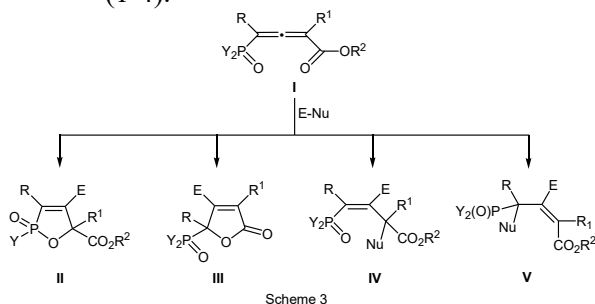
This molecule can be considered as a combination of an allenecarboxylate and an allenephosphonate or allenyl phosphine oxide and might have different reactivity profiles in electrophilic reactions. Recently, we presented a convenient and efficient method for regioselective synthesis of 4-phosphorylated allenecarboxylates, derived by an atom economical [2,3]-sigmatropic rearrangement of the mediated alkoxycarbonyl-functionalized propargyl phosphites or phosphinites formed by reaction of the alkyl 2-hydroxy-alk-3-ynoates with dimethylchlorophosphite or diphenylchlorophosphine respectively in the presence of a base (Scheme 2).



The resulting 4-heteroatom-functionalized allenecarboxylates **1** and **2** allowed us to study its chemical behavior during the reactions with different electrophilic reagents such as sulfuryl chloride, bromine, benzenesulfanyl and benzeneselenanyl chlorides.

From general considerations as well as from the literature data on the electrophilic addition reactions to allenecarboxylates [3] and phosphorylated allenes [4], the following pathways of the reactions could be assumed (Scheme 3):

- 1) Attack of the reagent on the C²-C³ double bond of the allenecarboxylate system and following neighboring group participation of the phosphoryl group as internal nucleophile and ring closure to the five-membered cyclic compound **II**;
- 2) Attack of the reagent on the C³-C⁴ double bond of the allenecarboxylate system and following neighboring group participation of the ester group as internal nucleophile and ring closure to the five-membered cyclic compound **III**;
- 3) Attack of the reagent on the C²-C³ double bond with formation of the 3,2-adduct **IV**;
- 4) Attack of the reagent on the C³-C⁴ double bond with formation of the 3,4-adduct **V**;
- 5) Elimination reactions after realization of some of the above mentioned pathways (1-4).



We found that the interaction of the alkyl 4-(dimethoxyphosphoryl)-alka-2,3-dienoates **1** with electrophilic reagents in dichloromethane at -20°C occurs with 5-*endo-trig* cyclization by neighboring participation of phosphonate and carboxylate groups as an internal nucleophiles to give mixtures of the 5-ethoxycarbonyl-2,5-

dihydro-1,2-oxaphospholes **5** and the 5-(dimethoxyphosphoryl)-furan-2(5*H*)-ones **6** as shown in Scheme 4.

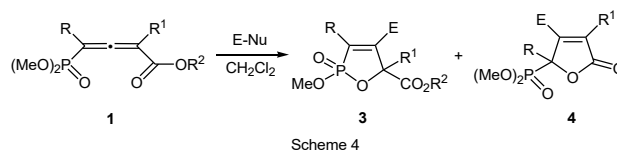


Table 1. Synthesis of the 5-Ethoxycarbonyl-2,5-dihydro-1,2-oxaphospholes **3** and the 5-(Dimethoxyphosphoryl)-furan-2(5*H*)-ones **4**

R	R ¹	R ²	E	3 , Yield,%	4 , Yield,%	Ratio
Pr	Me	Et	Cl	3aa , 50	4aa , 28	1.79 : 1
Pr	Me	Et	SePh	3ad , 46	4ad , 28	1.64 : 1
Pr	Ph	Me	Br	3bb , 45	4bb , 28	1.61 : 1
Pr	Ph	Me	SePh	3bd , 48	4bd , 29	1.66 : 1
Bu	Me	Et	Br	3cb , 51	4cb , 28	1.82 : 1
Bu	Me	Et	SePh	3cd , 46	4cd , 29	1.59 : 1
Ph	Ph	Et	Cl	3fa , 49	4fa , 27	1.81 : 1
Ph	Ph	Et	Br	3fb , 50	4fb , 28	1.79 : 1
Ph	Ph	Et	SPh	3fc , 45	4fc , 28	1.61 : 1
Ph	Ph	Et	SePh	3fd , 47	4fd , 27	1.74 : 1

The 4-(Diphenylphosphinoyl)-alk-(3*E*)-enoates **5** were prepared by the *chemo*-, *regio*-, and *stereoselective* electrophilic addition to the C²-C³-double bond in the allenecarboxylate system of the alkyl 4-(diphenylphosphinoyl)-alka-2,3-dienoates **2** (Scheme 5).

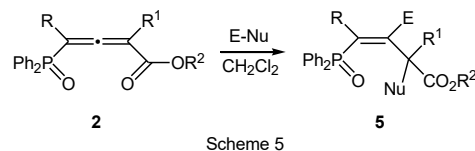
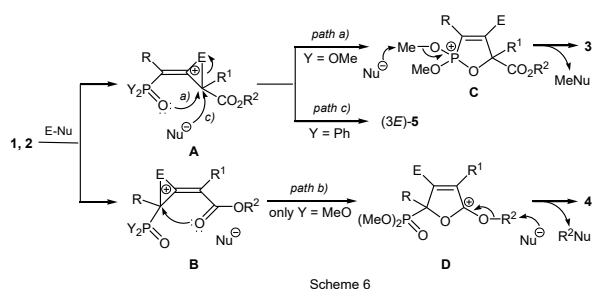


Table 2. Synthesis of the 4-(Diphenylphosphinoyl)alk-(3*E*)-enoates **5**

R	R ¹	R ²	E	Nu	5 , Yield, ^a %
Bu	Me	Et	Br	Br	5cb , 70
Bu	Me	Et	SePh	Cl	5cd , 64
Bu	Ph	Me	Br	Br	5db , 73
Bu	Ph	Me	SePh	Cl	5dd , 65
Ph	Me	Et	Br	Br	5eb , 72
Ph	Me	Et	SePh	Cl	5ed , 64
Ph	Ph	Et	Cl	Cl	5fa , 69
Ph	Ph	Et	Br	Br	5fb , 71
Ph	Ph	Et	SPh	Cl	5fc , 66
Ph	Ph	Et	SePh	Cl	5fd , 63

Thus, on the basis of the literature data [1, 3] and our previous results, a rationale for this reaction is depicted in Scheme 6.

The initial act is the attack of the electrophile on the most nucleophilic atom of the allenic system of π -bonds (C^3) with the formation of the cyclic onium (chloronium, bromonium, thiiranium or seleniranium) ion A after attack on the relatively more electron-rich C^2 - C^3 -double bond or the ion B after attack on the C^3 - C^4 -double bond. Subsequently, the ions A and B are easily transformed into the more stable five-membered cyclic ions C and D via the neighbouring group participation of the oxygen atom of the phosphonate (*path a*) and carboxylate functionalities (*path b*) respectively. Further, the intermediates C and D undergo nucleophilic attacks to MeO or R^2O groups and elimination of methyl (MeNu) or alkyl halides (R^2Nu) affording the final cyclic products 3 and 4 (*path a* and *path b*). On the other hand, in the case of 4-(diphenylphosphoryl)-allenoates 2 (Y is Ph) as starting materials, the formation of the final (3*E*)-4-(diphenylphosphoryl)alk-3-enoates 4 can be considered in term of the assumption for the nucleophilic attack on the cyclic three-membered onium ions A (*path c*) leading to the formation of the (3*E*)-2,3-adduct 5.



The stereoselectivity observed may be explained by the favorable *trans* arrangement of the electrophile and the phosphine oxide group and *anti*-attack of the external nucleophile Nu in the onium ions A (*path c*).

In the experimental terms, the progress of all reactions was monitored thin layer chromatography and IR spectroscopy. The obtained products were isolated and purified by column chromatography, and the structure of the synthesized compounds was established by IR, 1H , ^{13}C , and ^{31}P NMR-spectroscopy.

Conclusion

The present investigation outline the following points:

1). The reaction of the 4-phosphorylated allenecarboxylates with different electrophilic reagents proceeded with 5-*endo-trig* cyclization

or 2,3-addition reaction depending on the kind of the substituents in phosphoryl group. Treatment of the 4-(dimethoxyphosphoryl)-allenoates with electrophiles gives mixtures of 2,5-dihydro-1,2-oxaphospholes and furan-2(5*H*)-ones as a result of the competitive neighbouring group participation of phosphonate and carboxylate groups in the cyclization. On the other hand, 4-(diphenylphosphoryl)-alk-(3*E*)-enoates were prepared by the *chemo*-, *regio*-, and *stereoselective* electrophilic addition to the C^2 - C^3 -double bond in the allenoate system;

2). Further studies on the synthetic applications of this reaction and the physiological activity of selected cyclic and acyclic products are now under investigation in our laboratory.

Acknowledgment

We gratefully acknowledge the financial support by Research Fund of the Konstantin Preslavsky University of Shumen (Project No. RD-08-158/2018).

References

- [1] (a) Krause, N.; Hashmi, A. S. K., Eds., *Modern Allene Chemistry*, Vol. 1 & 2, Wiley-VCH: Weinheim, **2004**; (b) Gangadhararao, G.; Kotikalapudi, R.; Reddy M.; Kumara Swamy, K. *C. Beilstein J Org Chem* **2014**, *10*, 996–1005; (c) Alcaide, B.; Almendros P.; Aragoncillo C. *Chem Soc Rev* **2014**, *43*, 3106–3135; (d) Ma, S. *Aldrichimica Acta* **2007**, *40*, 91–102; (e) Hassan, H. H. A. M. *Curr Org Synth* **2007**, *4*, 413–439; (f) Back, T. G.; Clary, K. N.; Gao, D. *Chem Rev* **2010**, *110*, 4498–4553; (g) Neff, K.; Frantz E. *Tetrahedron* **2015**, *71*, 7–18.
- [2] (a) Ignatova-Ivanova, Ts.; Stefanova I.; Ismailov I. E.; Ivanov, I. K.; Christov, V. Ch.. *International Journal of Research Studies in Bio Sciences (IJRSB)*, **2015**, *3*, 39–44; (b) Ignatova-Ivanova, Ts.; Stefanova I.; Ismailov I. E.; Ivanov, I. K.; Christov, V. Ch.. *Int J Curr Microbiol App Sci* **2015**, *4*, 589–595.
- [3] (a) Kresze, G.; Kloimstein, L.; Runge, W. *Liebigs Ann Chem* **1976**, 979–986; (b) Gill, G. B.; Idris, M. S. H. *Tetrahedron Lett* **1985**, *26*, 4811–4814; (c) Shingu, K.; Hagishita, S.; Nakagawa, M. *Tetrahedron Lett* **1967**, 4371–4374; (d) Ma, S.; Wu, S. *J Org Chem* **1999**, *64*, 9314–9317; (e) Ma, S.; Shi, Z.; Yu, Z. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 12137–12148; (f) Ma, S.; Wu, S. *Tetrahedron Lett* **2001**, *42*, 4075–4077; (g) Ma, S.; Pan, F.; Hao, X.; Huang, X. *Synlett*

2004, 85-88; (h) Fu, C.; Ma, S. *Eur. J Org Chem* **2005**, 3942-3945; (i) Chen, G.; Fu, C.; Ma, S. *Tetrahedron* **2006**, 62, 4444-4452; (j) Zhou, C.; Ma, Z.; Gu, Z.; Fu, C.; Ma, S. *J Org Chem* **2008**, 73, 772-774.

[4] (a) Angelov, C. M. *Phosphorus Sulfur* **1983**, 15, 177-193; (b) Khusainova, N. G.; Pudovik, A. N. *Russ Chem Rev* **1987**, 56, 564-578; (c) Alabugin, I. V.; Brel, V. K. *Russ Chem Rev* **1997**, 66, 205-224; (d) Ma, S. *Acc Chem Res* **2009**, 42, 1679-1688; (e) Brel, V. K.; *Heteroatom Chem* **2006**, 17, 547-556; (f) Enchev, D. D. *Top Heterocycl Chem* **2010**, 21, 23-62.

[5] (a) Part I. Christov, V. Ch.; Nikolova, R.; Prodanov, B. *Phosphorus Sulfur Silicon* **2000**, 166, 275-281; (b) Part II. Christov, V. Ch.; Prodanov, B. *Phosphorus Sulfur Silicon* **2000**, 166, 265-273; (c) Part III. Christov, V. Ch.; Prodanov, B. *Heterocyclic Commun* **2002**, 8, 349-354; (d) Part IV. Christov, V. Ch.; Prodanov, B. *Phosphorus Sulfur Silicon* **2002**, 177, 243-249; (e) Part V. Christov, V. Ch.; Prodanov, B. *Heterocycles* **2002**, 57, 1777-1780; (f) Part VI. Christov, V. Ch.; Prodanov, B. *Synth Commun* **2004**, 34, 1577-1588; (g) Part VII. Christov, V. Ch.; Ivanova, J. G. *Synth Commun* **2006**, 36, 2231-2244; (h) Part VIII. Ivanov, I. K.; Christov, V. Ch. *Phosphorus Sulfur Silicon* **2013**, 188, 913-919; (i) Part X. Christov, V. Ch.; Ivanov, I. K.; Ismailov, I. E. *Heterocycles* **2013**, 87, 1903-1916; (j) Ismailov, I. E.; Ivanov, I. K.; Christov, V. Ch. *Acta Scientifica Naturalis*, **2014**, 1, 82-89; (k) Ismailov, I. E.; Ivanov, I. K.; Christov, V. Ch. *Molecules* **2014**, 19, 11056-11076. (l) Hasanov, H. H.; Ivanov, I. K.; Christov, V. Ch. *Acta Scientifica Naturalis*, **2015**, 2, 120-128.

[6] Part IX. Ivanov, I. K.; Parushev, I. D.; Christov, V. Ch. *Heteroatom Chem* **2013**, 24, 322-331.

Ивайло Дианов Парушев, гл. ас. д-р
Шуменски университет „Епископ Константин Преславски” – Шумен
Катедра „Химия“
Шумен 9700, ул. Университетска 115
е-mail: i.parushev@shu.bg

Силвия Красиминова Гунева, студентка от специалност „Медицинска химия”
Шуменски университет „Епископ Константин Преславски” – Шумен
Катедра „Химия“
Шумен 9700, ул. Университетска 115
е-mail: k_oxt@abv.bg

Арзу Хасан Ешреф, студентка от специалност „Медицинска химия”
Шуменски университет „Епископ Константин Преславски” – Шумен
Катедра „Химия“
Шумен 9700, ул. Университетска 115
е-mail: k_oxt@abv.bg

Ивайло Кънчев Иванов, доц. д-р
Шуменски университет „Епископ Константин Преславски” – Шумен
Катедра „Химия“
Шумен 9700, ул. Университетска 115
е-mail: i.ivanov@shu.bg

Валерий Христов Христов, проф. дхн
Шуменски университет „Епископ Константин Преславски” – Шумен
Катедра „Химия“
Шумен 9700, ул. Университетска 115
е-mail: v.christov@shu.bg



ЕЛЕКТРОФИЛНИ РЕАКЦИИ НА 1,2,4- И 1,3,4-АЛКАТРИЕНИЛ ФОСФИН ОКСИДИ

Ивайло Иванов, Хасан Хасанов, Цветан Ценов, Седа Ляtif, Валерий Христов

ELECTROPHILIC REACTIONS OF 1,2,4- AND 1,3,4- ALKATRIENYL PHOSPHINE OXIDES

Ivaylo Ivanov, Hasan Hasanov, Tzvetan Tzenov, Seda Latif, Valerij Christov

ABSTRACT: Results on the examined electrophilic cyclization of the phosphorylated vinylallenes, possessing a vinyl group on the 1- or 3-place in the allenic system, will be discussed in the report. We studied the reactions with different electrophilic reagents. It has been established that a heterocyclization of vinylallenic system of double bonds proceeds in more cases.

Key words: allenyl phosphine oxide, synthesis, cyclization, 2,5-dihydro-1,2-oxaphosphole, selenophene, thiophene

Introduction

Functionalized allenes have attracted a growing attention because of their versatility as key building blocks for organic synthesis. The synthetic potential of functionalized allenes has been explored extensively in recent years, and this has led to the development of novel methods for the construction of a variety of functionalized heterocyclic and carbocyclic systems (Ma, 2007; Hassan, 2007; Back et al., 2010). An impressive number of heterocyclic systems has been prepared from allenic starting materials.

Functionalized allenes are very interesting substrates as a material of choice to study the electrophilic addition reactions on the carboncarbon double bonds (Angelov, 1983; Khusainova and Pudovik, 1987; Alabugin and Brel, 1997; Ma, 2009; Brel, 2006). Unlike the allenic hydrocarbons, the presence of a functional group linked to the allenic system, considerably changes the course of the reactions with electrophilic reagents. It has been shown (Angelov, 1983; Khusainova and Pudovik, 1987; Alabugin and Brel, 1997; Ma, 2009; Brel, 2006) that the reactions proceeded with cyclization of the allenic system bearing a functional group to give heterocyclic compounds in most cases.

Literature data on the reactions of phosphorylated allenes (phosphonates, phosphinates and phosphine oxides) with electrophilic reagents show that depending on the structure of the starting allenic compound as well

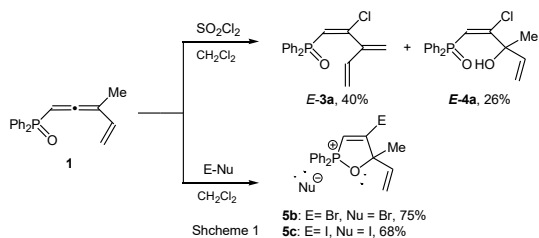
as the type of the electrophile, the reactions proceed with cyclization of the allenic system bearing phosphoryl group ($\text{O}=\text{P}-\text{C}=\text{C}=\text{C}$) to give heterocyclic compounds in most cases (Angelov, 1983; Khusainova and Pudovik, 1987; Alabugin and Brel, 1997; Ma, 2009; Brel, 2006). Thus, the reaction of electrophilic reagents with dialkyl allenephosphonates (Angelov, 1983; Khusainova and Pudovik, 1987; Alabugin and Brel, 1997; Ma, 2009; Brel, 2006) or allenyl phosphine oxides (Angelov et al., 1982; Khusainova et al., 1982; Enchev et al., 1991) leads to 2,5-dihydro-1,2-oxaphospholes or/and 2,1- or/and 2,3-adducts or a mixture of them, depending on the degree of substitution at the C^1 and C^3 atoms of the allenic system, on the nature of these substituents, and on the type of the reagents. Recently, it was also observed by S. Ma and coworkers (Guo et al., 2008; He et al., 2009; He et al., 2009) that the electrophilic iodohydroxylation (Guo et al., 2008), fluorohydroxylation (He et al., 2009) and selenohydroxylation (He et al., 2009) reactions of allenyl phosphine oxides with iodine, Selectfluor and benzeneselenanyl chloride affording 2-iodo(respectively 2-fluoro or 2-phenylselenanyl)-3-hydroxy-1(*E*)-alkenyl phosphine oxides with high regio- and stereoselectivities, which the authors (Angelov et al., 1982; Khusainova et al., 1982; Enchev et al., 1991) believed to be determined by the neighbouring group participation effect of the diphenyl phosphine oxide functionality.

As a part of our long-standing programme on the synthesis and cyclization reactions of mono- and bi-functionalized allenes, we report in present article results of the synthesis of vinylallenyl phosphine oxides and the reactions with different electrophilic reagents such as chlorine, bromine, iodine, methane- or benzenesulfanyl chlorides and benzeneselenenyl chloride in regard to the study of the cyclization reactions.

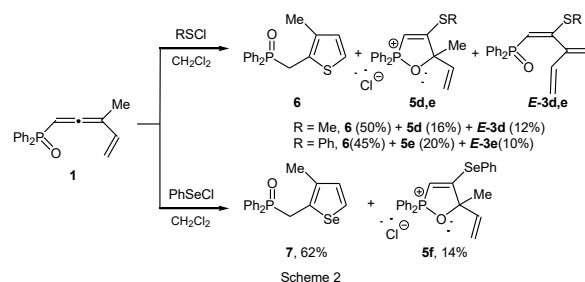
Results and Discussion

Electrophilic Cyclization Reactions of Diphenyl 3-Methyl penta-1,2,4-trienyl Phosphine Oxide (Ivanov and Christov, 2013)

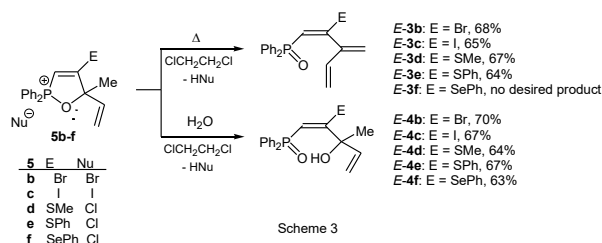
Electrophilic reactions of the 3-vinylallenyl phosphine oxide **1** occur in different pathways depending on the used electrophiles (Scheme 1). Chlorination of the phosphine oxide **1** proceeded with formation of a mixture of the trienyl phosphine oxide *E*-**3a** and the 3-hydroxy-1,4-dienyl phosphine oxide *E*-**4a**, while the bromination and iodination reactions were carried out with five-membered heterocyclization of the allenic system of double bonds bearing a phosphoryl group (C=C=C-P=O) to give 2,5-dihydro-1,2-oxaphosphol-2-ium bromide **5b** and iodide **5c**.



Reaction of the 1,2,4-trienyl phosphine oxide **1** with methane- and benzenesulfenyl chlorides proceeds with two types of electrophilic cyclization to give mixtures of the 2-(diphenylphosphorylmethyl)-thiophene **6**, the 4-methyl(phenyl)sulfenyl-2,5-dihydro-1,2-oxaphosphol-2-ium chlorides **5d** and **5e**, and their dehydrochlorination products – the (1*E*)-3-methylene-2-methyl(phenyl)-sulfenyl-penta-1,4-dienyl diphenyl phosphine oxides **3d** and **3e**. In a similar way, a mixture of the 2-(diphenylphosphorylmethyl)-selenophene **7** and the 4-phenylselenenyl-2,5-dihydro-1,2-oxaphosphol-2-ium chloride **5f** was obtained from the reaction of the vinylallenyl phosphine oxide **1** with benzeneselenenyl chloride.

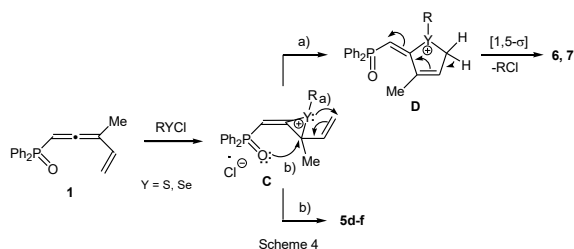


Heating at reflux of the cyclic phosphonium salts **5** in 1,2-dichloroethane for 3 h provoked elimination of hydrogen halide and C⁵-O bond cleavage in the ring with generation of the 3-methylene-penta-1,4-dienyl phosphine oxides *E*-**3b–e** in good yield (64–68%) as shown in Scheme 2. The attempts at an elimination reaction of hydrogen chloride of the 4-phenylselenenyl-2,5-dihydro-1,2-oxaphosphol-2-ium chloride **5f** were not successful. In all cases, no traces of the expected 1,4-dienyl phosphine oxide **3f** were detected. Instead complex mixtures of decomposed products were obtained. The hydrolysis reaction of the 2,5-dihydro-1,2-oxaphosphol-2-ium halides **5b–f** occurs with the water molecule attack at the positively charged phosphorus atom to cleave the P-O bond, [13–15] which results in the formation of final (1*E*)-1-(diphenylphosphoryl)-3-methyl-penta-1,4-dien-3-ols **4b–f** in 63–70% yields, according to the sequence outlined in Scheme 3.



Formation of the thiophene **6** and selenophene **7** as well as the 2,5-dihydro-1,2-oxaphosphol-2-ium chlorides **5d–f** (Schemes 2) is in accordance with the following reaction mechanisms (Scheme 4). The initial act is the attack of electrophilic sulfur or selenium on the most nucleophilic atom of the trienic system of p bonds (C²) with the formation of the cyclic onium (thiiranium or seleniranium) ions **C** after an attack on the relatively electron-rich C²-C³ double bond. The ions **C** are in the plane of the p bond of the vinyl group (*s-cis* conformation), and for this reason, **C** are easily transformed into the more stable five-membered cyclic ions **D**. Further, the ions **D** undergo elimination of methyl or phenyl chloride, [1,5]-prototropic shift, and aromatization to

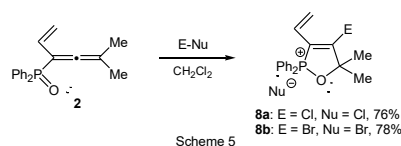
give the thiophene **6** or selenophene **7**. The five-membered cyclic phosphonium chlorides **5d-f** is formed via neighboring group participation of the oxygen atom of the diphenyl phosphine oxide functionality in the stage of ions **C** formation.



The simultaneous realization of the both heterocyclization processes is connected with introduction of the allenic and 1,3-dienic parts of the trienic system into the reaction course. This fact is obviously a result the ability of the sulfur and selenium to form cyclic ions, (Capozzi et al., 1990; Schmid and Garratt., 1975) which are further transformed into five-membered heterocyclic compounds.

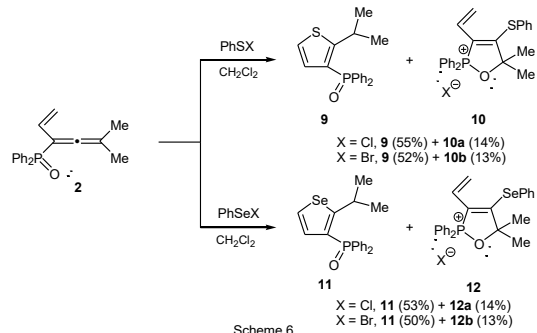
Electrophilic Cyclization Reactions of Diphenyl 5-Methyl-1,3,4-hexatriene-3-yl Phosphine Oxide (Ivanov and Christov, 2012)

Halogenation of the vinylallenyl phosphine oxide **2** (Scheme 5) proceeded with formation of the 4-halo-2,2-diphenyl-3-vinyl-2,5-dihydro-1,2-oxaphosphol-2-ium chloride **8a** or bromide **8b** in 76% and 78% yield. Obviously, the electrophilic halocyclization reaction occurs by neighboring group participation of the phosphine oxide group with formation of the five-membered cyclic products **8**.

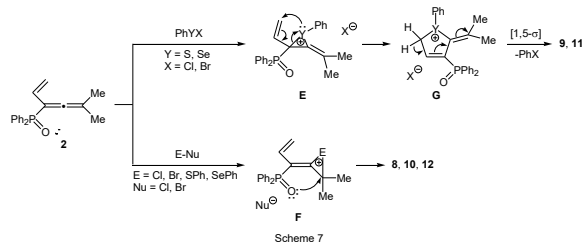


Surprisingly (Scheme 6), the reaction of 1,3,4-trienyl phosphine oxide **2** with benzenesulfonyl chloride or bromide proceeds with two types of electrophilic cyclization by neighboring group participation of both the vinylic double bond and the phosphine oxide group to give mixtures of 3-(diphenylphosphinoyl)-2-isopropyl-thiophene **9** and 2,2-diphenyl-4-phenylsulfenyl-3-vinyl-2,5-dihydro-1,2-oxaphosphol-2-ium chloride **10a** or bromide **10b** in 65% and 69% overall yields. In a similar way, ca. 3.8:1 mixture of 3-

(diphenylphosphinoyl)-2-isopropyl-selenophene **11** and 2,2-diphenyl-4-phenylselenenyl-3-vinyl-2,5-dihydro-1,2-oxaphosphol-2-ium chloride **12a** or bromide **12b** was obtained with 67% and 63% overall yield from the reaction of 1-vinylallenyl phosphine oxide **2** with benzeneselenenyl chloride or bromide.



On the basis of previous results (Christov and Ivanov, 2002; Christov and Ivanov, 2002; Christov and Ivanov, 2003; Christov and Ivanov, 2004), a plausible mechanism is proposed (Scheme 7). The initial act is the attack of the electrophile (X^+ , S^+ , or Se^+) on the most nucleophilic atom of the trienic system of π -bonds (C^4) with the formation of two cyclic onium (halogenonium, thiiranium, or seleniranium) ions **E** and **F** after attacks on the relatively electron-rich C^4-C^5 (in all cases) and C^3-C^4 (in the case of sulfanyl and selanyl electrophiles only) double bonds, respectively. The ions **E** are in the plane of the π -bond of the vinyl group (*s-cis* conformation), and for this reason **E** are easily transformed into the more stable five-membered cyclic ions **G**. Furthermore, the ions **G** undergo elimination of phenyl halide, 1,5-prototropic shift, and aromatization to give thiophene **9** or selenophene **11**. The five-membered cyclic phosphonium chlorides and bromides **8**, **10**, and **12** are formed via neighboring group participation of the oxygen atom of the diphenyl phosphine oxide functionality in the stage of ion **F** formation. The simultaneous realization of the both heterocyclization processes is connected with introduction of the allenic and 1,3-dienic parts of the trienic system into the reaction course. This fact is obviously a result the ability of the sulfur and selenium to form cyclic ions, (Capozzi et al., 1990; Schmid and Garratt, 1975) which are further transformed into five-membered heterocyclic compounds.



In experimental terms, the progress of all reactions was monitored thin layer chromatography and IR spectroscopy, the obtained products were isolated and purified by column chromatography, and the structure of the synthesized compounds was established by IR, ^1H , ^{13}C - and ^{31}P -NMR spectroscopy.

Conclusion

We noted the following points from this investigation: (1) Electrophile reactions of the vinylallenyl phosphine oxides **1** and **2** proceed with heterocyclization of vinylallenic system of double bonds to give different heterocyclic compounds in more cases; (2) Electrophilic cyclization reactions of the phosphine oxides **1** and **2** occur in different pathways depending on the kind of electrophile and the place of the vinyl group; (3) Halogenation reactions lead to preparation of heterocyclic phosphonium salts or high unsaturated trienyl phosphine oxides probably through intermediate formation of 1,2-oxaphosphol-2-ium chloride; (4) Reactions with sulphenyl and selenenyl chlorides proceed with 1,2-oxaphospholic, thiophenic, or selenophenic heterocyclization; (5) Trienyl phosphine oxides **1** and **2** are versatile synthons for heterocyclic compounds in organic synthesis.

Results of an initial investigation of the physiological activity of the heterocyclic compounds prepared were encouraging and the activity of selected compounds is now under extensive investigation.

Acknowledgment

We gratefully acknowledge the financial support by Research Fund of the Konstantin Preslavsky University of Shumen (Project No. RD-08-158/2018).

References

- Alabugin, I. V., V. K. Brel. 1997. Phosphorylated Allenes: Structure and Interaction with Electrophiles *Russ. Chem. Rev.* 66, 205-224.
- Angelov, C. M. 1983. Five-membered heterocyclization of phosphorus containing allenes by their reaction with electrophiles - possibilities and restrictions *Phosphorus Sulfur* 15, 177-193.
- Angelov, Ch. M., Ch. Zh. Christov, B. I. Ionin. 1982. Chlorination of tertiary allenic phosphine oxides. *Zh. Obshch. Khim.*, 52, 264-268.
- Back, T. G., K. N. Clary, D. Gao. 2010. Cycloadditions and Cyclizations of Acetylenic, Allenic, and Conjugated Dienyl Sulfones *Chem. Rev.* 110, 4498-4553.
- Brel, V. K. 2006. Phosphonoallenes for building organophosphorus derivatives. *Heteroatom Chem.* 17, 547-556.
- Capozzi, G., G. Modena, L. Pasquato. 1990. *The Chemistry of Sulphenyl Halides and Sulphenamides*; S. Patai (Ed.); John Wiley & Sons: Chichester, Ch. 10.
- Christov, V. Ch., I. K. Ivanov. 2002. Alkatrienyl sulfoxides and sulfones. Part I. 3-Methyl-1,2,4-pentatrienyl phenyl sulfoxide - synthesis and electrophile-induced cyclization reactions. *Phosphorus Sulfur Silicon* 177, 2445-2454.
- Christov, V. Ch., I. K. Ivanov. 2002. Alkatrienyl sulfoxides and sulfones. Part II. (5-Methyl-1,3,4-hexatriene-3-yl) phenyl sulfoxide - synthesis and electrophile-promoted cyclization reactions. *Sulfur Lett.* 25, 191-198.
- Christov, V. Ch., I. K. Ivanov. 2003. Alkatrienyl sulfoxides and sulfones. Part III. 5-Methyl-3-(methylsulfonyl)hexa-1,3,4-triene - synthesis and electrophile-induced cyclization reactions. *Heterocyclic Commun.* 9, 629-634.
- Christov, V. Ch., I. K. Ivanov. 2004. Alkatrienyl sulfoxides and sulfones. Part IV. Synthesis and electrophile-induced cyclization reactions of 3-methyl-1-methylsulfonylpenta-1,2,4-triene. *Phosphorus Sulfur Silicon* 179, 1681-1690.
- Enchev, D. D., Ch. M. Angelov, E. Krawchik, A. Skowronska, J. Michalski. 1991. 2,5-Dihydro-1,2-oxaphospholene derivatives by the reaction of 1,2-alkadienephosphonates and phosphorus pseudohalogens. *Phosphorus Sulfur Silicon*, 57, 249-253.
- Guo, H., R. Qian, Y. Guo, S. Ma. 2008. Neighboring group participation of phosphine oxide functionality in the highly regio- and stereoselective iodohydroxylation of 1,2-allenyl diphenyl phosphine oxides. *J. Org. Chem.* 73, 7934-7938.
- Hassan, H. H. A. M. 2007. Recent progress in the chemistry of allenes. *Curr. Org. Synth.* 4, 413-439.
- He, G., C. Fu, S. Ma. 2009. Studies on highly regio- and stereoselective

fluorohydroxylation reaction of 3-aryl-1,2-allenyl phosphine oxides with Selectfluor. *Tetrahedron* 65, 8035-8042.

15. He, G., H. Guo, R. Qian, Y. Guo, C. Fu, S. Ma. 2009. Studies on highly regio- and stereoselective selenohydroxylation reaction of 1,2-allenyl phosphine oxides with PhSeCl. *Tetrahedron* 65, 4877-4889.

16. Khusainova, N. G., A. N. Pudovik. 1987. Phosphorylated allenes. Methods of synthesis and properties. *Russ. Chem. Rev.* 56, 564-578.

17. Ivanov, I. K., V. Ch. Christov. 2012. Synthesis and electrophilic cyclization reactions of diphenyl 5-methyl-hexa-1,3,4-trien-3-yl phosphine oxide. *Heteroatom Chem.* 23, 345-351.

18. Ivanov, I. K., V. Ch. Christov. 2013. Synthesis and electrophilic cyclization reactions of diphenyl 3-methyl-penta-1,2,4-trienyl phosphine oxide. *Synth. Commun.* 43, 800-809.

19. Khusainova, N. G., L. V. Naumova, E. A. Berdnikov, A. N. Pudovik. 1982. Interaction of phosphorylated allenes with sulfonyl chlorides. *Zh. Obshch. Khim.*, 52, 1040-1045.

20. Ma, S. 2007. Recent advances in the chemistry of allenes. *Aldrichimica Acta* 40, 91-102.

21. Ma, S. 2009. Electrophilic addition and cyclization reactions of allenes. *Acc. Chem. Res.* 42, 1679-1688.

22. Schmid, G. H., D. G. Garratt. 1975. The preparation of seleniranium and selenirenium ions. *Tetrahedron Lett.* 16, 3991-3994.

Ivaylo Ivanov

Konstantin Preslavsky University of Shumen
Department of Chemistry

115 Universitetska Str., 9700 Shumen

e-mail: i.ivanov@shu.bg

Hasan Hasanov

Konstantin Preslavsky University of Shumen
Department of Chemistry

115 Universitetska Str., 9700 Shumen

e-mail: h.hasanov@shu.bg

Tzvetan Tzenov

Konstantin Preslavsky University of Shumen
115 Universitetska Str., 9700 Shumen

e-mail: tzvetan1989@abv.bg

Seda Latif

Konstantin Preslavsky University of Shumen
115 Universitetska Str., 9700 Shumen

e-mail: seda_lqtif@abv.bg

Valerij Christov

Konstantin Preslavsky University of Shumen
Department of Chemistry

115 Universitetska Str., 9700 Shumen

e-mail: v.christov@shu.bg



ИЗПОЛЗВАНЕ НА INVENTOR ПРИ ПРОЕКТИРАНЕ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН СТЕНД ЗА ИЗПИТВАНЕ НА ВАЛОВЕ

Георги Тонков, Гергана Тонкова

APPLICATION OF INVENTOR FOR THE DESIGN OF A SHAFT TEST RIG

Georgi Tonkov, Gergana Tonkova

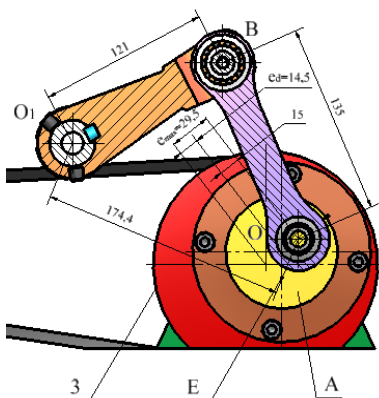
ABSTRACT: The capabilities of the CAD software - Autodesk Inventor, which is specialized in the field of mechanical engineering, are explored. A justification for the choice was made. With the selected CAD system a complete design of an experimental shaft test bench was performed. The used CAD program allows an optimization of the designed and tested mechanical constructions according to different criteria - strength indicators, kinematic norms, quality characteristics, mass, size, load capacity, durability, cost, economic efficiency. Part of the generated CAD models and the built-in structural documentation of the stand are graphically visualized.

Key words: design with Inventor, shaft test rig, design and documentation

Въведение

Inventor е специализирана в машиностроенето CAD система. Отнася се към системите от среден клас и е водеща в приложната си област. Развива се от компанията Autodesk (САЩ), която през осемдесетте години на двадесети век създава и най-популярния софтуер за графично проектиране – AutoCAD. Към момента регистрираните потребители на Autodesk по света са над 11 милиона. В последните години Inventor е най-динамично развиващата се CAD система [6,7,8].

В професионалната сфера Inventor се използва за моделиране, дизайн и проектиране на машинни елементи, механични предавки и трансмисии, сглобени единици, възли, механизми, машини, съоръжения и метални конструкции (фиг. 1) [4,5].



Фиг. 1 Проектиране в Inventor на механизми

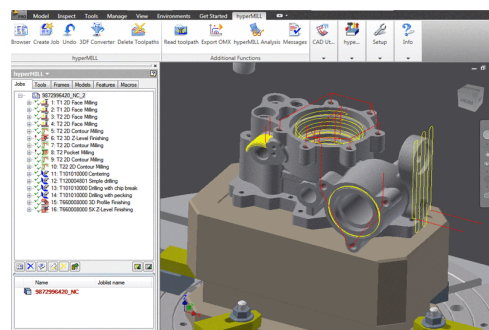
Софтуерната среда на системата позволява създаване на дигитални прототипи със симулиране на работните условия, при което значително се намалява времето и стойността на произвеждания краен продукт.

Цел

В софтуерната среда на Inventor да бъде проектиран експериментален стенд за изпитване на валове, като се направи обосновка за избора на използваната CAD система.

Възможности и приложение на Autodesk Inventor в промишлеността

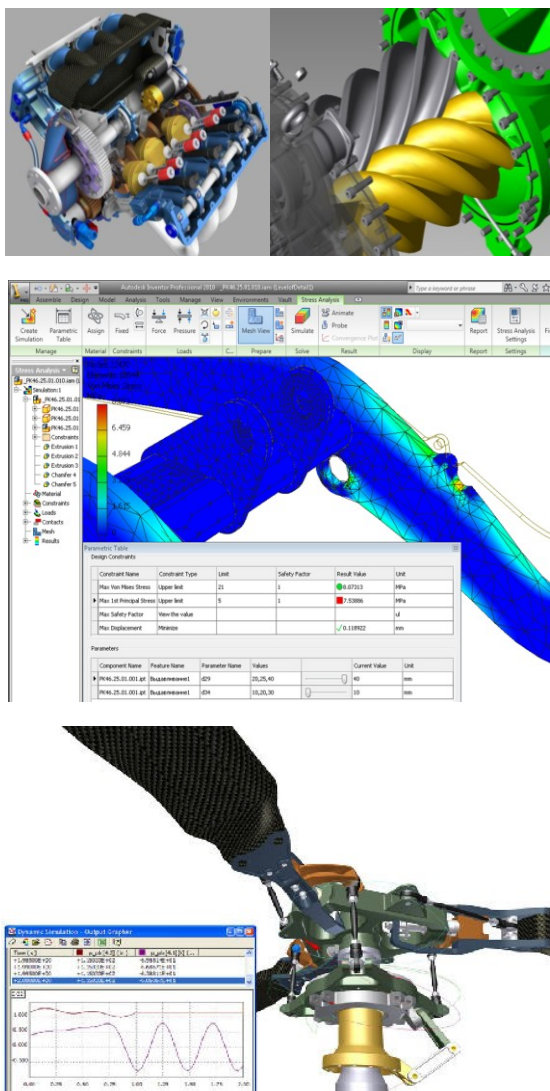
Inventor представлява универсална 3D CAD система, която обхваща всички етапи от работата на конструктора – от идейния проект, през техническата документация до прогнозиране на жизнения цикъл на изделието - PLM-технологии [6] (фиг. 2).



Фиг. 2 Моделиране на процеси в Inventor

Възможностите на Inventor се използват от всички области на машиностроенето:

➤ В тежкото машиностроене – при проектиране на различни силови задвижвания, трансмисии и механични предавки, при сложни якостни анализи и други (фиг. 3) [3].



Фиг. 3 Силови и динамични симулации с Autodesk Inventor

➤ В леката промишленост и транспортната техника - за проектиране, естетическо оформление (дизайн), симулации, анимации и получаване на реалистични изображения (фиг. 3).

➤ При изграждането на метални конструкции – използва се рамковият генератор (фиг. 4).

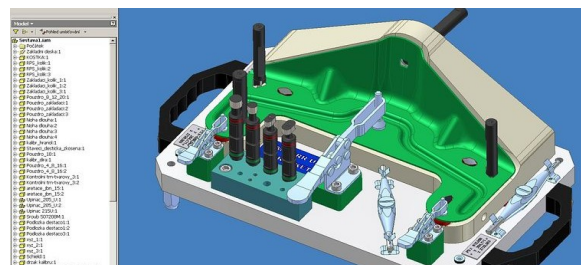
➤ При проектирането на тръбопроводни системи и при електрокабеляването. Inventor притежава инструментариум за проектиране на тръбопроводна арматура (фланци, кранове, фитинги, уплътнения, крепежителни и фикси-

ращи елементи) и електрическо окабеляване (фиг. 4).



Фиг. 4 Проектиране на рамкови конструкции, тръбни и електроинсталации с Autodesk Inventor

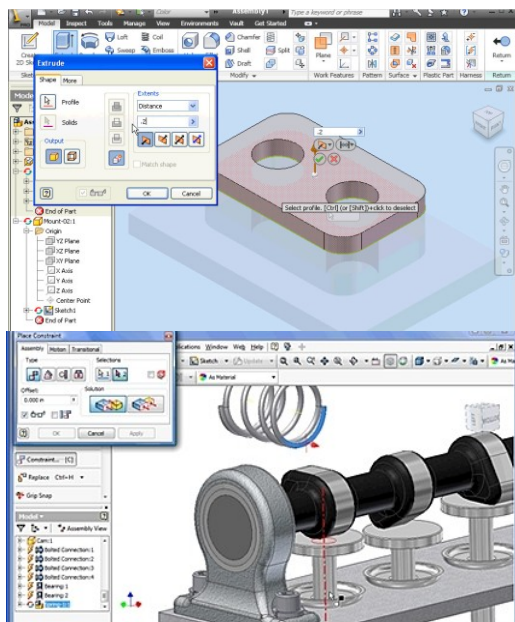
➤ При конструиране и анализа на шприц форми за изделия от полимери в различни разновидности (фиг. 5 и фиг. 12).



Фиг. 5 Проектиране на рамкови конструкции и матрични форми с Inventor

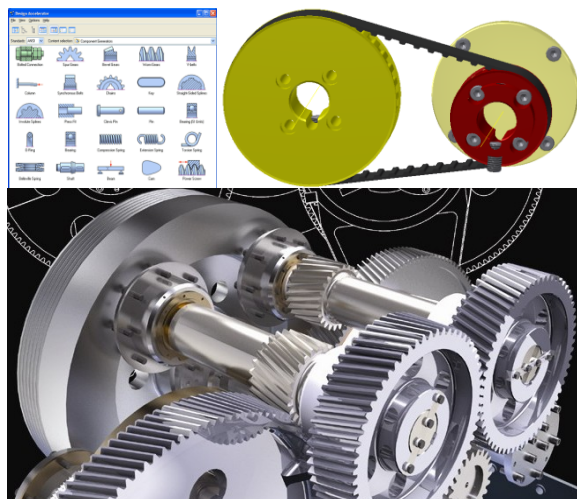
Inventor съдържа голяма библиотека от стандартни елементи и мощен генератор за механични предавки. Притежава добра мо-

делна параметричност, което позволява всяка една част от модела да бъде управлявана чрез различен параметър (фиг. 6).



Фиг. 6 Параметрично моделиране и документиране с Autodesk Inventor

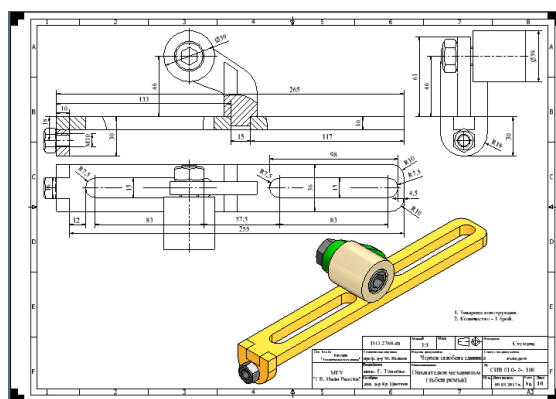
Inventor позволява точно и бързо генериране на механични трансмисии, окомплектовани със стандартни елементи, което му дава най-голямото предимство пред всички останали CAD системи [1,4,5,7,8]. Генерираните 3D CAD модели могат да бъдат оптимизирани автоматично по различни критерии (фиг. 7).



Фиг. 7 Автоматизирано генериране на съединения и механични предавки с Inventor

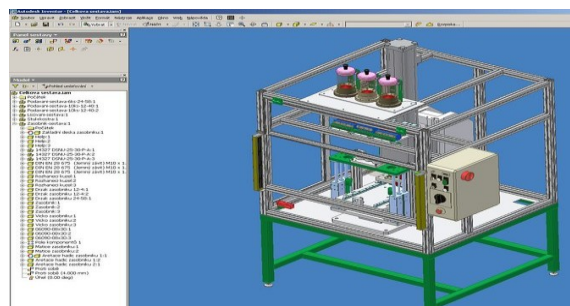
Използваният от Inventor DWG формат е на практика най-разпространения софтуерен чертожен формат. Техническата документация генерирана от Inventor по този начин мо-

же да бъде прочетена и използвана от всеки един софтуер отварящ DWG файлове (фиг. 8).



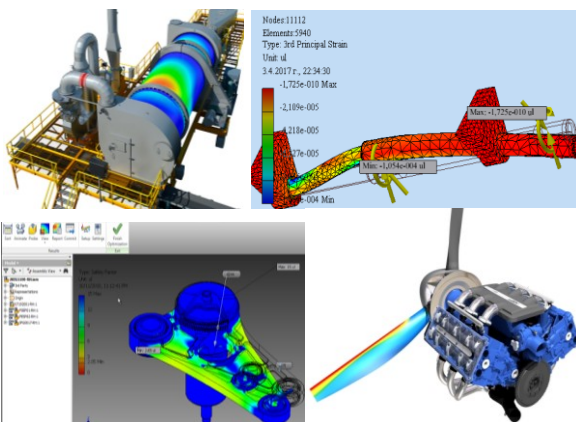
Фиг. 8 Чертожен формат с разширение dwg, използван от Inventor за графично документиране

При генериране на рамкови конструкции се използват стандартни (по ISO, DIN, GOST, ANSI и др.) и потребителски профили, които могат да бъдат механично сглобени, заварени, силово натоварени (фиг. 9).



Фиг. 9 Проектиране на рамкови конструкции с Autodesk Inventor

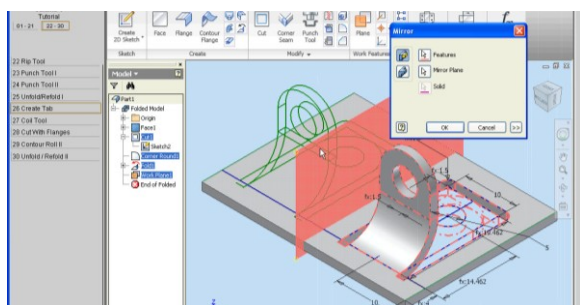
Inventor предлага извършване на якостен и динамичен анализ при изчисляване и оптимизиране на детайли, сглобени единици и механични конструкции (фиг. 10).



Фиг. 10 Якостен и динамичен анализ, извършван от Autodesk Inventor

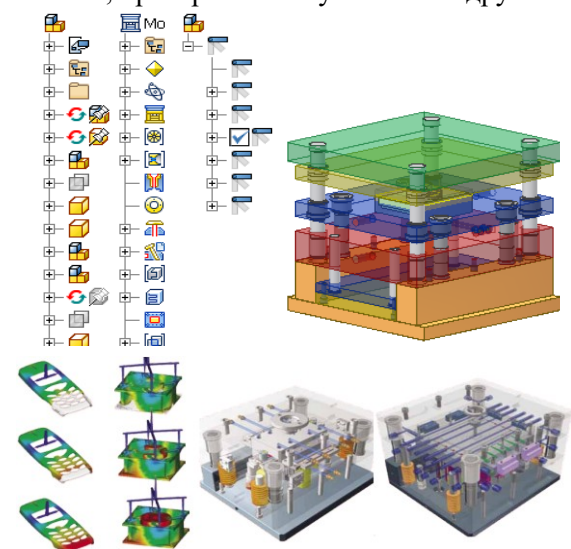
Резултатите от динамичната симулация се използват за интегриран анализ по МКЕ, за установяване на опасното сечение и предвиждане на максималните напрежения и отклонения при най-неблагоприятното натоварване [3].

Детайли от листов материал – Inventor позволява да се проектират детайли, които съдържат различни преходи, сгъвки, отвори, избушвания и т. н. (фиг. 11). Модела се проектира тримерно в реално положение като от него се получава директно разгъвката, която може да бъде оразмерена в чертожен файл с разширение dwg или dxf и да бъде дадена за директно изрязване.



Фиг. 11 Проектиране на детайли и разгъвки от листов материал с Autodesk Inventor

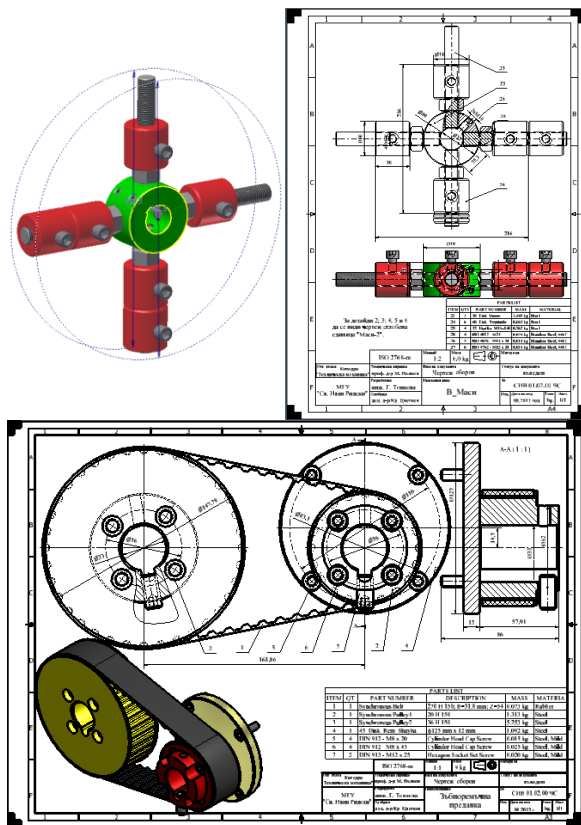
Autodesk Inventor притежава висока продуктивност при проектиране на различни по вид форма и сложност пластмасови изделия и инструментите за тяхното производство – шприц форми, поансони, матрици (фиг. 12). В средата на Inventor се извършва анализ на запълване, проверка за всмукнатини и други.



Фиг. 12 Проектиране с Inventor на шприц-форми и детайли от полимери

Техническа документация – при документирането от моделите, създадени в Inventor

директно се извлича цялата необходима информация, при което се генерират необходимите проекции, изгледи, разрези, сечения. Извършва се пълно, лесно и бързо оразмеряване със задаване на необходимите отклонения от размери и форма, графавост, текстова и таблична информация и др. Използват се готови стандартни формати или потребителски такива (фиг. 13).



Фиг. 13 Изготвяне на конструкторска документация с Autodesk Inventor

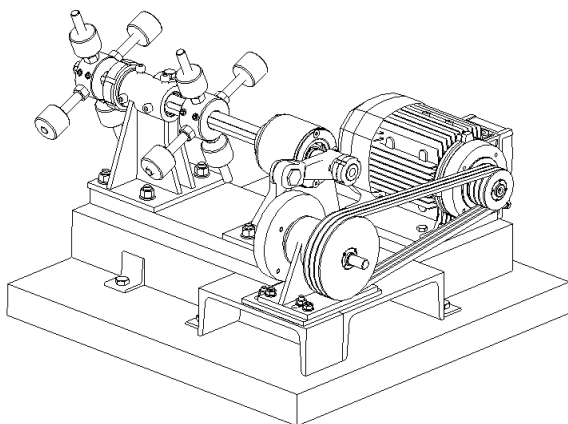
Inventor поддържа различни файлови формати, включително и такива от други CAD системи, а Autodesk Inventor Fusion – позволява създаване, отваряне и редактиране на всякакви видове тримерни детайли и сглобени единици, без значение от файловият формат в който за били записани (фиг. 14). С Inventor Fusion може директно да се моделира и изменя разглеждания твърдотелен обект.



Фиг. 14 Дигитално проектиране с Autodesk Inventor Fusion

Проектиране в Inventor на експериментален стенд за изпитване на валове

Схематичната постановка на стенда е показана на фигура 15.



Фиг. 15 Стенд за изпитване на динамично натоварени валове

Със стенда е предвидено да бъдат изпитвани якостно и деформационно динамично натоварени валове [2]. Също така с него се цели да бъдат изследвани възникващите усукващи и огъващи трептения и да се установи влиянието им върху валовете. Върху стенда могат да бъдат установявани валове с различна конфигурация – гладки, стъпални, плътни, кухи, с различни размери и произволни концентратори на напрежение, каквито са: технологичните и функционални канали; отвори; остри ръбове на цилиндрични, сферични и равнинни съставни повърхнини от формата на изследвания вал. Стендът е проектиран в софтуерната среда на Inventor, което позволява валовете да бъдат софтуерно изпитани и след това резултатите да бъдат сравнени с тези, получени от експерименталните изследвания. В използваната софтуерна среда моделите на валовете могат да бъдат установени върху проектирания стенд статично - чрез отнемане на произволен брой степени на свобода или чрез налагане на ставни връзки – цилиндрични, сферични, плъзгащи или заварки, каквито се срещат на практика в механичните конструкции на машините и съоръженията. Проектираният 3D CAD модел на стенда и използваният специализиран софтуер позволяват натоварване на валовете със задаване на мястото, направление, посоката и големината на моментите и силите, които могат да бъдат равнинни, пространствени, съсредоточени или равномерно разпределени. Възникващите напрежения и

деформации се отчитат в зависимост от характера на натоварването, като техните диаграми и идеалната форма на вала се представят автоматизирано в графичен вид. В разглеждания случай, интерес представлява динамичната симулация на изпитваната механична система, при която се получава реална представа за възникващите напрежения и деформации и характеристиките на параметрите, които се изследват на дадения елемент.

Устройство и принцип на работа на стенда

Експерименталният стенд (фиг. 16) е съставен от:

1) *Механична част*, която обхваща трансмисионни предавки (клиноремъчна и зъбно-ремъчна), КТМ, четиризвенник, приспособления за разширяване възможностите на проектирания стенд, фиксатори, регулируеми конзоли и други.

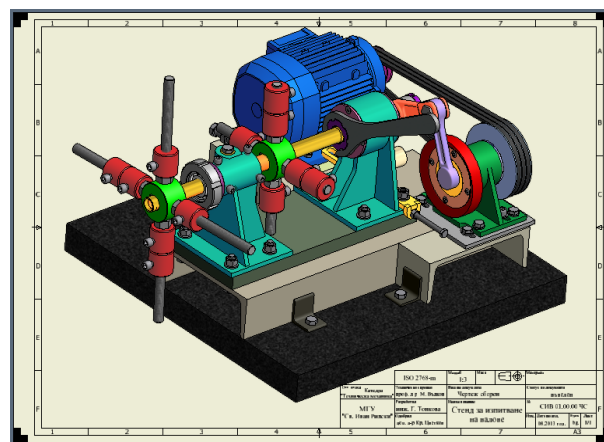
2) *Електрическа част* - за автоматизирано задвижване и осигуряване на съответните движения на изпълнителното звено.

3) *Електронна част* за управление, защита и контрол на електричната система и съответно за постигане на желани кинематични параметри на движенията при изпълнителните звена.

4) *Измервателна апаратура* – включва АЦП, виброметър, тензометрия.

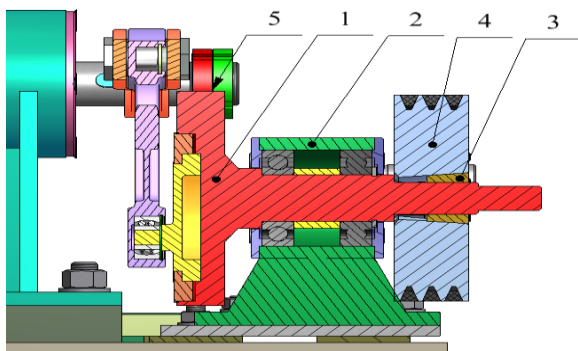
Към електрическата част се отнася задвижващият електродвигател, който е с мощност $P=2,2 \text{ kW}$, честота на въртене $n=1420 \text{ min}^{-1}$ и въртящ момент $T_{06}=9550.P/n \text{ [Nm]}$.

Към механичната част на стенда се отнася конструкцията, показана на фиг. 16 (без двигателя).



Фиг. 16 Документиран CAD модел на експериментален стенд в Inventor

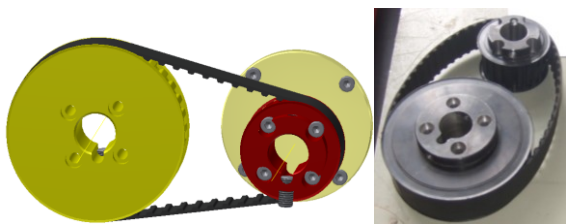
В механичната част, един от най-натоварените елементи се явява валът 1, установен в междинния възел 2 на КТМ (фиг. 17). Той е предназначен да предава движението от електродвигателя към изпълнителното звено посредством механични предавки (ремъчни – клино- и зъбноремъчни) и механизми (коляно-мотовилков с регулируем ексцентрицитет).



Фиг. 17 Кинематичен трансформиращ механизъм (КТМ)

На входящия край на вала се монтира чрез бързосменна втулка 3 ремъчна шайба 4 с определен диаметър d_p . Ремъчната шайба може да бъде заменяна в зависимост от желаната честота на въртене на изходящото звено на стенда (изпитвания образец). Изследваният вал е двустранно лагериран в междинния възел на експерименталния стенд. Изходящия край на вала завършва с масивен фланец 5. От фланеца движението се предава към изпитвания върху стенда образец по два начина:

➤ Чрез зъбноремъчна предавка (фиг. 18). Тя осигурява при промяна на местата на ремъчните шайби - степенно изменение на предавателно отношение i . Също така постигането на различни предавателни отношения може да стане чрез използване на комплект сменни зъбноремъчни шайби с различен диаметър. Предавката се използва за предаване на едноточно ротационно движение с постоянна ъглова скорост.



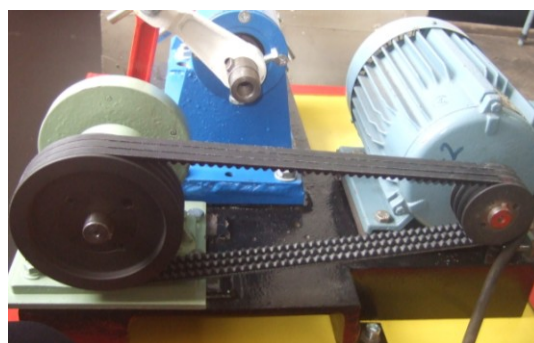
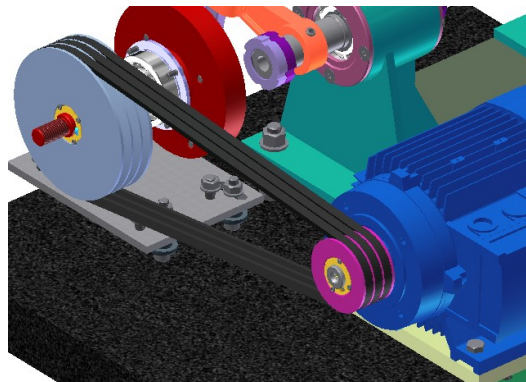
Фиг. 18 Зъбноремъчна предавка за трансформиране на въртеливото движение от КТМ към изпитвания вал, проектирана в Inventor и произведена в МГУ „Св. Иван Рилски“

➤ Чрез четиризвнен шарнирен механизъм с регулируем ексцентрицитет на едното коляно (фиг. 19). Чрез него се постига реверсивно ъглово завъртане с определена големина на ъгъла на завъртане и променлива ъглова скорост за един цикъл на завъртане.



Фиг. 19 Шарнирен четиризвнен механизъм конструиран в Inventor

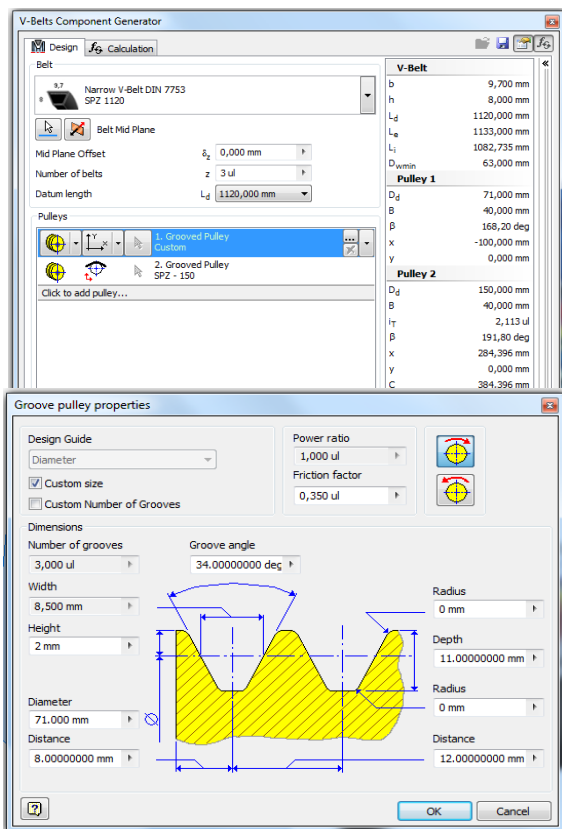
Друго звено от механичната част е клиноремъчната предавка (фиг. 20). Тя е пресметната и моделирана в софтуерната среда на Inventor.



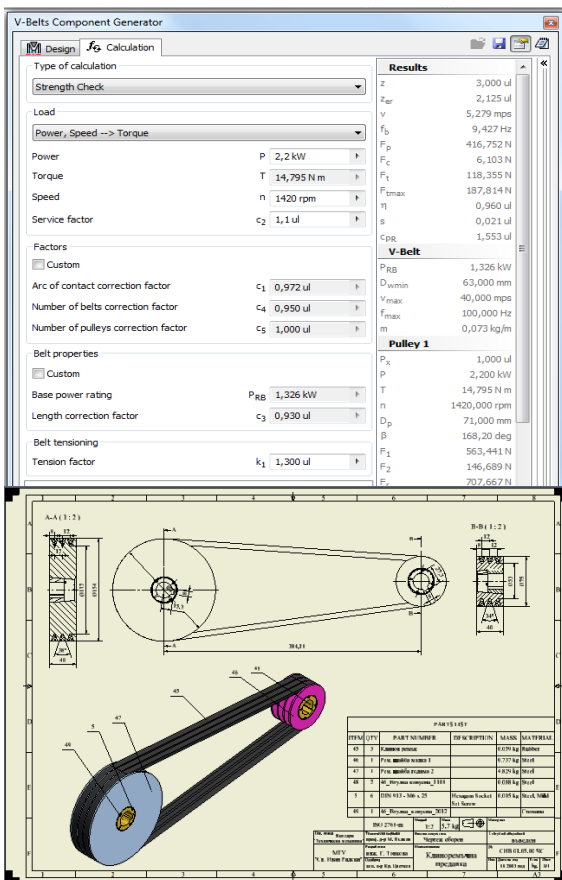
Фиг. 20 Модел на проектирана в Inventor и изработена клиноремъчна предавка

CAD моделиране на клиноремъчната предавка

Проектирането на ремъчната предавка е извършено в Inventor. Резултатите графично са онагледени на следващите фигури.



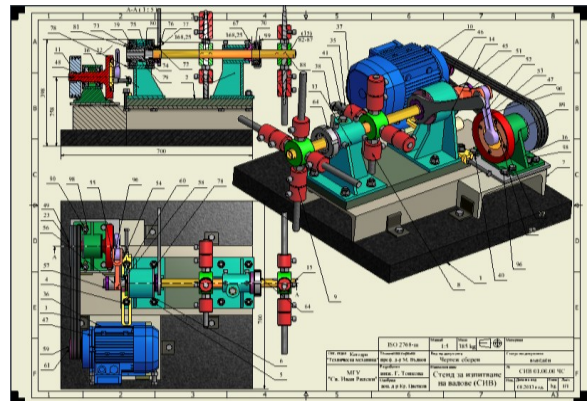
Фиг. 21 Якостно пресмятане и геометрично оразмеряване на клиноремъчна предавка



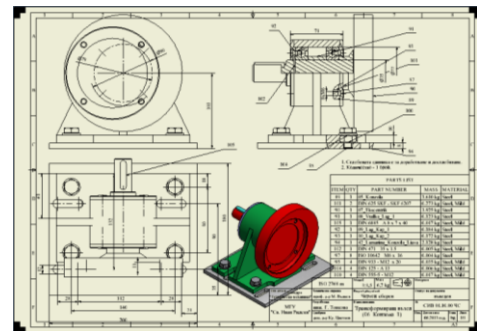
Фиг. 22 Проектиране на ремъчна предавка в Inventor

Документация от проектирания стенд

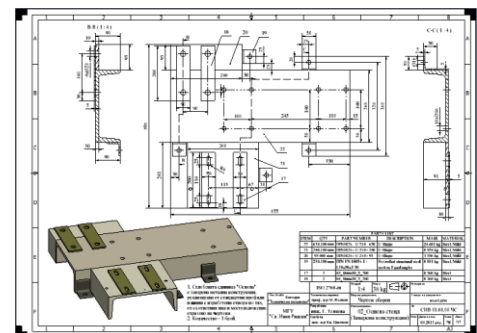
На следващите фигури е представена част от конструктивната документация на експерименталния стенд.



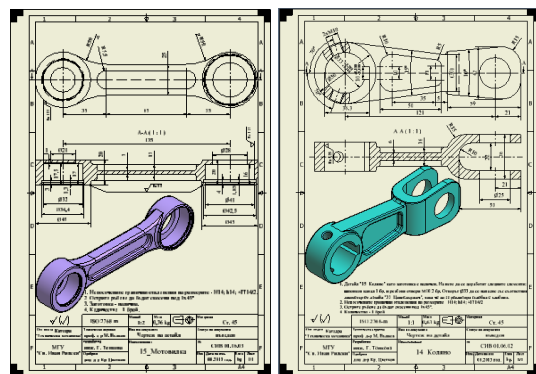
Фиг. 23 Сборен чертеж на проектирания в Inventor експериментален стенд



Фиг. 24 Монтажен чертеж на КТМ



Фиг. 25 Основа на проектирания стенд

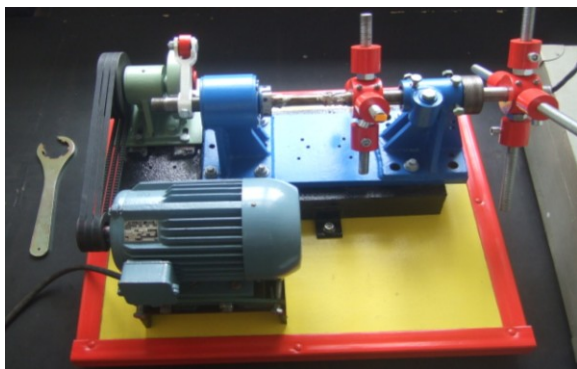


Фиг. 26 Елементи от коляно-мотовилков механизъм, проектиран в Inventor

Заклучение

Разработен е прецизен 3D CAD модел на експериментален стенд. За него е създадена пълна техническа документация. По изготвената документация е изработен стендът (фиг. 27), който успешно функционира. Конструкцията на стенда позволява в определено отношение той да бъде надграждан с цел разширяване на функционалните му възможности. Inventor позволява това да се извърши т.к. се отличава с висока прецизност на получените резултати.

Със специализирания софтуер са изследвани и решени и други конкретни задачи в областта на *механиката, минната механизация, машинознанието, машинните елементи, механични трансмисии и задвижващи системи*.



Фиг. 27 Експериментален стенд за изпитване на валове, проектиран в Inventor

Поставени следващи задачи

Въз основа на изработения стенд (фиг. 27) могат да бъдат планирани следните задачи за бъдеща работа в дадената област:

1) Надграждане, оптимизиране и разширяване на възможностите на експериментален стенд в посока на създаване на ново лабораторно упражнение.

2) Аналитично изследване на функционални параметри на валове при различна геометрия и силово-кинематично натоварване.

3) Динамично изследване на различни конфигурации на система „вал-маси“ софтуерно.

4) Провеждане на експериментални изследвания върху проектиран лабораторен стенд на възникващи трептения, вътрешни напрежения и деформации на валове с различна конфигурация в динамична среда.

5) Крайно елементно изследване на различни валове в софтуерна среда.

Литература

1. Григоров Б. *Autodesk Inventor 2012. Ръководство за работа*. София, 2012.

2. Тонкова Г. Дисертация „Изследване на влиянието на огъващи и усукващи трептения на валове, използвани в тежката минна механизация“. МГУ, 2017.

3. Тонкова Г., Тонков Г. Изследване на якостно-деформационното състояние на силово натоварен вал в софтуерната среда на Inventor. *Сп. Индустриални технологии*, том IV (1), 2017. ISSN 13149911.

4. Тонков Г. Дисертация „Математично моделиране на пространствени предавки с некръстосани оси“. ТУ-София, 2011.

5. Тонков Г., Д. Ралев, А. Хинков. Пособие за проектиране на машинни елементи. Пропелер, София, 2013 г. ISBN 978-954-392-127-0.

6. Tonkov G., Tonkova G., Teofilova M. PLM-Technologies - correct planning an governance of industrial production, economics, ecology and business. *Journal of International Scientific Publication: Economy & Business*, Volume 3, Part 1 (page 226-234). ISSN 1313-2555.

7. www.autodesk.com - 2014.

8. www.cadpoints.com - 2014.

Георги Петров Тонков, доц. д-р инж.
Технически университет – София
Катедра „МЕНК“,
Машиностроителен факултет
София-1700, бул. „Климент Охридски“ № 8,
бл. 4, ет. 4, кабинет 4424;
тел.: 02/965-3887; GSM: 0893341767;

e-mail: gptonkov@tu-sofia.bg

Гергана Запрянова Тонкова, ас. д-р инж.
МГУ „Св. Иван Рилски“ – София;
Катедра „Техническа механика“;
София – 1700, Студентски град,
ул. „Проф. Боян Каменов“;
МТФ, кабинет 334;

e-mail: g_pis@abv.bg



ПРОЕКТИРАНЕ НА МЕХАНИЧНА СИСТЕМА ВАЛ-МАСИ В СРЕДАТА НА MITCALC

Георги Тонков, Гергана Тонкова

DESIGN OF A SHAFT-MASSSES MECHANICAL SYSTEM IN MITCALC ENVIRONMENT

Georgi Tonkov, Gergana Tonkova

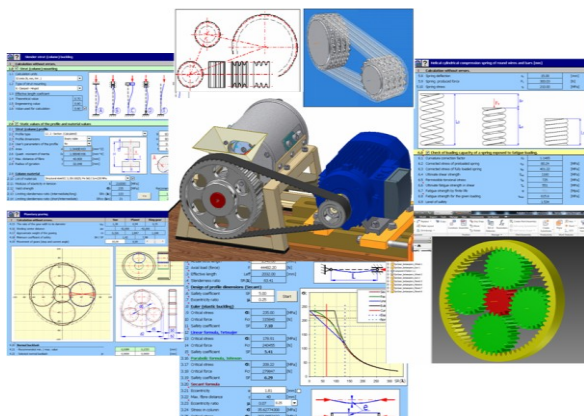
ABSTRACT: An algorithm for the design of shafts with rotating masses mounted on them is presented. The algorithm has been developed in the MITCalc software environment. The computer program accurately considers all the characteristic structural elements both in the shape of the shaft and the shaft – hub assembly. The built-in shaft design allows to be optimized according to different criteria. The mechanical system can be analyzed after setting the applied force-kinematic parameters. The logic of the software environment allows the precise analysis of complex mechanical shaft-mass systems whose calculation is either time consuming and complicated, or restricted by the absence of precise analytical methods.

Key words: shaft design in MITCalc, software algorithm for shaft design

Възможности на софтуерната програма MITCalc при решаване на практически и научни задачи

MITCalc е специализирана софтуерна програма, която се използва за якостно изчисляване и геометрично оразмеряване в областта на – механиката, съпротивлението на материалите и машинните елементи [2,5].

С нея се извършва подробно изчисляване на статично, кинематично и динамично натоварени конструкции, изпълнени със стандартни и нестандартни профили, различни машинни елементи и механични предавки и други (фиг. 1).



Фиг. 1 Модули за проектиране в MITCalc

Специализираният софтуер MITCalc позволява: якостно пресмятане; геометрично оразмеряване; проверка за отклонения от до-

пустими напрежения; коефициенти на сигурност; динамични коефициенти; геометрични показатели; съвместимост между натоварване-геометрия-кинематични и силови параметри и други.

След аналитичните софтуерни пресмятания, програмата дава възможност за автоматизирано графично изчертаване на изображенията на проектираните елементи или сглобени единици, както и за генериране на 3D CAD моделите в CAD системите от всички класове, към които се отнасят - AutoCAD, Inventor, Solid Edge, Solid Works, CATIA, NX и др. [3,4,6,7]

Алгоритъм за проектиране на механична система вал-маси в софтуерната среда на MITCalc

Проектирането на силово натоварени механични системи е сложна и трудоемка задача. При използването на подходящ софтуер, какъвто е MITCalc се постига прецизно решаване на поставените задачи с възможност за оптимизиране по различни критерии. По-долу в седем стъпки е представен алгоритъм за проектиране на валове и закрепени към тях ротиращи маси. Програмата позволява да бъдат отчетени геометричните особености в конструктивно отношение на системата вал-маси. Силовото натоварване може да се зададе пространствено. Пресмятанията са както якостни, така и деформационни. При откло-

нения по-големи от допустимите или при некоректно зададени стойности програмата извежда съобщения или подчертава стойностите в червен цвят [1].

Алгоритъмът е представен в конспективен вид поради асоциативността на програмата.

Стъпка 1:

По зададени входни стойности – мощност, честота на въртене, вид на натоварване на вала и съответен материал, от който той е изработен, софтуерът изчислява големината на усукващия момент, с който валът е натоварен и извежда стойност за препоръчителния минимален диаметър (табл. 1).

Таблица 1

Стъпка 2:

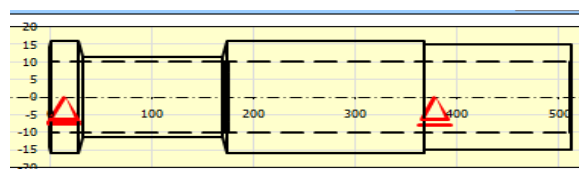
В табличен вид параметрично се задават стойности в система SI за: геометрията на вала по участъци (размери на съставните повърхнини); вида и местоположението на лагерните опори; грапавостта на повърхнините (табл. 2).

Таблица 2

Table	1	2	3	4
Origin	0,00	1,00	28,00	32,40
L	1,000	27,000	4,400	138,000
Da	29,000	32,000	32,000	23,150
Db	32,000	32,000	23,150	23,150
da	20,000	20,000	20,000	20,000
db	20,000	20,000	20,000	20,000
R	0,000	0,000	0,000	0,000

	5	6	7	8	9	10
	170,40	174,80	367,80	368,30	511,30	512,00
	4,400	193,000	0,500	143,000	0,700	
	23,150	32,000	32,000	30,000	30,000	
	32,000	32,000	29,000	30,000	27,000	
	20,000	20,000	20,000	20,000	20,000	
	20,000	20,000	20,000	20,000	20,000	
	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
	512,00					
	14,00					
	378,00					

По зададените стойности за дължините и диаметрите на отделните стъпала, програмата визуализира графично вала и местата на двете лагерни опори. Това е показано на фиг. 2. Геометрията на вала и местата на опорите могат да бъдат променяни в зависимост от желания случай.



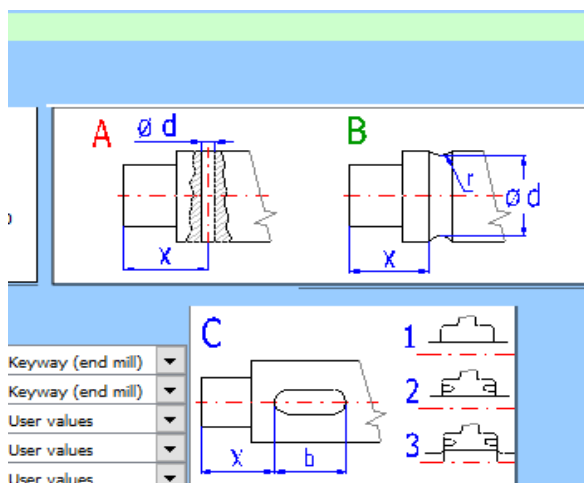
Фиг. 2 Схема на изпитвания вал с местата, в които той е лагериран

Стъпка 3:

Според приетия вариант се посочват геометричната форма, броя и вида на каналите по вала като в табличен вид се въвеждат необходимите големина на техните размери и съответно отстоянията им от челата на вала (табл. 3 – отбелязани са формата, размерите и положението на два шпонкови канала, налични върху вала), а програмата ги визуализира схематично.

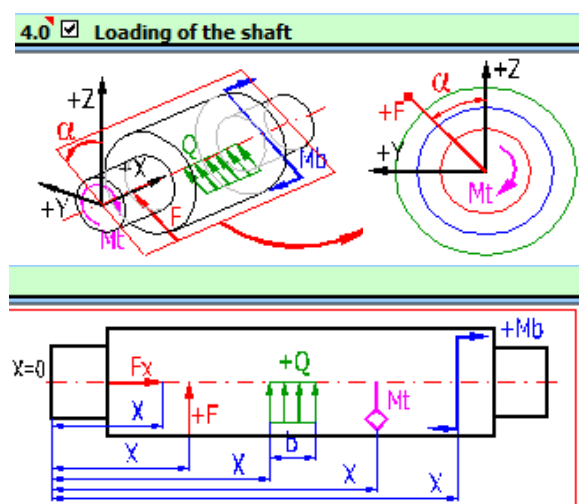
Таблица 3

X[mm]	b[mm]	βc	βb	βt
171,00	50,00	1,64	1,64	1,37
439,00	50,00	1,64	1,64	1,37
		1,00	1,00	1,00
		1,00	1,00	1,00
		1,00	1,00	1,00



Стъпка 4:

Задава се вида, направлението, посоката, големината и положението на силовото натоварване върху вала (фиг. 3).



Фиг. 3 Схема, отразяваща силовото натоварване при софтуерно изчисляване на вал в средата на MITCalc:

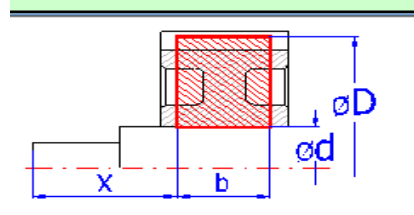
F_x – осова сила;
 F – радиална сила;
 Q – равномерно разпределен товар на дължина b ;
 M_t – усукващ момент;
 M_b – огъващ момент;
 O_{xyz} – възприета от софтуера дясно ориентирана координатна система;
 α – ъгъл, под който действат приложените сили;
 x_i – разстояния от едното чело на вала до мястото на приложената сила

Стъпка 5:

Извършва се апроксимиране на въртящите се маси като те се свеждат до плътен диск с маса m и характеристики, посочени в табл. 4.

Таблица 4

5.0 ☒ Rotating masses						
5.1	Additional rotating masses (resonance speed)					
5.2	Use loading from the weight of disks in the calculation? Yes ☐					
5.3	X	D	d	b	Ro	m
	[mm]				[kg/m ³]	[kg]
M1	191,00	320,00	32,00	9,26	7800,0	5,75
M2	461,00	340,00	30,00	9,30	7800,0	6,53
M3	0,00	0,00	0,00	0,00	7800,0	0,00
M4	0,00	0,00	0,00	0,00	7800,0	0,00
M5	0,00	0,00	0,00	0,00	7800,0	0,00



Стъпка 6:

Въвеждат се при необходимост механичните характеристики на материала, от който е изработен валът (табл. 5). При избор на заложен в системата материал се извеждат по подразбиране неговите механични характеристики, които също могат да се променят от потребителя. Задават се коефициенти на сигурност при различно натоварване. Посочва се състоянието на натоварване (статично, динамично) и се указва да се извърши динамична якостна проверка при автоматичното софтуерно пресмятане.

Таблица 5

6.0 ☒ Material and the type of loading				
6.1	Shaft material (Ultimate tensile strength min-max)			
A...	Structural steel (350 - 700)	595		[MPa]
6.2	Ultimate tensile strength	S_u/R_m	595	[MPa] ☒
6.3	Yield strength in tension	S_y/Re	345	[MPa]
6.4	Yield strength in bending	S_{yb}/Re_b	449	[MPa]
6.5	Yield strength in shear	S_{ys}/Re_s	242	[MPa]
6.6	For reversed loading			
6.7	Fatigue limit - tension-pres	σ_c	226	[MPa]
6.8	Fatigue limit - bending	σ_{ec}	292	[MPa]
6.9	Fatigue limit - torsion	τ_c	208	[MPa]
6.10	For cyclic loading			
6.11	Fatigue limit - tension-pres	σ_{nc}	339	[MPa]
6.12	Fatigue limit - bending	σ_{enc}	437	[MPa]
6.13	Fatigue limit - torsion	τ_{nc}	239	[MPa]
6.14	Specific mass	Ro	7850,0	[kg/m ³]
6.15	Modulus of elasticity in ten	E	210000	[MPa]
6.16	Modulus of elasticity in she	G	80000	[MPa]

17 Dead load	Yes
18 Max. displayed coefficient of safety	20
19 Stress ratio factor σ_0	1,00 ☒
20 Coefficient of maximum loading	
21 Bending	1,70
22 Radial load	1,70
23 Torsion	1,70
24 Tension/Compression	1,70
25 Loading conditions	
26 Loading from bending moment	C...Reversed
27 Loading from radial force	C...Reversed
28 Load from torsional moment	C...Reversed
29 Loading from tension/pressure force	C...Reversed
30 Dynamic strength check	
31 Impact from shaft surface	Yes
32 Impact from shaft size	Yes
33 Impact from stress concentration (no	Yes

Стъпка 7:

Извършва се визуализация и анализ на получените резултати (табл. 6). Извеждат се окончателните стойности (дадени са по-долу на фиг. 4) за:

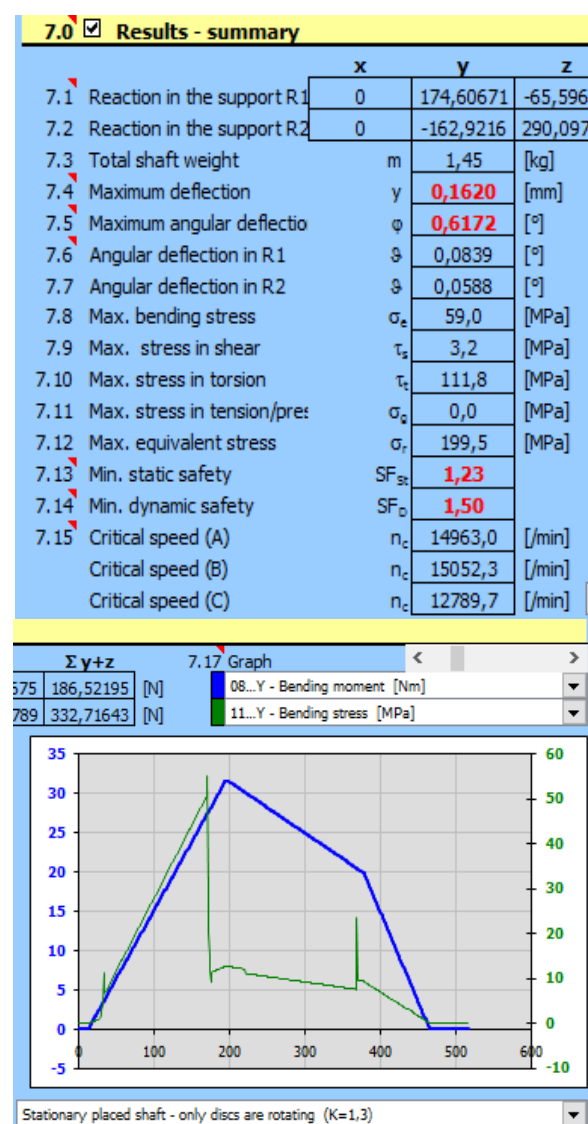
- опорните реакции;
- масата на вала;
- максималното провисване на вала;
- максималният ъгъл на усукване;
- ъгъла на провисване в различните точки по дължина на вала;
- максималните огъващи напрежения;
- максималните срязващи напрежения;
- максималните усукващи напрежения;
- максималните напрежения от опън / натиск;
- максималните еквивалентни напрежения;
- минималния статичен коефициент на сигурност;
- минималния динамичен коефициент на сигурност;
- критичните ъглови скорости и други.

Таблица 6

7.16 Results for X co-ordinate		>	1,00	28,00	
16...Deflection - Sum [mm]			0,0205091	0,020363	
27...Torsion angle [°]			0	0,0078408	
30...Equivalent stress [MPa]			0	21,648259	
41...Safety coefficient (static)			20	11,370683	
42...Safety coefficient (dynamic)			20	13,822206	
32,40	170,40	174,80	367,80	368,30	511,30
0,0264067	0,1399833	0,1384475	0,0111061	0,0100965	0,1545312
0,014207	0,5381855	0,5469966	0,5913085	0,5915037	0,6172034
86,955656	121,60366	26,463053	13,047999	13,044549	0,0008314
2,8310631	2,0504136	9,4350936	19,730906	19,735861	20
3,4399216	2,342701	7,3585622	19,742408	8,294141	20

Всички тези параметри се визуализират графично като се отразяват измененията на техните стойности в различни сечения по дължината на вала. Точните им числени стойности могат да бъдат изведени за всяка една желана точка по дължината на изпитвания образец (табл. 6). В случая са посочени точките на прехода във всяко едно различно геометрично напречно сечение (в граничните положения на стъпалата на вала).

При отклонение на получените стойности от допустимите, програмата предупреждава за грешка като маркира проблема в червен цвят. Софтуерът позволява да се направят различни уточнения: да се определят границите, в които проблемните стойности трябва да попадат; да се изясни от какво тези стойности зависят и начинът, по който те се определят. Пример за това е даден на (фиг. 4).



Фиг. 4 Визуализиране на стойностите от пресмятането на вала

Методиките, по които се извършват пресмятанията в MITCalc, както и стандартните елементи, профили и материали са базирани на най-разпространените в света машиностроителни стандарти: *ISO; DIN; EN; ANSI; GOST; CSN; BS; JIS*.

Заклучение

1. Проучен е специализиран софтуерен продукт за решаване на технически задачи. Направена е обосновка за неговия избор.

2. Използването на подобна софтуерна система изисква умения за работа, за което е необходимо ресурс от време.

3. Прилагането на MITCalc в практиката улеснява работата на инженера като едновременно с това се постигат бързи и качествени резултати.

4. Огромно предимство на специализираните софтуерни системи от този вид е, че дават възможност за бързо и многовариантно оптимизиране на проектираните изделия по различни критерии.

5. Представеният алгоритъм за проектиране на система вал-маси би бил полезен за студенти с техническа насоченост. Информацията може да се ползва в учебния процес и от хора начинаещи или ползващи специализиран CAD софтуер.

Литература

1. Тонкова Г. Дисертация „Изследване на влиянието на огъващи и усукващи трептения

на валове, използвани в тежката минна механизация”. МГУ, 2017.

2. Хинков А., Г. Тонков, Д. Ралев. Практическо ръководство. Проектиране на двустъпален цилиндричен редуктор с MITCalc. Пропелер, София, 2012г. ISBN 978-954-392-128-7.

3. <http://www.cogras.cz/Products/MITCalc?lang=en-US>

4. <http://www.constructionnewsindex.com/download-mit-calc-excel-engineering-calculations-spreadsheet.html>

5. <http://www.mitcalc.com/>

6. <http://mitcalc.findmysoft.com/>

7. <https://www.plm.automation.siemens.com>

Георги Петров Тонков, доц. д-р инж.
Технически университет – София
Катедра „МЕНК“,
Машиностроителен факултет
София-1700, бул. „Климент Охридски“ № 8,
бл. 4, ет. 4, кабинет 4424;
тел.: 02/965-3887; GSM: 0893341767;

e-mail: gptonkov@tu-sofia.bg

Гергана Запрянова Тонкова, ас. д-р инж.
МГУ „Св. Иван Рилски“ – София;
Катедра „Техническа механика“;
София – 1700, Студентски град,
ул. „Проф. Боян Каменов“;
МТФ, кабинет 334;

e-mail: g_pis@abv.bg



ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЯКОСТНО-ДЕФОРМАЦИОННОТО СЪСТОЯНИЕ НА ДИНАМИЧНО НАТОВАРЕН ВАЛ

Гергана Тонкова

ANALYSIS OF THE STRENGTH-DEFORMATION CONDITION OF A DYNAMICALLY LOADED SHAFT

Gergana Tonkova

ABSTRACT: A shaft from a mechanical test system is studied in the work. A strength and deformation analysis of the shaft is performed in a software environment. A system of adjustable masses is set on the shaft. The shaft is brought into motion by an experimental test rig that allows the force-kinematic load to be adjusted. Analytical calculations have been made based on derived relations, and as a result the shaft has been analyzed in a software environment at different load levels. An algorithm is presented that shows the numerical values of the calculations made. The more important relations and strength-deformation diagrams of the shaft are graphically visualized.

Key words: shaft study, dynamically loaded shaft, shaft strength-deformation state, shaft calculation

Въведение

В повечето случаи валове в индустрията са тежко натоварени. Те работят в динамична среда при най-разнообразни условия и силово-кинематични режими. Най-често те са подложени на циклични натоварвания, при които възникват вибрации с определена амплитуда и честота. Породените от тях динамични моменти и инерционни сили допълнително натоварват вала [1,7,8,9].

Изследването на товароносимостта на вал в работни условия е сложна задача. Тя е свързана с редица трудности като: необходимост от сложна и скъпоструваща апаратура; труднодостъпни места, възпрепятстващи измерванията; редица неблагоприятни фактори от гледна точка на функционалността на вала; агресивни среди; специфични температурни условия. При изследването много често е необходимо да се знаят: точната геометрия на вала, вида и характера на натоварването, факторите на кинематичното въздействие, работните температури, вида на използвания материал, приложената химико-термична обработка, качеството на повърхнините. Това от своя страна е свързано с обособяването на:

- 1) големината, характера, мястото и продължителността на действие на вътрешните напрежения;
- 2) вида на деформационното състояние.

Много често при изчисляване на валове на последното условие не винаги се отдава необходимото значение. Якостното изчисляване и последването от него геометрично оразмеряване не са достатъчни за определяне на работоспособността на вала.

Деформационното пресмятане е свързано с определяне на ъгъла на еластично усукване, големината на еластичното провисване и ъгъла на провисване и сравняването им с допустимите стойности. При тежко динамично натоварени валове (в транспортните и минните машини), при тънки и дълги валове (в автоматизацията и роботизацията), при валове на прецизни машини (металорежещи, инструментални), геометричното оразмеряване трябва да бъде съобразено както с якостното натоварване, така и с деформационното състояние на вала [3,4,5,6].

Цел

Да се изследва товароносимостта на динамично натоварен вал от експериментален стенд.

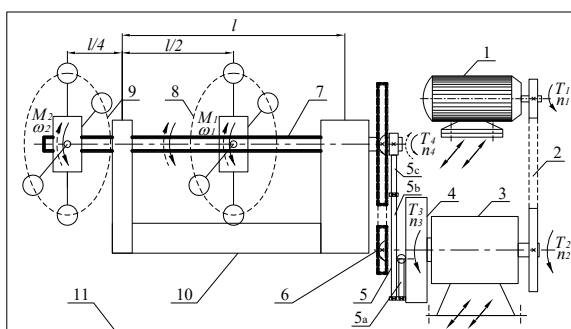
Постановка на разглеждания проблем

За постигане на поставената цел е проектиран експериментален стенд [3]. Върху стенда е установен изпитваният вал. На фиг. 1

е показана кинематичната постановка, при която електродвигател (1) задвижва вал с фланец (4) посредством клиноремъчна предавка (2). Валът с фланеца (4) са лагеровани в кинематичен трансформиращ механизъм (КТМ - 3), който преобразува и предава въртливо движение към изпитвания вал (7). Въртливото движение може да бъде с постоянна или променлива скорост, еднопосочно или реверсивно, с ъгъл на завъртане с определена големина в двете посоки. Движението от (4) към (7) се трансформира по един от следните два начина:

1 начин – чрез четиризвене шарнирен механизъм (5) с входно рамо (5_а), мотовилка (5_б) и изходно коляно (5_с), който осигурява реверсивно въртливо движение с ъгъл на завъртане в двете посоки $\varphi = \pm (0,5 \div 29)^\circ$;

2 начин – чрез зъбноремъчна предавка (6).



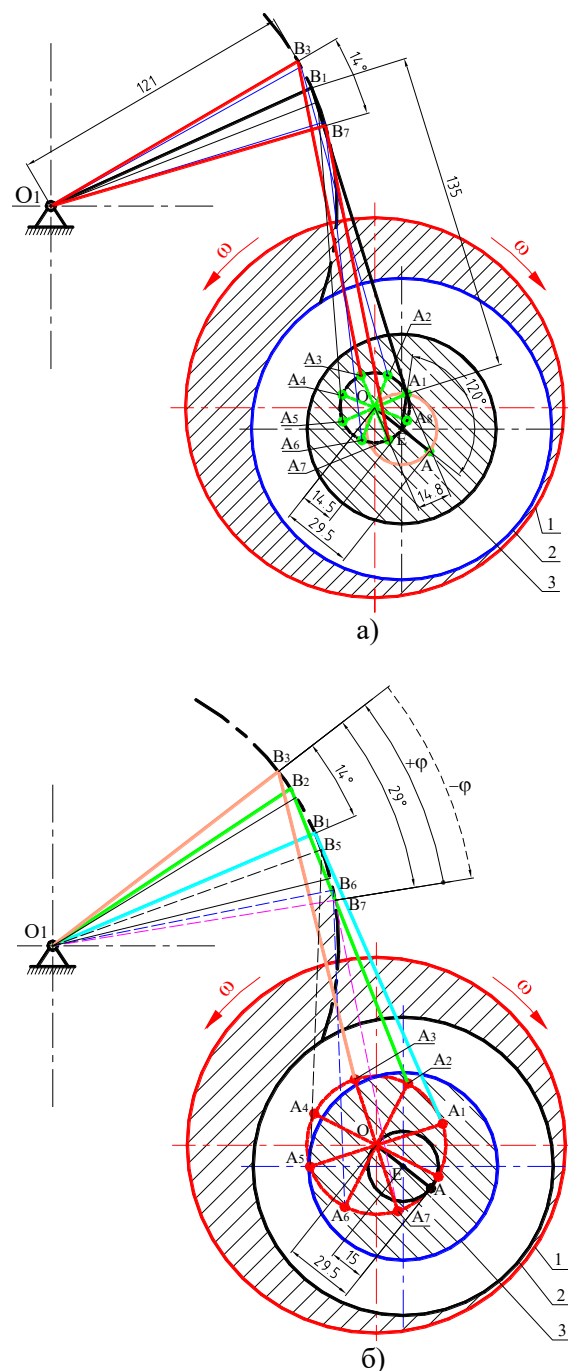
Фиг. 1 Кинематична схема на изпитван вал, установен върху експериментален стенд: 1 – електродвигател; 2 – ремъчна предавка; 3 – кинематичен трансформиращ механизъм (КТМ); 4 – фланец, лагерован в КТМ; 5 – шарнирен четиризвене (5_а – входно рамо; 5_б – мотовилка; 5_с – изходно коляно); 6 – зъбно-ремъчна предавка; 7 – изпитван вал; 8 и 9 – тежести с регулируеми маси; 10 – носеща конзола; 11 – основа

Когато връзката между вала (7) и фланеца (4) е реализирана с шарнирен четиризвене (5), тогава движението на вала (7) представлява реверсивно завъртане на ъгъл $\pm\varphi$. Големината на ъгъла на завъртане може да се регулира посредством ексцентрична шайба в граници от $\pm(1^\circ$ до $29^\circ)$.

Когато изпитваният вал (7) се задвижва от зъбноремъчна предавка (6) тогава той извършва непрекъснато въртливо еднопосочно движение. В случая при изследването на вала е използван първият случай на задвижване.

На фиг. 2 е показана схематичната постановка, при която с промяна на дължината

на входното рамо на четиризвения шарнирен механизъм се променя големината на ъгъла на завъртане на изпитвания вал.



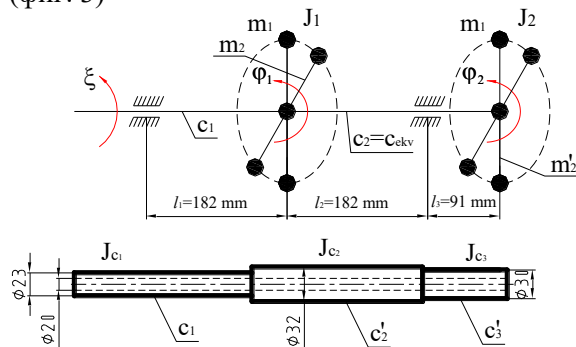
Фиг. 2 Изменение на големината на ъгъла на завъртане на изследвания вал в зависимост от изменението на дължината на входното рамо на четиризвения шарнирен механизъм:

а) при рамо с дължина 14,8 mm ъгълът на завъртане е 14° ; б) при рамо с дължина 29,5 mm ъгълът на завъртане е 29°

При задвижване на вала с четиризвене, ъгловата му скорост е променлива. Тя е различна във всеки един момент от време, като в

крайните положения от завъртането, в които става промяна на посоката, скоростта е минимална (нула). По средата на изминатия път (при половината от ъгъла на завъртане) тя е максимална. Точните стойности на скоростта в зависимост от ъгъла на завъртане са изчислени в [2,3].

Изследваният вал е двустранно лагуруван (фиг. 3)



Фиг. 3 Геометричен модел на механичната система вал-маси

По средата между двете лагерни опори е монтирана регулируема тежест (8), която се състои от централен диск, четири рамена и n на брой регулируеми маси (фиг. 1). Масите могат да се съчетават със сменяемите рамена по различен начин, реализирайки разнообразни геометрични конфигурации. Изходящият край на вала (7) е конзолен. В този участък е монтирана втора регулируема тежест (9) аналогична на (8), но с по-дълги рамена. В зависимост от съчетанието на конфигурациите от тежести, големината на ъгъла на завъртане и големината, посоката и характера на ъгловата скорост, системата вал-маси е подложена на различно динамично натоварване. При тази ситуация деформационното състояние се изменя в широки граници, които трябва да са в съответните допустими стойности, за да се гарантира работоспособността на вала. Тези състояния на вала са софтуерно изследвани по-долу.

Аналитични зависимости при изпитвания вал

За извършване на софтуерното пресмятане на изпитвания вал са направени редица предварителни аналитични изчисления. Една част от тези стойности са взети в готов вид след тяхното извеждане.

Валът с масите извършва въртливо движение, като са възможни два случая на завъртане:

I случай – периодически реверсивно въртене с максимален ъгъл на завъртане в двете посоки $\varphi_{\max} = \pm 29^\circ$ и изменение на скоростта от $0 \div V_{\max}$ за време на завъртане t .

II случай – еднопосочно въртливо движение с постоянна скорост.

От кинематична гледна точка, съгласно закона за движение $\vec{r}(t)$ ($r = R_i$), за скоростта и ускорението на системата от маси може да се запише:

$$\vec{V} = \frac{d\vec{r}}{dt}; \quad \vec{a} = \frac{d\vec{V}}{dt}. \quad (1)$$

В общия случай са в сила уравненията:

$$S(t) = S_0 + \int |\vec{V}(t)| dt - \text{изминат път}; \quad (2)$$

$$\vec{r}(t) = \vec{r}_0 + \int \vec{V}(t) dt - \text{закон за движение}; \quad (3)$$

$$\vec{V}(t) = \vec{V}_0 + \int \vec{a}(t) dt - \text{закон за скоростта} \quad (4)$$

Скоростта на регулируемите маси е допирателна към траекторията $D_{1,2} = 2R_{1,2}$.

Ускорението на масите се разлага на две компоненти:

$$a_\tau = \frac{dV}{dt} - \text{допирателна до } D(R); \quad (5)$$

$$a_n = \frac{V^2}{R} - \text{нормална}. \quad (6)$$

За големините на скоростта и ускорението се получава:

$$V = \sqrt{V_x^2 + V_y^2} = \sqrt{(R\omega)^2 \cdot \sin^2(\omega t) + (R\omega)^2 \cdot \cos^2(\omega t)} = R\omega \sqrt{\sin^2(\omega t) + \cos^2(\omega t)} \quad (7)$$

$$V = \omega R \quad (8)$$

$$a = \sqrt{a_x^2 + a_y^2} = \sqrt{(R\omega^2)^2 \cdot \cos^2(\omega t) + (R\omega^2)^2 \cdot \sin^2(\omega t)} = R\omega^2 \sqrt{\cos^2(\omega t) + \sin^2(\omega t)} \quad (9)$$

$$a = R\omega^2. \quad (10)$$

При постоянни скорост и ускорение на въртящите се части (*II случай*) са в сила зависимостите:

$$V(t) = V_0 + at; \quad (11)$$

$$S(t) = S_0 + V_0 t + \frac{1}{2} a t^2. \quad (12)$$

В този случай масите се въртят с постоянна скорост и постоянно ускорение $\frac{V^2}{R}$, което е нормалното ускорение, а тангенциалното е равно на нула:

$$a_n = \frac{V^2}{R}; \quad (13)$$

$$a_\tau = 0. \quad (14)$$

От динамиката на материална точка, съгласно втория закон на Нютон за силата на масите може да се запише:

$$\frac{r}{F} = \frac{d(mV)}{dt} = m \frac{dV}{dt} = m \cdot \dot{a} \quad (15)$$

или за големината на силата се получава:

$$F = m \cdot a \quad [N]. \quad (16)$$

При известна честота на въртене (n в min^{-1}) и диаметър на траекторията (D в m) се определя периферната скорост по зависимостта:

$$V = \pi \cdot D \cdot n, \quad [m / \text{min}]. \quad (17)$$

Ъгловата скорост в зависимост от честотата на въртене се представя с израза:

$$\omega = \frac{\pi \cdot n}{30}, \quad [s^{-1}]. \quad (18)$$

За големината на въртящия момент може да се запише:

$$T = F \cdot L \quad [Nm], \quad (19)$$

откъдето при известна дължина на рамото L_i , се определя големината на периферната сила - в случая, съгласно фиг. 4 $L_i = R_i \quad [m]$:

$$F = \frac{T}{L_i} \quad [N]. \quad (20)$$

Изследване на якостно-деформационното състояние на динамично натоварен вал в софтуерна среда

Обособени са 12 основни случая на динамично натоварен вал при една и съща геометрия на вала. Софтуерните изследвания са из-

вършени при два режима на работа с различни конфигурации от тежести, натоварващи разглежданата механична система вал-маси по различен начин.

При изследването са избрани шест различни съчетания на конфигурации от тежести и маси за два кинематични режима на работа на механичната система (при $n_1 = 673 \text{ min}^{-1}$ и при $n_2 = 336,5 \text{ min}^{-1}$), формиращи общо 12 основни случая на силово натоварване.

1 случай – Върху вала е установена само една тежест по средата между двете лагерни опори, която е с четири рамена и на всяко рамо има по една регулируема маса, равномерно отдалечена от оста на вала.

2 случай – Само в конзолния участък на вала е установена една тежест, аналогична като конфигурация на първия случай.

3 случай – Върху вала е установена само една тежест по средата между двете лагерни опори, като на две съседни рамена са поставени по две регулируеми маси, а другите две рамена са без регулируеми маси.

4 случай – Само в конзолния участък на вала е установена тежест, аналогична като конфигурация на трети случай.

5 случай – Върху вала са установени две тежести, които са с по четири рамена и с по една регулируема маса върху всяко едно от рамената. Масите са отдалечени от оста на вала на едно и също разстояние.

6 случай – Върху вала са установени две тежести, като на две съседни рамена са поставени по две регулируеми маси, а другите две рамена са без регулируеми маси. Регулируемите маси на двете тежести са поставени на срещуположни рамена.

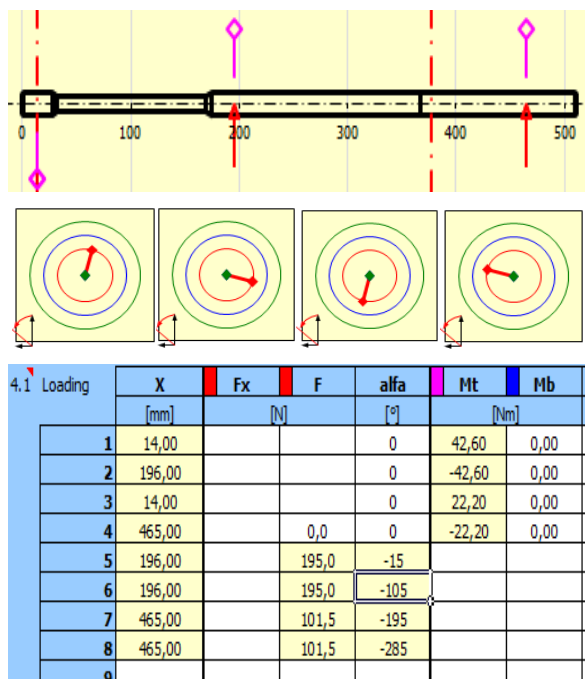
Описаните случаи са аналогични и по тази причина са поместени подробни резултати само за най-интересния от тях – този, при който са предизвиквани най-големи напрежения и деформации. Резултатите от останалите случаи на изследване са обобщени в табличен вид.

ШЕСТИ СЛУЧАЙ

Върху вала са установени две тежести – едната по средата на лагерните опори, втората в конзолния участък. Регулируемите

маси са съсредоточени върху две съседни рамена. Масите на двете тежести са срещуположно ориентирани

На фиг. 4 схематично е визуализиран валът като са посочени силовото натоварване, ориентацията, големините и посоките на действащите сили.



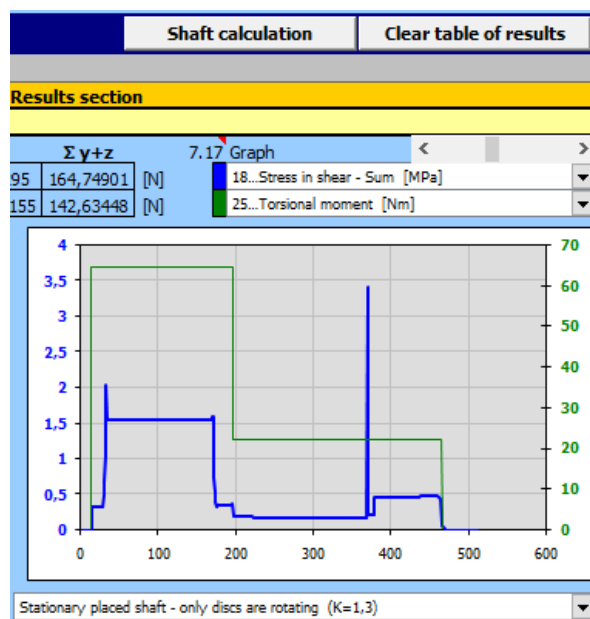
Фиг. 4 Силов натоварване на изследвания вал за шести случай

На фиг. 5 са показани резултати от якостно-деформационното пресмятане на вала за шести случай.



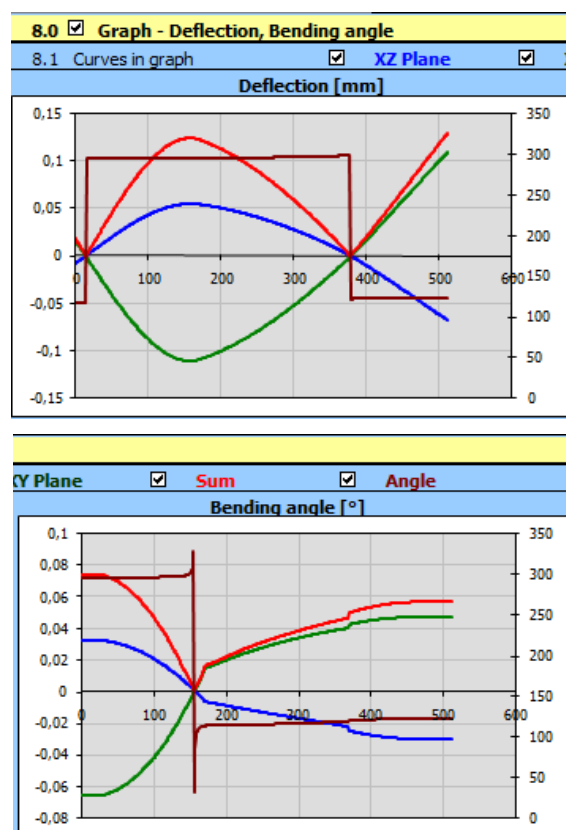

Shaft design and calculation

i	Check lines:7.4;7.5;7.13;7.14;		
?	-		
7.0 ☒ Results - summary			
	x	y	z
7.1 Reaction in the support R1	0	149,12446	-70,021
7.2 Reaction in the support R2	0	-34,61082	138,371
7.3 Total shaft weight	m	1,43	[kg]
7.4 Maximum deflection	y	0,1290	[mm]
7.5 Maximum angular deflection	φ	0,6095	[°]
7.6 Angular deflection in R1	φ	0,0736	[°]
7.7 Angular deflection in R2	φ	0,0507	[°]
7.8 Max. bending stress	σ _b	128,4	[MPa]
7.9 Max. stress in shear	τ _s	3,4	[MPa]
7.10 Max. stress in torsion	τ _t	84,8	[MPa]
7.11 Max. stress in tension/pre	σ _p	0,0	[MPa]
7.12 Max. equivalent stress	σ _r	199,6	[MPa]
7.13 Min. static safety	SF _{st}	1,27	
7.14 Min. dynamic safety	SF _D	1,36	
7.15 Critical speed (A)	n _c	15514,8	[/min]
Critical speed (B)	n _c	15576,0	[/min]
Critical speed (C)	n _c	12846,1	[/min]

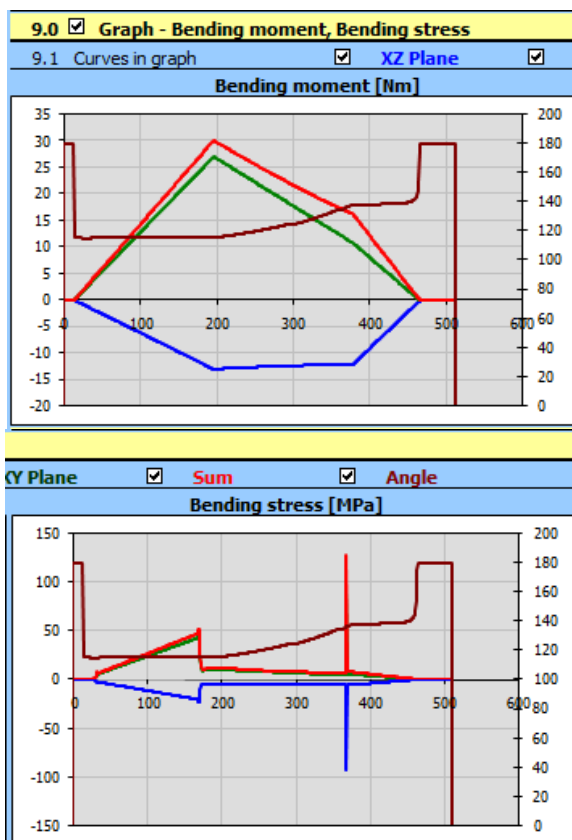


Фиг. 5 Резултати от якостно-еформационното пресмятане на вала за шести случай

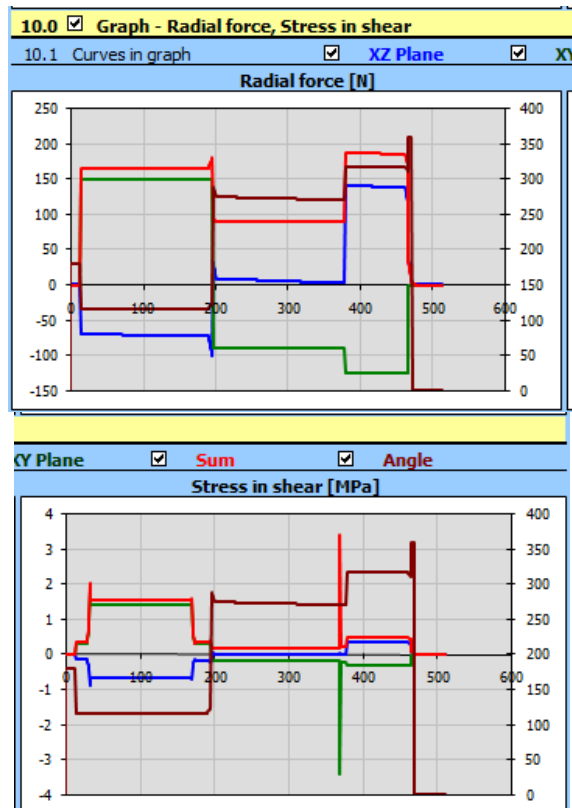
На следващите фигури са визуализирани графично диаграмите на по-характерните напрежения, моменти и деформационни състояния на изследвания вал.



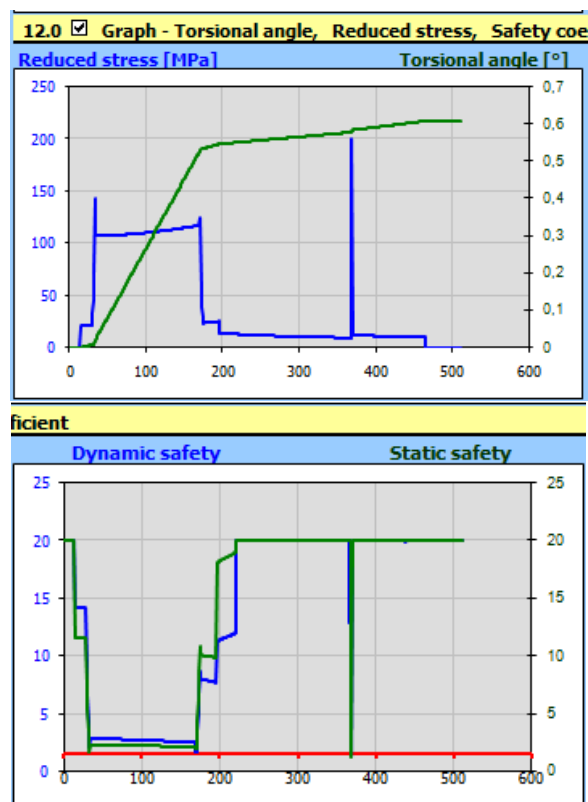
Фиг. 6 Графични зависимости, отразяващи провисването и ъгъла на огъване за всяко едно напречно сечение от изпитвания вал за шести случай



Фиг. 7 Графики на огъващите моменти и възникващите напрежения от огъване за шести случаи на изследване от изпитвания вал



Фиг. 8 Радиални усилия и срязващи напрежения, действащи върху вала



Фиг. 9 Диаграма на усукващия момент и графични зависимости на изменението на динамичния и статичния коефициент на сигурност за изпитвания вал за шести случай

Анализ на получените резултати от софтуерното изследване на вала

При софтуерното пресмятане на вала са получени множество характерни графични зависимости. От отчетените стойности се вижда, че:

- 1) Най-големите сили действат в местата под регулируемите тежести.
- 2) Максималните напрежения са съсредоточени в изтънения участък и са със стойности съгласно табл. 1.
- 3) Големините на предизвиканите деформации са най-големи в края на конзолния участък и в изтънения участък от вала.
- 4) Огъващи, усукващи, резултантни и еквивалентни моменти са с максимални големина съгласно табл. 1 и са разпределени в участъка между двете лагерни опори.
- 5) Коефициентите на сигурност – статичен и динамичен се изменят съгласно табл. 1 като в определени случаи надвишават допустимите стойности.

В таблица 1 са систематизирани резултатите получени при софтуерното изследване.

Таблица 1

7.4	Maximum deflection	y	0,0092
7.5	Maximum angular deflection	φ	0,3600
7.6	Angular deflection in R1	ϑ	0,0058
7.7	Angular deflection in R2	ϑ	0,0004
7.8	Max. bending stress	σ_e	42,2
7.9	Max. stress in shear	τ_s	1,9
7.10	Max. stress in torsion	τ_t	52,7
7.11	Max. stress in tension/compression	σ_c	0,0
7.12	Max. equivalent stress	σ_r	91,7
7.13	Min. static safety	SF_{st}	2,69
7.14	Min. dynamic safety	SF_D	3,01
7.15	Critical speed (A)	n_c	15514,8
	Critical speed (B)	n_c	15576,0
	Critical speed (C)	n_c	12846,1

0,0092	0,0958	0,0456	0,0092	0,1290
0,2495	0,3600	0,2495	0,6095	0,6095
0,0058	0,0574	0,0198	0,0058	0,0736
0,0004	0,0338	0,0167	0,0004	0,0507
42,2	47,2	80,9	42,2	128,4
1,9	4,6	1,7	1,9	3,4
84,8	52,7	84,8	84,8	84,8
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
156,0	94,4	170,2	156,0	199,6
1,59	2,61	1,47	1,59	1,27
1,88	2,27	1,66	1,88	1,36
15514,8	15514,8	15514,8	15514,8	15514,8
15576,0	15576,0	15576,0	15576,0	15576,0
12846,1	12846,1	12846,1	12846,1	12846,1

6) От диаграмите и графичните зависимости става ясно поведението на вала като зависимост между геометрия, лагеруване и натоварване.

7) Изведени са числено и графично всички най-важни резултати от якостно-деформационното състояние на изследвания вал.

Изводи

1) Изследваният вал при зададената геометрия няма да издържи на приложените натоварвания.

2) След анализ на получените резултати се установи, че най-неблагоприятно е натоварен валът в шести случай, при който тежестите са две с несиметрична конфигурация на регулируемите маси. Факт е че инерционните моменти на масите в този случай са най-големи и те довеждат до появата на допълнителни неуравновисени периферни сили.

3) Най-застрашени са сеченията в: изтънения участък; конзолния участък и в мястото

на стъпалните преходи, поради концентрацията на напрежение. Такива участъци следва да се избягват или да се уякчават чрез допълнителни мерки от конструктивен и технологичен характер или чрез прилагане на материал с по-високи механични характеристики и последващи химико-термични обработки.

Заклучение

При дадената геометрия и приложеното силово натоварване се установява, че в повечето от изпитваните случаи (при по-тежките режими на работа) валът няма да издържи на действащите напрежения. Също така в тези случаи и възникващите деформации са по-големи от допустимите.

Необходимо е да се предприемат следните мерки за предотвратяване на негативни последиствия върху вала:

- 1) Намаляване големината на действащите усилия.
- 2) Увеличаване на напречните сечения (диаметрите на вала).
- 3) Подходящ избор на материал и подходяща химикотермична обработка.
- 4) Избягване и намаляване на концентраторите на напрежение.
- 5) Минимални дължини на конзолните участъци.
- 6) Промяна на натоварващите режими на работа.

Литература

1. Вълков М., Г. Тонкова. Определяне товароносимостта на вал от конструкцията на експериментален стенд. XV Международна научна конференция ВСУ'2015, сборник доклади, ISSN: 1314-071X, стр. 71-76.
2. Пулев С. Регулиране на амплитудите на трептенията по дължината на вибрационните сита. Годишник на МГУ „Св. Иван Рилски” Том 56, Св. II, 2013, стр. 155-158.
3. Тонкова Г. Дисертация „Изследване влиянието на огъващи и усукващи трептения на валове, използвани в тежката минна механизация”. МГУ, 2017.
4. Тонков Г., Д. Ралев, А. Хинков. Пособие за проектиране на машинни елементи. Пропелер, София, 2013 г. ISBN 978-954-392-127-0.
5. Трифонова-Генова В., Вълков М., Стоянов А., Сезонов С., Съпротивление на материалите, Сборник от задачи и методични указания.

зания по Съпротивление на материалите, Изд. Къща на МГУ „Св. Ив. Рилски“, 2017.

6. Хинков А., Г. Тонков, Д. Ралев. Практическо ръководство. Проектиране на двустъпален цилиндричен редуктор с MITCalc. Пропелер, София, 2012г. ISBN 978-954-392-128-7.

7. Ahmed A. Gubran, Jyoti K. Sinha. Shaft instantaneous angular speed for blade vibration in rotating machine. . Mechanical Systems and Signal Processing (2013)

8. Al-Bedoor B. O., Dynamic model of coupled shaft torsional and blade bending deformations in rotors, Comput. Methods Appl. Mech. Eng. 169 (1999) 177–190.

9. Huang S., K. Ho, Coupled shaft-torsion and blade-bending vibrations of rotating shaft-disk-blade unit, ASME J. Eng. Gas Turbines Power 118 (1996) 100–106.

Гергана Запрянова Тонкова, ас. д-р инж.
МГУ „Св. Иван Рилски“ – София;
Катедра „Техническа механика“;
София – 1700, Студентски град,
ул. „Проф. Боян Каменов“;
МТФ, кабинет 334;

e-mail: g_pis@abv.bg



ИЗСЛЕДВАНЕ НА САМОПРЕЧИСТВАТЕЛНАТА СПОСОБНОСТ НА РЕКА МЛАДЕЖКА

Благовеста Мидюрова, Иван Чобанов, Мария Димова-Тодорова

STUDY ON THE SELF-PURIFICATION OF MLADEZHKA RIVER

Blagovesta Midyurova, Ivan Chobanov, Maria Dimova-Todorova

ABSTRACT: *The capacity of river self-purification is an important indicator for the river health. The organic and inorganic pollutants in most of the rivers in Bulgaria are beyond the self-purification capacity of the river, which has caused the serious pollution to the water body. The capacity of the self-purification of the river may act as one of the indicators in regulating the discharge standards. Four points in Mladezhka River were selected. The samples of water were taken for the pollutant test. The results indicate that the Mladezhka River has a great ability to purify the organic pollutants in the range of 22 to 30%.*

Key words: Self-purification, Mladezhka River, Pollution

Въведение

Водата, като един от основните компоненти на природната среда има съществено значение за удовлетворяване на неотменните човешки потребности (Дончев, 2012). Съществуването на човека като биологичен феномен винаги е било основано на използването на определено количество вода с необходимите качества. Всички древни култури са възникнали в близост до водни обекти. Човечеството винаги се е стремяло към увеличаване на водопотреблението, което като резултат оказва огромен натиск върху качеството и количеството на природните води (Колева и съавт., 2010; Дядовски, 1995).

Независимо от обстоятелството, че все повече се осъзнава необходимостта от многократно и комплексно използване на водите и че се вземат съответните мерки за предотвратяване, ограничаване и отстраняване на последиците от замърсяването на водните ресурси в настоящия етап природните системи са загубили своите защитни свойства. Способността към самопочистване на водите от различни водни обекти в редица случаи е нарушена, нарушено е и равновесието във водна среда, което води до неблагоприятни последици за водните екосистеми и за човека (Иванов, 2015). Поради обстоятелството, че самопочистването на водите зависи от редица фактори- природни и антропогенни, то на ба-

за на конкретна информация за състава на водите, за замърсителите им, могат да бъдат препоръчани мерки за ограничаване на антропогенния натиск, респективно за интензифициране на самопочистването.

Това определя необходимостта от конкретни хидрохимични изследвания и оценка на възможността за самопочистване на природните води (Karaouzas et al., 2018).

Речните води са един от основните източници на водопотребление, както и основен водоприемник на отпадъчните води от бита, промишлеността и селското стопанство. В тази връзка е необходимо да се разполага с информация за тяхното състояние- както в количествен, така и в качествен аспект (Калинков, 2013).

Много са факторите, оказващи влияние върху хидроложките, хидрохимичните и хидробиологичните процеси във водосборния басейн и формирането на състава и състоянието на водните екосистеми. Изменението на количеството, състава и качеството на водите във времето и пространството зависи от физико-географските условия и антропогенното въздействие във водосборната област (Калинков, 2013; Пачев и Иванов, 1973).

Самопочиствателната способност на водите от речните течения спрямо постъпващите в тях замърсяващи вещества подлежи на регулиране чрез въздействие върху количест-

вото на естествения воден отток с водозащитни мерки във водосборната област.

Важен елемент на успешното управление и контролиране на количественото и качествено състояние на водните ресурси в конкретното водно поречие е разработването и използването на комплексна програма за водозащитни мерки (Cai et al., 2018; Kozyra et al., 2017).

Обект на настоящото изследване е провеждане на хидрохимични анализи на води от река Младежка в Странджа планина и оценка на самопречиствателната им способност.

Експериментална част

Извършено е пробовземно набиране на речни води от река Младежка, Странджа планина. След предварителна обработка пробите са подложени на хидрохимични анализи и е оценена самопречиствателната способност на речен участък от река Младежка. Изследванията са извършени в следните пунктове:

- Проба №1 – Изворите на река Младежка;
- Проба №2 – река Младежка (горно течение, преди с. Младежко);
- Проба №3 – река Младежка (средно течение, местност “Кукуринкови лъки“, след с. Младежко);
- Проба №4 – река Младежка (долно течение, преди вливане в река Велека, местност “Тракийски лагер“);

Определени са следните показатели на водите (Stumm and Morgan, 1996):

- рН, t° , разтворен O_2 ;
- солесъдържание (специфична електропроводимост);
- механични примеси;
- перманганатна окисляемост (ПО);
- обща твърдост (ОТ), Ca^{2+} , Mg^{2+} ;
- HCO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} ;
- NH_3 (NH_4^+), NO_3^- , NO_2^- ;

Разтвореният кислород, рН и солесъдържанието във водата са определени при използване на оксиметър, тип НАСН 40d (Germany), а останалите показатели са определени по съответните методики (Добревски и съавт., 1982; Добревски и съавт., 2003).

На база получените стойности за показателите механични примеси и перманганатна окисляемост е оценена самопречиствателната способност на участък от река Младежка (Дядовски, И. 1995).

Резултати и обсъждане

Определени са основните показатели на речни води, които са представени на таблици 1, 2 и 3. От данните се вижда, че рН на изследваните природни води е в граници от 7.1 до 7.9, следователно тези води проявяват сравнително неутрален до слабо алкален характер.

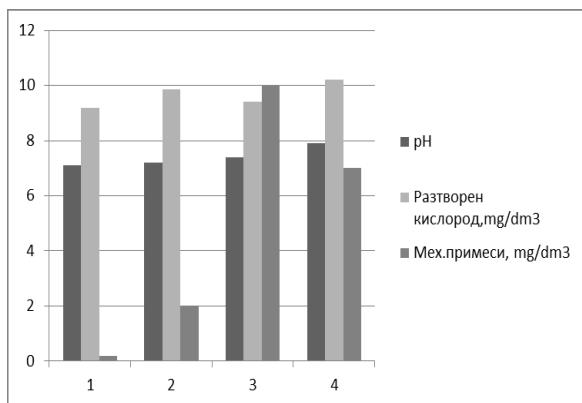
Специфичната електропроводимост на четирите речни проби е в граници от 570 до 799 ms/cm^{-1} . Имайки в предвид обстоятелството, че този показател характеризира количеството на разтворените соли във водите можем да предположим, че анализиранияте проби са води с високо солесъдържание. Съдържанието на разтворен кислород в изследваните води е от 9.11 до 10.20 mg/dm^3 .

Таблица 1. Стойности на показателите рН, разтворен O_2 и електропроводимост

№	рН	Разтворен кислород, meq/dm^3	σ , ms/cm^{-1}
1	7.1	9.2	799
2	7.2	9.85	700
3	7.4	9.42	608
4	7.9	10.2	570

Температурата на речните води е от 10 до 15 $^{\circ}C$ т.е. те се отнасят към групата на хладните природни води, с температура под 20 $^{\circ}C$ (Игнатова, 1992).

На фигура 1, 2 и 3 е показана корелационната зависимост между някои от показателите на четирите проби. Наблюдават се значителни разлики при Проба №3 – средно течение на река Младежка местност “Кукуринкови лъки“, след с. Младежко, което най-вероятно се дължи на замърсяване с битови отпадъчни води от този район.



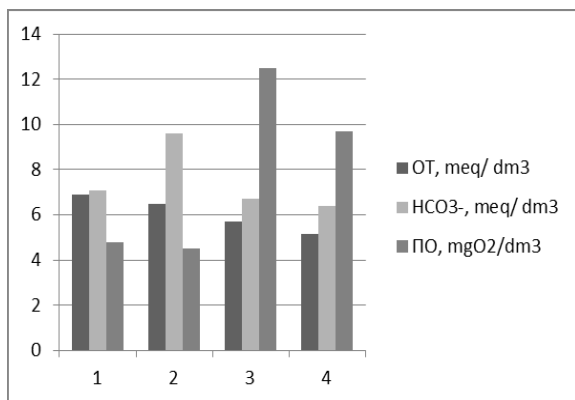
Фиг. 1. Стойности на рН, разтворен кислород и съдържание на механични примеси на изследваните речни води

Съдържанието на механични примеси е в граници 2.0 – 30 mg/dm³. Тези данни са в добро съответствие с данните от картата за средна концентрация на суспендирани вещества в речни води, където за водите в Странджа планина, се посочва концентрация по-ниска от 100 mg/dm³ (Пачев и Иванов, 1973).

Таблица 2. Стойности на показателите обща твърдост, Ca²⁺, Mg²⁺ и ПО

№	ОТ	Ca ²⁺	Mg ²⁺	ПО
	meq/dm ³	meq/dm ³	meq/dm ³	mgO ₂ /dm ³
1	6.90	6.7	0.2	4.8
2	6.50	5.6	0.9	4.5
3	5.70	5.1	0.6	12.5
4	5.15	4.75	0.8	9.7

В табл.2 наблюдаваме високи стойности на общата твърдост от 5.15 до 6.90 meq/dm³.



Фиг. 2. Графична зависимост на обща твърдост, HCO₃⁻ и ПО на изследваните речни води

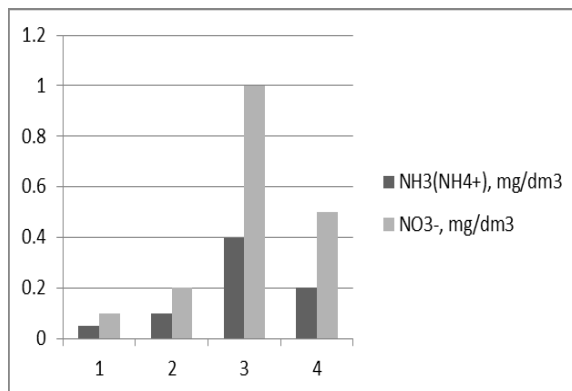
Високата твърдост на водите е характерна за речни води формирани в карстови райони и карстови извори, каквито са нашите проби от река Младежка (Кехайов, 1959).

Стойностите на перманганатната окисляемост са в границите от 4.5 до 12.5 mgO₂/dm³. Тази разлика в стойностите най-вероятно се дължи на наличието на органични вещества с естествен произход или на такива попаднали чрез битови отпадъчни води.

Таблица 3. Стойности на показателите NH₃ (NH₄⁺), NO₃⁻, Cl⁻ и SO₄²⁻

№	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	NH ₃ NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻
	meq/dm ³	meq/dm ³	meq/dm ³	mgO ₂ /dm ³
1	0.25	0.3	0.05	0.1
2	0.25	0.5	0.1	0.2
3	0.25	0.7	0.4	1.0
4	0.25	0.6	0.2	0.5

Концентрацията на SO₄²⁻ и Cl⁻ за всички изследвани води е много по-ниска от тази на HCO₃⁻. Трябва да отбележим, че тези води са хидрогенкарбонатно - калциеви води.



Фиг. 3. Стойности на NH₃ (NH₄⁺) и NO₃⁻ на изследваните речни води

Съдържанието на NH₃ (NH₄⁺) и NO₃⁻ е сравнително ниско, единствено при трета проба е около 1.00 mg/dm³ за NO₃⁻ и 0.4mg/dm³ за NH₃ (NH₄⁺). Това най-вероятно се дължи на по-високото съдържание на механични примеси в пробата.

За количествена оценка на самопречиствателната способност на речното течение на река Младежка са взети проби след заустване на битовите отпадъчни води от село Младеж-

ко и е пресметната степен на пречистване на водата по формулата на Шниолис (Дядовски, 1995):

$$CC = (M_1 - M_2) / M_1 * 100, \%$$

където:

- CC е самопречиствателната способност на реката в участък от т.1 до т.2;
- M_1 и M_2 - маси на замърсяващите вещества в началото и в края на участъка определени по съответен показател;

Установено е, че самопречиствателната способност на речната вода (река Младежка) по показателите механични примеси и перманганатна окисляемост е съответно 30% и 22%.

Констатираната сравнително ниска самопречиствателната способност на водите изисква провеждане на съответни мероприятия по пречистването на битовите отпадъчни води на малките населени места край реката (Schweitzer and James Noblet, 2018).

В бъдещи експерименти за оценяване на самопречиствателната способност, авторите ще използват математически инструмент, т. нар. "Невронна мрежа". Това е инструмент за моделиране на действителни паралелни процеси. Моделирането на процесите ще ни осигури една възможност за търсене на бъдещи технологични решения при опазването на речните води, които са част от влажните зони на България (Belovski, 2017).

Заклучение

Проведени са хидрохимични изследвания на четири проби речни води от река Младежка, Странджа планина. Определен е хидрохимичния тип на водите и самопречиствателната способност по някои показатели на речен участък на река Младежка.

Установено е, че речните води са хидрогенкарбонатно калциеви, неутрални до слабо алкални. Механичните примеси са от 2.0 до 30 mg/dm³, а перманганатната окисляемост е от 4.5 до 12.5 mgO₂/dm³.

Самопречиствателната способност на речните води по показателите механични примеси и перманганатна окисляемост е сравнително ниска - съответно 30% и 22%.

За намаляване на качествените трансформации на речните води е необходимо пречистване на битовите отпадъчни води от разполо-

жените в близост до речното течение селища, включително и с малки по капацитет инсталации на модулени принципи, подходящи за условията на тези райони.

Литература

1. Добревски, И. 1982. *Технология на водата, част първа*. София, Техника.
2. Добревски, И. 2003. *Ръководство за упражнения по технология на водата, част първа*. Бургас, Асен Златаров.
3. Дончев, Д., Хр. Каракашев. 2012. *География на България*. София, Сиела.
4. Дядовски, И. 1995. *Екологична оценка и опазване на водните течения от замърсяване*. София, Тилия.
5. Иванов, Р. 2015. *Замърсяване на водите и въздействие върху екосистемите*. Шумен, Химера.
6. Игнатова, Н. 1992. *Опазване чистотата на водите*, София. Земиздат.
7. Калинков, П. 2013. *Пречистване на природни води*. София, Техника.
8. Кехайов, Т. 1959. *Карстът и карстови води в българския дял на Странджа планина*. София, Техника.
9. Колева, Д., Хр. Карагъзов, Б. Богданов. 2010. Очистване на газови смеси от серен диоксид с помощта на алкални разтвори, Сборник с доклади от Лятна Школа „Химични, биохимични технологии и опазване на околната среда”, BG051PO001-3.3.04/30 “Програми и инструменти за повишаване на научния потенциал на докторанти, пост-докторанти и млади учени в областта на химичната и биохимичната технология и опазването на околната среда”, 139 – 147.
10. Пачев, Ц., К. Иванов. 1973. *Замърсяване на реките в България със суспендирани вещества*. София, БАН.
11. Belovski, I., S. Sotirov, A. Alexandrov, N. Sotirov. 2017. Recognition of heat - conductive filling agents of a thermoelectric refrigeration system with Focused Time - Delay Neural Network. *XV-th International Conference on Electrical Machines, Drives and Power Systems*, IEEE Xplore, 166-169.
12. Cai, X., K. Wallington, M. Shafiee-Jood, L. Marston. 2018. Understanding and managing the food-energy-water nexus – opportunities for water resources research, *Advances in Water Resources*, 111: 259-273.
13. Karaouzas, I. E. Smeti, A. Vourka, L. Vardakas, E. Kalogianni. 2018. Assessing the

ecological effects of water stress and pollution in a temporary river - Implications for water management, *Science of The Total Environment*, 618: 1591-1604.

14. Kozyra, A., K. Skrzypczyk, K. Stebel, A. Rolnik, M. Kućma. 2017. Remote controlled water craft for water measurement, *Measurement*, 111: 105-113.

15. Schweitzer, L., James Noblet. 2018. *Green Chemistry An Inclusive Approach, Chapter 3.6 – Water Contamination and Pollution*, 261–290.

16. Stumm, W., J. Morgan. 1996. *Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters*. Canada, John Wiley & Sons.

Благовеста Мидюрова – гл. ас. д-р в Университет „Проф. д-р Асен Златаров“, катедра „Екология и опазване на околната среда“, гр. Бургас, 8010, ул. Як. Якимов 1; e-mail: blagi77@abv.bg

Иван Чобанов – гл. ас. д-р в Университет „Проф. д-р Асен Златаров“, катедра „Екология и опазване на околната среда“, гр. Бургас, 8010, ул. Як. Якимов 1; e-mail: ichobanov@abv.bg

Мария Димова - Тодорова – доцент в Университет „Проф. д-р Асен Златаров“, катедра „Екология и опазване на околната среда“, гр. Бургас, 8010, ул. Як. Якимов 1; e-mail: mdimova@btu.bg



ДОБИВ НА ЕНЕРГИЯ И ДЕГРАДАЦИЯ НА ОРГАНИКА В ЕДНОКАМЕРНА МИКРОБИОЛОГИЧНА ГОРИВНА КЛЕТКА

Благовеста Мидюрова, Валентин Ненов

SIMULTANEOUS ENERGY GENERATION AND ORGANIC MATTER REMOVAL IN A SINGLE CHAMBER MICROBIAL FUEL CELL

Blagovesta Midyurova, Valentin Nenov

ABSTRACT: The microbial fuel cell (MFC) with air-cathode is a promising system for direct conversion of chemical energy into electrical energy and organica matter degradation. One of the componets of MFC of most importance is the type of the electrode and specifically of the cathode. The study is focused on monitoring the operational stability of a cell with VITO air-cathode and a modifies anod (carbone brush). The process is controlled by the potencial created through an open circuit potential (OCP) and against different resistances (closed circuit, CCP). The obtained voltage is in the range of 45.7mV - 43.9mV at CCP, while it is 202.5mV - 201.5mV at OCP. The extent of the COD removal during the run is 78.6%.

Key words: Microbial Fuel Cell, Carbon brush, Waste water.

Въведение

Микробиологичните горивни клетки (МГК) са една нова и бързо развиваща се интердисциплинарна технология, съчетаваща в себе си биотехнологиите, екологичното инженерство и електрохимията (ElMekawy et al., 2014; Sharma et al., 2014; Koleva et al., 2010). МГК използват електрохимически активни микроорганизми като катализатори за директното превръщане на химическата в електрическа енергия (Mohan et al., 2014; Григорова, 2017).

Прилагането на тези биоелектрохимични системи има редица предимства в сравнение с конвенционалните методи за пречистване на води. Някои от тях са следните: 1) след края на работния период се формират значително по-малки количества отпадъчна биомаса; 2) използват се като устройства за мониторинг, дистанционно наблюдение и биосензори от гледна точка на физиологията на микроорганизмите (клетъчна структура, фактори за растеж и др.), (Lovely, 2006); 3) с внедряването на тези системи в пречиствателните станции за отпадъчни води ПСОВ могат да бъдат намалени разходите за аерация с до 50%; 4) МГК са един нов подход съчетаващ в себе си едновременно два екологични аспекта - отстраняване на органични и неорганични замър-

сителите от отпадъчни потоци и получаване на енергия (Tang et al., 2014, Zhang et al., 2015a).

Наред с предимствата МГК имат и някои недостатъци Logan, 2008 и Izadi et al., 2015 установяват, че при използването на оцетна киселина като донор на електрони и кислород като акцептор на електрони, максималното измерено напрежение на системата е 1.105 V. Поради тази причина изследванията и проучванията на много колективи са насочени към подобряване структурата на реактора (Tian et al. 2015; Zhang et al., 2013). Обикновено се смята, че електродният материал е един от най-критичните фактори, определящи производителността на МГК. Електродният материал трябва да притежава висока проводимост, ниска корозионност, висока специфична повърхност и поръзност, необходими за растежа на микроорганизмите и ниска себестойност (Guerrini et al., 2015). Много от въглеродните материали притежават тези качества и широко се прилагат като електроди в МГК - въглеродни платове (Wang et al., 2013; Ye et al., 2015), четките от въглеродни влакна (Liao et al., 2015), въглеродна хартия, активен въглен и др., (Zhang et al., 2014b). В настоящия момент се правят редица разработки за модифициране на анодния и катодния материал чрез нанасяне на различни електропроводими слоеве, промяна на геометрията на електродите, предварителното им

третиране с цел оптимизирането им и постигане на максимална мощност и подобряване производителността на МГК (Li et al., 2014; Liu et al., 2014). Резултатите от тези проучвания показват, че такива подходи могат ефективно да увеличат активността на анодния биофилм, да намалят вътрешното съпротивление и да увеличат изходното напрежение и производителността на МГК.

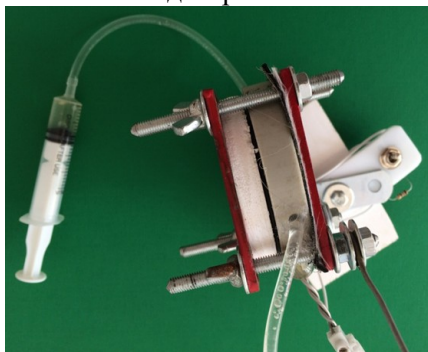
Целта на настоящото изследване е създаване на конструкция на МГК с въздушен катод и модифициран анод (въглеродна четка) и проследяване производителността на системата в целия период на експлоатация.

Експериментална част

Дизайн и конструкция на Микробиологична горивна клетка:

Изработена е лабораторна клетка с въздушен катод VITO Belgium 40:60 с площ $0.04 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$. Анодната камера е с: $d = 6 \text{ cm}$, $h = 1 \text{ cm}$, обема на анодната камера е $1.88 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3$, а вместимостта 20 ml – фиг.1.

Анодът се състои от графитна четка със съпротивление: R на една нишка = 8.8Ω ; R на повече нишки = 2.3Ω ; R на всички нишки = 1.4Ω , докато R на carbon cloth = 100Ω . Дължината на нишките, от които е конструирана четката е 14 cm , след което са механично усукани с помощта на тел от неръждаема стомана. Анодната камера е изработена от PVC елемент, като в нея е разположена графитната четка и отделните въглеродни нишки са извити по посока на часовниковата стрелка. За да се избегне прекия контакт на нишките с въздушния катод е поставен сепаратор от нетъкан плат в близост до мрежата.



Фиг.1. Конструкция на еднокамерна лабораторна МГК с въздушен катод и модифициран анод

Вътрешното съпротивление на клетката преди зареждане е $1000 \text{ k}\Omega$. Външната верига е свързана със съпротивление от 100Ω .

Електролитът с който е заредена анодната камера се състои от електрогенни микроорганизми, които са изолирани от дънен седимент на яз. „Ясна поляна”. Проба от седимента е пренесена на богата течна хранителна среда със състав (g/dm^3): казеинов триптон -10; дрождев екстракт - 5; NaCl – 5; глюкоза – 20. След 72 часа култивиране при температура от 16 до 20°C , получения електролит е зареден в анодната камера на конструираната МГК. Създадени са подходящи условия за образуване на биофилм от микроорганизми върху анода (въглеродната четка), които играят основна роля при анаеробното окисление на субстратите и трансфера на електроните към анода и външната електрическа верига. След проследяване на анодния ток и достигането му до максимални стойности, анодната камера се освобождава и зарежда с моделна отпадъчна вода съдържаща – ацетат, казеинов триптон, дрождев екстракт и NaCl . Операционната стабилност на клетката с анод от въглеродна четка и въздушен катод VITO е проучена на база измерване на напрежението и анализ на показателя химична потребност от кислород (ХПК). За проследяване на съдържанието на органика в средата бяха използвани тестове на Nach Lange LCK 514 и спектрофотометър Nach Lange DR 3900. Напрежението е измервано в хода на експеримента с Auto ranging digital Multimeter Model MY-66, като с помощта на превключвател се отчита стойностите при отворена и затворена верига. Периодично бяха вземани проби от анодната камера за ХПК анализ по методиката на Добревски и съавт, 2003.

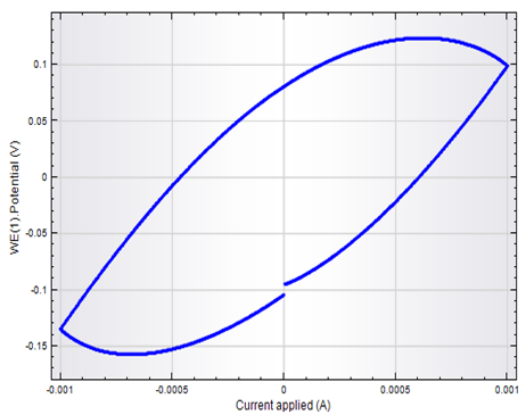
Електрохимична клетка за изпитание на електродните материали:

Тестовата клетка, която е използвана за провеждане на електрохимични изследвания, се състои от стъклен реактор с електролитен фон (250 mM воден разтвор на NaCl). В нея са стационарно поставени три електрода (работен, сравнителен и референтен) за да бъдат създадени аналогични условия с конструкцията на МГК. Първия електрод е VITO Belgium 40:60 (въздушен катод), втория електрод се състои от въглеродно платно от което е направена въглеродната четка (анод). За референт е използван сребро-сребърен хлориден електрод: Ag/AgCl/KCl (наситен воден р-р) с потенциал 0.222 V . Цикличните волтамограми са снимани с апарат AUTOLAB PGSTAT101 със стъпка 0.00244 и скорост на сканиране 0.1 Vs^{-1} при стайна температура ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). За

да се получи по-пълна информация за стабилността на електродите са приложени още два метода с линейно изменение на потенциала с времето т. нар. линейна поляризация (Linear polarization- LP) и т.нар. линейна волтаметрия (Linear sweep voltammetry- LSV).

Резултати и обсъждане

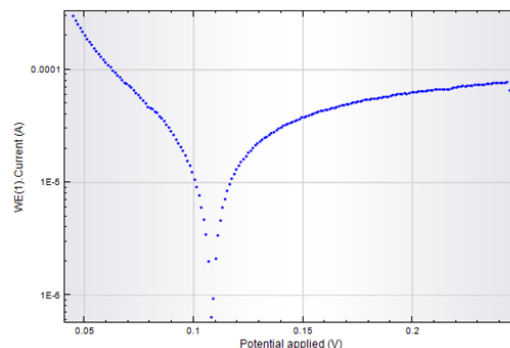
Електрохимичните изследвания с метода циклична волтаметрия показват, че когато е тестван катод в режим на галваностат волтамограмата има вида показан на фиг. 2. Волтамограмата се състои от две криви, първата от които съответства на увеличаването на потенциала. Нарастването на потенциала е съпроводено с намаляване на повърхностната концентрация и достигане на масовия пренос до максимална скорост, която след това намалява поради ефекта на изчерпване (поради по-бавната дифузия). В резултат на това токът достига максимум и започва да спада. След преминаването на максимума в тока, сканирането на потенциала се обръща в обратната посока, това е отразено във втората крива от волтамограмата (фиг.2).



Фиг. 2. Волтамограма в режим Галваностат

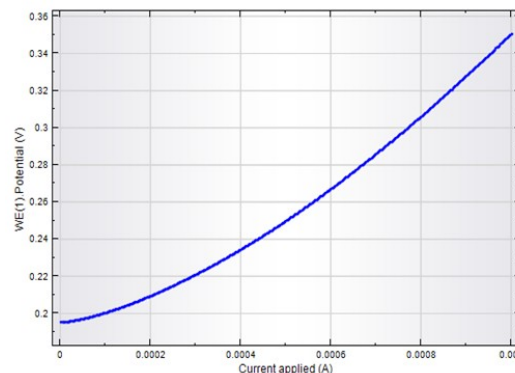
На фиг.2 се вижда, че имаме стойности на потенциала - 0.16V при 0.700μA. При следващите два анализа - линейна поляризация (LP) и линейна волтаметрия (LSV) се подават потенциали променящи се линейно във времето със скорости на сканиране в диапазона 0.04 V/s до 1000 V/s.

От графична зависимост на потенциала спрямо тока на въздушен катод VITO и получената крива на линейна поляризация на фиг. 3 е установено, че използвания въздушен катод е правилно подбран и корозионно устойчив конструктивен материал.



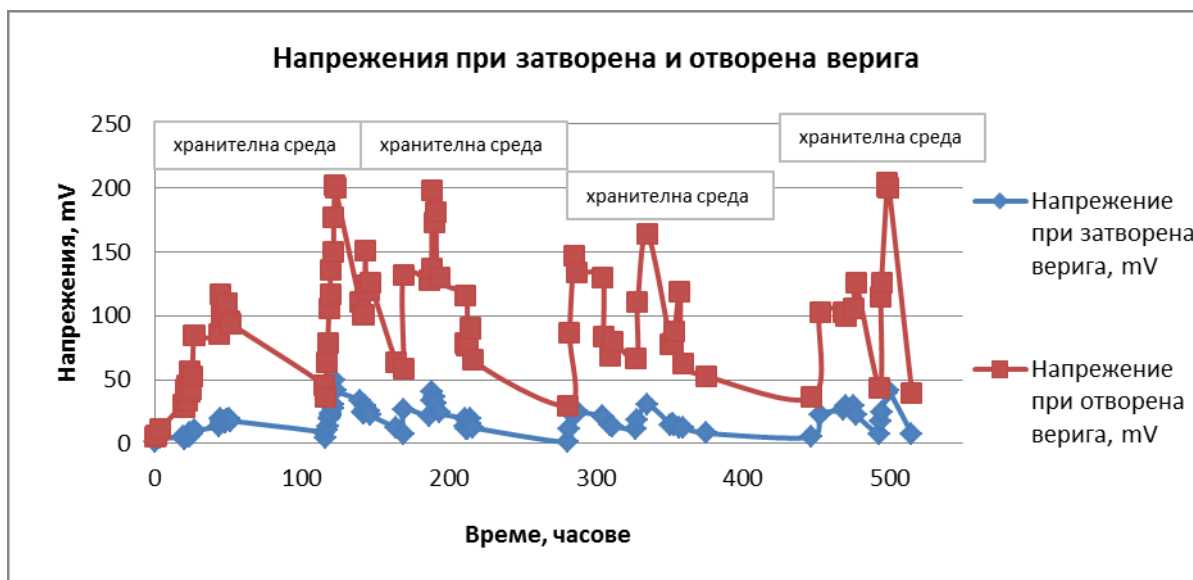
Фиг. 3. Графична зависимост на потенциала спрямо тока на въздушен катод VITO (Linear polarization)

Графичната зависимост на фиг.4. потвърждава, че избора на този катод е целесъобразен от технологична гледна точка, стойността на потенциала е 0.345V при 1000μA.



Фиг. 4. Графична зависимост на потенциала спрямо тока на въздушен катод VITO (Linear sweep voltammetry)

Резултатите за операционната стабилност на МГК са представени графично на фиг.5, като на абцисата е нанесена продължителността на работа на клетката в часове, а на ординатата - напрежението при отворена и затворена верига.



Фиг. 5. Напрежения генерирани при затворена и отворена верига спрямо времето на експлоатация на МГК

Получените стойности на напреженията са в диапазона от 45.7mV до 43.9mV (при затворена електрическа верига) и съответно 202.5mV до 201.5mV (при отворена електрическа верига). Получените резултати показват, че след определен цикъл на работа стойностите на напреженията намаляват, което най-вероятно се дължи на изчерпване на хранителните вещества необходими за растежа на микроорганизмите. Това налага периодично подхранване на анодния субстрат със свежа хранителна среда. Проведени са четири цикъла на подхранване на системата. Времето за зареждане е от порядъка на 5 минути тъй като е необходимо извеждането на газовата фаза и хомогенизиране на анодния електролит.

Тъй като една от целите на експеримента е проследяване производителността на МГК, за определяне на минерализацията на моделната отпадъчна вода е направен ХПК анализ на две проби в началото и в края на експеримента. Съдържанието (концентрацията) на органични вещества в анодния електролит в началото на експеримента, е 2129mgO₂/L и съответно в края на работния процес е 456mgO₂/L. Отстраняването на органика чрез МГК е около 78.6%, това са стойности сравними с резултатите получени от Tursun H. et al., 2016 около 89.3%. Това е доказателство за протичане на типичен анаеробен процес в МГК, за частична минерализация на органиката и за добрата симбиоза между трите основни функционални елемента в биоелектрохимичната система: модифициран анод, въздушен катод и био-

филм от електрогенни микроорганизми. Изчислена е и мощността на МГК, която също е много важен показател за ефективното протичане на процесите в системата - фиг. 6. (Tursun H. et al., 2016).



Фиг. 5. Генерирана мощност на МГК в периода на експлоатация

Получените стойности на мощността са в диапазона от 137 до 410W. Установено е, че през работния период на МГК (около 20 дни), се наблюдава една цикличност в получените стойности на напрежението и мощността, което може да бъде една предпоставка към следващо автоматизиране и моделиране на системата с цел прогнозиране на бъдещите резултати (Belovski, I. et al., 2016).

Заклучение

Получените резултати демонстрират добри експлоатационни характеристики на МГК с въздушен катод и модифициран анод. В заключение можем да отбележим, че:

- От особено значение е добре проектираната и подбрана конструкция на МГК.
- Използването на въглеродна четка за модифициран анод има редица предимства, като по-голяма повърхностна площ, образуване на стабилен биофилм и ефективно протичане на биоелектрохимичните процеси.
- Избора на въздушен катод е от особена важност за стабилността и производителността на системата. Използването на VITO (Belgium 40:60) за въздушен катод е целесъобразно от технологична гледна точка.
- В периода на работа на МГК се наблюдава отстраняване на органиката с около 78.6% и цикличност на резултатите, което може да бъде една предпоставка за използването на тези системи като устройства за дистанционно наблюдение и извършване на проучвателен или контролен мониторинг на води.

Литература

1. Григорова, Г. 2017. Определяне на хранителната и енергийна стойност на млечни продукти. Изисквания на регламент ЕС 1169/2011. *Индустриални технологии*, 4: 80-84.
2. Добревски, И. 2003. *Ръководство за управление по технология на водата, част първа*. Бургас, Асен Златаров.
3. Belovski, I., A. Alexandrov, N. Sotirov, S. Sotirov. 2016. Prediction of the parameters of the thermoelectric cooling systems based on peltier elements with neural network, *Electrical Apparatus and Technologies (SIELA), 19th International Symposium, IEEE Xplore*, ISBN: 978-1-4673-9522-9: 37-38.
4. ElMekawy, A., H. M. Hegab, K. Vanbroekhoven, D. Pant. 2014. Techno-productive potential of photosynthetic microbial fuel cells through different configurations. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 39: 617-627.
5. Guerrini, E., M. Grattieri, A. Faggianelli, P. Cristiani, S. Trasatti. 2015. PTFE effect on the electrocatalysis of the oxygen reduction reaction in membraneless microbial fuel cells. *Bioelectrochemistry*, 106: 240-247.
6. Izadi, P., M. Rahimnejad, A. Ghoreyshi. 2015. Power production and wastewater treatment simultaneously by dual-chamber microbial fuel cell technique. *Biotechnol Appl Biochem.*, 62, 4:483-8.
7. Koleva, D., Chr. Karagiozov. 2010. The kinetic investigation of the absorption of sulfur dioxide from gas mixtures in alkaline suspension. *Asian Chemistry Letters*, 14, 2: 95-101.
8. Li, B., J. Zhou, X. Zhou, X. Wang, B. Li, C. Santoro. 2014. Surface modification of microbial fuel cells anodes: approaches to practical design. *Electrochim. Acta*, 134:116-126.
9. Liao, Q., J. Zhang, J. Li, D. Ye, X. Zhu, B. Zhang. 2015. Increased performance of a tubular microbial fuel cell with a rotating carbon-brush anode. *Biosens Bioelectron.*, 63:558-561.
10. Liu, J., J. Liu, W. He, Y. Qu, N. Ren Y., Feng. 2014. Enhanced electricity generation for microbial fuel cell by using electrochemical oxidation to modify carbon cloth anode. *J. Power Sour.*, 265: 391-396.
11. Logan, B. E. 2008. *Microbial Fuel Cells*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.
12. Lovely, DR. 2006. Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches. *Curr Opin Biotech*, 17: 327-332.
13. Mohan, S. V., G. Velvizhi, J. A. Modestra, S. Srikanth. 2014. Microbial fuel cell: critical factors regulating bio-catalyzed electrochemical process and recent advancements. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 40:779-797.
14. Sharma, M., S. Bajracharya, S. Gildemyn, S. A. Patil, Y. Alvarez-Gallego, D. Pant, et al. 2014. A critical revisit of the key parameters used to describe microbial electrochemical systems. *Electrochim. Acta*, 140: 191-208.
15. Tang, X., H. Li, Z. Du, H. Y. Ng. 2014. A phosphorus-free anolyte to enhance coulombic efficiency of microbial fuel cells. *J. Power Sour.* 268 14-18.
16. Tian, Y., H. Li, L. Li, X. Su, Y. Lu, W. Zuo, J. Zhang. 2015. In-situ integration of microbial fuel cell with hollow-fiber membrane bioreactor for wastewater treatment and membrane fouling mitigation. *Biosens Bioelectron.*, 64:189-195.
17. Tursun, H., R. Liu, J. Li, R. Abro, X. Wang, Y. Gao, and Y. Li. 2016. Carbon Material Optimized Biocathode for Improving Microbial Fuel Cell Performance, *Frontiers in Microbiology*, 7:6.
18. Wang, Z., Y. Zheng, Y. Xiao, S. Wu, Y. Wu, Z. Yang, F. Zhao. 2013. Analysis of oxygen reduction and microbial community of air-

diffusion biocathode in microbial fuel cells. *Bioresour Technol.*, 144:74-79.

19. Wang, Z., G. D. Mahadevan, Y. Wu, F. Zhao. 2017. Progress of air-breathing cathode in microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 356: 245-255.

20. Ye, Z. F., B. G. Zhang, Y. Liu, Z. Y. Wang, C. X. Tian. 2015. Continuous electricity generation with piggery wastewater treatment using an anaerobic baffled stacking microbial fuel cell. *Desalin. Water Treat.*, 55: 2079–2087.

21. Zhang, F., Z. Ge, J. Grimaud, J. Hurst, Z. He. 2013. Long-term performance of liter-scale microbial fuel cells treating primary effluent installed in a municipal wastewater treatment facility. *Environ Sci Technol.*, 47, 9:4941-4948.

22. Zhang, X., D. Pant, F. Zhang, J. Liu, W. He, B. E. Logan. 2014b. Long-term performance of

chemically and physically modified activated carbons in air cathodes of microbial fuel cells. *ChemElectroChem*, 1: 1859–1866.

Благовеста Мидюрова – гл. ас. д-р в Университет „Проф. д-р Асен Златаров“, катедра „Екология и опазване на околната среда“, гр. Бургас, 8010, ул. Як. Якимов 1; e-mail: blagi77@abv.bg

Валентин Ненов – професор в Университет „Проф. д-р Асен Златаров“, катедра „Технология на водата, неорганичните вещества и силикатите“, гр. Бургас, 8010, ул. Як. Якимов 1, e-mail: vnenov@btu.bg



РЕЖИМИ НА РАБОТА НА ТЕРМОЕЛЕКТРИЧЕСКИТЕ ЕЛЕМЕНТИ

Ивайло Беловски

OPERATING MODES OF THE THERMOELECTRIC ELEMENTS

Ivaylo Belovski

ABSTRACT: Thermoelectric energy converters, depending on the effect they use, can generally be divided into three groups: Thermoelectric generators; Thermoelectric refrigerators and Thermoelectric heaters. In their work Thermoelectric generators use the Seebeck effect, and the Thermoelectric refrigerators and heaters - the Peltier effect. The thermoelectric effect is the direct conversion of temperature differences to electric voltage and vice versa. Nowadays, thermoelectric devices and systems are finding a growing application. This is due to their indisputable advantages, such as small size, environmentally safe, noiseless and reliable. The purpose of this article is to present the main operation modes of the thermoelectric elements, their specific features and parameters.

Key words: Thermoelectric elements, Peltier-Seebeck effect, TEC, TEG.

Въведение

Термоелектрическите преобразуватели на енергия, в зависимост от ефекта, който използват, най-общо могат да бъдат разделени на три групи:

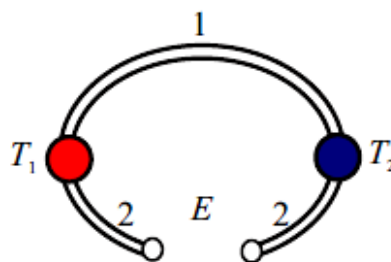
- Термоелектрически генератори;
- Термоелектрически хладилници;
- Термоелектрически нагреватели.

Термоелектрическите генератори използват при работата си ефекта на Зеебек, а термоелектрическите хладилници и нагреватели - ефекта на Пелтие. Към термоелектрическите ефекти се причислява също и ефекта на Томпсън.

Ефекта на Зеебек се състои в директно превръщане на съществуващите в природата, и в резултат на човешката дейност температурни разлики ΔT , в електрическа мощност (Rowe, 2006; Охотин, 1971). Този ефект за първи път е открит случайно от германско-естонския физик Томас Йохан Зеебек през 1821 г., който открил, че между двата края на метална пръчка се появява напрежение, когато в нея съществува температурна разлика ΔT . Той също така установил, че магнитната стрелка се отклонява, ако се приближи до затворен контур, образуван от различни два метала с температурна разлика между мястото на съединението им и краищата им (мястото на измерване). Причината е, че металите реагират различно на температурните разли-

ки, създадени от този контур, който произвежда магнитно поле.

Ефекта на Зеебек се изразява в това, че ако в една разединена електрическа верига, състояща се от два разнородни проводника (фиг.1), на единият от контактите се поддържа температура T_1 , а на другият - температура T_2 , то при условие, че $T_1 > T_2$ в краищата на веригата възниква термоелектродвижещо напрежение (термо Е.Д.Н) E (Анатычук, 2003, Тахистов, 2008). При затваряне на електрическата верига, през нея протича електрически ток.

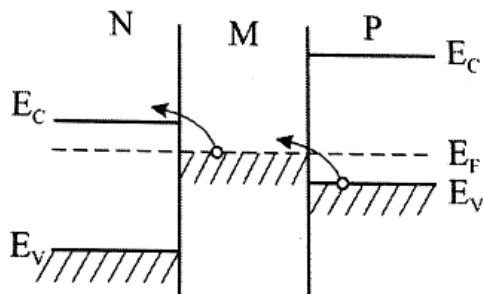


Фиг. 1. Термоелемент от два различни едно-родни материала: 1, 2 - материали с различен коефициент на термо Е.Д.Н.

Ефекта на Пелтие се изразява в преобразуването на електрическата енергия в температурна разлика ΔT (Александров, 2012; Булат, 2002, Вълков, 1992). Ако през термоелемент, състоящ се от два полупроводника с

различен тип проводимост се пропусне електрически ток, то в местата на контакта се отделя или поглъща известно количество топлина (в зависимост от посоката на тока).

Ефекта на Пелтие се обяснява с опростената зонна диаграма на контакта N полупроводник – Метал – Р полупроводник (фиг. 2).



Фиг. 2. Зонна диаграма на контакта N полупроводник – Метал – Р полупроводник

При преминаване на ток I през тази система в указаната посока, електроните при движението си от Р към N полупроводника в мястото на контактите, са принудени да се изкачват на по-високи енергийни нива, при което поглъщат топлинна енергия от кристалната решетка на метала и полупроводника в контактите и с това ги охлаждат. При обратна посока на тока, електроните слизат на по-ниски нива, отдават топлинна енергия на контактите и те се загреват.

Ефекта на Томпсън също спада към термоелектрическите ефекти. Той се изразява в това, че при протичане на ток през проводник или полупроводник, в който съществува температурен градиент, като допълнение към топлината на Джаул се отделя или поглъща известно количество топлина, в зависимост от посоката на тока (Godfrey, 1996; Thomson, 1851).

Поради изчерпване на конвенционалните енергоизточници, алтернативните източници на енергия стават все по-популярни – термоелектрически генератори, фотоволтаични системи, горивни клетки (Midyurova, Nenov, 2017) и др.

Изложение

А. Режим на генериране на термоелектродвижещо напрежение

Схемата на термоелектрически елемент, работещ в генераторен режим е представена на фиг.3. Ако контактите на двата материала

се намират при различни температури – T_1 и T_2 , то във веригата протича термоелектрически ток (Анатычук, 2003; Иоффе, 1956; Anatychuk, 1998). В разединената верига възниква термо Е.Д.Н. - E :

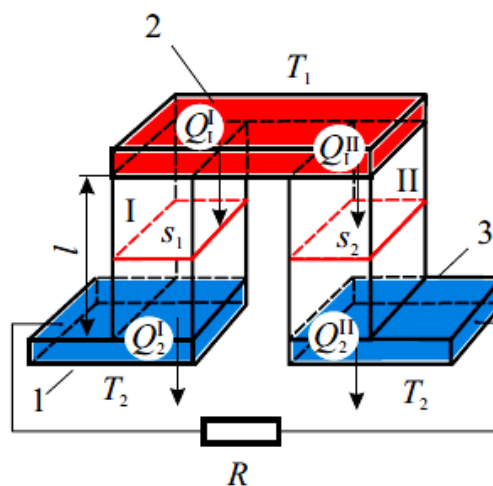
$$E = \int_{T_2}^{T_1} [\alpha_1(T) - \alpha_2(T)] dT \quad (1)$$

където α_1, α_2 - коефициенти на термо Е.Д.Н. на материали 1 и 2. Ако α_1, α_2 зависят не съществено от температурата, то:

$$E = (\alpha_1 - \alpha_2)(T_1 - T_2) \quad (2)$$

Ако, термоелектрическата верига съдържа няколко последователно включени термодвойки, то общото термо Е.Д.Н. се определя като сума от последователно включените източници на Е.Д.Н..

При термоелектрическите елементи, чиито клонове са изградени от полупроводници с различен тип проводимост – Р и N тип, свързани в единия край с метален мост (фиг. 3), металните контакти 1,2 и 3, поставени при еднакви температурни условия, не оказват влияние върху сумарното Е.Д.Н.



Фиг. 3. Термоелектрически елемент - Q_1^I, Q_1^{II} - входящи топлинни потоци, Q_2^I, Q_2^{II} - изходящи топлинни потоци, T_1, T_2 - температури, съответно на горещата и студената страна, l - височина на клоновете, s_1, s_2 - площи на напречните сечения на клоновете.

Коефициента на полезно действие на термоелемента η се определя от закона за съхра-

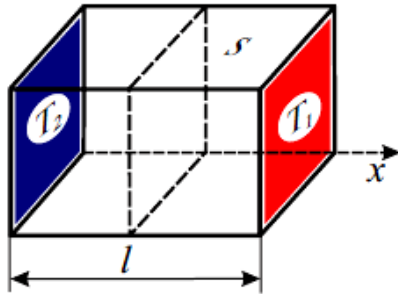
нение на енергията, чрез отчитане на топлинния поток, протичащ през термоелемента и електрическият ток I , протичащ през външен товар R . В този случай:

$$Q_1^I + Q_1^{II} - Q_2^I - Q_2^{II} = I^2 R \quad (3)$$

а за КПД се получава:

$$\eta = \frac{Q_1^I + Q_1^{II} - Q_2^I - Q_2^{II}}{Q_1^I + Q_1^{II}} \quad (4)$$

В числителя е представена отделената в товара R електрическа мощност, а в знаменателя – отдадената топлинна мощност. Поради подобие на двата клона, се преминава към анализ само на единият (фиг. 4).



Фиг. 4. Един от клоновете на термоелемент

При отсъствие на електрически ток I (без включен товар R), топлинния поток се обуславя само от топлопроводността на материала:

$$-ks \frac{dT}{dx} = \frac{s}{l} \int_{T_2}^{T_1} k dT, \quad (5)$$

където k е коефициент на топлопроводност.

При включен товар R във веригата, трябва да се отчита и влиянието на топлината на Джаул и топлината на Томпсън

$$Q_J = \frac{I^2}{s} \int_0^l \rho dx, \quad (6)$$

$$Q_T = I \int_{T_2}^{T_1} \tau_T dT, \quad (7)$$

където Q_J и Q_T са съответно топлина на Джаул и топлина на Томпсън, ρ - специфично съпротивление, τ_T - коефициент на Томпсън.

Известно е, че половината отделена в термоелемента топлинна мощност на Джаул и Томпсън се връща към горещата страна, а другата половина се поглъща от студената.

За груба оценка на КПД (непревишаваща разликата от 10% при използване на по - точни методи) може да се използва изразът:

$$\eta = \frac{1}{4} \frac{T_1 - T_2}{T_1} Z_0 T', \quad (8)$$

където:

$$T' = \frac{T_1 + T_2}{2} \quad (9)$$

$$Z_0 = \frac{\alpha^2}{((\sqrt{k_1 \rho_1}) + (\sqrt{k_2 \rho_2}))^2} \quad (10)$$

Z_0 - качествен фактор на термоелемента; $\alpha = \alpha_1 - \alpha_2$; k_1, k_2 - коефициенти на топлопроводност на двата клона на термоелемента; ρ_1, ρ_2 - специфични съпротивления на материалите.

За по - точно изчисляване на КПД, трябва да се отчита, освен вътрешното съпротивление на N и P полупроводника - r, така и съпротивлението в контактите с металните пластини. Приблизително (Йоффе, 1966; Нер, 1957; Тахистов, 2002) ефективното електрическо съпротивление в комутационните пластини може да се определи по формулата:

$$R_{plate} = \frac{\rho_p (b - \frac{2a}{3})}{s}, \quad (11)$$

където: ρ_p - специфично съпротивление на материала на пластината; s - площ на нейното напречно сечение; b - дължина на пластината; a - ширина на клоновете на термоелемента.

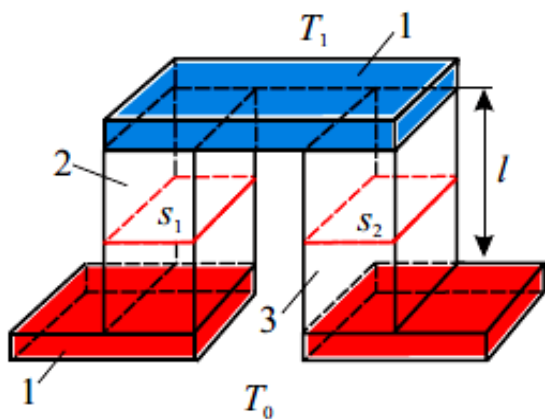
Увеличаване на КПД на термоелектрическите елементи може да се постигне, както с използването на материали с по - висок качествен фактор Z_0 , така и чрез увеличаване на ΔT ($\Delta T = T_1 - T_2$). За увеличаване на качествения фактор се използва, така нареченото „каскадиране“ - няколко термоелемента се поставят един върху друг и образуват пос-

ледователна топлинна верига. В този случай, за всеки от термоелементите могат да бъдат подбрани както материалите, така и съответния температурен интервал, обезпечаващ най-висок Z_0 .

Б. Режим на охлаждане

Охлаждането, чрез използване на ефекта на Пелтие е разгледано още през 1911г. от немският учен Едмунт Алтенкирх (Altenkirch, 1911). За изследванията си той е използвал термодвойка от метални проводници. Анализът на резултатите тогава е довел до извода, че този метод на охлаждане е безперспективен. Едва след проведените изследвания на руският учен Абрам Йофе и неговите сътрудници, през петдесетте години на миналия век се изяснява перспективността на този метод при използване на полупроводници и се слага началото на теоретичното изследване и практическото приложение на полупроводниковите термоелементи.

Термоелектрическите преобразуватели, използващи ефекта на Пелтие се наричат термоелектрически хладилници (ТЕХ). ТЕХ съдържа два клона полупроводници с различен тип проводимост – N и P тип с напречно сечение s_1, s_2 и дължина l (фиг. 5).



Фиг. 5. Термоелектрически хладилник: 1 – комутационни пластини; 2, 3 – полупроводници с N и P тип проводимост

Ако през един такъв термоелемент, поставен при нормална постоянна температура се пропусне електрически ток I от N към P полупроводника, след много кратко време (няколко секунди) се установява, че горния край се е охладил до температура T_1 - по-ниска от

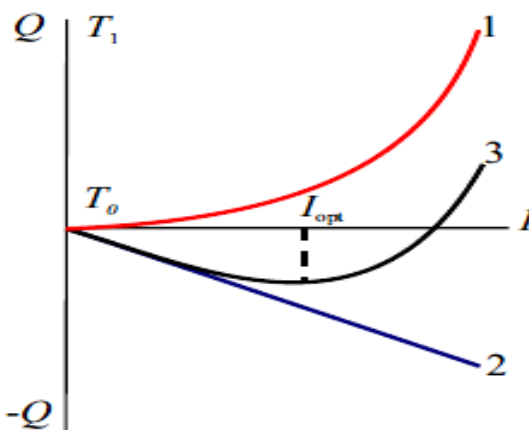
околната, а долният се е загреял до температура T_0 - по-висока от околната. При анализа на термоелемента се отчита ефекта на Пелтие и отделената топлина на Джаул, а ефекта на Томпсън се пренебрегва. В този случай се смята, че половината топлина на Джаул се пренася към студената страна, а другата половина – към горещата (Анатычук, 2003; Jeffrey, 2012).

Топлинната мощност, погълната от студения край е:

$$Q = -\Pi I + 0.5rI^2, \quad (18)$$

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

Температурната характеристика на такъв термоелемент е представена на фиг. 6. От нея се вижда, че съществува стойност на тока I_{opt} , при която се достига максимално охлаждане.



Фиг. 6. Температурна характеристика на термоелемент в режим на охлаждане: 1 – топлина на Джаул; 2 – погълната топлинна мощност (ефект на Пелтие); 3 – температура на студената страна.

При по – малки токове намалява поглъщането на топлина, вследствие ефекта на Пелтие, а при по – големи - нараства ролята на Джауловата топлина.

Студеният край поглъща както топлината Q_0 , отдавана от охлаждащото тяло или от околната среда, контактуваща с него, така и топлината, пренасяща се по клоновете (пора-

ди наличието на топлопроводност) от топлия към студения край.

Различават се три основни режима на работа на термоелектрическият хладилник:

- 1) *Режим на максимално охлаждане* - при максимална температурна разлика ΔT ;
- 2) *Режим на максимална хладилна производителност*;
- 3) *Режим на максимална икономичност*.

Режим на максимално охлаждане се постига при условието $Q_0 = 0$ (при липса на топлинен товар). В този случай, уравнението на топлинния баланс на студения край е:

$$-k_0 \Delta T = -\Pi + 0.5rI^2, \quad (19)$$

където k_0 - коефициент на топлопроводност на клоновете.

От (18) и (19) следва:

$$I_{opt} = \frac{\Pi}{r} \quad (20)$$

$$Q_{max} = \frac{\Pi^2}{2r} \quad (21)$$

Максималната температурна разлика е равна на:

$$\Delta T_{max} = \frac{\Pi^2}{2k_0 r}, \quad (22)$$

където:

$$r = l \left(\frac{1}{\sigma_1 s_1} + \frac{1}{\sigma_2 s_2} \right), \quad (23)$$

$$k_0 = \frac{1}{l} (k_1 s_1 + k_2 s_2)$$

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

Израз (22) може да се запише така:

$$\Delta T_{max} = 0.5 Z_0 T_1^2, \quad (24)$$

където

$$Z_0 = \left[\frac{\alpha_1 - \alpha_2}{\sqrt{\frac{k_1}{\sigma_1}} + \sqrt{\frac{k_2}{\sigma_2}}} \right]^2 \quad (25)$$

α_1, α_2 - коефициенти на термо Е.Д.Н. на двата клона. Минималната температура на хладната страна се определя от израз:

$$T_{l_{min}} = \frac{\sqrt{1 + 2T_0 Z_0} - 1}{Z_0} \quad (26)$$

Режим на максимална хладилна производителност се достига при условието $Q_0 = Q_{0_{max}}$, т.е. при наличието на максимален топлинен товар. Тогава уравнението за топлинен баланс е следното:

$$(\alpha_1 - \alpha_2)IT_1 - 0.5rI^2 - k_0 \Delta T = Q_0 \quad (27)$$

Температурната разлика в режим на максимална хладилна производителност е:

$$\Delta T = \Delta T_{max} - \frac{Q_0}{k_0} \quad (28)$$

При описването на *режима на максимална икономичност* се въвежда хладилен коефициент ε :

$$\varepsilon = \frac{Q_0}{W}, \quad (29)$$

където

$$W = rI^2 + (\alpha_1 - \alpha_2)\Delta T I \quad (30)$$

W - консумирана електрическа мощност от термоелемента.

Оптимизацията по ток, при която $\varepsilon = \varepsilon_{max}$ е:

$$I_{opt} = \frac{(\alpha_1 - \alpha_2)\Delta T}{r \left[\sqrt{1 + 0.5 Z_0 (T_0 + T_1)} - 1 \right]} \quad (31)$$

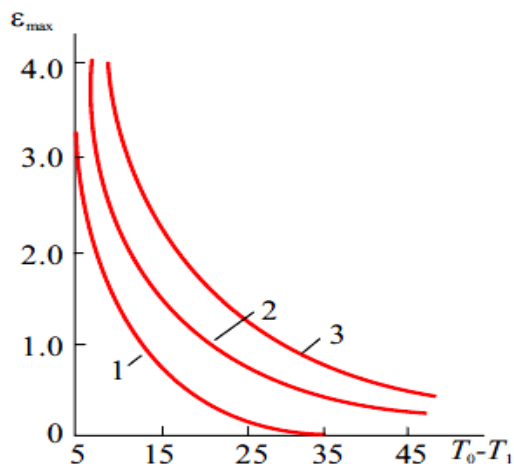
$$\varepsilon_{max} = \frac{T_1}{\Delta T} \frac{\sqrt{1 + 0.5 Z_0 (T_0 + T_1)} - T_0 / T_1}{\sqrt{1 + 0.5 Z_0 (T_0 + T_1)} + 1} \quad (32)$$

а оптималното захранващо напрежение на термоелемента следва да бъде:

$$U_{opt} = \frac{(\alpha_1 - \alpha_2)\Delta T}{\sqrt{1 + 0.5 Z_0 (T_0 + T_1)} - 1} \quad (33)$$

От (32) следва, че хладилният коефициент ε зависи освен от качественият фактор Z_0 и от средната температура, и от температурната разлика ΔT . При $\Delta T \rightarrow \Delta T_{\max}$, то $\varepsilon \rightarrow 0$. Това е нормално, тъй като $\Delta T_{\max}$ се достига при $Q_0 = 0$.

При $\Delta T \rightarrow 0$, то $\varepsilon_{\max}$ нараства. На фиг. 7 е показана зависимостта на $\varepsilon_{\max}$ от температурната разлика, при различни стойности на качественият фактор Z_0 .



Фиг. 7. Зависимост на хладилният коефициент $\varepsilon_{\max}$ от температурната разлика ΔT , при различни стойности на Z_0

В. Режим на нагряване – термоелектрически нагреватели

Термоелектрическите елементи се използват сравнително по – рядко като нагреватели. По-широко приложение намират като източници на Е.Д.Н и като термоелектрически хладилници. За това, в статията няма да бъде направен подробен обзор, а ще се дадат само някои основните зависимости и параметри в този режим на работа.

При описанието на термоелемента може да се използва модела от фиг. 15., предполагайки, че хладната страна е термостатирана при температура T_0 , а горещата страна отдава топлинна мощност Q_w при температура T_1 . Посоката на тока в този режим е противоположна на посоката в режим на охлаждане. И тук с достатъчна точност може да се предполага, че половината от топлината на Джаул

(отделена в клоновете) се насочва към горещата страна, а другата половина към студена-та. Ефекта на Томпсън се пренебрегва (Наер, Симоновская, 1966). В този случай, топлинната мощност отделена от горещия край е:

$$Q_w = (\alpha_1 - \alpha_2) \cdot T_1 \cdot I + 0,5 I^2 \cdot l \left(\frac{1}{\sigma_1 s_1} + \frac{1}{\sigma_2 s_2} \right) - \frac{T_1 - T_0}{l} (k_1 s_1 + k_2 s_2) \quad (34)$$

Ефективността на термоелектрическото нагряване се определя с коефициент на преобразуване K_h :

$$K_h = \frac{Q_w}{W} \quad (35)$$

Оптимизацията по захранващото напрежение се получава от условието: $\frac{dK_h}{dU} = 0$ и е:

$$U_{opt} = \frac{(\alpha_1 - \alpha_2)(T_1 - T_0)}{M - 1}, \quad (36)$$

където:

$$M = \sqrt{1 + 0,5 Z (T_1 + T_2)} \quad (37)$$

Заклучение

От направеното изложение могат да се направят следните изводи:

- Термоелектрическите елементи, в зависимост от ефекта, който използват, намират приложение като: генератори на термо Е.Д.Н., термоелектрически охладители или нагреватели;
- Термоелектрическата ефективност на даден термоелемент зависи изцяло от материалите от които е изработен и от приложения температурен градиент.

Бъдещето развитие на технологиите и подобряване на коефициента на полезно действие в термоелектричеството е насочено предимно в разработването на нови материали с висока ефективност.

Термоелектрическите преобразуватели на енергия намират все по – широко приложение в бита и индустрията, поради безспорните си предимства. В съвремението ни не спира търсенето на алтернативни, високоефективни, без-

шумни, безопасни за хората и околната среда източници на енергия. Термоелектрическите преобразуватели отговарят на всички тези изисквания и това ги прави много перспективни.

Литература

1. Александров, А. 2012. *Полупроводникови елементи и интегрални схеми*. Габрово. Екс-прес.
2. Анатычук, Л. 2003. *Термоелектрическите преобразуватели енергии*, Киев. Институт Термоелектричества.
3. Булат Л. П., Ведерников М. В., Вялов А.П. и др., 2002. *Термоелектрическо охлаждение*. Текст лекций под общей ред. Л.П. Булата. СПб.: СПбГУНиПТ.
4. Вълков С., И. Ямаков, Р. Дойчинова и др., 1992. *Електронни и полупроводникови елементи и интегрални схеми*, София, Техника.
5. Йоффе А. Ф., 1966. *Влияние электрического сопротивления коммутационных пластин на эффективность термоелектрического охлаждения*, Полупроводники и радиотехника в агрофизических исследованиях, Ленинград, 146-149.
6. Йоффе А. Ф. 1956. *Полупроводниковые термоэлементы*. – М.-Л.: Изд-во АН СССР.
7. Наер В. А., 1965. *Влияние контактных электрических и тепловых сопротивлений на характеристики полупроводниковых батарей*, Холодильная техника и технология, (1), 493-498.
8. Охотин А. С., Ефремов А. А., Охотин В.С., Пушкарский А.С. 1971. *Термоелектрические генераторы*. Москва. Атомиздат.
9. Тахистов Ф. Ю., Гершберг И. А. 2008. *Оптимизация параметров термоелектрического генераторного модуля с учетом эффективности теплообмена на сторонах модуля*. Термоелектрики и их применения. Доклады XI Межгосударственного семинара. СПб.ФТИ.
10. Тахистов Ф.Ю. 2002. *Расчет параметров термоелектрических модулей с учетом температурных зависимостей термоелектрических свойств*. Термоелектрики и их применения. Доклады VIII Межгосударственного семинара. Ноябрь. СПб.: ФТИ.
11. Altenkirch E., 1911. *Electrothermische Kalteerzeugung und reversible elektrische Heizung*, Phys. Z., 12, (21), 920-924.
12. Anatyshuk L.I. 1998. *Physics of Thermoelectricity*. Kyiv, Chernivtsi. Institute of Thermoelectricity.
13. Godfrey S., 1996. *An Introduction to Thermoelectric Coolers*, Electronics Cooling, vol.2. No.3
14. Midyurova B., V. Nenov, 2017, *Electricity Generation in Microbial Fuel Cells as a Function of Air: Cathode Configuration*, International Journal of Alternative Fuels and Energy (IJAFE), 1(1), 9-13.
15. Rowe D. M., 2006. *Thermoelectrics Handbook. Macro to Nano*, Taylor & Francis. ISBN 0- 8493-2264-2.
16. Snyder G., E. S. Toberer, R. Khanna, W. Seifert, 2012. *Improved Thermoelectric Cooling Based on the Thomson Effect*. *Physical Review B* 86, 045202.
17. Thomson, W. 1851. *On a mechanical theory of thermoelectric currents*. Proc.Roy.Soc.Edinburgh: 91–98.

гл. ас. д-р инж. Ивайло Райчев Беловски
 Университет „Проф. Д-р Ас. Златаров”
 Катедра: Електроника, Електротехника и
 Машинознание.
 e-mail: ivbel@abv.bg



ИЗСЛЕДВАНЕ ЕФЕКТИВНОСТТА НА ТЕРМОЕЛЕКТРИЧЕСКИ ОХЛАЖДАЩ МОДУЛ ЗАХРАНВАН С ШИМ РЕГУЛАТОР

Ивайло Беловски, Анатолий Александров

STUDY OF THE EFFICIENCY OF A THERMOELECTRIC COOLING MODULE POWERED BY A PWM REGULATOR

Ivaylo Belovski, Anatoliy Aleksandrov

ABSTRACT: A major transformation element in the thermoelectric cooling devices is Peltier's thermoelectric module. Thermoelectric cooling modules have gained recognition in many industries of modern technology. Compared with conventional cooling devices, with energy and overall features, there are areas in the technology where thermoelectric cooling has undeniable advantages: radio equipment, electronic components and equipment, computing, medical, military and space industries, etc. Thermoelectric module manufacturers specify a limited number of parameters for a specific module in its catalog data. To achieve maximum cooling, however, it is necessary to precisely regulate the input current. The purpose of this study is to establish the DC current mode and the efficiency of a Peltier module, powered by a pulse-width modulation regulator (PWM regulator).

Key words: Thermoelectric cooling, Peltier module, PWM regulator.

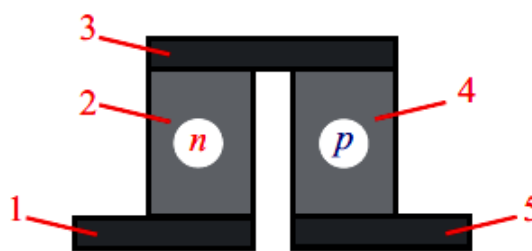
Въведение

Термоелектрическото охлаждане на основата на ефекта на Пелтие намира широко приложение през последните години (Bell, 2008; Huang, Weng, Chang, 2010). Това е сравнително нова тенденция в хладилната техника, която се занимава с понижаване и стабилизиране на температурата в сравнително малки затворени обеми. Основен преобразователен елемент в термоелектрическите охладителни устройства е термоелектрическият модул (ТЕМ) на Пелтие.

Данните за конструктивните характеристики и параметри на произвежданите ТЕМ са недостатъчни. Тъй като, ТЕМ е основен конструктивен елемент (Stabler, 1962; Enescu, Otilia, 2014) при проектирането на термоелектрически хладилни системи, се налага да бъдат направени по-обстойни изследвания на неговите основни статични характеристики и параметри. Получените резултати от изследванията могат да се използват както за избор на оптимален постоянен ток режим на работа, така и за създаване на различни математически модели.

Основно звено в термоелектрическите модули е термоелемента (Seifert, Ueltzen, Strumpel, Heiliger, Muller, 2001; Smith, Norris, 2002) Термоелемент се нарича преобразовател на термоелектрическа енергия, съдържащ

минимален брой компоненти, в който възниква ефект, необходим за принципа му на работа. Най-разпространеният термоелемент е този, чийто принцип на работа се основава на надлъжният ефект на Зеебек или Пелтие, наричан просто термодвойка. Неговата опростена схема е показана на фиг.1. Състои се от два полупроводникови клона 2, 4 с различен тип проводимост – n и p , свързани в единия си край с метална пластина 1 и контактни пластини 5 в другия край.



Фиг.1. Термоелемент: 1, 3, 5 – метални пластини; 2 – полупроводник n – тип; 4 – полупроводник p – тип.

Термоелектрическите модули се предлагат на пазара в голямо разнообразие. Освен по електрическите си параметри, те се отличават също и по форма, размери и брой на вградени в тях полупроводникови термоелементи. Според конструктивните си особености, най-

общо ТЕМ биват: едносекционни и двусекционни; едностъпални и каскадни.

Термоелектрическите охлаждащи модули са завоювали признание в много отрасли на съвременната техника. В сравнение с традиционните охлаждащи устройства, по енергийни и габаритни характеристики, съществуват области в техниката, където термоелектрическото охлаждане има неоспорими преимущества: радио апаратура, електронни компоненти и оборудване, изчислителна техника, медицина, военна и космическа промишленост и др.

Производителите на термоелектрически модули посочват ограничен брой параметри за конкретен модул в каталожните му данни - $I_{\max}$, $U_{\max}$, $Q_{C_{\max}}$ и $\Delta T_{\max}$. За постигане на максимално охлаждане, обаче е необходимо точно регулиране на входния ток I . Това се налага, тъй – като при по – високи стойности на I , топлината на Джаул значително нараства и поради топлопроводност на клоновете на термоелементите, оказва влияние върху ефекта на Пелтие, като в крайна сметка се повишава температурата на студената страна на модула T_c .

Целта на настоящият експеримент е да се установи постояннотоковият режим на работа и ефективността на ТЕМ на Пелтие, захранван от регулатор с широчинно-импулсна модулация (ШИМ регулатор).

Експеримент

За установяването на оптималният постояннотоков режим на работа на ТЕМ на Пелтие, се проведе експеримент, в който модула се захранва с помощта на регулатор с широчинно – импулсна модулация. ШИМ регулаторите имат редица достойнства, като: висок КПД, малки габаритни размери и маса, и намират широко приложение в съвременните автономни електрозахранвания и в системите за автоматично регулиране. В редица литературни източници (Belyaev, 2014; Rahmani, Grim, Khanniche, Bouafia, 2004) подробно е разгледан принципа на работа на ШИМ регулаторите и тяхното успешно приложение. За нуждите на експеримента е използван ШИМ регулатор със следните параметри:

- Плавно регулиране на запълването;
- Захранващо напрежение 10-60V DC;
- Изходен ток: 0-20A;

- Регулиране на запълването от 0% до 100%
- Честота на импулсите - в диапазон 22kHz : 24.5kHz.

За нуждите на изследването се използва синтезираната и описана в (Беловски, Александров, 2015) термоелектрическа охладителна система (ТОС). Тя се състои от термоелектрическа помпа и термостатиран съд, изграден от двойни стени, между които е вграден термоизолационен слой. В съда се различава единствено на естественната конвекция и липсва допълнителна вентилация. На фиг. 2 е показан външният вид на термоелектрическата система.



Фиг. 2. Термоелектрическа охладителна система

Основен възел на ТОС е термоелектрическата помпа, в която е вграден термоелектрически преобразувател на енергия - модул на Пелтие

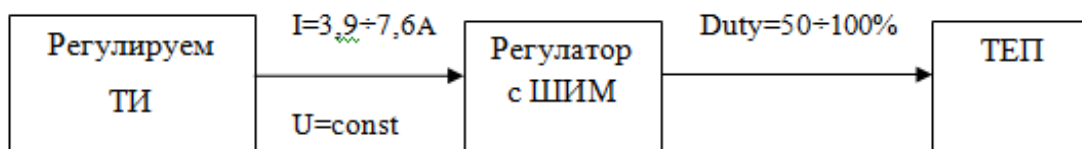
По време на експеримента са изследвани експлоатационните и преобразователните характеристики на синтезираната термоелектрическа помпа на основата на ТЕМ на Пелтие *TEC1-12712 YK-0458*. Каталожните данни на елемента са представени в таблица 1, а външният му вид - на фиг. 3 (<http://wholesaler.alibaba.com>).

Таблица 1

Каталожни данни на елемент *TEC1-12712*

Тип	$U_{\max}$ (V)	$I_{\max}$ (A)	$\Delta T_{\max}$ (C)	$Q_{\max}$ (W)	Д/Ш/В (mm)	R (Ω)
TEC1-12712	15,5	12	55	40,1	40×40×4,6	1,2

Блоковата схема на опитната постановка е представена на фиг. 3.



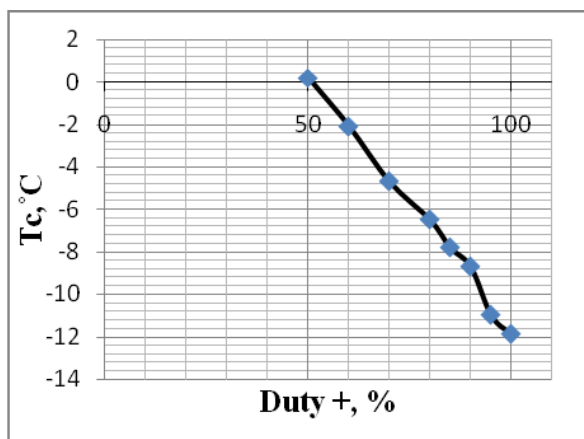
Фиг. 3. Блок - схема на опитната постановка

Резултати и обсъждане

Проведени са редица измервания на температурите на студения радиатор T_c и на горещия радиатор T_h при различен коефициент на запълване – $Duty = (50 \div 100) \%$. Получените резултати са представени табличен (таблица 2) и в графичен вид на фиг. 4.

Таблица 2. Експериментални резултати от захранването на ТЕМ с ШИМ регулатор

Duty, %	100	95	90	85
$T_c, ^\circ\text{C}$	-11,9	-11	-8,7	-7,8
$T_h, ^\circ\text{C}$	33,3	32,9	32,4	32
$\Delta T, ^\circ\text{C}$	45,2	43,9	41,1	39,8
Duty, %	80	70	60	50
$T_c, ^\circ\text{C}$	-6,5	-4,7	-2,1	0,2
$T_h, ^\circ\text{C}$	31,2	31	30,7	30,5
$\Delta T, ^\circ\text{C}$	37,7	35,7	32,8	30,3

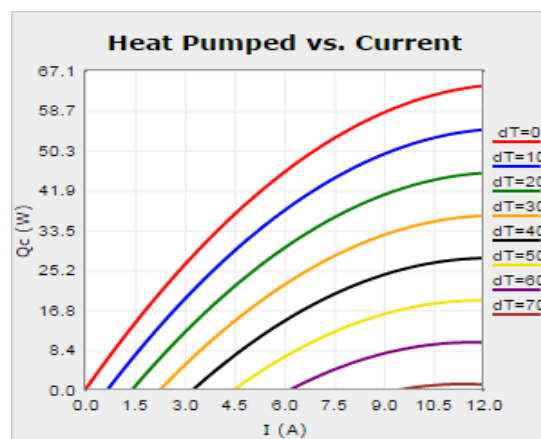


Фиг. 4. Зависимост на температурата на студената страна T_c от коефициента на запълване $Duty$: $T_c = f(Duty)$

Постояннотоковият захранващ източник работи като генератор на напрежение, а при $Duty = 100\%$ на ШИМ регулатора, модула на

Пелтие се захранва с ток $I=7,6\text{A}$ и напрежение $U=11,8\text{V}$. Именно при тези стойности на тока и напрежението се постига минимална температура на студения радиатор $T_{c_{\min}}$ - табл. 2.

На фиг. 2.14 е показана графичната зависимост на температурата на студената страна T_c от коефициента на запълване. От графиката се вижда, че съществува пряка зависимост между двете променливи. С намаляване на коефициента на запълване – значително се повишава температурата на студената страна на ТЕМ на Пелтие. При $Duty = 50\%$, T_c се повишава над нулата.



Фиг. 5. Каталожни данни за използвания ТЕМ - TEC1-12712 YK-0458

На базата на получените резултати и каталожната информация за използвания термоелектрически модул (фиг. 5), са изчислени: коефициента на преобразуване (хладилния коефициент) η ; консумираната мощност W и хладилната мощност Q_c на модула по формулата:

$$\eta = \frac{Q_c}{W}$$

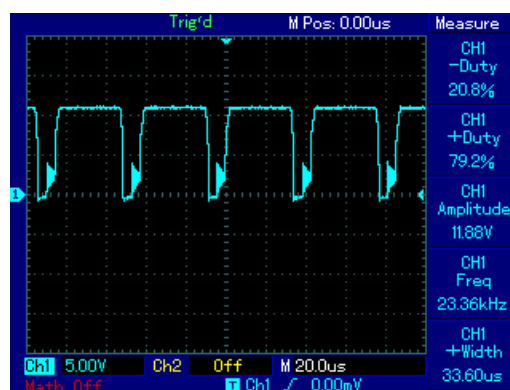
Резултатите са представени в Таблица 3.

Таблица 3. Данни за коефициента на преобразуване η в зависимост от коефициента на запълване $Duty$

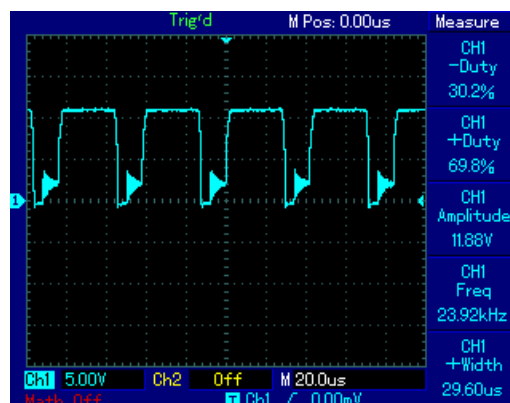
Duty,%	100	95	90	85
I, A	7,6	6,9	6,6	6,2
U, V	11,8	11,8	11,8	11,8
W, W	89,7	81,4	77,9	73,2
Q_c, W	15,8	15,5	15,8	16,5
η	0,18	0,19	0,2	0,23
Duty,%	80	70	60	50
I, A	5,8	5,4	4,7	3,9
U, V	11,8	11,8	11,8	11,8
W, W	68,4	63,7	55,5	46
Q_c, W	17	16,8	14,7	12,8
η	0,25	0,26	0,27	0,28

Хладилният коефициент η е най – нисък при коефициент на запълване $Duty = 100\%$, тъй като температурната разлика ΔT в този момент е най – голяма. Известно е, че при $\Delta T \rightarrow \Delta T_{\max}$, то $\eta \rightarrow 0$. Това е нормално, тъй като $\Delta T_{\max}$ се достига при $Q_c = 0$. При $\Delta T \rightarrow 0$, то η нараства.

На фиг. 6 са представени осцилограми на импулсната поредица на ШИМ регулатора, при различен коефициент на запълване.

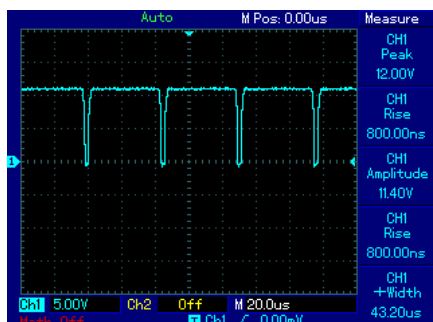


б)

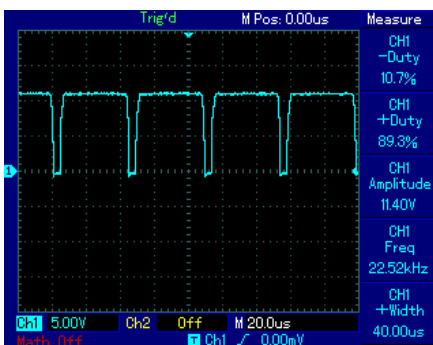


г)

Фиг. 6. Осцилограми на импулсната поредица на ШИМ регулатора, при различен коефициент на запълване: а) $Duty = 95\%$, б) $Duty = 90\%$, в) $Duty = 80\%$, г) $Duty = 70\%$



а)



б)

Заклучение

Получените резултати бяха анализирани и съпоставени с резултатите, получени в предишен експеримент [9], в който ТЕМ на Пелтие беше захранван с регулируем токоизправител.

Направени бяха следните заключения:

- При захранване на ТЕП с регулируем ТИ:

- Най – голяма температурна разлика ΔT между студената и горещата страна на ТЕП се получава при максимален входен ток $I = 11A$;
- Минимална температура в обема T_V не се постига при максимална температурна разлика ΔT , тъй като с повишаването на температурата на горещата страна T_h , поради топлопроводност на клоновете на термоелементите се повишава и температурата на студената страна.

- Оптималният ток, при който се достига минимална температура в обема T_V е: $I_{opt} = 7 A$.

- **При захранване на ТЕП с ШИМ регулатор:**

- Най – висока ефективност, практически се получава при коефициент на запълване $Duty = 100\%$. Въпреки инертността на термоелектрическият модул и процесите протичащи в него, дори и малко понижаване на коефициента на запълване води до понижаване на ефективността и съответно до повишаване на температурата на студената страна T_c : при $Duty = 100\%$ е отчетена минимална температура на студената страна $T_c = -11,9 ^\circ C$, а при $Duty = 95\%$, $T_c = -11 ^\circ C$ (фиг. 4).

- Отчетена е изпомпената топлинна мощност Q_c при различен коефициент на запълване, изчислени са: консумираната от термоелектрическият модул мощност – W и хладилния коефициент – η (табл. 3).

Литература

1. Беловски И., А. Александров. 2015. *Установяване оптималния работен режим на термоелектрически хладилник*, Сборник доклади от Национален форум Електроника, 67 – 72.
2. Bell E. 2008. *Cooling, Heating, Generating Power, and Recovering Waste Heat with Thermoelectric Systems*, Science, Vol. 321, Issue 5895, pp. 1457-1461
3. Belyaev V.P. 2014. *Electric Drive With Pulse-Width Modulation Control*. Энергетика. № 1. С. 11-20,.
4. Enescu D., E. Otilia. 2014. *A review of thermoelectric cooling parameters and performance*, Renewable and Sustainable Energy Reviews, vol. 38, pp. 903-916.
5. Huang H. S., Y. C. Weng, Y. W. Chang, 2010, *Thermoelectric water-cooling device applied to electronic equipment*, International Communications in Heat and Mass Transfer, vol. 37, pp.140-146.
6. Rahmani L., Krim F., Khanniche M., Bouafia A. 2004. *Control for PWM AC Chopper Feeding Nonlinear Loads*. IJE, vol. 91, Iss. 3, pp. 149–163.
7. Seifert W., M. Ueltzen, C. Strumpel, W. Heiliger, E. Muller, 2001. *One - dimensional modeling of a Peltier element*, Thermoelectrics,. Proceedings ICT 2001.
8. Smith A., P.M. Norris. 2002 . *Heat Transfer Handbook*, John Wiley and Sons,.
9. Stabler H. P. 1962. *Thermoelectric Cooling modules*, , American Journal of Physics, vol. 30.
10. Wholesaler, Thermoelectric Peltier modul, http://wholesaler.alibaba.com/product-detail/TEC1-12712-12V-12A-145W-40_1126372304.html

гл. ас. д-р инж. Ивайло Райчев Беловски
 Университет „Проф. Д-р Ас. Златаров”
 Катедра: Електроника, Електротехника и
 Машинознание.
 e-mail: ivbel@abv.bg



ОПРЕДЕЛЯНЕ НА МАНГАН В ПРИРОДНИ ОБЕКТИ ЧРЕЗ ИНВЕРСИОННА ВОЛТАМПЕРОМЕТРИЯ

Николай Зайцев, Денчо Станев, Веска Шивачева, Красимира Станчева,
Христивелина Жечева, Виктория Трифонова, Кезван Хасан

DETERMINATION OF MANGANESE IN NATURAL OBJECTS BY ANODIC STRIPPING VOLTAMMETRY

Nikolay Zaitsev, Dencho Stanev, Veska Shivacheva, Hristivelina Jecheva, Viktoria Trifonova,
Kezvan Hasan, Krasimira Stancheva

ABSTRACT: The paper deals with the determination of the manganese ions content in environmental samples from the Bourgas region (drinking water, surface waters, seawater, sea lye, etc.) by anodic stripping voltammetry. A methodology for analyzing manganese has been developed and the optimal conditions of the analysis have been determined. The advantage of inversion voltammetry over the spectrophotometric method in the study of manganese in complex analytical objects with ions and color solutions and high salt content has been proved experimentally, which greatly hinders and diminishes the specificity, sensitivity and accuracy of the spectral methods. Experimental results show that anodic stripping voltammetry circuit disconnection complements the standard method and significantly increases the selectivity and sensitivity of the analyses.

Key words: anodic stripping voltammetry, manganese determination, environmental samples

Въведение

Актуалността на проблема за инверсионното волтамперометрично определяне съдържанието на микроколичества манган в природни обекти се свързва с особеностите на мангана като представител на тежките метали и неговото здравно-екологичното въздействие, необходимостта от синхронизиране на българските държавни стандарти с европейското екологично законодателство по отношение съдържанието на тежки/токсични метали, тенденцията за използване на твърди електроди и електроди с тънък Hg филм, преимуществата на този електрохимичен метод пред спектрофотометричните методи, както и сравнително неголемия брой публикувани резултати в специализираната научна литература относно инверсионното волтамперометрично определяне на елемента.

Манганът е тежък метал ($\rho > 5 \text{ g/cm}^3$), който е жизнено важен микроелемент в необходимите количества и токсичен в концентрации над пределно допустимите. Важното физиологично действие на мангана като биоелемент се свързва с участието му в окислително-редукционните процеси като кофактор

на ензими при процесите фотосинтеза, дишане, биосинтеза на въглехидрати, белтъци, нуклеинови киселини, пигменти, витамини, меланин, допамин, мастни киселини, инсулин, както и за детоксикацията на свободните радикали (супероксиди) в организма. Токсикологичното въздействие се отнася предимно до изменение на ензимната активност поради свързването му с кислород, азот и сулфхидрилни групи на протеини като причинява увреждане на нервната система, двигателните функции, зрителния рефлекс, белите дробове, слуха. При хронична експозиция на високи нива на манган настъпва неврологичен синдром, наречен манганизм, свързан с увреждане на различни части на мозъка. Ето защо е от особено значение съдържанието на манган в околната среда.

Причините за замърсяване с манган предимно на водите са наличие на манганови находища главно пиролизит, по-високото съдържание на манган в почвите, използването на манган в акумулаторни батерии за мобилни телефони, като катализатор, сплави, микродобавка в храни, торове, пигментни бои, бензини (под формата на метилциклопентадиирил манганов трикарбонил), окисленни

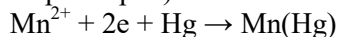
заварки и др. Манганът трудно се премахва от замърсени води предимно чрез адсорбционни, утаечни и др. процеси.

Цел на изследването е инверсионно волтамперометрично определяне съдържанието на йоните на манган в природни обекти от Бургаски регион – питейни води, повърхностни води, морска вода, луга и др.

Експериментална част

Изборът на метода инверсионна волтамперометрия за изследване на манган в природни обекти се определя от неговата висока чувствителност при достатъчна точност, добра възпроизводимост, селективност, бързина, ниска себестойност, безопасно и лесно обслужване на апаратурата, широки области на приложение, автоматизиране на химичния анализ и използване на съвременен специализирано програмно осигуряване с удобен интерфейс, позволяващо автоматично регистриране аналитичния сигнал, сравняване площите на съответните пикове и изчисляване концентрацията на определяните елементи при съхраняване на емпиричната информация.

Анализът на специализираната научна литература относно волтамперометричното определяне на манган разкрива редица особености, свързани с електрохимичното поведение на мангана, което се определя от различните форми на присъствие на елемента [1-8]. Във водни разтвори на живачен електрод йоните $Mn(II)$ се редуцират с образуване на необратима вълна, чийто потенциал се намира между -1,5 и -1,6 волта. В кисели разтвори на определението пречи отделяният се водород. За определяне на следи от манган посредством инверсионна волтамперометрия се използва процесът на концентриране (отлагане) във вид на метал (амалгамиран с живак) и анодно разтваряне (анодна инверсионна волтамперометрия).



Редукционният процес се извършва на стационарен живачен електрод в областта от -1,6 до -1,9 волта. Видът на фоновия разтвор може да измести тази област в определена посока. Градуировъчната крива е линейна за ниски концентрации на манган поради малката разтворимост на мангана в живака (при температура 20 °C е 0,0018 мас.% или 0,0066 ат.%, а коефициентът на дифузия D^{Hg} е $1,84.105 \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$). Трудността на определяне на манган се определя от факта, че предвари-

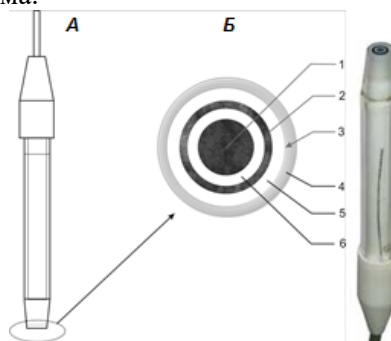
телното отлагане на живачния филм върху работния електрод се извършва в азотнокисела среда, докато вълната на окисление на мангана в 0,1 N HNO_3 се маскира от анодния ток на фона, затова определението на манган не трябва да се провежда в силно азотнокисела среда. Това налага компромисно решение, свързано с прехвърляне на електрода в различни разтвори при различен рН за различните етапи на аналитичното определение (образуване на живачен филм и концентриране на мангана под формата на амалгама).

Апаратура

Анализът на микроколичества (под 0,1 μg) манган е извършен с помощта на съвременен многофункционален електрохимичен комплекс Инверсионен волтамперометър (полярограф) „Екотест-ВА”, снабден с модерен микропроцесор и съвременен специализирано програмно осигуряване с удобен интерфейс. Изчисляването на концентрацията на определяния компонент може да се проведе по различни методи (по метода на една, две или три добавки на стандартни разтвори, по метода на сравнението, по градуирана графика или по произволна формула).



Фигура 1. Външен вид на апаратура, състояща се от инверсионен волтамперометър „Екотест – ВА” и компютър с работна програма.



Фигура 2. Външен вид (А) и работна повърхност (Б)

- 1- работен стъкловъглероден електрод
- 2- спомагателен пирографитен електрод

- 3- ключ на сребърнохлориден сравните-лен електрод
- 4- стъклен корпус на датчика
- 5 и 6 - тефлонови изолационни пръстени.

В хода на определението върху повърхността на работния електрод се отлага живак тънък филм 3–5 μm чрез електролиза предварително *in situ*-на място, т. е. непосредствено в анализирания разтвор. Мангановите йони се редуцират електролизно и се концентрират във вид на метал, амалгамиран с живак върху работния електрод в областта -1,5 до -1,6 волта при фонов електролит 0,1M NaHCO_3 ($\text{pH}=5-6$). В резултат на следващо анодно разтваряне върху волтаперограмата се регистрират инверсионни пикове, по които се съди за концентрацията на определяния елемент.

Реагенти и разтвори

За аналитичното определяне на манган се използват реактиви с квалификация „чисти за анализ“, а разтворите са приготвени с ултрачиста вода.

-изходен разтвор на $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ с концентрация 5 g/dm^3 в 0,1 M HNO_3 (изходно вещество $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$).

-работен разтвор на Hg^{2+} с концентрация 5 mg/dm^3 (разреждане на изходния разтвор 5 g/dm^3 1:1000). Приготвя се чрез разреждане на 1 cm^3 разтвор с концентрация 5 g/dm^3 до 1000 cm^3 в 0,1 M HNO_3 .

-работен разтвор на Hg^{2+} с концентрация 100 $\mu\text{g/dm}^3$ или 0,1 mg/dm^3 (разреждане на разтвор 5 mg/dm^3 1:50). Приготвя се в деня на изследване чрез разреждане на 1 cm^3 разтвор с концентрация 5 mg/dm^3 до 50 cm^3 в 0,1 M HNO_3 .

-изходен разтвор на Mn^{2+} 5 g/dm^3 (изходно вещество $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$).

-работен разтвор на Mn^{2+} с концентрация 5 mg/dm^3 (разреждане на изходния разтвор 5 g/dm^3 1:1000). Приготвя се чрез разреждане на 1 cm^3 разтвор с концентрация 5 g/dm^3 до 1000 cm^3 в 0,1 M NaHCO_3 .

-работен разтвор на Mn^{2+} с концентрация 100 $\mu\text{g/dm}^3$ или 0,1 mg/dm^3 (разреждане на разтвор 5 mg/dm^3 1:50). Приготвя се в деня на изследване чрез разреждане на 1 cm^3 разтвор с концентрация 5 mg/dm^3 до 50 cm^3 в 0,1 M NaHCO_3 .

-разтвор на NaHCO_3 с концентрация 0,1 mol/dm^3 (фон).

-концентриран разтвор на Na_2SO_3 .

За приготвяне на всички разтвори се използва апарат за ултрачиста вода Purelab Classic Elga.

Методика за анализ на манган

Разработена е методика за анализ на манган в природни обекти (питейни води, повърхностни води, морски води, луга) чрез прилагане на електрохимичния метод инверсионна волтаперометрия. Извършено е изследване и уточняване на оптималните условия за провеждане на волтаперометричния анализ за съдържание на микроколичества манган-време за натрупване на живачен филм върху работния електрод (300 sec), концентрация на живак (100 $\mu\text{g/dm}^3$), скорост на изменение на потенциала (100 mV/s), потенциал на натрупване на манган върху живачния филм (-1600 mV), концентрация на Mn^{2+} (100 $\mu\text{g/dm}^3$).

Анализът се провежда в следната последователност:

-Пробовземане и пробоподготовка по стандартна методика на БДС.

-Подготовка на прибора, електродите и разтворите.

-Проверка на електрохимичната клетка.

-Установяване на работен режим- амплитуда на изменящото се поляризиращо напрежение, начално напрежение, скорост на изменение на поляризиращото напрежение, чувствителност и др. параметри. Чувствителността се избира при потенциал, по-голям от 0,2V.

-Инверсионно волтаперометрично измерване на пробите.

Първото измерване е електрохимично почистване на работния електрод, при определени положителни потенциали (извършва се в разтвор на 0,1 M HNO_3 за време от 200-300 секунди при 100 mV).

Второто измерване е отлагане с висока скорост при предварително подбрани отрицателни потенциали на живачен филм, необходим за по-нататъшни определения (извършва се в разтвор на 100 $\mu\text{g/dm}^3$ Hg^{2+} в 0,1 M HNO_3 за време 150 s в условия на конвекция).

Третото измерване е подбор на условия, при които манганът се разтваря анодно с образуването на определени инверсионни пикове, по които се съди за неговата концентрация. Измерването се извършва в разтвор от 20,00 cm^3 проба, 1 cm^3 фонов електролит 0,1 N NaHCO_3 и 0,1 cm^3 конц. разтвор Na_2SO_3 (редукционна среда) за още 150 секунди с цел образуване на амалгама между живака и редуцирания манган. Прехвърлянето на елек-

трода в съответните електролизни клетки трябва да се извършва без прекъсване на електрическата верига. След изтичане на зададеното време от 300 сек и спиране на конвекцията в режим на линейно променящ се потенциал със скорост 50-100 mV/s започва процесът на анодно разтваряне.

- Регистриране на волтаперометричните криви.

- Въвеждане на стандартни добавки от работен разтвор на Mn^{2+} с концентрация $100 \mu g/dm^3$. Опитът може да се проведе с няколко стандартни добавки, чийто обем и концентрация се определят експериментално за всяка проба, така че височината на аналитичния пик с добавка да се увеличи 1,5-3 пъти при значението на параметрите. Общият обем на всички разтвори добавени в електрохимичната клетка, не трябва да превишава 10% от обема.

- Регистриране на инверсионни волтаперограми с добавките в автоматичен режим с възможност за ръчна корекция.

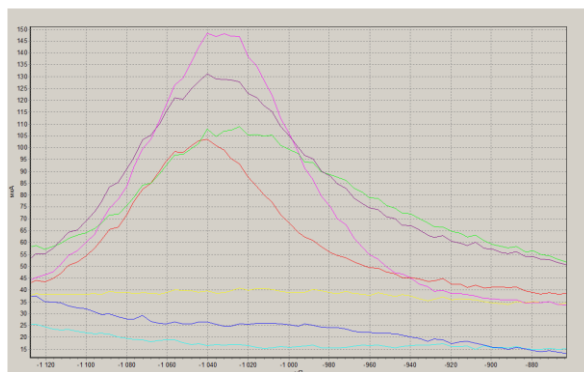
- Анализ и обработка на полярограмите, изчисляване концентрацията на манган.

При извършване на определянето се спазват изискванията за безопасна работа с живачни и манганови съединения.

Анализът се провежда при следните параметри: потенциал на пика за манган $-1500 mV$, диапазон на тока $2-200 \mu A$, време на електрохимичното очистване на електрода 300 s, време за натрупване на определяемите елементи върху електрода е $300-600 s$ при скорост на изменение на потенциала: 50-100 mV/s, концентрационен интервал $0,5-20 \mu g Mn/dm^3$, откриваем минимум $0,1 \mu g/dm^3$, относителна грешка 10%.

Резултати и дискусия

Определянето на концентрацията на Mn^{2+} изисква серия стандартни разтвори, чийто състав максимално се доближава до състава на анализирания разтвор, като условията на регистрация на пиковете на стандартните разтвори и на анализирания разтвор трябва да са еднакви. За целта се използва серия стандартни разтвори на манган с обеми с обем 1,00, 2,00, 3,00, 4,00 cm^3 , които се прибавят към проба с обем $20,00 cm^3 Mn^{2+} \mu g/dm^3$ или ppb. Концентрацията на получените разтвори е съответно 0,1000, 0,2000, 0,3000, 0,4000 $Mn^{2+} \mu g/cm^3$. Те се анализират съобразно методиката, а регистрираните волтаперни зависимости са представени на фиг.3.

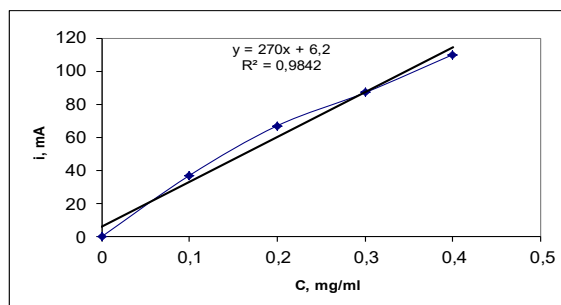


Фигура 3. Зависимост на аналитичния сигнал от концентрацията на Mn^{2+}

Линии във възходящ ред: 1) дейонизирана вода, 2) 0,1 N HNO_3 , 3) $100 \mu g/dm^3 Hg^{2+}$, 4) $1 cm^3 100 \mu g/dm^3 Mn^{2+}$, 5) $2 cm^3 100 \mu g/dm^3 Mn^{2+}$, 6) $3 cm^3 100 \mu g/dm^3 Mn^{2+}$, 7) $4 cm^3 100 \mu g/dm^3 Mn^{2+}$.

Изместването на пика на мангана в посока на положителни стойности на потенциала може да бъде обяснено с влиянието на концентрацията на останалите йони в пробата (матрица), което е особено изразено при пробите от луга.

Липсата на пикове в първите две линии означава, че дейонизираната вода и разтворът на азотна киселина не са онечистени с Mn^{2+} йони и са подходящи за използване при анализа. Емпиричните данни се обработват математически, като графичното представяне на сигнала за стандартната серия за манган има вида, посочен на фиг. 4.



Фигура 4. Калибрираща графика на стандартна серия за волтаперометрично определяне на манган

y- големина на тока i , μA , отчетена по волтаперограмата

C-концентрация на Mn^{2+} , $\mu g/dm^3$

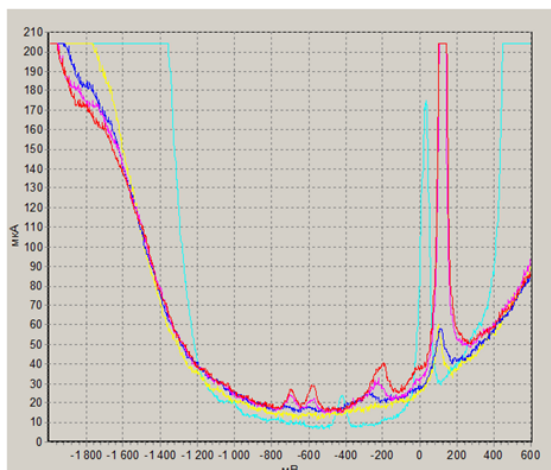
R^2 - корелация.

Опитно определената концентрация на манган в серията стандартни разтвори се изчислява по формулата: $Sx = (y-6,2)/270$.

Средната стойност на относителната грешка е 9,6125%. Получените данни илюстрират точността на проведения анализ.

Резултати от изследвано съдържание на манган в морска луга

Извършено е аналитично определяне на 8 проби, като волтаперометричните криви са представени на фиг. 5.



Фигура 5. Волтаперограма на проба от морска луга, обем 10 cm³

Линии във възходящ ред: 1) фон 0,1 N HNO₃, 2) 100 µg/dm³ Hg²⁺, 3) проба без добавка, 4) проба с добавка 5 cm³ 100 µg/dm³ Mn²⁺, 5) проба с втора стандартна добавка 10 cm³ 100 µg/dm³ Mn²⁺.

Изчисленията са извършени по метода на стандартите по формулата:

$Sx = C_{ст} \cdot h_x / h_{ст}$, където:

Sx - концентрация на анализирания разтвор;

$C_{ст}$ - концентрация на стандартния разтвор;

h_x - височина на вълната на анализирания разтвор;

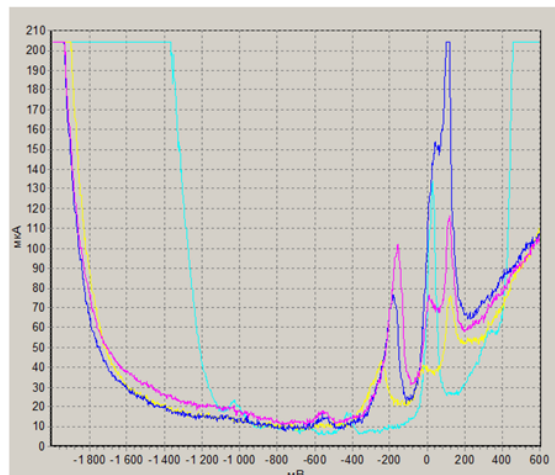
$h_{ст}$ - височина на вълната на стандартния разтвор.

Изчислената стойност за концентрацията на манган в проба от луга е 0,33 µg/cm³.

При отчитане на двойното разреждане на пробата (от 10,00 до 20,00 cm³) се получава концентрация на манган в морска луга 0,66 µg/cm³ или 666,7 µg/dm³ при относително стандартно отклонение $S_r=15\%$. Тази стойност корелира с резултати (810 µg/dm³) от изследванията на медицинска луга, проведени по сходна методика с идентично апаратурно оформление на метода инверсионната волтаперометрия роботизиран вариант [3].

Резултати от изследвано съдържание на манган в морска вода

Анализирани са 3 проби морска вода, като волтаперометричните криви са представени на фиг. 6.



Фигура 6. Волтаперограма на проба морска вода с обем 20 cm³

Линии във възходящ ред: 1) 100 µg/dm³ Hg²⁺, 2) проба без добавка, 3) проба с добавка 5 cm³ 100 µg/dm³ Mn²⁺, 4) проба с втора стандартна добавка 10 cm³ 100 µg/dm³ Mn²⁺

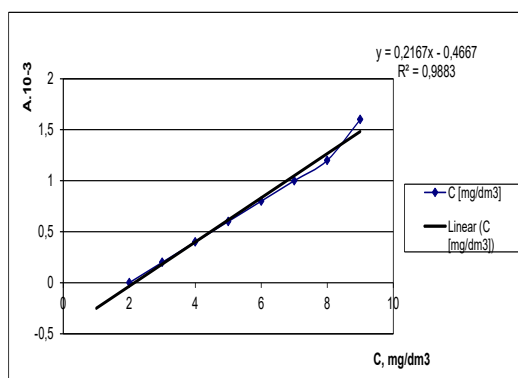
Емпирично определена средна стойност за манган в морска вода е 24,39 µg/dm³ при относително стандартно отклонение $S_r=17\%$. Полученият резултат се доближава до от изследванията на морска вода (25,0 µg/dm³), проведени по сходна методика с идентично апаратурно оформление на метода инверсионната волтаперометрия роботизиран вариант [3]. ПДК за манган съгласно Наредба №8 за крайбрежни води е 0,01mg/cm³ (10 µg/dm³).

Резултатите от изследваното съдържание на манган в чешмяна вода не показват регистриране на криви без концентриране на пробите. Следователно концентрацията на мангана в чешмяна вода е под откриваемия минимум 0,1 µg/dm³ при относителна грешка 10% и е под нормативно определената. Според европейските изисквания, съдържанието на манган в питейните води след пречистване и обеззаразяване трябва да е по-ниско от 0.05 mg/dm³.

Допуска се количеството на манган да бъде до 0,2 mg/dm³, при условие, че общото им количество с желязото не надвишава 0,3 mg/dm³. Според СЗО 1984 ПДК за манган е 0,1 mg/dm³. Осъвременената стойност е занижена 0,05 mg/dm³ според European council directive 98/83/EC of 3 november 1998 on the

quality of water intended for human consumption.

Получените резултати от инверсионното волтамперометрично изследване на съдържанието на микроколичества манган в природни обекти от Бургаски регион са сравнени със спектрофотометрични методи по БДС. Стандартът се отнася за фотометричен метод за определяне съдържанието на манган в повърхностни, подземни и отпадъчни води. Методът се основава на количественото окисляване с персулфат на мангановите йони в азотно кисела среда, в присъствие на каталитично действащи сребърни йони до перманганатни йони. Светлинната абсорбция на полученото цветно съединение се измерва със спектрофотометър при $\lambda = 525 \text{ nm}$. Методът се прилага за определяне съдържанието на манган от 0, 05 до 10, 0 mg/dm^3 в неразредена проба. За определянето на манган в концентрация по-малки 0,05 mg/dm^3 пробата от изследваната вода се концентрира чрез изпаряване. Построена е калибрационна графика на стандартна серия при $\lambda = 525 \text{ nm}$.



Фигура 7. Калибрационна графика на стандартна серия за спектрофотометрично определяне на Mn

Резултатите от спектрофотометричното определение на манган в изследваните проби от природни обекти са представени в табличен вид (табл.1).

Получените резултати показват, че съдържанието на манган в изворна вода Девин отговаря на минералния състав, посочен от производителя (0.01 mg/dm^3 или 10 $\mu\text{g/dm}^3$). Чешмяната вода се доближава по съдържание на манган до дестилираната вода 0,109 $\mu\text{g/dm}^3$. Според Наредба 9 за качеството на водата, предназначена за питейно-битови цели съдържанието на манган се определя с

точност 10%, прецизност 10% и граница на откриване 10 %.

Таблица 1. Резултати от спектрофотометрично определяне на манган в природни обекти

Проба	C [$\mu\text{g/dm}^3$]	Абсорбция $\lambda = 525 \text{ nm}$
Чешмяна вода, 1000/50 cm^3 , концентриране 1:20	0,109	0.00503
Дест.вода 1000/50 cm^3 , концентриране 1:20	0,104	0.00261
Езерна вода, 500/50 cm^3 , концентриране 1:10	0,210	0.00900
Изворна вода Девин 1000/50 cm^3 , концентриране 1:20	0,116	0.05751
Морска вода, 100/50 cm^3 , концентриране 1:2	1,114	0.03637
Морска луга, 20,00/50,00 cm^3 , разреждане 1:2,5	5,40	0.02398

Съдържанието на манган в езерна вода (ез. Мандра) е двойно завишено спрямо питейните води и дестилираната вода 0,210 $\mu\text{g/dm}^3$ и отговаря на нормативните изисквания съгласно Наредба № 12 от 18.06.2002 г. за качествените изисквания към повърхностни води, предназначени за питейно-битово водоснабдяване за категория A1 (препоръчителната норма за манган е 0,05 mg/l , т.е. 50 $\mu\text{g/dm}^3$).

Съдържанието на манган в морска вода, определено спектрофотометрично е 1,114 $\mu\text{g/dm}^3$, което е под ПДК за манган съгласно Наредба №8 за крайбрежни води 0,01 $\text{mg/cm}^3 = 10 \mu\text{g/dm}^3$.

Резултатът за съдържание на манган в морска луга е 5,40 $\mu\text{g/dm}^3$.

Изводи

Разработена е методика за анализ на манган в природни обекти (питейни води, повърхностни води, морски води, луга) чрез прилагане на електрохимичния метод инверсионна волтамперометрия.

Извършено е изследване и уточняване на оптималните условия за провеждане на волтамперометричния анализ за съдържание на микроколичества манган - време за натрупване на живачен филм върху работния електрод (300 sec), концентрация на живак (100 $\mu\text{g/dm}^3$), скорост на изменение на потенциала (100 mV/s), потенциал на натрупване на манган върху живачния филм (-1600 mV); концентрация на Mn^{2+} (100 $\mu\text{g/dm}^3$).

Данните, получени при прилагане на двата метода инверсионна волтамперометрия и спектрофотометрия са близки по стойност за питейни и повърхностни води, но значително се различават при сложни аналитични обекти като морска луга, морска вода, поради високото им солево съдържание.

Експериментално е доказано преимуществото на инверсионната волтамперометрия спрямо спектрофотометричния метод при изследване на манган в сложни аналитични обекти с йони и цветни разтвори и високо солево съдържание, което значително затруднява и намалява специфичността, чувствителността и точността на спектралните методи.

Инверсионната волтамперометрия без прекъсване на основната верига при замяна на разтворите допълва стандартния метод и значително увеличава селективността и чувствителността на анализа. Това се постига чрез разделяне на етапите на измерване и провеждането им при различни параметри (фон, рН, поляризиращо напрежение).

Експериментално определената концентрация на манган в изследваните аналитични обекти (питейна вода, повърхностна вода, морска вода и луга) не надвишава ПДК съгласно нормативната уредба.

Литература

1. Брайнина, Х.З., Е.Я. Нейман, В.В. Слепушкин. 1988. *Инверсионные электроаналитические методы*. Москва, Химия.
2. Выдра, Ф., К. Штулик, Э. Юлакова. 1980. *Инверсионная вольтамперометрия*. Москва, с. 254-254.

3. Зайцев, Н., Д. Станев, Л. Маркова, Д. Тодорова. 2007. Инверсионно волтамперометрично определяне на микроелементи в обекти на околната среда, Стара Загора, с. 226-232.

4. Матакова, Р.Н. 2013. Современные достижения электрохимических методов. В. Каз. НУ: Серия химическая, №4(72), с.89-94.

5. Стамов, С. 2009. Волтамперометрия. Борисова Р. (съставител), *Основи на химичния анализ*. София, Изд. Водолей.

6. Хенце, Г. 2014. *Полярография и вольтамперометрия. Теоретические основы и аналитическая практика*. пер. с нем., Москва, БИНОМ.Лаборатория знаний.

7. Harvey, D. 2010. Chapter 11: *Electrochemical Methods. in Analytical Chemistry 2.0*, Analytical Sciences Digital Library.

8. Kang, W. X. Pei, E. Haynes, W. Heineman, I. Papautsky. 2014. Copper-based electrochemical sensor with palladium electrode for cathodic stripping voltammetry of manganese. *Analytical chemistry*, American chemical society, 86, p. 12070-12077.

Николай Зайцев¹, Веска Шивачева², Денчо Станев², Красимира Станчева², Христивелина Жечева², Виктория Трифонова², Кезван Хасан²

¹ Московски Държавен Университет, Катедра Химия, Ленинские горы, Москва 119899, Русия

² Университет „Проф. д-р Асен Златаров“, Катедра Неорганична и аналитична химия Бургас 8010, България e-mail: hristivelina@abv.bg.



ВЛИЯНИЕ НА ВАНИЛИНА ВЪРХУ ПОВЕДЕНИЕТО ПРИ ЖИВОТИНСКИ МОДЕЛ С АФЕКТИВНИ НАРУШЕНИЯ

Андерей Попатанасов

EFFECTS OF VANILLIN ON BEHAVIOR IN ANIMAL MODEL WITH AFFECTIVE DISTURBANCES

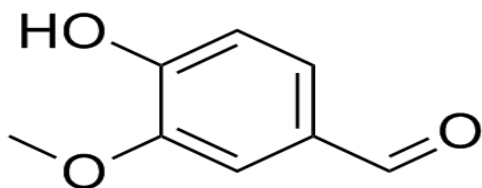
Andrey Popatanasov

ABSTRACT: Ванилинът е най-широко използваният ароматизиращ агент в света използван предимно в хранителната и козметичната индустрия. Скорошни данни сочат, че той има и полезни биомедицински ефекти като антиоксидантни, антимикробни, аналгетични и др. Болестта на Паркинсон е второто по разпространеност невродегенеративно заболяване засягащо двигателните функции. Особена важност за качеството на живот на пациентите и обгрижващите ги имат съпътстващите афективни разстройства. В настоящото изследване използвайки животински модел на болестта на Паркинсон бе изследвано влиянието на ванилина както върху основните двигателни симптоми, така и върху част от съпътстващата симптоматика, голяма част, от които попада в категорията на афективните разстройства. Резултатите показват благотворно повлияване на ванилина в различна степен върху тези две засегнати сфери и съответно би могъл да бъде кандидат-терапевтик в терапията на това заболяване.

Key words: ванилин, Orchidaceae, афективни разстройства, депресия, болест на Паркинсон

Въведение

Ванилинът е слабо разтворим във вода фенолен алдехид (Фиг. 1) (среща се в редица растения от семейство Orchidaceae.



Фиг. 1: Структура на ванилина.

С най-високо съдържание са обработените плодове от *V. planifolia* – до 3% (Gu, Chen, Fang, Wu, & Tan, 2015). Ванилинът е най-широко използваният ароматизиращ агент в света (Gallage & Møller, 2015) и понастоящем годишната му продукция възлиза на над 20000 тона получени предимно по синтетичен път (Bomgardner, 2014). Наред с широката му

употреба в хранителната и козметичната индустрии скорошни изследвания сочат, че би могъл да има потенциално приложение в медицинската практика. Сред откритите негови биологични ефекти са: антиоксидантните и антимикробните му свойства, антимутагенни ефекти върху хромозомите и др. (Walton, Mayer, & Narbad, 2003). Известно е също, че ванилина преминава през кръвно-мозъчната бариера, което е предпоставка за непосредствено фармакологично влияние върху централната нервна система (Park, Kim, & Kang, 2011). Има данни, че повлиява някои невродегенеративни заболявания като болестта на Хънтингтон, има аналгетичен ефект и др. (Gupta, & Sharma, 2014; Beaudry, Ross, Lema, & Vachon, 2010).

Афективните разстройства са част от съпътстващата симптоматика на редица неврологични заболявания като инсулт, множествена склероза, болестта на Алцхаймер, болестта на Паркинсон, афективни смущения при травматично мозъчно увреждане, епилепсия, болестта на Хънтингтън и др. (Starkstein, & Robinson, 1997). Това наред с водещата симптоматика създава често сериозни проблеми и дистрес както в социалното взаимодействие с

обгрижващия персонал и близките, така психичен стрес и дискомфорт за самите болни и допълнително влошават качеството им на живот (Aarsland, Larsen, Karlsen, Lim, & Tandberg, 1999; Allegri, Sarasola, Serrano, Taragano, Arizaga, Butman, & Loñ, 2006; Leiknes, Tysnes, Aarsland, & Larsen, 2010). Това налага разработването на стратегии и средства за мениджмънт на тази симптоматика и разстройства чрез използване на многоцелеви субстанции в такива многокаскадни патологии каквито са например невродегенеративните заболявания (Cumplings, & Zhong, 2006).

Болестта на Паркинсон е сред най-често срещаните невродегенеративни заболявания, които наред с водещите нарушения в двигателната сфера в болшинството от случаите е съпроводено с афективни разстройства: като депресия, тревожност, апатия и т.н. (Pfeiffer, 2016), като депресията може да се среща при над 90% от пациентите в някои извадки (Ring, & Trimble, 1991). Което е свързано с увредата на лимбичната система и други мозъчни области свързани с тези разстройства при прогреса на болестта (Braak, Ghebremedhin, Rüb, Bratzke, & Del Tredici, 2004; Pfeiffer, 2016).

Материали и методи

Общо 24 мъжки плъхове Wistar с тегло от 220 до 250 g бяха използвани в началото на експеримента. Бяха поставени по четири в клетка в стая с контролирана температура с 12-часов цикъл светло-тъмно и имаха свободен достъп до храна и вода. Плъховете бяха анестезирани с хлоралхидрат (420 mg / kg, i.p.), главите им бяха обръснати и кожата се почистена със 70% алкохол. След това плъховете бяха поставени в стереотаксичния апарат. моделът бе индуциран чрез стереотаксично инжектиране на 2 µl / 20 µg 6-хидроксидопамин (6-OHDA, (Sigma-Aldrich, USA)); разтворен в ледено студен физиологичен разтвор с 0,02% аскорбинова киселина) в дясната хемисфера. Целевите координати за стриатума са AP = 0; LR = 3.5; H = -5 от брегмата. При фалшиво оперираната група (SO) бе инжектиран само 2 µl физиологичен разтвор. Раната беше затворена и животните бяха върнати в клетките си, за да се възстановят (Popatanasov, Stoeva, Lazarova, Traikov, Rajanova, Kalfin, & Tancheva, 2017). Третирането с ванилин бе в доза 20mg/kg i.p.еднократно на ден в продължение на 5 дни.

Апоморфинов тест (apomorphine test): Използването на допаминов агонист, като апоморфин, е изключително ефективно при измерване на ротационната асиметрия при така оперирани животни. Това измерване се осъществява чрез поставяне на плъховете поотделно в установка за въртене представляваща бял пластмасов цилиндър (широчина 42 cm в горната част и 22 cm дълбочина). Над този съд е поставена видеокамера. Отделните плъхове се инжектират подкожно с 0.2 mg / kg апоморфин хидрохлорид (Sigma, USA), разтворен в 0.1% аскорбатен физиологичен разтвор и се оставят да се успокоят и резорбират веществото в отделна клетка в продължение на 15 минути. След това ротационното поведение се фиксира в установката в продължение на 30 минути, а броят на ипсилатералните и контралатералните завъртания се определя при преглеждането на записаните филми от експеримента. Общия брой на завъртанията се изчислява след записа (Truong, Allbutt, Kassiou, & Henderson, 2006).

Моторната координация беше измерена чрез теста "Rotarod". Апаратът се състои от хоризонтална пръчка (6 cm в диаметър, 11 cm дълга) с дискове (диаметър 40 cm). Той бе програмиран да се върти в постоянна скорост от 8 оборота в минута. Животните бяха поставени на въртящата се пръчка с глава насочена срещу посоката на въртене, така че животните трябваше да се движат напред, за да поддържат равновесие. Животните бяха обучени един ден преди хирургичната операция. Продължителността на времето, през което животното остава на въртящия се цилиндър, се записва в секунди, след 180 секунди се маха от апарата (Pechlivanova, Markova, Popov, & Stoynev, 2013).

Тест за захарозно предпочитание (sucrose preference test): След възстановяване от операцията на 14-тия ден животните бяха прехвърлени в единични клетки със свободен достъп до храна. Всеки плъх бе снабден с две бутилки за вода в крайните страни на клетката по време на 24-часовата тренировъчна фаза, за да се адаптират животните към пиене от две бутилки. След тренировка едната бутилка бива заменена на случаен принцип, за да съдържа разтвор на захароза с 0,8% концентрация, което според проучвания осигурява стабилно, но не максимално предпочитание на захароза в средата на светлия цикъл (около 12:00ч.). 24 часа по-късно, бутилките бяха разменени, за да се избегнат последиците от

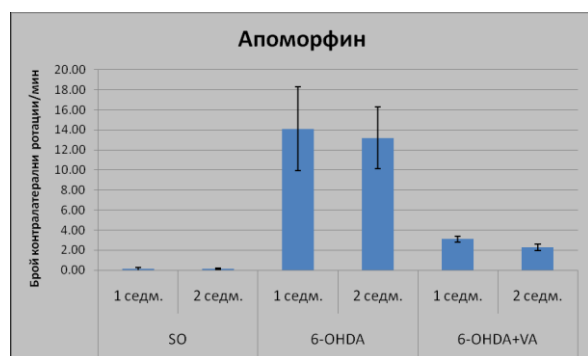
научаване. След още 24 часа бутилката с 0.8% захарозен разтвор бе заменена с вода и бе измерено изпитното количество за 24 часа, преди една от двете бутилки да бъде извадена от клетката. Използването на 48-часов период на тестване позволява да се изключат всякакви ефекти от неофобия, артефактно предпочитание към която и да е страна и последиците от научаване. В допълнение това предоставя информация относно дългосрочния достъп до възнаграждаващ стимул (Slattery, Markou, & Cryan, 2007).

Тест за принудително плуване (forced swim test): Нативните плъхове се поставят принудително да плуват поотделно във вертикални цилиндри от плексиглас (височина: 40 см; диаметър: 18 см), съдържащ 15 см вода, поддържана при 25 ° C. След 15 минути във водата животните се отстраняват и се оставят да изсъхнат за 15 минути в загрята завивка (32 ° C), преди да бъдат върнати в техните клетки. След 24 часа се поставят отново в цилиндъра и общата продължителност на неподвижността им се измерва по време на 5-минутен тест. Преценява се, че плъхът е неподвижен, когато остава пасивно във водата в леко изгъната, но изправена позиция, а главата му е точно над повърхността (Porsolt, Anton, Blavet, & Jalfre, 1978).

Статистическа обработка на резултатите: Използван бе t-тест на Стьюдент при $p < 0.05$.

Резултати и дискусия

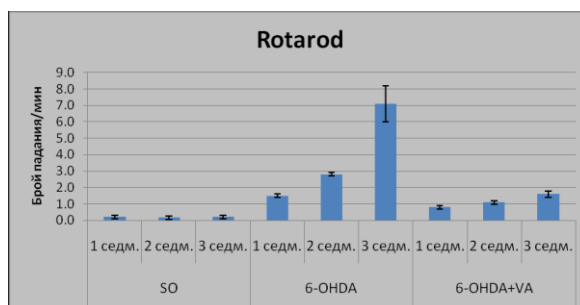
Резултатите от апоморфиновия тест показват наличие на нарушения в допаминергичната система при интоксиканите животни (Фиг. 2). При третираните с ванилин животни се наблюдава неколккратно намаляване на индуцираните от апоморфина ротации спрямо нетретираните.



Фиг. 2: Поведенчески ефекти при апоморфинов тест върху нетретираните (6-OHDA)

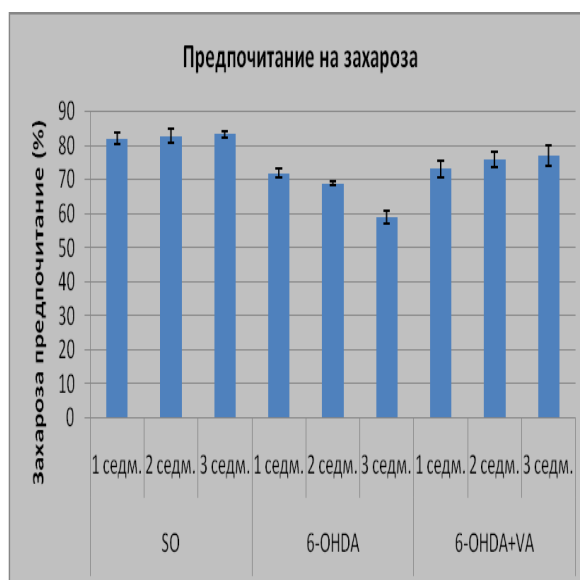
и третираните с ванилин групи 6-OHDA интоксикация (6-OHDA+VA), сравнено с фалшиво оперираните (SO).

Резултатите от Rotarod теста също сочат за наличие на отчетливо нарушение двигателните функции при интоксиканите спрямо фалшиво оперираните животни (Фиг.3). При третираната с ванилин група обаче се открива значително подобрене в тези функции.



Фиг. 3: Поведенчески ефекти при Rotarod тест върху нетретираните (6-OHDA) и третираните с ванилин групи 6-OHDA интоксикация (6-OHDA+VA), сравнено с фалшиво оперираните (SO).

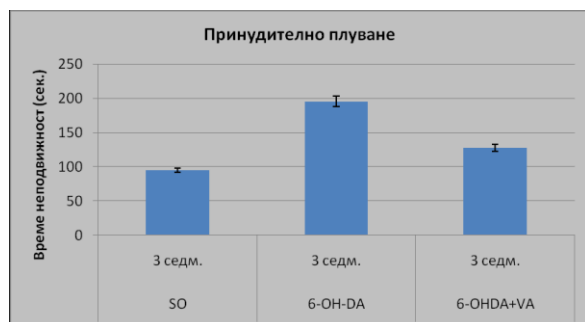
При захарозния тест за анхедония се наблюдава намаляване на предпочитанието на животните към позитивния емоционален стимул (Фиг. 4). Но третираните с ванилин животни се наблюдава подобрене в хода на времето, докато при нетретираните има обратна тенденция.



Фиг. 4: Поведенчески ефекти при захарозен тест върху нетретираните (6-OHDA) и третираните с ванилин групи 6-OHDA интоксикация

ция (6-OHDA+VA), сравнено с фалшиво оперираните (SO).

Теста за принудително плуване се наблюдава удължаване на времето на имобилност при интоксикаираните групи (Фиг. 5). При третираните с ванилин животни това време е редуцирано с 35% спрямо нетретираните с лезии.



Фиг. 5: Поведенчески ефекти при тест за принудително плуване върху нетретираните (6-OHDA) и третираните с ванилин групи с 6-OHDA интоксикация (6-OHDA+VA), сравнено с фалшиво оперираните (SO).

От резултатите се вижда, че вероятно има нарушения и увреди на допаминергичната система не само в нейния нигростриатумен дял, който е отговорен за водещата симптоматика в двигателните нарушения, но същото и в често пренебрегвана съпътстваща симптоматика, която също в голяма степен влияе върху понижаването на качеството на живот на болните. Последната е свързана с мезокортиколимбичния дял на допаминергичната система, която по-слабо се повлиява от терапията с някои фармацевтични средства като L-Dopa (Jaunarajs, Dupre, Ostock, Button, Deak, & Bishop, 2010). Настоящото изследване показва, че природния продукт от растенията от сем. Orchidaceae – ванилина, би могъл ефективно да повлияе както върху мезокортиколимбичната симптоматика, така и върху нигростриатумната. Въпреки, че засега не се знаят точните молекулярни механизми на действие на ванилина, вероятно част от ефекта му се основава на антиоксидантното му действие, тъй като при скорошно ин витро изследване бе установено че има обезвреждащо действие спрямо част от радикаловите системи (Tai, Sawano, Yazama, & Ito, 2011). Друго скорошно изследване показва, че ванилина би могъл да има и невромодулаторно действие върху асоциираните с афективната сфера дя-

лове на мозъка свързани с тревожността (Bhagwat, Chowta, Shoeb, Maskeri, Venkatesh, & Rai, 2013). В настоящото изследване се установява, че ванилина би могъл да има и антитидепресивен ефект при модел с болестта на Паркинсон.

Заклучение

Освен в козметиката и кулинарията, ванилинът би могъл да бъде потенциален кандидат-терапевтик в мениджмънта на симптоматиката на болестта на Паркинсон, особено в нейните често negliжирани афективни аспекти, които обаче оказват дискомфорт и силно социално-психологическо въздействие върху пациентите и обкръжението им. Ниската му токсичност и широко разпространение в бита, го правят потенциално достъпен за широк кръг от пациенти. Нужни са обаче допълнителни изследвания за установяване на схеми на прием както и странични ефекти и взаимодействия.

Литература

- Aarsland, D., J. P. Larsen, K. Karlsen, N. G. Lim & E. Tandberg. 1999. Mental symptoms in Parkinson's disease are important contributors to caregiver distress. *International journal of geriatric psychiatry*, 14(10), 866-874.
- Allegri, R. F., D. Sarasola, C. M. Serrano, F. E. Taragano, R. L. Arizaga, J. Butman & L. Loñ. 2006. Neuropsychiatric symptoms as a predictor of caregiver burden in Alzheimer's disease. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 2(1), 105.
- Beaudry, F., A. Ross, P. P. Lema & P. Vachon. 2010. Pharmacokinetics of vanillin and its effects on mechanical hypersensitivity in a rat model of neuropathic pain. *Phytotherapy research*, 24(4), 525-530.
- Bhagwat, V., M. N. Chowta, A. Shoeb, R. Maskeri, V. Venkatesh & A. Rai. 2013. Evaluation of anxiolytic activity of vanillin in wistar albino rats. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 3(2), 96.
- Bomgardner, M. M. 2014. Following many routes to naturally derived vanillin. *Chem. Eng. News*, 92(6), 14.
- Braak, H., E. Ghebremedhin, U. Rüb, H. Bratzke & K. Del Tredici. 2004. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell and tissue research*, 318(1), 121-134.

- Cummings, J. L. & K. Zhong. 2006. Treatments for behavioural disorders in neurodegenerative diseases: drug development strategies. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(1), 64.
- Gallage, N. J. & B. L. Møller. 2015. Vanillin–bioconversion and bioengineering of the most popular plant flavor and its de novo biosynthesis in the vanilla orchid. *Molecular plant*, 8(1), 40-57.
- Gu, F., Y. Chen, Y. Fang, G. Wu & L. Tan. 2015. Contribution of Bacillus isolates to the flavor profiles of vanilla beans assessed through aroma analysis and chemometrics. *Molecules*, 20(10), 18422-18436.
- Gupta, S. & B. Sharma. 2014. Pharmacological benefits of agomelatine and vanillin in experimental model of Huntington's disease. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 122, 122-135.
- Jaunarajs, K. L. E., K. B. Dupre, C. Y. Ostock, T. Button, T. Deak & C. Bishop. 2010. Behavioral and neurochemical effects of chronic L-DOPA treatment on non-motor sequelae in the hemiparkinsonian rat. *Behavioural pharmacology*, 21(7), 627.
- Leiknes, I., O. B. Tysnes, D. Aarsland & J. P. Larsen. 2010. Caregiver distress associated with neuropsychiatric problems in patients with early Parkinson's disease: the Norwegian ParkWest study. *Acta Neurologica Scandinavica*, 122(6), 418-424.
- Park, S., D. S. Kim & S. Kang. 2011. *Gastrodia elata* Blume water extracts improve insulin resistance by decreasing body fat in diet-induced obese rats: vanillin and 4-hydroxybenzaldehyde are the bioactive candidates. *European journal of nutrition*, 50(2), 107-118.
- Pechlivanova, D. M., P. P. Markova, D. Popov & A. G. Stoynev. 2013. The role of the angiotensin AT2 receptor on the diurnal variations of nociception and motor coordination in rats. *Peptides*, 39, 152-156.
- Pfeiffer, R. F. 2016. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, 22, S119-S122.
- Popatanasov, A., S. Stoeva, M. Lazarova, L. Traikov, T. Pajpanova, R. Kalfin & L. Tancheva. 2017. Effects of new neurotensin analogue on brain activity in rat Parkinson's disease model. *Bulgarian Chemical Communications*, 49, 146-150.
- Porsolt, R. D., G. Anton, N. Blavet & M. Jalfre. 1978. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European journal of pharmacology*, 47(4), 379-391.
- Ring, H. A. & M. R. Trimble. 1991. Affective disturbance in Parkinson's disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 6(6), 385-393.
- Slattery, D. A., A. Markou & J. F. Cryan. 2007. Evaluation of reward processes in an animal model of depression. *Psychopharmacology*, 190(4), 555-568.
- Starkstein, S. E. & R. G. Robinson. 1997. Affective disorders in neurologic disease. *J Nerv Ment Dis*, 185(2), 108-114.
- Tai, A., T. Sawano, F. Yazama & H. Ito. 2011. Evaluation of antioxidant activity of vanillin by using multiple antioxidant assays. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1810(2), 170-177.
- Truong, L., H. Allbutt, M. Kassiou & J. M. Henderson. 2006. Developing a preclinical model of Parkinson's disease: a study of behaviour in rats with graded 6-OHDA lesions. *Behavioural brain research*, 169(1), 1-9.
- Walton, N. J., M. J. Mayer & A. Narbad. 2003. Vanillin. *Phytochemistry*, 63(5), 505-515.

Име на автора/авторите
 Андрей Попатанасов
 Асистент
 Университет
 Българска Академия на Науките
 Катедра
 Институт по Невробиология
 Адрес
 ул. акад. Георги Бончев, бл. 23
 e-mail:
 and_atanasov@abv.bg



ПРОУЧВАНЕ ГОТОВНОСТТА ЗА РЕАГИРАНЕ НА МЛАДИТЕ ХОРА ПРИ ВЪЗНИКВАНЕ НА ПРИРОДНИ БЕДСТВИЯ И КРИТИЧНИ СИТУАЦИИ

Пламена Атанасова, Сабина Недкова

STUDY OF YOUNG PEOPLE'S READINESS IN THE EVENT OF NATURAL DISASTERS AND CRITICAL SITUATIONS

Plamena Atanasova, Sabina Nedkova

ABSTRACT: *We live in a world where the sources of risks, dangers and threats are many and varied. Disasters happen every day anywhere in the world. The study we conducted aims to identify the students awareness, knowledge and readiness to respond to natural disasters and crisis situations.*

Key words: natural disasters, crisis situations, readiness to respond

През последните години мащабът и честотата на бедствените ситуации непрекъснато нарастват. Съгласно Закона за защита при бедствия - бедствие е събитие или поредица от събития, предизвикани от природни явления, инциденти, аварии или други извънредни обстоятелства, които засягат или застрашават живота или здравето на населението, имуществото или околната среда в размери, които изискват предприемането на мерки или участието на специални сили и използването на специални ресурси [1].

Готовността на населението за поведение, действие и оказване на първа помощ при бедствени ситуации е от съществено значение за намаляване на риска за живота и здравето на хората. Добрата подготовка гарантира ефективна реакция за защита и помощ на засегнатите хора. Знанията и уменията по основните способности за защита при възникване на бедствена ситуация са от съществено значение за ограничаване на въздействието на поразяващите фактори и спасяването на живота на хората, попаднали в огнището на бедствието.

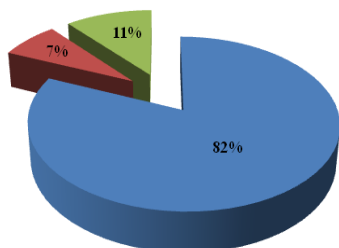
Поставихме си за цел да проучим и анализираме самооценката на анкетираните студенти от Университет „Проф. д-р Асен Златаров“ относно техните знания и умения за защита при възникване на бедствена ситуация. Разработихме анонимна анкета, която разпространихме сред 93 студенти в Образователно квалификационната степен „бакалавър“ от Факултет по технически науки изучаващи дисциплината „Техническа безопасност“.

Студентите са от специалностите: „Биотехнологии“, „Екология и опазване на околната среда“, „Технология на нефта и газа“, „Електроника“, „Компютърни системи и технологии“, „Мрежови технологии, мултимедии и дизайн“ и „Техника и технологии в транспорта“. Резултатите от анкетите са обобщени в графики с процентно представяне. Въпросите и отговорите са представени във Фигури от 1 до 5.

Наводненията са често срещани природни бедствия на територията на Република България. Те могат да нанесат огромни щети, засягат урбанизирани, промишлени територии, продуктивни земеделски земи и горски масиви. Наводненията могат да бъдат природни (в резултат на валежи, топене на ледове и снегове) и техногенни (причинени от други влияния, като повреда на хидротехническо съоръжение, което може да доведе до авария).

На поставения въпрос „Знаете ли как да реагирате при наводнения?“ 82 % от анкетираните студенти отговарят „да“, като допълват, че ще запазят самообладание, ще подадат сигнал на тел.112, ще проверят дали има пострадали и ще им помогнат, ще потърсят най-безопасно място на което да се качат. 11 % отговарят, че „не знаят“ как да реагират, а 7 % от тях са дали отговор „не“.

■ да запазваме самообладание подаваме сигнал на 112, ще проверя дали няма пострадали и ще им помогна, търсим най-безопасното високо място, на което да се качим
■ не
■ не знам

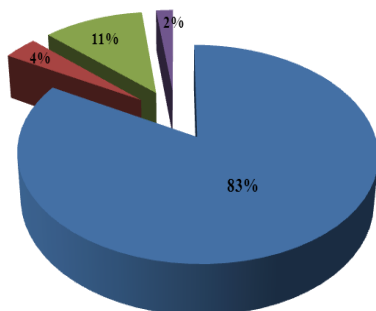


Фиг.1 Въпрос – „Знаете ли как да реагирате при наводнение?“

Земетресението е природно бедствие, което не може да бъде предотвратено, предизвиква катастрофални ситуации, характеризирани се с нарушаване на нормалния начин на живот, унищожаване на материални ценности, пострадали и жертви, нуждаещи се от медицинска помощ, но правилното поведение на всеки от нас може да бъде животоспасяващо.

На въпроса „Знаете ли как да реагирате, ако земетресение застигне вашият дом?“ 83 % от студентите отговарят, че „ще се скрият на безопасно място (под касата на врата, под маса), ще се обадят на тел. 112, и след преминаване на труса ще напуснат сградата без да ползват асансьор, като се отдалечат от нея“. 11 % от анкетираните отговарят, че „ще напуснат сградата“, 2 % „не знаят“ какво ще направят при възникване на земетресение, 4 % са дали отговор „не“.

■ ще се скрия на безопасно място - под касата на вратата, под масата, ще се обадя на 112, след преминаване на труса ще напусна сградата без да ползвам асансьор и ще се отдалечим от нея
■ не
■ ще напусна сградата
■ не знам

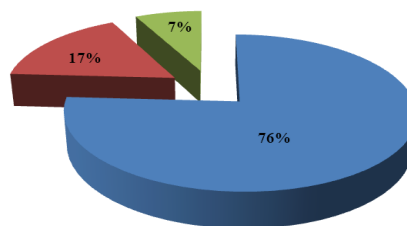


Фиг.2 Въпрос – „Знаете ли как да реагирате, ако земетресение застигне вашият дом?“

В страната ни всяка година възникват пожари от различен характер, при които загиват

хора, унищожават се материални и културни ценности, нанасят се огромни екологични щети. Причините за тези пожари са различни, но потърпевшо от преките и косвени загуби е обществото [2]. Пожарът е горене, разпространяващо се без контрол във времето и пространството, характеризиращо се с отделяне на топлина, придружено с дим или пламъци, или и двете [3]. На въпроса „Знаете ли как да реагирате при пожар“ 17 % от анкетираните студенти отговарят, че „ще се опитат да загасят пожара, като използват наличните пожарогасителни средства, ще изключат ел. захранването, газта“. 76 % от тях казват, че „първо ще сигнализирам на тел. 112, ще поставят мокра кърпа на устата си и ще напуснат горящото помещение, ще предупредят хората да не се приближават“, а 7% са дали отговор „не“.

■ ще извикам пожарната на 112; на първо място е безопасността на хората; поставям мокра кърпа на устата си и без да се притеснявам излизам от горящото помещение; ще предупредя хората да не се приближават; ако има пострадали ще окажа първа помощ
■ ако пожара е малък ще се опитам да го загася и се обаждам на пожарната - използвам пожарогасител, вода, изключвам ел. инсталациите, спирам газа
■ не

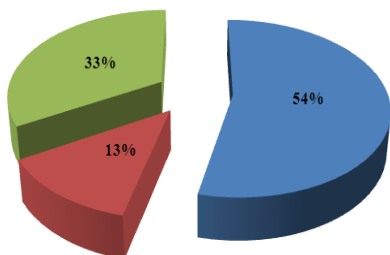


Фиг.3 Въпрос – „Знаете ли как да реагирате при пожар?“

Инциденти, свързани с използване на опасни химични вещества, биха могли да възникнат в резултат на технологични аварии в производствени обекти, работещи с опасни химични вещества от химическата, текстилната и фармацевтичната промишленост; в резултат на ниската трудова и технологична дисциплина, неспазване правилата за техническа безопасност, превоз на опасни химични вещества, които при катастрофа създават условия за замърсяване на околната среда и са заплаха за живота и здравето на населението. Потенциална опасност от възникване на аварии представляват хранилищата за нефтопродукти, втечнени въглеродородни газове и компресорните станции за природен газ и други технологични газове, които могат да доведат до възникване на експлозии и пожари. Затова следващите въпроси, които зада-

дохме на студентите в разработената от нас анкета са „Запознати ли сте с потенциалните източници на замърсяване с POV (промишлени отровни вещества) на района в който живеете?; Знаете ли как да реагирате при промишлена авария с отделяне на токсични вещества в околната среда?“

■ да химическите предприятия - Лукойл, Кроношпан, сероводород, автомобилите (осведомявам хората, ще използвам противогаз, маска)
■ не ■ не знам



Фиг.4 Въпрос – „Запознати ли сте с потенциалните източници на замърсяване с POV на района в който живеете?“, „Знаете ли как да реагирате при промишлена авария с отделяне на токсични вещества в околната среда?“

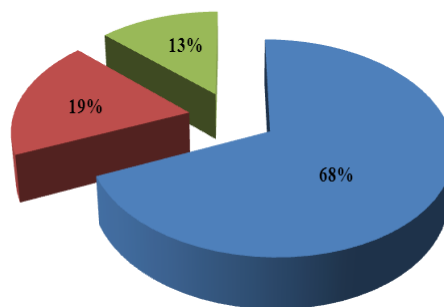
54 % от анкетираните студенти отговарят, че са запознати с потенциалните източници на замърсяване с POV на района в който живеят и посочват като такива химическите предприятия, Лукойл, Кроношпан, транспорта; 13% са отговорили с „не“ на въпроса, а 33% дават отговор „не знам“.

Първа долекарска помощ е тази, която се оказва от хора намиращи се най-близко до пострадалият. Тя не предполага специализирани медицински познания и апаратура. Нейната задача е максимална защита на пострадалият. Това са действия свързани с безопасността и стабилизирането на състоянието на пострадалия в полеви условия. Основните принципи при първа долекарска помощ са **запазване на самообладание**, за да може правилно да се прецени ситуацията. **Осигуряване на безопасност**, за да се анализира възникналата ситуацията и да се провери дали има някакви потенциални опасности, тъй като ако мястото на инцидента е опасно, не се влиза в него, преди да е дошъл специализираният екип, защото има риск от човек тръгнал да оказва първа помощ да се окаже в ситуация на пострадал. **Сигнализиране на службите за спешна помощ, когато е необходимо и прилагане на първа помощ** - необходимо е да се запази състоянието на пострада-

лия и да се облекчат болките му, доколкото е възможно, до идване на специализирана медицинска помощ.

На въпроса „Знаете ли основните принципи за оказване на първа долекарска помощ?“ 13 % дават отговор „не“, 19 % от анкетираните отговарят „не знам“ и 68 % отговарят „да“, като допълват отговорите си, че оказването на първа долекарска помощ зависи от случая на пострадалия, но са готови да направят сърдечен масаж, изкуствено дишане, както и да притискат раната при възникнал кръвоизлив до идването на специализирана медицинска помощ.

■ да (зависи от случая - от какво е пострадал човек; проверяваме пулса, повдигаме брадичката на пострадалия и се прави изкуствено дишане, сърдечен масаж, след което го поставяме настрани, при кръвоизлив притискаме раната)
■ не ■ не знам



Фиг.5 Въпрос - „Знаете ли основните принципи за оказване на първа долекарска помощ?“

Заклучение

Повишаването на знанията и уменията за защита при бедствени ситуации и оказване на първа медицинска помощ са от особено значение при реагиране за индивидуално и колективно справяне със ситуации на бедствия. В резултат на проведеното проучване за готовността за реагиране на младите хора (21-23 години) при възникване на природни бедствия и критични ситуации и получените резултати от анализа могат да бъдат направени следните изводи:

По-голяма част от анкетираните студентите са запознати с основните правила за поведение и действие на населението, при възникване на природни бедствия и кризисни ситуации. Изразяват готовност за реагиране при

възникване на пожари (93%), наводнение (82%) и земетресение (83%)

Запознати са с основните принципи за оказване на първа долекарска помощ (68%).

Повишаването на информираността и засилването на участието на населението в дейностите за намаляване на риска от бедствия е от изключително значение, затова е необходимо провеждането на обучение за реагиране при различни опасности. Тази превенция ще намали загубите на човешки живот, щетите по инфраструктурата, икономиката и околната среда.

Литература

1. Закон за защита при бедствия Обн., ДВ, бр. 102 от 19.12.2006г.

2. Атанасова П., С. Недкова, Шевкед Шевкед „Анализ на пожарите в област Бургас“, (2017), *Академично списание „Индустриални технологии“*, том IV (1), стр. 100-105.

3. БДС ISO 8421-1:1999 Защита срещу пожар. Част 1: Обща терминология и явления при пожар.

Гл. ас. д-р инж. Пламена Атанасова
Гл. ас. д-р инж. Сабина Недкова
Университет „Проф. д-р Асен Златаров“
гр. Бургас
Катедра: „Технологии материали и материалознание“
Бургас, ул. „Проф. Якимов 1“
E-mail: pl.veleva@abv.bg



МЕЖДУЛАБОРАТОРНО СРАВНЕНИЕ ЗА ОТКРИВАНЕ НА САЛМОНЕЛА В ОБЕЗМАСЛЕНО МЛЯКО НА ПРАХ

Галина Григорова, Галина Йорданова

INTERLABORATORY COMPARIOS FOR THE DETECTION OF SALMONELLA IN SKIMMED-MILK POWDER

Galina Grigorova, Galina Yordanova

ABSTRACT: *In connection with the requirements of BDS EN ISO/17025 and BAS QR 18 to provide authenticity of the results, we have participated in the proficiency testing program for microbiological analysis in Quality in Microbiology PT Scheme / QMS / milk matrix .Object of research are: detection of Salmonella species.*

Key words : Interlaboratory Comparison, Proficiency Testing, milk matri, Salmonella species

Въведение

Необходимостта от постоянно доверие в работата на лабораториите за храни е от съществено значение както за лабораториите и техните клиенти, така и за други заинтересовани страни, като регулаторни органи, органи за акредитация на лаборатории.

Лабораторията трябва да има процедура за управление на качеството, за наблюдение на валидността на предприетите изпитвания и калибрирания. Тя трябва да отговаря на изискванията на БДС EN ISO/17025 (раздел 5.9.1). Контролът на работата на лабораториите по храни задължително включва участия в междулабораторни сравнения.

Междулабораторно сравнение (Interlaboratory Comparison, ILC). Организирането, представянето, оценяването на измерванията или на изпитванията на едни и същи или на подобни обекти от две или повече лаборатории в съответствие с предварително определени условия (БДС EN ISO/IEC 17043, т. 3.4)

Изпитване за пригодност (Proficiency Testing, PT). Изпитване за пригодност е оценяване на представянето на участника спрямо предварително установени критерии чрез средствата на междулабораторните сравнения (БДС EN ISO/IEC 17043, т. 3.7)

Програма на изпитване за пригодност (Proficiency Testing Scheme). Изпитване за пригодност, което е проектирано и изпълня-

вано при един или повече цикъла в определена област на изпитване, измерване, калибриране или контрол (БДС EN ISO/IEC 17043, т. 3.11)

Организатор (Provider) на изпитвания за пригодност. Организация, която носи отговорността за всички задачи при разработването и действието на една програма на изпитване за пригодност (БДС EN ISO/IEC 17043, т. 3.9)

Участник (Participant). Лаборатория, организация или физическо лице, което получава обекти на изпитването за пригодност и изпраща резултатите за преглед от организатора на програмата на изпитването за пригодност (БДС EN ISO/IEC 17043, т. 3.6) (BAS QR 18).

Основните изисквания, на които лабораториите за калибриране и изпитване следва да отговарят, ако желаят да демонстрират, че са внедрили система за управление на качеството, че са технически компетентни и могат да предоставят надеждни резултати, са описани в международния стандарт ISO/IEC 17025. Точка 5.9 ISO/IEC 17025 изисква лабораториите да имат процедури за контрол на качеството, чрез които да се гарантира валидността на резултатите от измерванията /изпитванията. Стандартът посочва, че лабораторията може да участва в междулабораторни сравнения или изпитвания за пригодност. (BAS QR 18, БДС EN ISO/IEC 17043:2010)

За осигуряване на качеството на резултатите от изпитване и калибриране лабораторията трябва да има процедура за управление на качеството, за наблюдение на валидността на извършваните изпитвания и калибрирания. Получените данни трябва да бъдат записани по начин, който позволява да се откриват тенденциите и когато се изисква да се прилагат статистически методи за проверка на резултатите. Това наблюдение трябва да бъде планирано и прегледано и може да включва, без да се ограничава с това, следните елементи:

а) Редовно използване на сертифицирани сравнителни материали и/или вътрешен контрол на качеството с помоща на вторични сравнителни материали

б) Участие в програма за междулабораторни сравнения и изпитвания за пригодност

в) Повторни изпитвания или калибрирания с помоща на същите или други методи

г) Последващо ново изпитване или калибриране на запазени обекти

д) Корелация на резултатите за различни характеристики на обекта (БДС EN ISO/17025)

Хранителните токсикоинфекции се педизвикват от представители на сем. *Enterobacteriaceae* (род *Salmonella*, род *Escherichia*, род *Proteus*). Хранителните отравяния, предизвикани от бактерии от род *Salmonella*, заемат първо място сред микробиологичните хранителни токсикоинфекции. Името на рода е в чест на американския микробиолог Д.Салмон, който през 1885г. за първи път е определил представител на тази група - *Salmonella choleraesuis*. Понастоящем са описани около 2500 вида, от които повече от 400 патогенни за човека, предизвикващи остри салмонелозни гастроентерити. Салмонелите са малки грам-отрицателни пръчици със закръглени краища. Повечето видове са подвижни, с перитрихално разположени камшичета. Не образуват капсули, с изключение на *S.typhi*. Факултативни анаероби с температурен оптимум 37°C. Оптимална реакция на средата е слабо алкалната. Добре растат на обикновена хранителна среда. Не образуват спори, но имат относително висока устойчивост към действието на различни физични и химични фактори и на антибиотици. Добре преживяват и изсушаване, запазват се при стайна температура на различни субстрати в продължение на 2,5-3 месеца, в изсъхнали животински екскременти - 3-4 години. В

млечните продукти не само, че дълго се запазват /до 3-4 месеца/, но и се размножават, без да променят външния вид и вкусовите качества на продукта. В масло се запазват 4 месеца при съхраняване при стайна температура и 9-10 месеца - при съхранение в хладилник. Най-дълго се запазват в изварата-до - 34 месеца. Издържат нагряване при температура до 60°C в продължение на 1 час, до 75°C - 10 мин., при кипене загиват моментално. За инактивиране на салмонелите в млякото режимът на пастьоризация е достатъчен, ако първоначалната им концентрация не е повече от 3×10^{12} клетки/мл. Във вода с ниска стойност на рН, салмонелите преживяват до 2 месеца. При наличие на готварска сол в продукта над 8% развитието им значително се забавя, а при 12-15% се прекратява напълно. Но преживяват в 8-10% разтвор на оцетна киселина в продължение на 18 часа. Характерна особеност на хранителните продукти, заразени със салмонели, е липсата на каквито и да е органолептични изменения в тях. Основен източник на салмонелозни инфекции са селскостопанските и домашните животни. Нерядко със салмонели бива обсеменено птичето месо и почти винаги патешките и гъши яйца. Предаването на заразата най-често се осъществява чрез заразени вода и хранителни продукти. Мухите, мишките и хлебарките играят важна роля като преносители. Заразяването на хранителните продукти може да бъде първично-когато са произведени от болно животно, и вторично-при неправилна обработка, съхранение и транспорт (Антонова-Николова С., Йочева, Иванова, 2015).

В промишлената биотехнология в повечето случаи се използват монокултури или смесени култури с дефиниран състав и известен брой микроорганизми от хранителната, млечната, пивоварната и други промишлености. В частност при Биоелектрохимичните системи от значение са видовия състав, метаболитния потенциал на микробните култури и цялостния дизайн на реактора. (Мидюрова Б., Бонев, Ненов, 2017)

Съгласно изискванията на посочената литература, целта на настоящото изследване е да се планира и проведе междулабораторно сравнение по програма за микробиологичен анализ (откриване на салмонела) в млечен продукт. Постигането на поставената цел изисква решаване на следните задачи:

1.Разработване на план и избор на организатор за провеждане на междудулабораторно сравнение.

2. Анализ и оценка на резултатите от проведеното междудулабораторно изследване.

Експеримент

Лабораториите трябва да имат критерии за избор на организатор на ILC/PT. ИА БСА препоръчва участие в ILC/PT, организирани от акредитирани, съгласно EN ISO/IEC 17043 организатори. (БДС EN ISO/IEC 17043:2010)

За целта лабораторията участва в Изпитване за пригодност по програма за микробиологичен анализ Quality in microbiology Scheme /QMS/ млечна матрица/обезмаслено мляко на прах/. Обект на изследвания е *салмонела*: Това е хоризонтален метод с който откриваме бактерии от род *Salmonella*.

1 Определянето на салмонела разработена по БДС EN ISO 6579 Микробиология на храни и фуражи. Хоризонтален метод за откриване на *Salmonella spp.* (БДС EN ISO 6579)

2.Процедура.

Откриването на бактерии от род *Salmonella* извършваме на четири последователни етапа :

Предварително обогатяване в неселективна течна среда. Използуваме буферирана пептонова вода.

Хомогенизираме в лабораторен блендер и култивираме при $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ в продължение на $18\text{ h} \pm 2\text{ h}$;

Селективно обогатяване в две течни среди

Първото селективно обогатяване правим на Rappaport-Vassiliadis със соя (RVS бульон). Култивираме на $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1$ в продължение на $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$.

Втората течна селективна среда е Тетратинат/новобиоцинов бульон на Muller-Kauffmann (МКТТн бульон). Култивираме на $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ в продължение на $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$.

Препосояване и идентификация.

От всяка епруветка с RVS бульон и МКТТн бульон правим препосоявка със стерилно бактериологично ухо (йозе) върху две твърди селективни среди. Първата е Ксилоза лизин дезоксихолат агар (XLD), а втората – Лактозо–захарен агар с брилянтгрюн и фенолрот (BPLS –agar –Brilliant-green Phenol

red Lactose Sucrose Agar -modified). Петритата с двата вида хранителни среди култивираме на 37°C в продължение на 24 h .

Типичните колонии за бактерии от р. *Salmonella* върху XLD агара са с черен център и червеникава зона около coloniите.Върху BPLS – агара *Salmonella*-бактериите са червени, заобиколени от ярко червена зона.

Потвърждаване на идентификацията.

Извършваме биохимично и серологично изпитване.

Биохимични тестове:

- **Лизин бульон (Lysin Decarboxylase Broth).** Този тест ни дава възможност за идентификация на *Enterobacteriaceae* и по специално на бактерии от род *Salmonella* като откриваме разграждането на лизин декарбоксилазата.

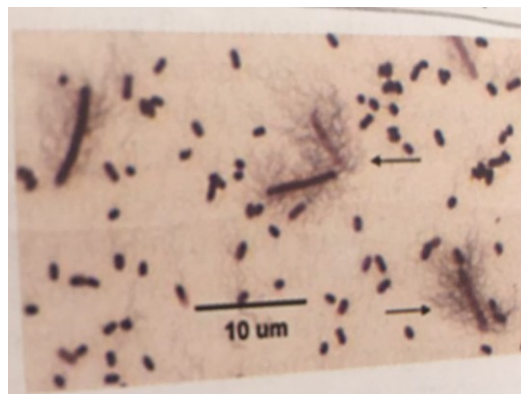
Култивираме за 24 h на 37°C . След приключване на култивирането преценяваме резултатите в зависимост от промяна цвета (pH) на средата.

Salmonella - цвета е виолетов

- **Тризахарен агар (TSI).** С този тест установяваме разграждане на въглехидратите с образуване на киселина и промяна цвета на средата от червено-оранжево в жълто, образуването на железен сулфид с черно оцветяване.

Прави се посявка от съмнителната колония в бод и на щрихи върху полегатия стълб на агара. Култивираме на 37°C за 24 h и отчитаме. Промените на средата се интерпретират по таблица от БДС EN ISO 6579.

Фиг.1 *Salmonella spp.*





Фиг.2 Salmonella typhi

Среда за индол. Съмнителната колония посяваме в епруветка, съдържаща 5 ml триптон/триптофанова среда. Култивираме при 37 °C в продължение на 24 h. След изваждането на епруветките от термостата добавяме 1 ml от реактива на Ковач. Образуването на червен пръстен е показател за положителна реакция. Жълтокафявият пръстен е показател за отрицателна реакция **Бактерии от р. Salmonella са с отрицателна реакция за индол.**

Серологичното потвърждаване. Извършва се с наситен салмонелен серум - ОА-ОЕ. Предварително правим посевка върху Хранителен агар, от който правим реакция аглутинация със салмонелен серум.

Резултати и обсъждане

В изискванията за междулабораторното сравнение след отчитането на получените резултати се извършва оценка изразена като Z критерии, който лабораторията получава в доклада от организатора. Резултатите за Z критерият са представени на Таблица1.

Когато Z критерия е по-малък от 2 и по-голям от -2, оценката за резултатите на дадена лаборатория е удовлетворителна.

Z критерия за салмонела е задоволителен (Таблица 1).

Analyte	result	Satisfactory%
Salmonella species	Detected	96.1

Таблица1. Z критерий за салмонела

Получените резултати за Z критерия показват достоверността на получените стойности. Съгласно изискванията на БДС EN ISO/17025 и BAS QR 18 резултатите от проведените междулабораторни сравнителни изпитвания се използват като един от критериите за оценка на техническата работа в лабораторията. Чрез такова участие лабораториите могат да сравнят резултатите си с подобни на тях лаборатории, да наблюдават своите резултати в течение на времето, да откриват тенденциите и да предприемат необходимите превантивни или коригиращи действия.

Литература

1. BAS QR 18; 01.05.2016г., „Процедура за политиката на ИА БСА относно междулабораторни сравнения и изпитвания за пригодност”.
2. БДС EN ISO/IEC 17043:2010 Оценяване на съответствието. Общи изисквания за изпитванията за пригодност (ISO/IEC 17043:2010).
3. БДС EN ISO/17025. Общи изисквания относно компетентността на лабораториите за изпитване и калибриране (ISO/IEC 17025:2005/).
4. БДС EN ISO 6579:2003 Микробиология на храни и фуражи. Хоризонтален метод за откриване на Salmonella spp.
5. БДС EN ISO 7218:2007 Микробиология на храни и фуражи. Общи изисквания и ръководство за микробиологични изпитвания.
6. БДС EN ISO 11133:2014 Микробиология на хранителни продукти, фуражи и води. Подготовка, производство, съхранение и изпитване на качествата на културални среди
7. Антонова-Николова С., Л.Йочева, И. Иванова Хранителна микробиология Университетско издателство „Св. Климент Охридски” София, 2015.
8. Мидюрова Б., Бонев Б., Ненов В., 2017, "Характеристика и ефективност на седиментационна биоелектрохимична система с керамичен сепаратор", Oxidation Communication



НОВ МЕТОД ЗА СЪСТАВЯНЕ НА БЮДЖЕТ НА НЕОПРЕДЕЛЕНОСТТА В ИЗПИТВАТЕЛНИТЕ МИКРОБИОЛОГИЧНИ ЛАБОРАТОРИИ

Добромир Йорданов, Галина Йорданова, Галина Григорова

A NEW METHOD OF ESTABLISHING UNCERTAINTY BUDGETS IN TESTING MICROBIOLOGICAL LABORATORIES

Dobromir Yordanov, Galina Yordanova, Galina Grigorova

ABSTRACT: *In quality management in a test laboratory, consideration should be given to the traceability of the results, especially to the expanded uncertainties that occur during the analysis. The experimental part of the article will propose an uncertainty budgeting procedure for initial verification of a standardized test method or validation of an interlaboratory method by enveloping two certified comparative materials in the lower and upper limits of the measurement range by the respective method.*

Key words: quality management, budget, microbiological laboratories

Въведение

Съществуват различни методи за управление на качеството в изпитвателните микробиологични лаборатории. Когато една такава лаборатория е акредитирана, то методите за управление на качеството са описани в наръчника по качеството и системата за управление на лабораторията. Наръчникът по качество е създаден по международния стандарт БДС EN ISO 17025 или по международния стандарт EN ISO 9001.

Наръчникът по качеството е част от системата за управление на лабораторията. В системата по качество са описани основните процедури по качеството (ОПК), работни процедури по качеството (РПК), формуляри по качеството (ФК) и списъци по качеството (СпК).

Проследимост на измерванията

Изискванията за качеството на предлаганите услуги в лабораториите за изпитване са свързани с практическите аспекти на развитие на системата на управление чрез осигуряване на:

- Ефикасност, която се гарантира от степента, до която планираните дейности са изпълнени или постигнати

- Ефективност, която е осигурена от съотношението между получените резултати и използваните ресурси

- Последователност се свързва с непрекъснатата верига от действия по осъществяване на заложените цели в крайните резултати.

Ефикасната система за управление на измерванията осигурява средствата за измерване и процесите на измерване да са подходящи за предвиденото използване. Тя е важна за постигане на целите по отношение качеството на продукта и за управлението на риска от неправилни резултати от измерванията. Целите на системата за управление на измерванията е да се управлява рискът при получаване на неправилни резултати от техническите средства за измервания и процесите на измерване, които влияят на качеството на продукта на организацията. Методите, използвани за системата за управление на измерванията, обхваща от основните технически средства до прилагането на статистически методи в управлението на процеса на измерване (БДС EN ISO 10012:2006).

Процесите на измерване, които са част от системата за управление на изпитвания задължително се планират, валидират, документират и внедряват. Влияещите величини, които въздействат на процесите на

измерванията, трябва да се идентифицират и вземат под внимание.

Проследимостта на измерванията е свойство на резултатите от измерването, които могат да бъдат свързани с установени еталони, които имат обявени неопределености с посочени доверителни вероятности чрез непрекъсната верига от сравнения.

Истинската стойност на случайните величини се намира с определителна статистическа сигурност в точно определен интервал от стойности. Такава интервална оценка представлява доверителният интервал. В практиката най-често доверителният интервал се изчислява при условия на повторемост за получаването.

За всеки процес на измерване, включен в системата за управление, трябва да се определи и неопределеността на измерването. След като анализираме неопределеността на дадено измерване трябва да потвърдим метрологично техническите средства за измерване и да валидираме процеса на измерване.

Неопределеност

Според стандарт БДС EN ISO 17025 трябва да се изписва и неопределеността като мярка за метрологичното качество на измерванията. Неопределеността се приема за параметър, релевантен с измерванията. Този параметър характеризира дисперсията на стойностите на дадена измерена величина.

Като най-чести източници на неопределеност могат да се посочат:

- Пробовземане
- Условия на съхранение на пробите
- Използвана апаратура
- Чистота на реагентите
- Стехиометрия на реакцията
- Условията на измерванията
- Матрични ефекти
- Избор на калибрационен модел
- Корекция по празна проба
- Операторски умения
- Случайни фактори

За определяне на общата неопределеност се взема предвид стандартната неопределеност, комбинираната неопределеност и разширената неопределеност. Стандартната неопределеност се разделя на тип А и тип В. Тип А се оценява от изпитвателя чрез

статистически анализ на серии от наблюдение.

Оценка за неопределеността може да се основава върху вече съществуващи данни за характеризирание на метода (валидиране, сертифицирани сравнителни материали, наръчници и др.).

Оценяването на неопределеностите се основава на:

- Функцията на плътността на разпределението на вероятностите – всяка величина, влияе на измервателна величина, е не винаги известна;

- Най-добрата оценка на величината е стойността на математическото очакване на функцията на разпределението на вероятностите;

- Средноквадратичното (стандартното) отклонение се приема като средноквадратична (стандартна) неопределеност;

- В основата на функцията на разпределението на вероятностите се явява величината, изведена от:

- Повторни измервания – метод за оценяване, тип А

- Научно обосновани възможни изменения на величината – метод на оценяване, тип В

Оценка на неопределеността на измерванията се извършва от технически компетентни сътрудници въз основа на:

- Прилагане на еталони – измервателен уред, мярка, измервателна система, типове ССМ/СМ, контролни образци или добре охарактеризирани проби

- Участия в междулабораторни сравнения и изпитвания за пригодност

- Индивидуално или комплексно отчитане на влиянието на всяка от грешките в сумарната (комплексната) неопределеност на измерването, анализ и оценка на разширената неопределеност

- Изследване и доказване на вида на разпределението на величините (нормално, симетрично, асиметрично или др.).

Процедурата за оценяване на неопределеността се описва в четири части, а именно:

- Извеждането на модела на измерването – използват се причинно-следствените връзки между входните величини и измерваната величина;

- Охарактеризиране на входните величини на функцията на разпределението на вероятностите, даващи информация за тези величини – определя се най-добрата оценка на всяка величина и средноквадратичната неопределеност на тази оценка;

- Разпространение на неопределеността – законът за разпространение на неопределеността се прилага за линейни функции и модели;

- Краен резултат – комплексен образ на оценка на измерваната величина, комбинирана средноквадратична неопределеност и разширената неопределеност.

Зависимостта между комбинираната и стандартните неопределеност се определя по следния начин:

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n c_i^2 \cdot u(x_i)^2 + \sum_{i,k=1}^n c_i \cdot c_k u(x_i) \cdot u(x_k) \cdot r_{ik}}$$

където:

$u(x_i)$, $u(x_k)$ – стандартни неопределености;

c_i – коефициент на чувствителност, който отразява каква е промяната в стойността на величината.

При условие, че всички параметри x_i са независими помежду си, се получава следното уравнение:

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n c_i^2 \cdot u(x_i)^2}$$

Разширената неопределеност се изчислява по следното уравнение:

$$U(y) = k \cdot u_c(y)$$

Неопределеността на измерването се дава, за да осигури метрологичната верига на всеки етап от измерването. Крайният резултат се изразява в разширената неопределеност.

Средноквадратично отклонение на данни, получени от периодично измерване на стабилен, но типов обект за изпитване, дава комбинирана оценка на изменчивостта, която произтича от много потенциални източници на отклонения.

Извод: Средноквадратичното отклонение е основа за оценяване на неопределеността, която е представителна за цялостната

изменчивост, която иначе би изисквала оценяване на отделните въздействия (ЕА 4/16 G, 2003).

Когато данните от контрола на качеството, които са получени от изменения, водещи до отхвърляне на резултатите от измервания и изпитвания или до коригиращи действия, тези данни от контрола на качеството се отстраняват от данните, по които се изчислява средноквадратичното отклонение.

Разширената неопределеност на метода за измерване се определя чрез сумарната неопределеност от:

- Неопределеността на измерваната средноаритметична стойност от паралелни измервания в условия на повторяемост. Определя се чрез нейния положителен квадратен корен и се нарича експериментално средноквадратично отклонение на средноаритметичната стойност (средноквадратична неопределеност);

- Неопределеността на сертифицираната стойност на типа ССМ, с който се измерва, изразена чрез средноквадратичната неопределеност от сертифицирането на типа ССМ. Неопределеността на типа ССМ, с който се калибрира в концентрационна точка, се взема директно от неговия сертификат. В случаите, когато в сертификата е посочена относителната неопределеност в % на сертифицираната стойност (δ_{CCM}), взема се под внимание посочения в сертификата вид разпределение. Средноквадратичната неопределеност се характеризира с:

- Нормално разпределение
- Правоъгълно разпределение

- Неопределеността от действия върху типа ССМ или контролната проба. Приносът от неопределеността от разреждането на изходния разтвор при измерване с течни ССМ и използването на мерителни колби или пипети, се изразява относителната комбинирана стандартна неопределеност на работния разтвор;

- Неопределеността на типа средство за измерване, дадена по сертификата за калибриране;

- Неопределеността от измерване на изходната маса на твърдия тип ССМ. При изчисляване на приноса от неопределеността от измерване с твърди ССМ се получава пренебрежително ниска стойност, но при

изчисляването трябва да се премине в относителни единици;

- Неопределеността от влиянието на скалното деление. Приносът на неопределеността от разпределителната способност на уреда се оценява по формулата:

$$U_x = \frac{a}{2\sqrt{3}}$$

където a е разделителната способност на уреда.

- Неопределеността от влиянието на факторите на околната среда (при неотчитане на барометрично налягане, температура (20 ± 5)°C и влажност на въздуха от 20 до 60 %);

- Неопределеността от влияние на други фактори.

Бюджет на неопределеността

Входна величина x_i	Оценка на x_i (измервателна единица)	Средноквадратична неопределеност	Коефициент на чувствителност c_i	Принос към средноквадратичната неопределеност
x_1	x_1		c_1	
...	...	...	...	...
x_n	x_n		c_n	
Комбинирана неопределеност				U_c
Разширена неопределеност				U

Коефициентите на чувствителност се определят чрез оценяване на измерваната величина и въздействието на останалите входни величини при условията на функционалност, като се приравняват на единица при преки и независими измервания, т. е. $c = 1$.

Статистическа обработка на данните и представяне на резултатите

Обработването, анализът и оценяването на получените резултати от изпитвателната лаборатория се извършва посредством прилагане на двуфакторния дисперсионен анализ като математико-статистически модел.

Приетата процедура включва:

1. Обработване на първичните резултати от проведените измервания съгласно заложения математически апарат.

2. Оценяване на средноаритметичния резултат по показател на всяка лаборатория спрямо средния резултат за обекта на изпитване.

3. Анализ на наличието на груби грешки по критерия на Смирнов-Грубс с изхвърляне на установената груба грешка. Този анализ доказва достатъчна достоверност на измерванията в лабораторията.

4. Изчисляване на приписаната стойност на всеки показател на обекта за изпитване. Това се постига чрез математико-статистически анализ за оценяване на независимите резултати и определяне на съотношенията чрез 3σ-критерий за охарактеризиране на достигнатата точност на измерванията.

5. Графично представяне на данните и оценяване на съотношенията, съгласно приложения критерий.

6. Анализирание на съвкупността от данни за определяне на z_i – стойностите по z – критерий.

Всеки процес на измерване, за който е известно или се предполага, че може да даде неточни резултати от измервания, трябва да се идентифицира по подходящ начин и не трябва да се използва до предприемането на подходящи действия (БДС EN ISO 10012:2006; БДС EN ISO/IEC 17025, 2006; Йорданов Д. 2015; ЕА 4/02 М, 2013; Курс №7/2014 ; isobudgets.com).

За да се осигури пълно удовлетворяване на клиентите от услугите на лабораторията, акредитираните лаборатории за изпитване трябва да разработят подходящи правила за сътрудничество с клиенти. Клиентите имат право да очакват, че протоколите от изпитванията са действително коректни, полезни и разбираеми. В зависимост от случая клиентите са също така заинтересовани от характеристиките на качеството и най-вече от:

- Надежността на резултатите и количествено обявяване на тази надежност, т.е. неопределеността;

- Доверителната вероятност на обявеното съответствие за продукта, което може да бъде направено от резултата от изпитване и свързаната с него разширена неопределеност (ЕА 4/16 G, 2003).

Целта на настоящата статия е разработването на процедура за съставяне на бюджет на неопределеност по метода „Тор-даун” в микробиологичните изпитвателни лаборатории, чрез която да се осигурят сигурни и надеждни резултати по отделните

показатели в качествения контрол на съответните продукти.

Експеримент

Настоящата процедура регламентира реда за оценка и съставяне на бюджета на неопределеността от изпитванията и изискванията, които се спазват при представяне на резултатите от изпитванията с оценена неопределеност на измерването.

Измерванията, извършвани за определяне на параметрите на изпитвания продукт се извършват при условията, посочени в съответните верифицирани стандартизирани методи за изпитване или валидирани вътрешнолабораторни методи.

Отчитайки множеството неконтролируеми фактори в процеса на изпитване се приема, че резултатите от измерване са случайни величини с нормален закон на разпределение. Процедурата се състои от три модула.

Модул за оценяване на средноквадратичната неопределеност тип „А“ на основата на празна проба и два сертифицирани сравнителни материала в долната и горната граница на обхвата на метода за изпитване

При този метод неопределеността се оценява чрез статистически анализ на серии от наблюдения на празната проба и двата сертифицирани сравнителни материала и се изразява с експерименталното средноквадратично отклонение на средноаритметичната стойност за всяка серия.

При n независими отделни измервания ($n > 1$) и при еднакви условия на измерване оценената стойност x_i на величината X_i се изразява чрез средноаритметичната стойност на отделно измерените стойности. Тази средноаритметична стойност представлява оценката $\bar{x}_i$ на измерваната величина:

$$\bar{x}_i = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n X_{ij} \quad [1]$$

Оценката на средноквадратичното отклонение на разпределението на стойностите X_{ij} , се определя по формулата:

$$S(X_i) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (X_{ij} - \bar{X}_i)^2}{n-1}} \quad [2]$$

Тази оценка характеризира дисперсията на резултатите на серия от n измервания на една и съща измервана величина.

Оценката на средноквадратичното отклонение на средноаритметичната стойност се определя по формулата:

$$S(x_i) = S(\bar{X}_i) = \frac{S(X_i)}{\sqrt{n}} \quad [3]$$

Тази оценка представлява експерименталното средноквадратично отклонение на средноаритметичната стойност.

Средноквадратичната неопределеност на средната стойност на измерваната величина $u(x_i)$ при извършване на n независими определения, за които е характерно нормално разпределение, се изчислява по уравнението:

$$u(x_i) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}{n(n-1)}} \quad [4]$$

където:

$\bar{x}_i$ е средноаритметичната стойност на измерваната величина x_i ;

x_{ij} е резултатът от j -тото измерване на измерваната величина x_i ;

n е броят на измерванията.

В края на този модул се извършва линеен регресионен анализ между квадратите на концентрациите (стойностите на показателя за празната проба и двата сертифицирани сравнителни материала) и квадратите на получените неопределености по уравнение 4. Регресионният модел има следния вид:

$$u_{(x)}^2 = m \cdot x^2 + c \quad [5]$$

Модул за оценяване на неопределеността от пробовземане

При този метод се анализира серия от двойки проби от единия сертифициран сравнителен материал, като се определя съотношението между разликата в

стойностите на измервания показател на всяка двойка към средната стойност на показателя за дадената двойка, а именно:

$$d_R = \frac{d}{M} \quad [6]$$

Изчислява се средноквадратичното отклонение на всички получени съотношения по следното уравнение:

$$S_{dup} = \sqrt{\frac{\sum d_R^2}{2N}} \quad [7]$$

Неопределеността от пробовземане тогава ще получим като:

$$U_{DR} = \frac{S_{dup}}{\sqrt{N}} \quad [8]$$

Получената по уравнение 8 неопределеност е съотношение, в резултат на което при включването ѝ в бюджета на неопределеността на етапа на комбиниране е необходимо да се умножи по получената стойност на изследвания показател (x).

Модул за оценяване на неопределеността от систематичните отклонения

Оценяването на неопределеността от систематичните отклонения (bias) се извършва на основа данните от използваните два сертифицирани сравнителни материала в обхвата на метода за измерване.

Неопределеността от систематичните отклонения $u(bias-low)$ се получава по следното уравнение:

$$u_{bias-low} = \sqrt{bias^2 + \frac{S_{bias}^2}{N} + u_{CRM-low}^2} \quad [9]$$

Неопределеността от систематичните отклонения $u(bias-high)$ се получава по следното уравнение:

$$u_{bias-high} = \sqrt{bias^2 + \frac{S_{bias}^2}{N} + u_{CRM-high}^2} \quad [10]$$

Комбинираната неопределеност на основата на трите модула се представя по следния начин:

$$u_c(x) = \sqrt{m \cdot x^2 + c + \frac{S_{dup}^2}{N} \cdot x^2 + u_{bias-low}^2 + \left(\frac{u_{bias-high}}{x_{high}} \right)^2 \cdot x^2} \quad [11]$$

Разширената неопределеност при 95 %-на доверителна вероятност ще бъде:

$$U = 2 \cdot u_c(x) \quad [12]$$

В краен вид при изчисляването на разширената неопределеност на резултата за дадения показател е необходимо само едно измерване за x, тъй като останалите членове в уравнение 11 са постоянни!!!

Резултати и обсъждане

Предложената процедура за съставяне на бюджет на неопределеност в микробиологични изпитвателни лаборатории е приложена при верификацията на стандартизиращия метод БДС EN ISO 6579-1 “Микробиология на хранителната верига. Хоризонтален метод за откриване, изброяване и серологично типизиране на *Salmonella*. Част 1: Откриване на *Salmonella* spp.” (БДС EN ISO 6579-1).

Резултатите при използването на трите модула са следните:

1. Модул за оценяване на средноквадратичната неопределеност тип „А” на основата на празна проба и два сертифицирани сравнителни материала в долната и горната граница на обхвата на метода за изпитване

Таблица 1. Данни от наблюденията върху празната проба и изчислената средноквадратична неопределеност тип „А”

Средноквадратична неопределеност $\mu(x_i)$			
№	Salmonella spp., CFU	Средноквадратично откл-е, S	Средноквадратична неопр-ост, $\mu(x_i)$
1.	3	1,49	0,27
2.	0		
3.	2		
4.	1		
5.	1		
6.	3		
7.	3		
8.	2		
9.	5		
10.	5		
11.	3		
12.	2		
13.	3		
14.	5		
15.	4		
16.	1		
17.	2		
18.	3		
19.	2		
20.	0		
21.	1		
22.	1		
23.	2		
24.	1		
25.	5		
26.	1		
27.	4		
28.	1		
29.	1		
30.	2		
Mean value: 2,3			

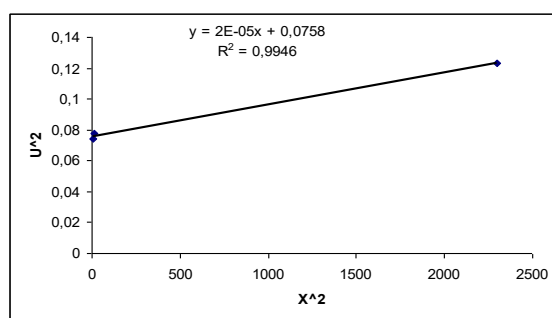
Таблица 2. Данни от наблюденията върху сертифицирания сравнителен материал Salmonella (4±1) CFU в долния обхват на метода за измерване

№	Salmonella spp., CFU	Средноквадратично откл-е, S	Средноквадратична неопр-ост, u(x _i)
1.	5	1,53	0,28
2.	2		
3.	4		
4.	4		
5.	2		
6.	6		
7.	2		
8.	3		
9.	4		
10.	4		
11.	1		
12.	4		
13.	4		
14.	4		
15.	1		
16.	1		
17.	4		
18.	4		
19.	2		
20.	2		
21.	2		
22.	4		
23.	1		
24.	4		
25.	4		
26.	2		
27.	4		
28.	7		
29.	5		
30.	2		
Mean value: 3,27			

Таблица 3. Данни от наблюденията върху сертифицирания сравнителен материал Salmonella (50±2) CFU в горния обхват на метода за измерване и изчислената средноквадратична неопределеност тип „А”

№	Salmonella spp., CFU	Средноквадратично откл-е, S	Средноквадратична неопр-ост, u(x _i)
1.	48	1,92	0,35
2.	46		
3.	45		
4.	49		
5.	50		
6.	50		
7.	49		
8.	49		
9.	44		
10.	45		
11.	47		
12.	46		
13.	46		
14.	51		
15.	50		
16.	49		
17.	48		
18.	48		
19.	47		
20.	49		
21.	50		
22.	51		
23.	50		
24.	49		
25.	48		
26.	47		
27.	45		
28.	46		
29.	49		
30.	48		
Mean value: 47,9			

В резултат от получените данни в табл. 1-3 е извършен регресионен анализ, който е представен на фиг. 1:



Фиг.1 Регресионен анализ

Полученото уравнение изразява зависимостта на неопределеността тип „А” от съдържанието на **Salmonella spp.** в измервания обхват (4-50) CFU.

2. Модул за оценяване на неопределеността от пробовземане

Оценката на неопределеността от пробовземане по този модул се извършва въз основа на резултатите от серии двойки проби на сертифицирания сравнителен материал в долния обхват на метода за измерване. Резултатите са представени в табл. 4:

Таблица 4. Оценка на неопределеността от пробовземане при използване на сертифициран сравнителен материал *Salmonella* spp. (4±1)CFU

№	Проба „А”, резулт ат	Проба „В”, резулт ат	d	M	d _R	S _{dup}
1.	5	6	1	5,5	0,181818	0,28
2.	3	5	2	4	0,5	
3.	4	6	2	5	0,4	
4.	3	5	2	4	0,5	
5.	4	5	1	4,5	0,222222	
6.	3	4	1	3,5	0,285714	
7.	4	4	0	4	0	
8.	4	5	1	4,5	0,222222	
9.	3	5	2	4	0,5	
10.	2	4	2	3	0,666667	
11.	2	4	2	3	0,666667	
12.	4	5	1	4,5	0,222222	
13.	3	4	1	3,5	0,285714	
14.	4	6	2	5	0,4	
15.	4	5	1	4,5	0,222222	
16.	4	5	1	4,5	0,222222	
17.	2	4	2	3	0,666667	
18.	2	4	2	3	0,666667	
19.	4	5	1	4,5	0,222222	
20.	3	5	2	4	0,5	
21.	2	4	2	3	0,666667	
22.	2	3	1	2,5	0,4	
23.	2	3	1	2,5	0,4	
24.	4	4	0	4	0	
25.	3	5	2	4	0,5	
26.	4	4	0	4	0	
27.	3	4	1	3,5	0,285714	
28.	4	5	1	4,5	0,222222	
29.	4	5	1	4,5	0,222222	
30.	4	4	0	4	0	
$U_{DR} = \frac{S_{dup}}{\sqrt{N}} = 0,052$						

3. Модул за оценяване на неопределеността от систематичните отклонения

Оценяването на неопределеността от систематичните отклонения (bias) се извършва отново с помощта на двете сертифицирани сравнителни вещества в обхвата (4-50) CFU. Резултатите от измерванията са представени в табл. 5-6:

Таблица 5. Оценка на неопределеността от систематичните отклонения при използване на сертифициран сравнителен материал *Salmonella* spp. (4±1) CFU

№	Резу- лтат	CRM- low	Bias	S _{bias}	u(CR M- low)	u(bias -low)
1.	5	4	1	1,53	0,5	0,93
2.	2	4	-2			
3.	4	4	0			
4.	4	4	0			
5.	2	4	-2			
6.	6	4	2			
7.	2	4	-2			
8.	3	4	-1			
9.	4	4	0			
10.	4	4	0			
11.	1	4	-3			
12.	4	4	0			
13.	4	4	0			
14.	4	4	0			
15.	1	4	-3			
16.	1	4	-3			
17.	4	4	0			
18.	4	4	0			
19.	2	4	-2			
20.	2	4	-2			
21.	2	4	-2			
22.	4	4	0			
23.	1	4	-3			
24.	4	4	0			
25.	4	4	0			
26.	2	4	-2			
27.	4	4	0			
28.	7	4	3			
29.	5	4	1			
30.	2	4	-2			
Bias(average):			-0,73			

Комбинираната неопределеност на основата на трите модула съгласно уравнение 11 се изчислява, като:

$$u_c(x) = \sqrt{2 \cdot 10^{-5} \cdot x^2 + 0,0758 + 0,052^2 \cdot x^2 + 0,93^2 + \left(\frac{2,29}{47,9}\right)^2 \cdot x^2}$$

Разширената неопределеност съгласно уравнение 12 е:

$$U = 2 \cdot u_c(x).$$

Таблица 6. Оценка на неопределеността от систематичните отклонения при използване на сертифициран

сравнителен материал *Salmonella* spp.
(50±2) CFU

№	Резултат	CRM-high	Bias	S _{bias}	u(CRM-high)	u(bias-high)
1.	48	50	-2	1,92	1,00	2,29
2.	46	50	-4			
3.	45	50	-5			
4.	49	50	-1			
5.	50	50	0			
6.	50	50	0			
7.	49	50	-1			
8.	49	50	-1			
9.	44	50	-6			
10.	45	50	-5			
11.	47	50	-3			
12.	46	50	-4			
13.	46	50	-4			
14.	51	50	1			
15.	50	50	0			
16.	49	50	-1			
17.	48	50	-2			
18.	48	50	-2			
19.	47	50	-3			
20.	49	50	-1			
21.	50	50	0			
22.	51	50	1			
23.	50	50	0			
24.	49	50	-1			
25.	48	50	-2			
26.	47	50	-3			
27.	45	50	-5			
28.	46	50	-4			
29.	49	50	-1			
30.	48	50	-2			
Bias(average):			-2,03			

Заклучение

В разработената и приложена процедура за оценка е съставен бюджет на неопределеността от изпитванията с модули за оценка на неопределеността от тип „А“, пробовземане и систематични отклонения.

В резултат от прилагането на процедурата при изчисляването на разширената неопределеност на резултата за дадения показател е необходимо само едно измерване за x , тъй като останалите членове в

уравнението за комбинираната неопределеност са постоянни.

Представената процедура може да се приложи като основна процедура по качеството в системите за управление на качеството, както в микробиологичните лаборатории за изпитване, така и в останалите изпитвателни лаборатории.

Литература

1. БДС EN ISO 10012. Системи за управление на системите. Изисквания за процесите на измерване и техническите средства за измерване, 2006.
2. БДС EN ISO/IEC 17025. Общи изисквания относно компетентността на лаборатории за изпитване и калибриране, 2018.
3. БДС EN ISO 6579-1 “Микробиология на хранителната верига. Хоризонтален метод за откриване, изброяване и серологично типизиране на *Salmonella*. Част 1: Откриване на *Salmonella* spp.”, 2017.
4. Добромир Йорданов. Нови тенденции в управление на качеството в лаборатории за изпитване на нефт, горива и масла. *Industrial technologies*, V. II(1), 2015, p. 33-38.
5. ЕА 4/16 G. Указание на ЕА за изразяване на неопределеността при количествени изпитвания, 2003.
6. ЕА 4/02 M. Evaluation of the Uncertainty of Measurement in Calibration, 2013.
7. Курс №7/2014 за обучение на специалисти. Лабораторен мениджмънт и маркетинг. Проследимост на измерванията, бюджети на неопределеността, стратегия на измерванията.
8. isobudgets.com.



ОБСЛЕДВАНЕ РАБОТАТА НА АСФАЛТОСМЕСИТЕЛ (МОДЕЛ ДС1172К) КАТО ИТОЧНИК НА ЕМИСИИ В АТМОСФЕРНИЯ ВЪЗДУХ

Иван Чобанов, Айджан Ходжа

INVESTIGATION OF ASPHALT PLANT (MODEL DS1172K) AS SOURCE OF AIR EMISSIONS

Ivan Chobanov, Aydzhan Hodzha

ABSTRACT: Asphalt plant, model DS1172, as source of air emissions was investigated. The change of fuel consumption as a function of two parameters (drying drum productivity and material humidity) has been studied. Obtained results show that for humidity 2 % the fuel consumption is 200 kg/h, but for humidity 12% the consumption increases to 500 kg/h. If the oil consumption is maintained at 300 kg/h, a maximum output of 42 t/h can be achieved at 2% humidity of the material. At 5% humidity (normal for the spring and autumn season), the productivity decreases to 32 t/h. At 10% humidity – the productivity is about 22 t/h.

Key words: emissions in air, asphalt plant,

Въведение

Инсталациите за производство на горещ асфалт за пътни покрития, независимо, че произвеждат различни типове асфалт, са много близки по принцип на действие и апаратурно оформление. Разликата в крайния продукт се определя от размера типа на използвания пълнител. Горещият асфалт за пътни покрития се класифицира основно по количеството на грубия и фино дисперсия пълнител и минерално брашно. Използуваният битум (асфалт) най-често се получава като продукт от първичната дестилация на нефта. Порядко за производството на горещ асфалт се използва природен битум. За някои видове покрития се използва асфалт, съдържащ шлама с размер на частиците до 6,4 mm и пясък.

Освен от характеристиките на използваните пълнители и битум, качеството на горещите асфалтови смеси силно зависи и от строгото спазване на определения технологичен режим.

Цел на настоящата работа е да изследва работата на асфалтосмесител, модел ДС1172К, като източник на емисии в атмосферния въздух.

Описание на типични схеми за газоочист- ване на асфалтосмесители

Производството на качествени асфалтови смеси изисква предварително изсушаване на инертния материал. Изходният материал представлява трошена каменна фракция, чието влагосъдържание варира в широки граници - от 1% до 10-12%. За нормално се приема, че съхраняваният на открито чакъл съдържа около 5% влага.

Изсушаването става за сметка на топлината на димни газове, получени в резултат на изгаряне на мазут, нафта или газообразно гориво. За да се гарантира пълно изсушаване, температурата на сухия материал на изход от сушилния трябва да бъде в границите 150-180°C.

Сушилната камера представлява въртящ се, слабо наклонен барабан с гребла, осигуряващи добро разбъркване на материала. Процесът е непрекъснат.

Необходимата за сушенето топлина се получава чрез непосредствено изгаряне на гориво в сушилния барабан. В резултат на високата турбулентност, високата температура и наличието на фини фракции, процесът на сушене протича с отделяне на големи количества прах. Той се увеличава от димните газове и заедно с продуктите на горенето се насочва към пречиствателните съоръжения. Емитира-

нето на големи количества вредни вещества изисква сушилният агрегат да се комплектова с дву- или тристепенни пречиствателни съоръжения. Най-често използваната в практиката схема използва двустепенно сухо пречистване и едностепенно мокро пречистване.

Най-често като **първа степен на пречистване** на сушилните газове се използват утаителни камери. Те са ефективни за частици с размери от 75 до 500 μm . За частици над 200 μm тяхната ефективност обикновено надвишава 90%. Частици, с размери под 50 μm практически не се улавят от утаителните камери. Основното предимство на утаителните камери е, че имат много малко хидравлично съпротивление, което е особено важно при транспорт на газовете чрез вентилатор.

Като **втора степен на пречистване**, почти всички асфалтосмесители използват циклонни. За да се увеличи тяхната ефективност при относително малко хидравлично съпротивление, те се свързват по няколко броя паралелно. КПД на циклоните зависи основно от размерите на частиците и концентрацията им на вход. При размер на частиците 30-40 μm , средната ефективност на циклоните е 98%, при частици с размер 10 μm тя пада до 80%, а при частици със среден размер 4-5 μm ефективността е под 60%. Освен това, ефективността на циклоните силно зависи от скоростта на газа на вход. Обикновено тя е около 15 m/s и при намаляне, ефективността бързо пада. От това следва, че циклони следва да се използват в инсталации с постоянен дебит на газовия поток. В противен случай циклоните работят с променлива ефективност, която трудно може да бъде предсказана.

Основна слабост на циклоните е високата степен на абразивно износване.

Двустепенното сухо пречистване на димните газове от сушилният барабан обикновено не е достатъчно за достигане на нормите за допустими емисии от промишлени източници. По тази причина, най-често прилаганата трета степен се основава на метода “мокро пречистване”. За целта се използват най-разнообразни апарати, но най-добро решение се достига чрез мокрите скрубери тип “тръба на Вентури”. В резултат на високата степен на турбулизация на водно-газовия поток се постига отлично умокряне на частиците и пълното им преминаване в течната фаза. Като резултат се постига пречистващ ефект по твърди частици над 99%. Чрез монтиране на специално съоръжение, “тръбата на Вентури”

може да работи с висока ефективност и при променливи дебети на газовия поток.

Като апарати за мокро пречистване много често се използват и различни конструкции “мокри скрубери”. По принцип те предизвикват частичен или пълен барботаж на газа през воден слой, при което се постига частично умокряне на частиците и преминаването им във водния слой. Ефективността на тези апарати силно зависи от конкретната конструкция и се движи в границите от 80% до 95%. Освен това, ефективността е свързана и с умокряемостта на частиците и степента на диспергиране на газовата фаза в течността.

Основен недостатък на “мокрите методи” е необходимостта да се концентрира и преработи получения шлам. Това най-често става в утаителни басейни. Избистрената вода обикновено се използва като оборотна вода за пречиствателното съоръжение. Освен това, “мокрите пречиствателни съоръжения” имат повишен разход на енергия в сравнение със “сухите”. Причина за това е високото им хидравлично съпротивление.

Като последна степен на пречистване в някои случаи се използват ръкавни филтри. Те са високоефективни, но изискват стриктна технологична дисциплина. Освен това експлоатационните им разходи са много високи.

Технологична схема на сушилният процес на обследваната асфалтосмесителна инсталация

Принципната технологична схема на обследваната асфалтосмесителна инсталация е показана на фиг. 1.

Като гориво за осъществяване на сушилният процес се използва най-често мазут със съдържание на сяра 3,5%, а по-рядко нефта. Горивото се разпръсква във “факел” чрез помпа за високо налягане, дюза и вентилатор за високо налягане, разположени в челната част на апарата. Разходът на гориво зависи от конкретния работен режим.

Влажният материал постъпва в сушилният барабан от противоположната страна. В резултат на въртенето на барабана и разположените по периферията му гребла материалът непрекъснато се разбърква и едновременно с това се придвижва в направление към горелката. При това движение частиците влизат в пряк досег с димните газове, загряват се и отделят влагата си.

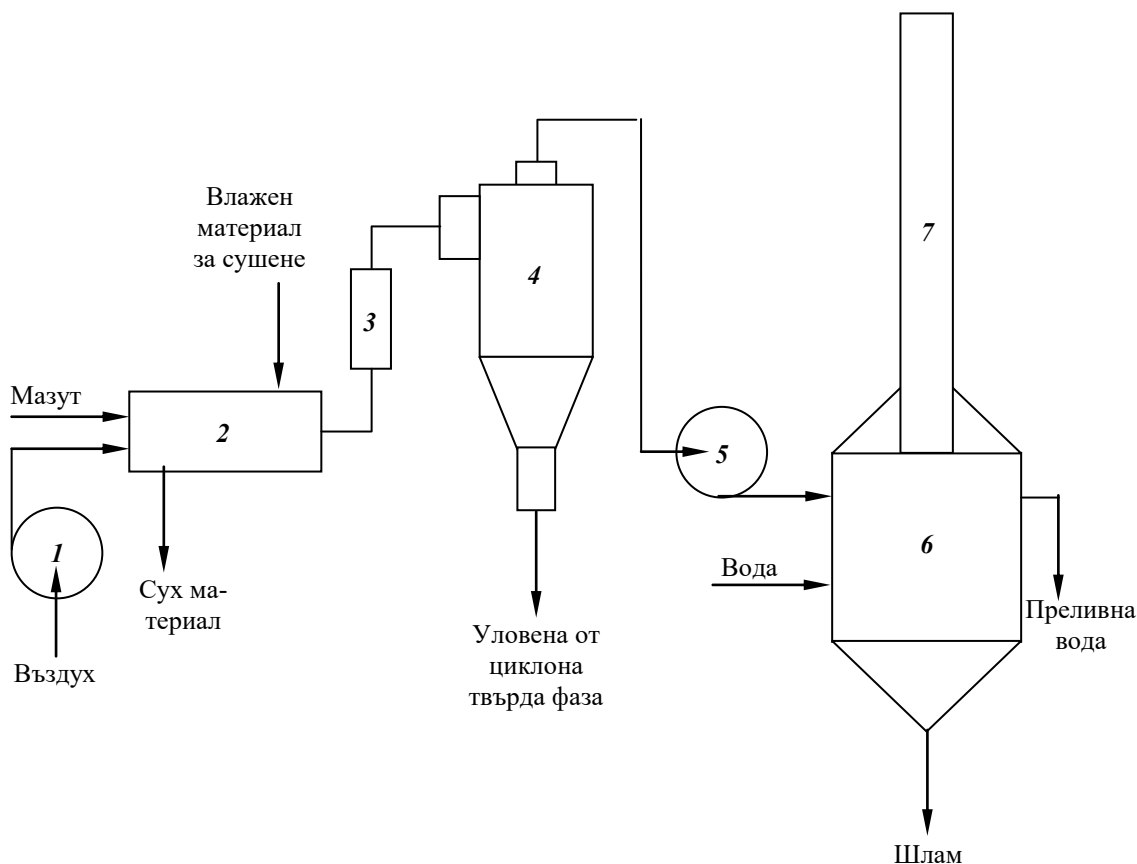
Контролен параметър за степента на сушене е температурата на материала на изход от сушилнята. Тази температура трябва да бъде не по-малка от 150°C.

В процеса на горене кислорода от въздуха се свързва с компонентите на горивото, в резултат на което се получава основно въглероден диоксид и серни оксиди. Нормалното съотношение на серния диксид към серния триоксид е 95:5. Високата степен на топлоотдаване не позволява в сушилнята да се достигнат много високи температури, което не стимулира образуването на азотни оксиди, но за сметка на това се увеличава съдържанието на въглероден оксид и сажиди. Съдържанието

на водни пари в изходящите газове е значително по-високо отколкото при нормални димни газове, тъй като цялата влага от изсушавания материал преминава в тях.

Високата скорост и температура на димните газове, съчетана с интензивно разбъркване на изсушавания материал предизвиква увеличаване на големи количества прах. При отсъствие на пречиствателна апаратура емисиите на прах достигат 20 kg/t материал.

Газообразните емисии са многократно по-малко и се движат в границите 0,045-0,065 kg/t. Най-вредни са серните оксиди, чието количество зависи от съдържанието на сяр в мазута.



Фиг. 1. Принципна технологична схема на сушилният процес на обследваната асфалтосмесителна инсталация

1 – Вентилатор за високо налягане (осигурява въздух за факела на горелката); 2 – Сушилнен барабан; 3 – Завихрител на газовия поток на изход от сушилният барабан; 4 – Батерия от четири паралелно свързани циклона; 5 – Вентилатор за високо налягане (осигурява тягата на сушилнята); 6 – Воден скруббер; 7 – Комин.

Димните газове напускат сушилният барабан през специален завихрител, чиято цел е да придаде въртливо движение на газовия поток чрез периферно заварени листови лопатки. Това въртливо движение е достатъчно, за да придаде на по-големите частици центробежно ускорение. Тези частици се притискат

към станетие на завихрителя и през специални отвори те се връщат към бункера за зареждане на сушилнята с влажен материал.

Прахоулавящата ефективност на завихрителя е ниска и той отделя практически само частици с размери над 200 μm . Той заменя

прахоутилителната камера в класическата схема за пречистване на асфалтосмесителите.

След завихрителя, газовият поток постъпва в батерия от четири паралелно свързани циклона с диаметър 1 m. Там се осъществява улавянето на основната маса твърди частици. Практически се улавят всички частици с размер над 50 μm и по-голямата част от частиците с размери между 20 и 50 μm . Ефективността му за частици с размер под 10-20 μm рязко пада.

Вредните газове и водните пари безпрепятствено преминават през двете степени на предварително пречистване.

Основната част от необходимата за транспорт на газовия поток енергия се внася чрез центробежен вентилатор за високо налягане, свързан към газоводите непосредствено след циклоните. Той има направляващи лопатки, които позволяват да се променя характеристиката му - увеличение на налягането за сметка на намаляване на дебита и обратно. Максималният напор на вентилатора е 280-300 mm H₂O, който се достига при минимален дебит. При нормално натоварване напорът му е 260 mm H₂O.

Пречистването на димните газове от фино дисперсия прах е предвидено да става в барботажен скрубера, свързан на изход от вентилатора. В горната част на скрубера е монти-

ран сепаратор, който преминава направо в комин.

Основната задача на скрубера е да принуди газовия поток да барботира през слой вода, при което частиците се омокрят и преминават в течната фаза.

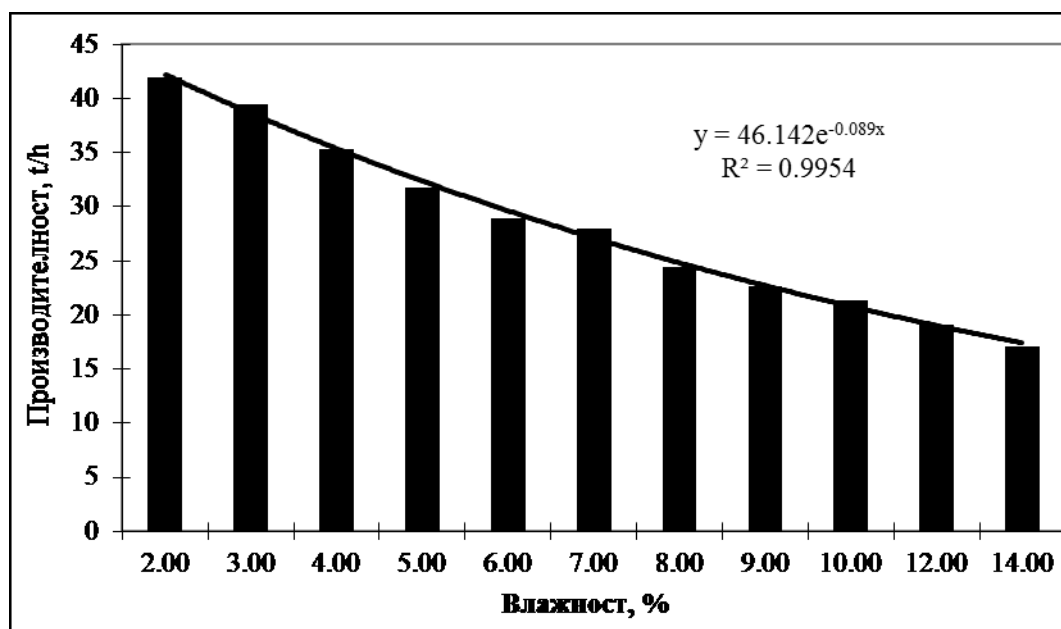
Очистеният от прах газ се завихря от периферни стационарни лопатки с цел утаяване на увлечените капки по цилиндричните стени на сепаратора. Уловената течност се стича по стените на сепаратора и постъпва в метален джоб, откъдето по гъвкав тръбопровод се връща в скрубера.

Очистеният газ постъпва в комина и се изпуска към атмосферата.

По време на барботажа, част от емитираните серни оксиди се поглъщат от водата. Относителният дял на разтворените оксиди е малък, тъй като работната температура на водата е около 80°C, а при тази температура разтворимостта на водата е много малка. Останалата част от вредните газове постъпва в атмосферата.

При нормална работа на скрубера, във водната фаза остава и по-голямата част от сажите.

Особености на съвместното протичане на горивен и сушилнен процес



Фиг. 2. Производителност на сушилния барабан в t/h при различна влажност на материала и постоянен разход на мазут 300 kg/h

Получени резултати и анализ

Особеностите на съвместното протичане на горивен и сушилен процес произтичат от факта, че горивната камера се съчетава със сушилна камера. Димните газове влизат в пряк контакт със изсушавания материал, а продуктите на сушенето остават изцяло в продуктите на горенето. При това положение, разходът на гориво зависи едновременно от два параметъра - производителност на сушилния барабан и влажност на материала. От това следва, че възможните режими на горене могат да се определят по два различни начина:

- **поддържане на постоянен разход на гориво при променлива производителност на барабана в зависимост от влажността** - производителността на сушилния барабан при различна влажност на материала и постоянен разход на мазут 300 kg/h е представена на фиг. 2. На същата фигура е показано и полученото от нас уравнение за изчисляване на производителността при тези условия;
- **поддържане на постоянна производителност на барабана при променлив разход на гориво в зависимост от влажността на материала** - разходът на мазут при постоянна производителност от 30 t/h в зависимост от влажността на материала е показан на фиг. 4. На същата фигура е представено и уравнението, по което може

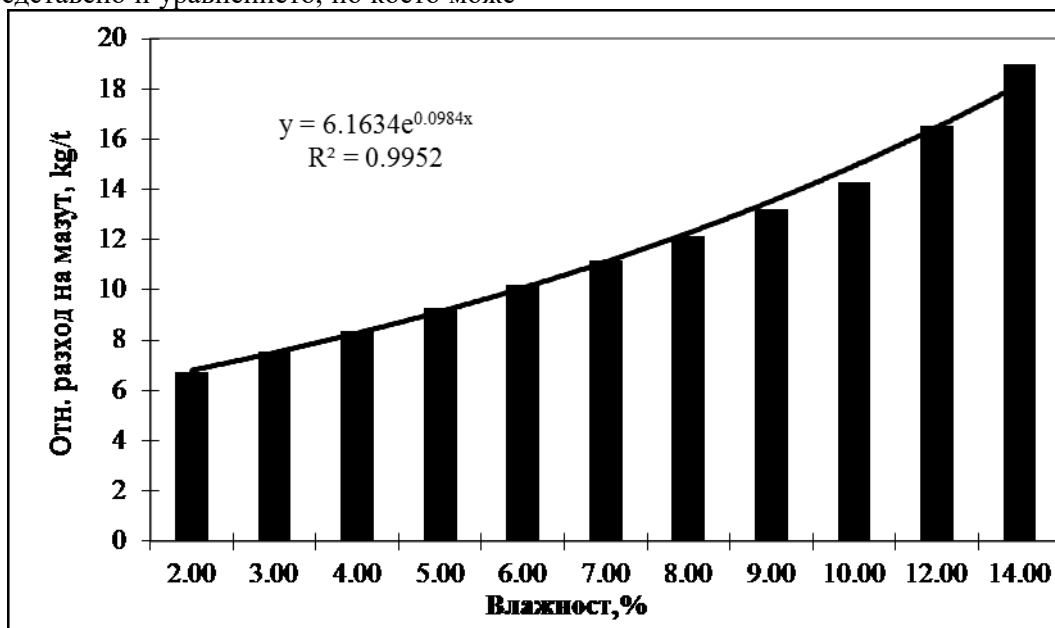
да се изчисли разходът на мазут при тези условия.

- И в двата случая е необходимо да се измерва дебита на постъпващото в горелката гориво, производителността на сушилния материал и влажността му. Липсата на такива измервателни прибори прави процеса на горене и сушене много труден за регулиране.

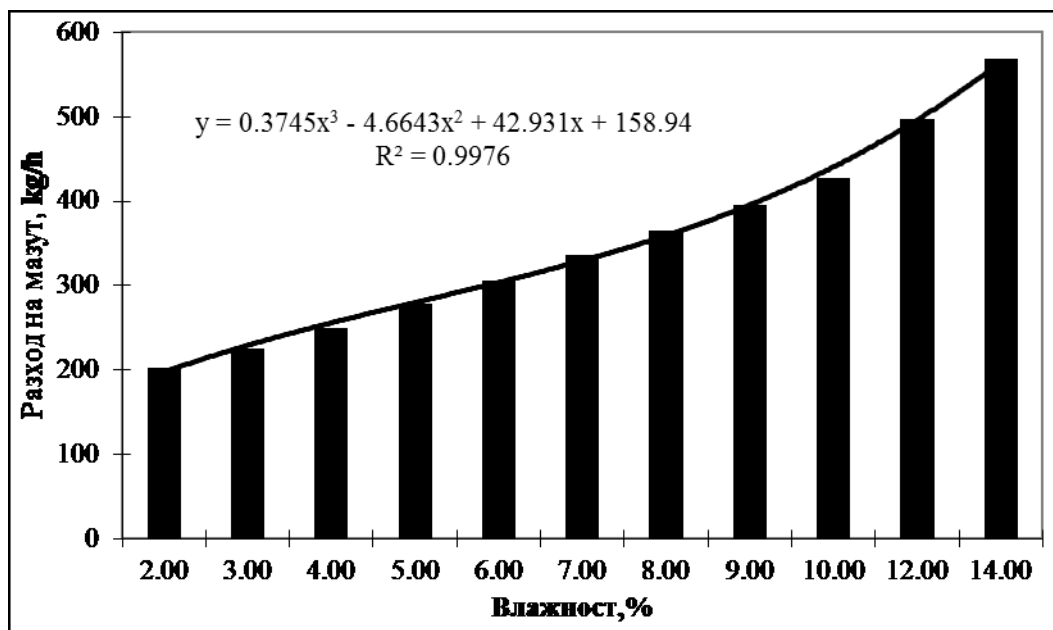
За целите на анализа и оценката за работата на асфалтосмесителната инсталация е най-добре да се използва относителния разход на гориво в зависимост от влажността на постъпващия за сушене материал. Тази зависимост, заедно с уравнението за изчисляване е представена на фиг. 3.

От фиг. 2. се вижда, че ако разходът на мазут се поддържа 300 kg/h, максимална производителност от 42 t/h може да се постигне при 2% влажност на материала. При 5% влажност (нормална за пролетния и есенния сезон), производителността пада на 32 t/h, а при влажност 10% - производителността е около 22 t/h.

Изменението на разхода на мазут при нормална производителност от 30 t/h също зависи силно от влажността на материала. Така например, при влажност 2% той е едва 200 kg/h, но при влажност 12% разходът нараства до 500 kg/h.



Фиг. 3. Относителен разход на мазут в kg/t при различна влажност на материала



Фиг. 4. Разход на мазут в kg/h при постоянна производителност 30 t/h в зависимост от влажността на материала

Горните примери показват, че поддържането на нормален технологичен процес изисква непрекъснато измерване на влажността на материала и регулиране разхода на мазут в зависимост от нея.

Прибори за измерване на разхода на мазут на инсталацията няма монтирани.

Фиг. 3 позволява нормиране на разхода на мазут за тон преработена суровина (без разхода на мазут за подгриване на битума) в зависимост от влажността. От нея се вижда, че при минимална влажност от 2%, относителният разход е едва 7 kg/t, но при влажност 12% относителният разход нараства до 18 kg/t.

Литература

1. Rogge, W.F. et.al., 1991, *Sources of Fine Organic Aerosol. I - Charbroilers and Meat Cooking Operations*. Environmental Science and Technology, Volume 25, Number 6, 1112-1125.
2. U.S. Environmental Protection Agency, 2004, *Compilation of Air Pollutant Emissions Factors AP-42. Section 11.1 - Hot Mix Asphalt Plants. (DRAFT)*

3. U.S. Environmental Protection Agency, 2004, *Compilation of Air Pollutant Emissions Factors AP-42. Section 1.9 - Residential Fireplaces*

4. U.S. Environmental Protection Agency. *Compilation of Air Pollutant Emissions Factors AP-42. Section 1.10 - Residential Woodstoves*.

5. U.S. Environmental Protection Agency. *Compilation of Air Pollutant Emissions Factors AP-42. Section 9.9.6 - Bakeries*.

6. Radian Corporation, 1990, *Estimation of Emissions from Charcoal Lighter Fluid and Review of Alternatives*. Prepared for U.S. Environmental Protection Agency. PB90-186313.

7. U.S. Environmental Protection Agency, 1991, *Non-road Engine and Vehicle Emission Study Report*, Office of Mobile Sources. EPA-21A-2001.

Ivan Stoykov Chobanov
 Aydzhan Orhan Hodzha
 Burgas Prof. Assen Zlatarov University
 Department of Ecology and Protection of the
 Environmental
 1, Prof. Jakimov Str., 8010 Burgas, Bulgaria.

e-mail : ichobanov@btu.bg



РЕЗЕРВОАРНИТЕ ПАРКОВЕ НА НЕФТЕН ТЕРМИНАЛ „РОСЕНЕЦ“ КАТО ИЗТОЧНИК НА ЕМИСИИ НА ЛЕТЛИВИ ОРГАНИЧНИ СЪЕДИНЕНИЯ В АТМОСФЕРНИЯ ВЪЗДУХ

Иван Чобанов, Александрина Стайкова

OIL STORAGE TANK STOCKS OF OIL TERMINAL „ROSENETS“ (LUKOIL – BURGAS) AS SOURCE OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS AIR EMISSIONS

Ivan Chobanov, Alexandrina Staykova

ABSTRACT: A quantitative estimation of volatile organic compounds (VOC) emissions from oil storage tank stock “Rosenets” (LUKOil – Burgas) was made. 32 oil tanks from two stocks was investigated. The software product “TANKS – 4.09” was used for evaluation of VOC air emissions. The obtained results show that the highest emissions are coming from fixed roof tanks (495 t/yr) followed by external floating roof tanks (56 t/yr). The emissions from internal floating roof tanks are smallest. The summer emissions are two times higher as compared to winter emissions.

Key words: air emissions, VOC, oil storage tanks

Въведение

Основната задача на нефтен терминал „Росенец“ като част от „ЛУКОЙЛ НЕФТОХИМ БУРГАС“ АД е да приема суров нефт от танкери; да съхранява и захранва комбина със суров нефт; да приема за съхранение от комбината стокови горива, химични продукти и втечнени газове; да експедира на танкери стокови горива и химични продукти; да приема за съхранение химични продукти преди и след транспортирането им.

Всички тези дейности, по необходимост, са свързани с временното съхраняване на нефтопродуктите на територията на самия нефтен терминал. Поради тази причина, на територията на нефтобазата са изградени два резервоарни парка.

Цел на настоящата работа е да направи количествена оценка на емисиите в атмосферния въздух, получени в резултат от съхраняването на нефтопродукти в резервоарните паркове на нефтен терминал.

Описание на резервоарните паркове на нефтен терминал „Росенец“

Нефтен терминал „Росенец“ като част от „ЛУКОЙЛ НЕФТОХИМ БУРГАС“ АД се намира в Парк „Росенец“, местност „Отманли“,

землище на гр. Бургас, кв. „Крайморие“, и е разположен на територия от 844,919 декара.

Основната задача на терминала е да приема суров нефт от танкери; да съхранява и захранва комбина със суров нефт; да приема за съхранение от комбината стокови горива, химични продукти и втечнени газове; да експедира на танкери стокови горива и химични продукти; да приема за съхранение химични продукти и транспортирането им до ЛНХБ; да приема от танкери, съхранява и експедира втечнени газове за ЛНХБ и външни клиенти.

В структурата на НТ „Росенец“ са включени три парка, два за съхранение, експедиция и приемане на суров нефт, нефтопродукти и втечнени газове и един за обработка на танкери.

Парк за суров нефт (ПСН) – резервоарен парк за приемане, съхраняване и експедиция на нефт, котелно гориво (КГ), дизелово гориво (ДГ), бензини. В състава си включва 15 резервоара; магистрални помпи за транспортиране на нефт; помпи за товарене на танкери с ДГ и бензин; нефтоуловител и окислителни езера.

Парк за химически продукти и втечнени газове (ПХП и ВГ) – резервоарен парк за приемане, съхраняване в резервоари и транспортиране на КГ, мазут, ДГ, бензини, толуол, бензол, моноетилен гликол (МЕГ), хексан,

метанол, стирол и др. както и продукти, които се транспортират и товарят директно на танкери от автоцистерни – акрилнитрил, ацетонцианхидрин, диетилен гликол (ДЕГ), стирол и др. В състава на парка са включени 17 резервоара, четири помпени отделения с помпи за товарене на танкери от резервоари, автоцистерни и за разтоварване от автоцистерни в резервоари

Изчислителна част

В настоящата работа на емисионна оценка бяха подложени и двата резервоарни парка на НТ “Росенец”, носещи наименованията – база за нефт и нефтопродукти (БНП) и база за химически продукти (БХП). Базата за нефт и нефтопродукти съдържа 15 резервоара, а ба-

зата за химични продукти - 17 резервоара. Паркът включва резервоари с неподвижен покрив, с външен и вътрешен плаващ покрив, чийто обем варира от 1 000 до 50 000 m³. От общото количество резервоари в парка, 37 % са с неподвижен покрив, 44 % са с външен плаващ покрив и 19 % са с вътрешен плаващ покрив. В зависимост от вида на съхраняваните органични течности, резервоарите се подразделят по следния начин: 6 резервоара за нефт, 7 за бензини, 7 за дизелово гориво, 1 за мазут, 3 за толуен, 2 за стирен, 1 за бензен, 1 за метанол, 1 за акрилонитрил, 1 за хексан.

Данните с характеристиките на резервоарите са посочени в таблици 1 и 2. Таблиците съдържат основната информацията, която е необходима за изчисляване на емисиите.

Таблица 1. Основни характеристики на резервоарите в базата за нефт и нефтопродукти (БНП)

№	Продукт	Обем, m ³	Тип	Диаметър, m	Височина, m
1	A-95H	20000	ПП	42.87	15
2	Нефт	30000	ПП	15	22
3	A-95H	30000	ПП	42.87	15
4	НОБ	30000	ПП	42.87	15
5	ДГ	20000	НП	42.87	15.03
6	ДГ	20000	НП	42.87	15.03
7	A-92H	15000	ПП	42.87	15
8	A-92H	10000	ПП	42.87	15
9	A-92H	10000	ПП	42.87	15
10	Мазут	50000	НП	60.7	17.95
11	Нефт	50000	ПП	60.7	17.95
12	Нефт	50000	ПП	60.7	17.95
13	Нефт	50000	ПП	60.7	17.95
14	Нефт	50000	ПП	60.7	17.95
15	Нефт	50000	ПП	60.7	17.95

Забележка: НП – неподвижен покрив;

ПП – външен плаващ покрив;

ВПП – вътрешен плаващ покрив;

За извършването на количествена оценка бе използван компютърният продукт TANKS 4.09, който е предназначен за изчисляване на емисии от органични течности съхранявани в резервоари с неподвижен покрив, с външен плаващ покрив, с вътрешен плаващ покрив и подземни резервоари. Тази програма може да бъде прилагана за всички нефтопродукти, чисти летливи органични течности и химични смеси със известен парен натиск. Компютърният продукт позволява да бъде отразено влиянието на различни фактори (размери и

конструкция на резервоара, състояние на боята, температурата на течността и околната среда и др.) върху интензивността на емисиите. Програмата позволява изчисляване на емисии за продължителни периоди от време (месец, година и т.н.). Програмата разполага с химична база данни за над 100 органични съединения и с метеорологична база данни, която включва над 175 града в САЩ. Потребителят на програмата може да добавя нови химични съединения и (или) градове към тези бази данни.

Таблица 2. . Основни характеристики на резервоарите в базата за химически продукти (БХП)

№	Продукт	Обем, m ³	Тип	Диаметър, m	Височина, m
16	Толуен	1000	ВПП	12	11.92
17	Толуен	1000	ВПП	12	12.92
18	Толуен	1000	ВПП	12	13.92
19	Дизелово гориво	1000	ВПП	12	14.92
20	Дизелово гориво	2000	НП	15.18	11.92
21	Акрилонитрил	2000	НП	15.18	11.92
22	Хексан	2000	ВПП	15.18	11.92
23	Стирен	2000	НП	15.18	11.92
24	Бензен	2000	НП	15.18	11.92
25	Стирен	2000	НП	15.2	11.92
26	Дизелово гориво	2000	НП	15.18	11.92
27	Дизелово гориво	5000	НП	22.8	11.92
28	Дизелово гориво	5000	НП	22.8	11.92
29	Дизелово гориво	5000	НП	22.8	11.92
30	Бензин А-95Н	5000	ПП	22.8	11.92
31	Бензин А-95Н	5000	ПП	22.8	11.92
32	Метанол	10000	ВПП	34.2	11.92

Забележка: НП – неподвижен покрив;

ПП – външен плаващ покрив;

ВПП – вътрешен плаващ покрив;

TANKS 4.09 е разработена от Американския институт по петрола API (American Petroleum Institute), а по-късно одобрена и предложена от Американската агенция по опазване на околната среда EPA (Environmental Protection Agency) като основен инструмент за оценка загубите от съхранение. Изчисленията се извършват съгласно справочник на EPA за емисионни фактори - Compilation of Pollutant Emission Factors, известен под наименованието AP-42.

Количествената оценка на емисиите от резервоари за съхранение на органични течности, както беше споменато по-горе зависи от множество фактори, от които определящи са: геометричните размери и конструкция на резервоара, годишен оборот на съхранявания продукт, вида и състоянието на уплътненията, физични и химични свойства на продукта, метеорологичните условия, цвят и състояние на боята на корпуса, наличие на ръжда по вътрешните повърхности на резервоара и др. Всички тези фактори се явяват входни данни за програмата, въз основа на които се изчисляват емисиите емитирани от различни типове резервоари.

За резервоари с неподвижен покрив необходимите входни данни са: височина, диаметър, обем, годишен оборот, максимален обем

на запълване, тип на покрива, цвят на корпуса и покрива, състояние на корпуса и покрива, вида на съхраняваната течност и местоположението на резервоара.

За резервоари с външен плаващ покрив необходимите входни данни са: диаметър, обем, годишен оборот, състояние на корпуса, цвят на корпуса, състояние на боята, конструкцията на корпуса, типа на плаващия покрив, фитинги към плаващия покрив, вида на съхраняваната течност и местоположение на резервоара.

За резервоари с вътрешен плаващ покрив необходимите входни данни са : диаметър, обем, годишен оборот, състояние на корпуса, цвят на корпуса, състояние на боята, типа на уплътненията, вида на съхраняваната течност и местоположение на резервоара.

Програмният продукт изисква входните данни да бъдат въведени в американски измерителни единици.

Програмата TANKS 4.09 разполага с метеорологична база данни, която включва над 175 града в САЩ.

За изчисляване на емисии от резервоари от Резерварния парк на "НТ" Росенец" бе създаден метеорологичен файл за град Бургас. В него като метеорологични фактори са въведени средно месечните и средно годишните

стойности на максимална и минимална дневна температура на околната среда, слънчево греене и скорост на вятъра. Величините са взети от Климатичния справочник на Народна Република България [2,3] за град Бургас, като

Таблица 3. Типични фитинги, използвани при изчисляването на резервоарите с вътрешен плаващ покрив

No	Вид фитинги	Брой
1	Люк за достъп (24-инча диаметър), отварящ се капак, неуплътнен	1
2	Шахта за плаващ нивомер, отварящ се капак, неуплътнен	1
3	Колони за поддържане на покрива, съставни колони без уплътнения	1
4	Шахта за стълба, плъзгащ капак, неуплътнен	1
5	Крака на платформата (0,08 м), регулируеми, неуплътнена повърхност към понтона	5
6	Сонда за пробонабиране (24-инча диаметър), уплътнен, отворен 10%	1
7	Вакуумен прекъсвач с механично действие, уплътнен	1

Програмата TANKS 4.09 разполага с метеорологична база данни, която включва над 175 града в САЩ.

За изчисляване на емисии от резервоари от Резерварния парк на “НТ” Росенец” бе създаден метеорологичен файл за град Бургас. В него като метеорологични фактори са въведени средно месечните и средно годишните стойности на максимална и минимална дневна температура на околната среда, слънчево греене и скорост на вятъра. Величините са взети от Климатичния справочник на Народна Република България [2, 3] за град Бургас, като са трансформирани от международната система за измерителни единици SI в американската система за измерителни единици, както е показано на табл. 5.

са трансформирани от международната система за измерителни единици SI в американската система за измерителни единици, както е показано на табл. 5 .

Таблица 4. Типични фитинги, използвани при изчисляването на резервоарите с външен плаващ покрив

No	Вид фитинги	Брой
1	Люк за достъп (24-инча диаметър), Капак с болтове, уплътнен	1
2	Шахта за плаващ нивомер, отварящ се капак, неуплътнен	1
3	Вакуумен прекъсвач с механично действие, уплътнен	1
4	Неперфориран водач (диаметър 0,2 метра) и шахта (диаметър 0,5 метра), Неуплътнен плъзгащ капак	1
5	Люк за пробовземане, С механично действие, уплътнен	1
6	Дренаж на платформата (диаметър 3 инча), Отворен	1

Получени резултати и анализ

Обект на количествена емисионна оценка са 32 резервоара от 2 резервоарни парка на НТ” Росенец”. Резервоарите са с различна тонажност и конструкция. За всеки отделен резервоар са направени изчисления за месечни и годишни емисии на летливи органични съединения.

За онагледяване на резултатите те са групирани и обобщени по месечни общи емисии (фиг. 1), по типове резервоари (фиг. 2) и по резервоарни паркове (фиг. 3).

Целта на групирането и обобщаването на данните е да може да се определят пиковите месеци, зоните с най-голямо емисионно натоварване и не на последно място, кои типове резервоари се явяват най-мощни източници на емисии.

Таблица 5. Метеорологични данни за град Бургас, използвани при изчисляването на емисиите от резервоарния парк

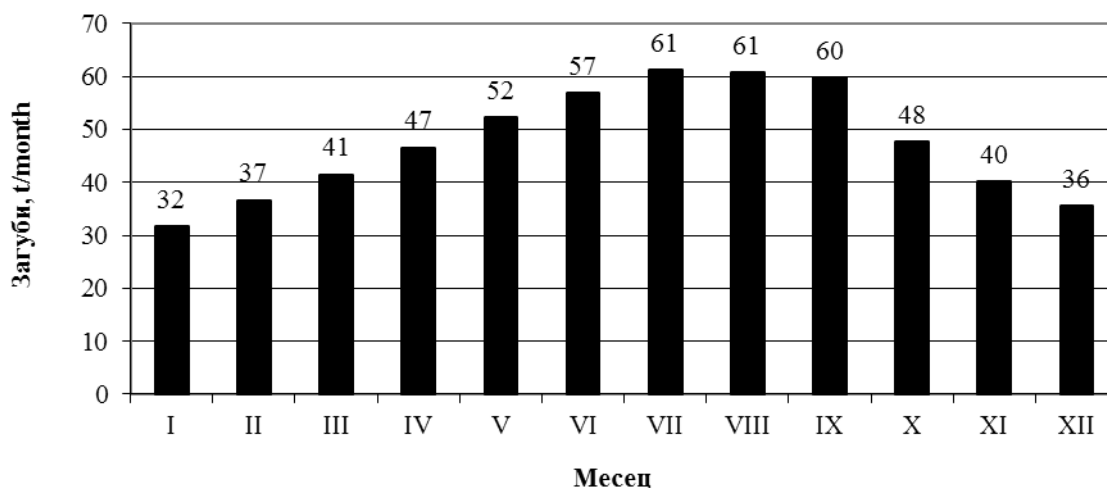
	Макс. дневна температура, °C	Мин. дневна температура, °C	Слънчево греене, W/m ²	Средна скорост на вятъра, m/s
Януари	5,0	-1,3	56,7	3,0
Февруари	7,3	-0,3	89,2	3,5
Март	10,4	2,3	127,4	4,4
Април	15,7	7,0	173	3,6
Май	20,9	12,2	206	3,3
Юни	25,3	16,1	235,5	3,1
Юли	28,2	18,2	245,2	3,3
Август	28,0	18,3	234,1	3,7
Септември	24,2	14,8	174,5	3,9
Октомври	19,2	10,5	116,8	3,5
Ноември	13,3	6,3	63	3,3
Декември	7,9	1,5	42,6	2,9
Годишно	17,1	8,8	147	3,4

Вижда се, че относително най-ниски нива на емисии са изчислени за студените зимни месеци декември и януари, а относително най-високи са нивата за месеците юни, юли и август независимо от конструкцията на резервоара и това какъв продукт се съхранява в тях.

Това се потвърждава и от обобщените данни за **сума** общи емисии на летливи органични съединения от всичките 32 резервоара

разпределени по месеци, представени в графичен вид на хистограмата на фиг. 1.

Ясно се вижда, че е налице сезонно изменение на емисиите. След зимните месеци, декември, януари и февруари, през които нивата са приблизително еднакви, следва плавно покачване на емисиите, които достигат до два пъти по-високи нива през летните месеци юни, юли и август, и отново плавно понижаване



Фиг. 1. Общи емисии на летливи органични съединения от резервоарните паркове, разпределени по месеци

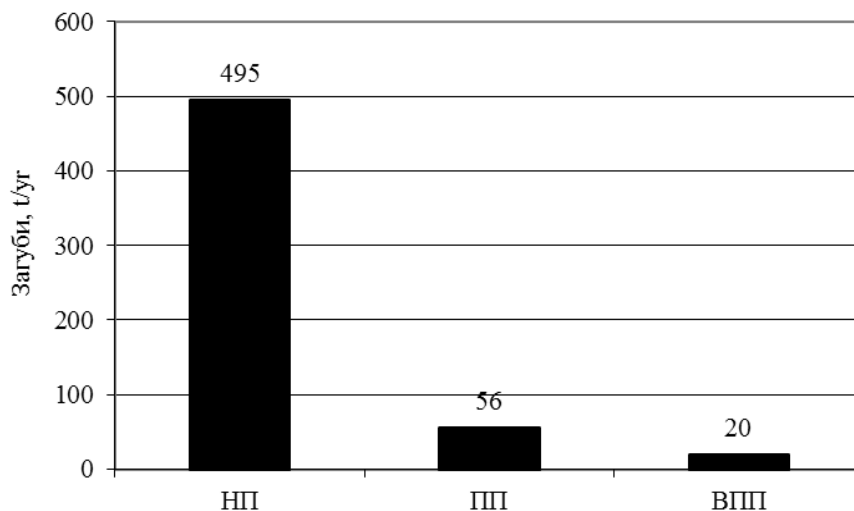
Както бе посочено, резервоарният парк на НТ “Росенец” включва резервоари с неподвижен покрив, с външен и вътрешен плаващ

покрив, чийто обем варира от 1 000 до 50 000 m³.

На фиг. 2 е представено разпределението на общите емисии от всички изследвани ре-

зервоари в зависимост от конструкцията им. Ясно се вижда, че най-големи са годишните загуби от резервоарите с неподвижен покрив (495 t/yr), следвани от резервоарите с външен плаващ покрив (56 t/yr). Най - малки са загубите при резервоарите с вътрешен плаващ покрив.

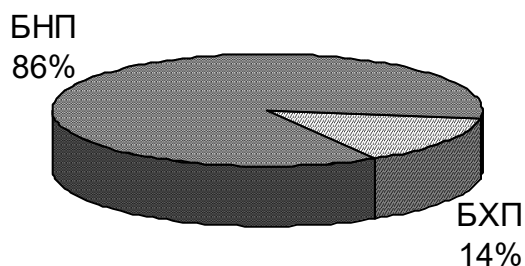
Цитираните стойности са абсолютни годишни емисии и в тях са включени всички емисии за съответния тип резервоари, независимо от вместимостта, годишния оборот и вида на съхраняваната течност.



Фиг. 2. Годишни емисии на летливи органични съединения от различни типове резервоари

На фиг. 3 е представено съотношението на годишните емисии формирани от двата резервоарни парка на НТ “Росенец”. От нея се

вижда, че парк БНП генерира 86 % от общата годишна емисия, а дялът на парк БХП е едва 14 %.



Фиг. 3. Съотношение на емисиите на летливи органични съединения от двата резервоарни парка на НТ “Росенец”

Причината за това съотношение трябва да се търси във факта, че резервоарите в парк БХП, независимо, че са повече на брой, всички без изключение са с малък обем (общият им обем е около 10 пъти по-малък от обема на резервоарите в БНП). Освен това, в този парк е съсредоточено основното количество

резервоари с вътрешен плаващ покрив (около една трета от броя на резервоарите в парка), които от всички типове резервоари генерират най-ниските емисии..

Литература

1. Куцаров, Р., 2001, *Замърсяване на въздуха. (Замърсители, източници, оценка на емисиите, разпространение, въздействие)*. Печатна база при Университет „Проф. д-р Асен Златаров”, Бургас.
 2. Куцаров, Р., И. Чобанов, 2001, *Емисии от резервоари за съхранение на органични течности*. Печатна база при Университет „Проф. д-р Асен Златаров”, Бургас.
 3. AP-42. *Compilation of Pollutant Emission Factors*, Fifth edition, chapter 5, section 2, Transportation And Marketing Of Petroleum Liquids;
 4. Институт по хидрология и метеорология, 1982, *"Климатичен справочник за Народна Република България"*, том3: "Температура на въздуха и почвата", изд. "Наука и изкуство", София.
 5. Институт по хидрология и метеорология, 1983, *"Климатичен справочник за Народна Република България"*, том4: "Вятър", изд. "Наука и изкуство", София.
 6. Laverman, R. J., 1992, *Emission Reduction Options For Floating Roof Tanks*, Chicago Bridge and Iron Technical Company, Presented at the Second at the Second International Symposium on Aboveground Storage Tanks, Houston, TX.
 7. American Petroleum Institute, 1991, *Evaporative Loss From Fixed Roof Tanks*, Second Edition, Bulletin No. 2518, Washington, D. C.
-

Ivan Stoykov Chobanov
Alexandrina Dianova Staykova
Burgas Prof. Assen Zlatarov University
Department of Ecology and Protection of the
Environmental
1, Prof. Jakimov Str., 8010 Burgas, Bulgaria.

e-mail : ichobanov@btu.bg
aleks_staikova@abv.bg



СИСТЕМИ ЗА УПРАВЛЕНИЕ НА МРЕЖИ

Светлана Сярова, Екатерина Оцетова-Дудин, Анна Оцетова

NETWORK MANAGEMENT SYSTEMS

Svetlana Siarova, Ekaterina Otsetova-Dudin, Anna Otsetova

ABSTRACT: *The advanced communications networks, characterized by continuously expanding capacity and complexity, offer a huge variety of applications delivered to an avidly growing number of users. This necessitates their automated management in order to ensure reliable and efficient operation of both the network and the services provided to the users.*

The functional areas of management defined by the International Organization for Standardization (ISO) - Fault Management, Accounting Management, Configuration Management, Security Management are presented.

The report describes an architectural model of a communications network management system in which the nodes are composed of Network Management Entity and Network Management Application, the connection being performed on the basis of SNMP (Simple Network Management Protocol).

Key words: Network Management Systems, Fault Management, Accounting Management, Configuration Management, Security Management Simple.

Въведение

Основни проблеми в съвременните комуникационни системи могат да се класифицират по следните признаци:

- Увеличаване сложността и размера, което от своя страна води до нарастване на вероятността за поява на грешки, а от там до изключване или намаляване надеждност на мрежата.
- Сривове по време на изпълнението на конкретни задачи. За да се реши този проблем се прибягва към методи за прогнозиране на тяхната поява, с цел своевременното им отстраняване.
- Проблеми свързани с капацитета, възникнали с течение на времето или в резултат на необичайно събитие.

Целта на представения доклад е да се анализират възможностите за надеждно управление на компютърни мрежи, като се представи архитектурен модел на система за управление с помощта на трислоен софтуерен модел.

Управление на комуникационна мрежа

Управлението на всяка комуникационна мрежа цели осигуряване на:

- надеждна работа при условия на претоварване, повреда или промени в мрежовата конфигурация (въвеждане на нови устройства или услуги),
- ефективна работа, свързана с качеството и количеството на предоставените услуги на потребителите.

Сложността на съвременните мрежи налага автоматизираното им управление, което е свързано с разработване на необходимите инструменти (Ангелов, 2009).

От друга страна управлението на комуникационните мрежи се усложнява поради използването на устройства от различни производители. Поради тези причини се налага разработването на протоколи, бази данни и съпътстващи услуги за управление на информацията (Divakara, 1996).

Системите за управление са проектирани за създаване на мрежи с унифицирана архитектура, с адреси и етикети до всяка отделна точка, определящи елементите и съответните връзки между тях. Елементите на всяка ак-

тивна мрежа предоставят обратна връзка за нейното състояние в центъра за контрол.

Изисквания към системите за управление

Функционалните области в управлението на всяка мрежа се определят от Международната организация по стандартизация (ISO) (Duglas, 2016).

- **Fault Management (FM)** - откриване и коригиране на нетипични работни състояния.

За нормалното функциониране на една сложна мрежа е необходимо да се гарантира нейното правилно, цялостно и компонентно функциониране (Verma, 2009). При възникване на грешка е необходимо своевременно:

- определяне на вида и мястото на възникване,
- изолиране на останалата част от мрежата, с цел осигуряване работата на мрежата без смущения,
- преконфигуриране на мрежата, с цел минимизиране на въздействието и възможните щети върху някои от нейните компоненти.
- ремонт или замяна на повредения компонент и възстановяване първоначалното състояние на мрежата.

При коригирането на грешки и дефекти се различават три различни ситуации - **error**, **damage** и **wrong**.

Error - ситуация свързана с неизправност, изискваща намеса от страна на администратора и своевременното ѝ коригиране, докато **wrong** е изолирано събитие. **Error** може да бъде голям брой **wrong**-грешки (пример - прекъсване на комуникационната линия и липсата на сигнал).

В случай на **wrong**-грешки (например - грешен bit в комуникационната линия), е възможна компенсацията с подходящи механизми за проверка на грешки в отделните протоколи.

Влиянието на **error**-грешки в една мрежа се намалява чрез използване на допълнителни данни или промяна на пътя, като по този начин се постига степен на мрежова толерантност към грешките (Bergstra, Burgess, 2009).

Проблемите свързани с Fault Management (FM) изискват бърза и надеждна диагностика, като целта е минимизиране на въздействието върху мрежата.

- **Accounting Management (AM)** – мониторинг на потребителите по отношение времето на използване на мрежата, обем на пропуснатата информация и запис на двойките *source- destination IP* и *source-destination port*.

Администраторът следи за коректното използване на мрежовите ресурси от всеки краен потребител или група от потребители. Целта е предотвратяване на нарушения на правата за достъп, водещи до натоварване на мрежата или не ефективното ѝ използване.

Управлението на всяка мрежата е свързано с:

- записи на параметрите в различните възли от мрежата,
- записи на интервалите от време, при които информацията се изпраща на по-ключови възли,
- и управление на алгоритъма за изчисляване на разходите.

- **Configuration Management (CM)** - контрол на параметрите на системата и проверка за правилното функциониране на управляваните обекти.

Съвременните мрежи за данни се състоят от отделни компоненти и логически подсистеми, които могат да бъдат конфигурирани да изпълняват различни приложения. Пример - едно устройство може да бъде конфигурирано да работи като рутер, като крайна възлова точка или като двете заедно.

След определяне начина на използване на избраното устройството в дадена мрежа, CM отговаря за подбора на подходящия софтуер и определянето на набора от функции за съответните устройства (Тужаров, 2008).

CM се отнася до стартирането, изключването както на цялата мрежа така и на част от нея, поддръжката, добавянето и актуализирането на връзките между данните и тяхното състояние по време на експлоатация.

Често се налага преконфигурация на мрежата с цел подобряване нейната производителност, надграждане, откриване на грешки или подобряване на нейната сигурност. Конфигурационните отчети се генерират периодично от агентите или по искане на администратора.

- **Performance Management** - осигурява ефективност на работата на мрежата, като

следи за правилното функциониране на управляваните обекти и комуникацията между отдалечените възли.

Съвременните мрежи се състоят от много на брой и различни елементи, които комуникират помежду си и споделят данни и мрежови ресурси. Управлението на ефективността на една мрежа е разделено на две области: мониторинг на активността и контрол. То определя:

- използвания капацитет на мрежата,
- наличието на увеличен трафик,
- дефинира допустимите и приемливи нива на ефективност,
- вероятността за претрупване,
- времето за реакция.

За да отговори на посочените проблеми, мрежовия администратор наблюдава избрани мрежови обекти и оценява реалната ситуация. За тази оценка от съществено значение са статистическите данни за ефективността, които спомагат за проектирането, управлението и поддържането на големи мрежи (Duglas, 2014). Дългосрочната статистика се използва при проектиране на капацитета на мрежата, при разширяването и в определни сектори.

- **Security Management (SM)**- управление на сигурността, включващо създаване, разпространение и съхранение на ключове за шифроване, мониторинг и контрол на достъпа до секции или цялата мрежата. Мрежовият достъп е информация, записана в различните възли в мрежата. За тази цел се използват справки, които се явяват инструменти за контрол.

Система за управление на комуникационна мрежа – конфигурация

Всяка система за управление се състои от:

1. Управляващата станция (сървър или администратор) - устройство, което може да бъде разположено и при споделени системи. Тя притежава:
 - набор от приложения за управление и анализ на данни, корекция на грешки и др,
 - интерфейс за наблюдение и контрол на мрежата.
 - способност за интерпретиране на изискванията за управление на мрежата при наблюдение и контрол на

отдалечени компоненти.

2. Информационна база данни за управление на мрежата от всички мрежови обекти Management Information Base-MIB. За ефективно управление на ресурсите в една мрежа е необходимо тя да се представи като набор от обекти - данни за управление. Тези обектите се дефинират в системата и се разделят на различни класове. Управляващата станция изпълнява проследяване, като коригира стойността на обектите MIB. Станцията за управление може да предизвика действие, което да бъде изпълнено от агента, или да промени конфигурацията на агент, чрез промяна стойността на своите променливи.

3. Агент - активен елемент на системата за управление на мрежата.

Елементи като хостове, мостове, маршрутизатори и сплитери са осигурени със софтуера на агент, с цел управление от мениджърската станция. Агентът предоставя информация за управляващата станция.

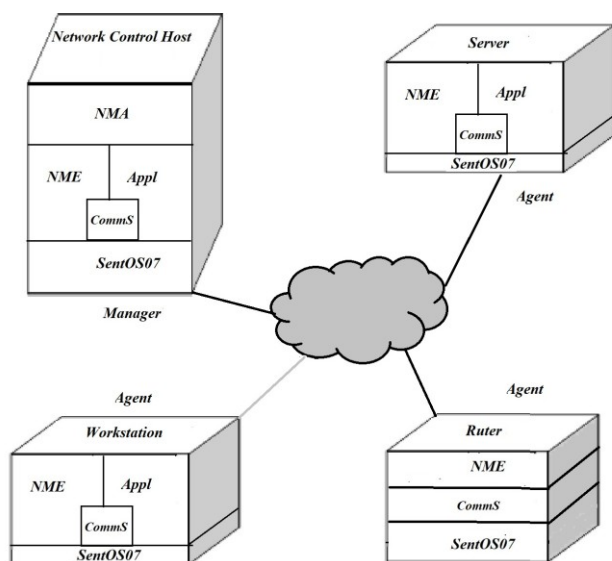
4. Протокол за управление на мрежата. Станцията за управление и агентът са свързани помежду си с протокола за управление на мрежата. Протоколът Simple Network Management Protocol (SNMP) се използва за управление на TCP/IP мрежи. За мрежи, базирани на OSI модел се използва протокол за управление на информацията (CMIP). В поусъвършенстваните версии на SNMP, SNMPv2 и SNMPv3 се използват едновременно за TCP/IP и OSI-базирани мрежи (Тужаров, 2008).

При внедряването на системи за наблюдение и контрол на мрежите се акцентира на:

- Наличие на подходящ интерфейс, предоставящ набор от команди, за изпълнението на необходимите функции за управление на съответната мрежа.
- Използване на минимален брой устройства за поддръжка на управлението, чрез интегриране в устройствата на потребителя на софтуера и хардуера, необходими за управление на мрежата.

На фиг. 1 е представен архитектурен модел на система за управление на комуникационна мрежа, в която всеки възел е съставен от

софтуер, отговарящ за управлението на мрежата Network Management Entity (NME).



Фиг. 1 Система за управление на комуникационна мрежа

Системата за управление:

- събира статистически данни за движението в мрежата и ги предоставя на центъра за управление
- управлява параметрите (напр. брояча за време в протокола за предаване)
- предоставя данни за състоянието на елементите
- създава технически поток при тестване
- предава съобщения в центъра за управление, при промяна в състоянието.

NMA е софтуер за управление на заявки потребителите и предаването им към NME в мрежата. Тази връзка се осъществява чрез използването на протокол за управление на мрежата.

С цел по-добро управление се използват по-вече от един агент. При нормална работа, вторият агент събира статистически данни, но може да се използва всеки момент като backup.

Софтуерът в диаграмата представена на фиг.1 е организиран в три нива.

Най-високото ниво - набор от приложения, за предоставяне на услуги на потребителя (обработка на грешки, профили, конфигурация, ефективност и сигурност).

Малкият брой приложения за управление изпълняват по-примитивни функции с общо

предназначение- такива като сигнали за аларма или събиране на данни.

На по-ниското ниво е разположен софтуер за управление, който предоставя услугите за управление на използваните данни, както и протокол за обмен на информация за управлението между мениджъри и агенти.

На най-ниско ниво се намира communication softuer, използван за обмен на информация за управлението между мениджъри и агенти. За да се изпълнят желаните функции, софтуерът за управление на мрежата се нуждае от достъп до:

Базата за управление на информацията - MIB (Management Information Base), в която са описани обектите, предоставяни на всеки управляван възел от SNMP- агентите от и до отдалечени агенти и администратори. В местния MIB и агента се съдържа информация за конфигурацията и поведението на този възел, както и параметрите, използвани за управлението и работата на възела.

Комуникацията с други възли (агенти или администратори) се осъществява чрез комуникационен протокол като OSI или TCP / IP.

Съвременните операционни системи притежават голяма част от необходимите функции за администриране на мрежата. Всички съвременни мрежови устройства се продават с вграден софтуер за диагностика и управление на мрежата. По този начин те се конфигурират за оптималната им работа в състава на конкретната мрежа. На пазара се предлага разнообразен специализиран софтуер за управление на мрежи.

Заклучение

Внедряването на системите за наблюдение и контрол на мрежата се фокусира върху:

Наличието на мощен и удобен за ползване интерфейс, предоставящ набор от команди за изпълнение на функциите за управление на мрежата.

Използване на възможно най-малко отделни устройства за поддръжка на управлението. Това се извършва чрез интегриране в устройствата на потребителя на софтуера и хардуера, необходими за управление на мрежата.

Тенденцията през последните години е към разработване на все по-големи и по-

сложни компютърните мрежи и системите с разпределена обработка.

В този доклад е представен трислоен модел на система за управление на базат на Network Management Entity и Network Management Application и SNMP протокол за управление.

Литература

1. Angelov, I., *Системи за управление на мрежата (NMS) в тактическите комуникационни системи*, Chief information officer journal, 2009
2. Divakara, K., *Network Management Systems Essentials* (McGraw-Hill Series on Computer Communications), Spiringer, 1996
3. Verma, D., *Principles of Computer Systems and Network Management*, Springer, 2009
4. Duglas, E., *Automated Network Management Systems*, 2016
5. Duglas, E., *Computer Networks and Internets*, Sixth Edition, 2014
6. Bergstra, J., Burgess, M., *Handbook of Network and System Administration*, 2008, <https://www.sciencedirect.com/science/book/9780444521989>
7. Тужаров Х., 2008, <http://tuj.asenevtsi.com/CN/N047.htm>

Светлана Сярова
УНИБИТ
Катедра Компютърни науки
София
Бул. „Цариградско шосе“ 119
email:
zvetlanas@yahoo.gr

Екатерина Оцетова-Дудин
Висше училище по телекомуникации и пощи
Катедра Информационни технологии
София
Бул „Акад. Стефан Младенов“1
email:
eotsetova@abv.bg

Анна Оцетова
Висше училище по телекомуникации и пощи
Катедра Мениджмънт и информационни технологии в телекомуникациите и пощите
София
Бул „Акад. Стефан Младенов“1
email:
aotsetova@abv.bg



ДЕСУЛФУРИРАНЕ НА ГАЗЪОЛЕВИ ФРАКЦИИ

Йорданка Ташева, Станислава Ташева

DESULFURISATION OF GASOIL FRACTIONS

Yordanka Tasheva, Stanislava Tasheva

ABSTRACT: Присъствието на серни и други хетеросъединения, както и на аренови въглеводороди и смоли в горивата е нежелателно, поради което във всички страни в света се предприемат законодателни и други мероприятия за ограничаване съдържанието на сяра, аренови въглеводороди и смолисти продукти в тях. В тази връзка се развиват и нови технологии за очистване на газъолеви фракции. В настоящата статия е изследван процеса на десулфуриране на две газъолеви фракции, получени от български петрол, направен е подбор на ефективни разтворители и е доказана възможността за намаляване на съдържанието на серни съединения в последните.

Key words: desulfurization, sulfur, alternative technologies, gasoil

Introduction

Sulfur in transportation fuels remains a major source of sulfur oxides which contributes to air pollution and acid rain (Serhiy P., 2012).

For the use in fuel cell system commercial fuels, like diesel or domestic heating oil, have to be desulphurised to ultra deep sulphur levels of below 1 mg kg⁻¹ (Ristovski Z., et al., 2006).

In Bulgaria allowed sulfur content in gasoil fuels is 1000 ppm.

The removal of sulfur-containing compounds from liquid fuels is currently achieved by hydrodesulfurization (HDS) using a Co–Mo/Al₂O₃ or a Ni–Mo/Al₂O₃ catalyst (360 °C and 3–5 MPa H₂ pressure) (Serhiy P., 2012). The current HDS technology can desulfurize aliphatic and acyclic sulfur-containing organic compounds on the industrial scale. However, aromatic dibenzothiophene (DBT) and especially 4,6-alkyl-substituted DBTs are difficult to convert to H₂S due to the sterically hindered nature of these compounds on the catalyst surface. For this reason, the removal of the DBTs by HDS, to give the desired low levels of sulfur in diesel, requires high temperature and H₂ pressure conditions and hence a bigger reactor size as well as an active catalyst. From an environmental and economic viewpoint, it is extremely desirable to develop alternative more energy-efficient desulfurization processes for the production of virtually sulfur free fuel. Reported deep desulfurization process-

es include, but are not limited to, selective adsorption, extraction with ionic liquids, oxidative desulfurization (ODS), biodesulfurization, and other processes (Zonguan J., Zh.Yongna, et al., 2011). Due to a short reaction time at ambient conditions, high efficiency and selectivity, ODS combined with extraction is regarded to be the most promising of these processes (Wang H., H. Jianxun, J. Cairong, 2014).

Various studies on the ODS process have employed different oxidizing agents such as NO₂ tert-butyl-hydroperoxide and H₂O₂ (Corro G., 2002, Muric M., 2013, Patil M., S.Kulkani, 2011). H₂O₂ is commonly used as an oxidizing reagent due its affordable cost, environmental compatibility, and commercially availability. H₂O₂ is effective in the presence a transition-metal based catalyst and in acid media (Patil M., S.Kulkani, 2011). Different transition metal catalysts have been used, such as tungstophosphoric acid, Na₂WO₄ + [(n-C₄H₉)₄N]Cl (14), K₁₂WZnMn₂(ZnW₉O₃₄)₂ and [CH₃(n-C₈H₁₇)₃N]Cl, 2-NO₂C₆H₄SeO₂H, and others (Babich J., A. Moulijn, 2003).

For the use in fuel cell system commercial fuels, like diesel or domestic heating oil, have to be desulphurised to ultra deep sulphur levels of below 1 mg kg⁻¹. To reach this goal the adsorptive desulphurization using a nickel-based sorbent has been identified. The evaluation of the reaction mechanism reveals in principle the same route as that of the hydrodesulphurisation (HDS)

whereas the sulphur is adsorbed by the sorbent instead of being converted to hydrogen sulphide. The required hydrogen for the process is provided out of the fuel itself and not by an external supply of hydrogen. This analysis leads to an easy applicable enhancement of the process by adding a hydrogen donator as an additive to the liquid fuel. In correlation to the mass fraction of the donator the reaction rates and sorbent capacities are improved significantly (Arturo J., T.Yang, 2004).

Furthermore the influence of aromatic compounds has been investigated, which exhibit similar molecular structures and chemical properties than comparable high refractory sulphur species. This leads to side reactions especially of di- and tri-aromatics which influence the sulphur adsorption. A shift of the aromatic fraction from mono- to di- and tri-aromatic compounds has been observed as well as the alkylation of di- and tri-aromatics (Breyse, G.Djega, 2003).

The aim of this paper is to study the desulfurization of gasoil fractions by extraction and to evaluate the effectiveness and selectivity of individual extraction systems.

Experimental

The extraction procedure is described in previous papers.

It must be noticed that the desulfurization of gasoil fractions by extraction were carried out in ambient temperature and atmospheric pressure. The conditions of extraction processes have been established experimentally as follow: temperature – 60 °C, duration – 1,5, 3,0, 4,5 and 6,0 hours and ratio gasoil: solvent = 1:1, 1:2.

In previous papers has been established that the most effective solvents for applying in extraction process of fuels are N-methyl pyrrolidone /NMP/, furfural and diethylene glycol /DEG/. In this order we used these organic polar solvents in present investigations. The physical properties of solvents are given in ().

As raw-material we used gasoil fractions – gasoil fraction1, produced by petroleum from Dolni Dabnik and gasoil fraction 2, produced by petroleum from Tyulenovo. The both fractions are produced in Bulgaria. The physicochemical properties of liquid fractions are given in Table 1 and 2.

Table 1. Physicochemical properties of gasoil fraction 1

	Parameters	Value
1.	Density at 15 °C, kg/m ³	827.0
2.	Sulfur content, ppm	1000
3.	Arene content, %	20.2
4.	Water content, % (v/v)	Neal
5.	Ash content, %	0.006
6.	Coke, %	0.03
7.	Kinematic viscosity at 40 °C, mm ² /s	2.65
8.	Distillation characteristics:	
	-10 %, °C	226
	-75 %, °C	320
9.	Flash point in closed cup, °C	94

Table 2. Physicochemical properties of gasoil fraction 2

	Parameters	Value
1.	Density at 15 °C, kg/m ³	889.6
2.	Sulfur content, ppm	1400
3.	Arene content, %	20.2
4.	Water content, % (v/v)	Neal
5.	Ash content, %	0.008
6.	Coke, %	0.03
7.	Kinematic viscosity at 40 °C, mm ² /s	2.88
8.	Distillation characteristics:	
	-10 %, °C	236
	-75 %, °C	308
9.	Flash point in closed cup, °C	96

After extraction the obtained yield of raffinate and extract were measured experimentally. The sulfur content in raffinates was measured by BSS EN ISO 8754. The obtained results from desulfurization processes are given in follow figures.

The yield of raffinate was increased with increasing of contact time at extraction process of systems: gasoil 1: NMP, gasoil 1: furfural.

The figures 4 and 7 confirmed the literature data that the sulfur content depends on composition of raw material mainly. The best results at extraction of gasoil 1 have shown from solvent NMP, then DEG and furfural. The data shown in figure 7 presents that the best results are obtaining by extracting of gasoil 2 with a solvent furfural, NMP and DEG

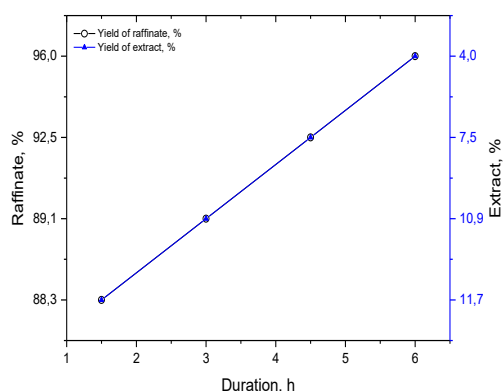


Fig.1. Dependency of yield of raffinate and extract from duration of extraction of system gasoil 1: NMP /ratio gasoil 1:NMP = 1:2/

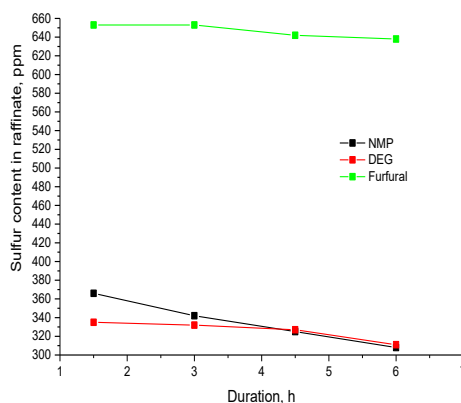


Fig.4. Dependency of sulfur content from duration of extraction of gasoil1 /ratio gasoil1: solvent = 1:2/

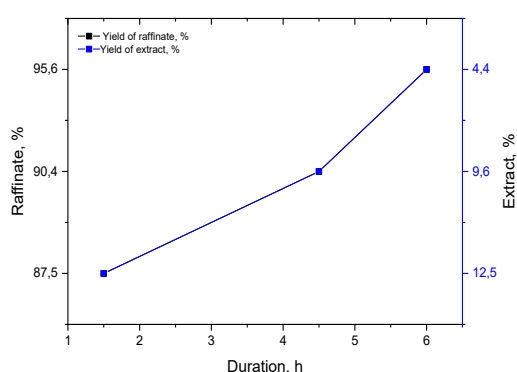


Fig.2. Dependency of yield of raffinate and extract from duration of extraction of system gasoil 1: DEG /ratio gasoil1:DEG = 1:2/

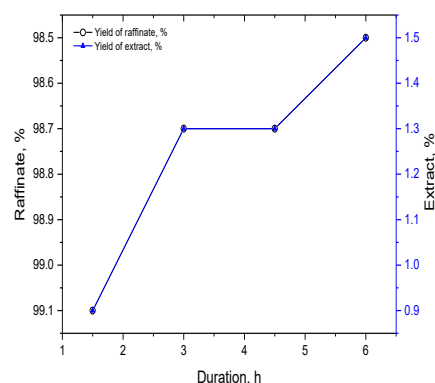


Fig.5. Dependency of yield of raffinate and extract from duration of extraction of system gasoil 2: NMP /ratio gasoil 2:NMP = 1:2/

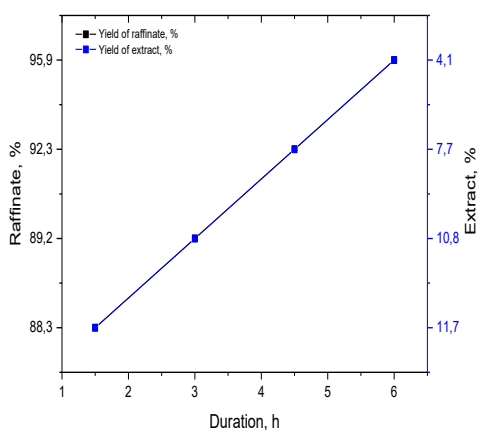


Fig.3. Dependency of yield of raffinate and extract from duration of extraction of system gasoil 1: furfural /ratio gasoil 1:furfural = 1:2/

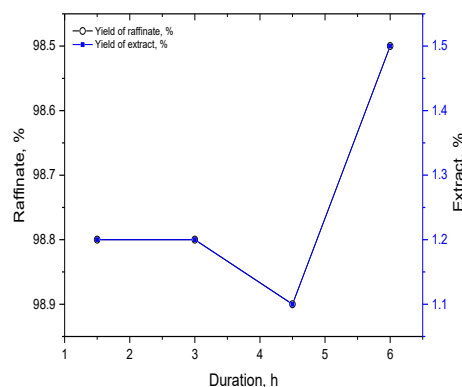


Fig.6. Dependency of yield of raffinate and extract from duration of extraction of system gasoil 2: DEG /ratio gasoil 2:DEG = 1:2/

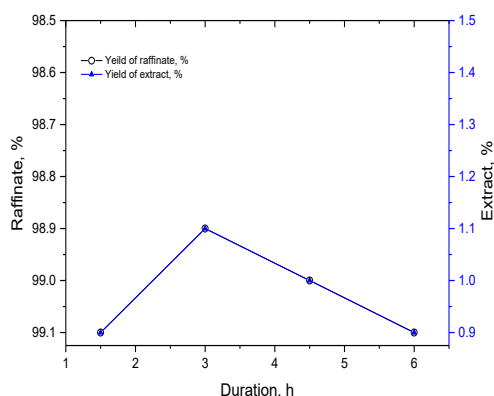


Fig.7. Dependency of yield of raffinate and extract from duration of extraction of system gasoil 2: furfural /ratio gasoil 2: furfural = 1:2/

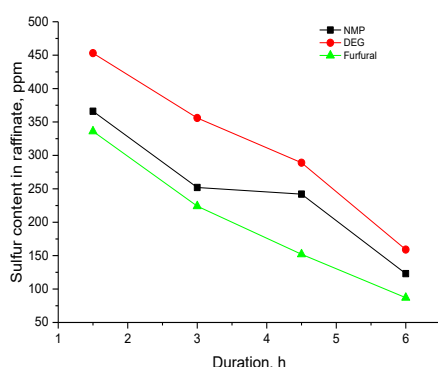


Fig.8. Dependency of sulfur content from duration of extraction of gasoil 2 /ratio gasoil 2: solvent = 1:2/

The experimental results presented that desulfurization of gasoil fractions with selected solvents carried out more hard in initial period of contact time than in duration of 3 hours and more. The percent of separated sulfur compounds decreased significantly.

Conclusion

Heightened concerns for cleaner air and increasingly more stringent regulations on sulfur contents in transportation fuels make desulfurization more and more important. The sulfur problem is becoming more serious in general, particularly for gasoil fractions as the regulated sulfur content is getting an order of magnitude lower, while the sulfur contents of crude oils refined in the world are becoming higher. The chemistry of gasoil fractions processing has evolved significantly around the central issue of how to produce cleaner gasoil fuels in a more efficient and environmentally friendly fashion.

Reference

1. Adegunlola A., J. Oloke, G. Majolagbe, et al., 2012 "Microbial desulphurization of crude oil using *Aspergillus flavus*", *European Journal of Experimental Biology*, 1 (3), pp. 400-403.
2. Arturo J., T. Yang, 2004 "New Sorbents for Desulfurization of Diesel Fuels via - Complexation," *American Institute of Chemical Engineers*, 32 (1), pp. 791-801.
3. Breyse M., G. Djega, 2003 "Deep desulfurization: reactions, catalysts and technological challenges", *Catal. Today*, 84 (1), pp. 129-136.
4. Babich, J., A. Moulijn, 2003 "Science and technology of novel processes for deep desulfurization of oil refinery streams: a review", *Fuel*, 82 (2), p. 607-621.
5. Corro G., 2002 "Sulfur impact on diesel emission control—a review", *React. Kinet. Catal. Letter*, 75 (2), p. 89-96.
6. Muric M., 2013 "Alternative Processes for Removing Organic Sulfur Compound from Petroleum Fractions", *Chem. Biochem. Eng.*, 27 (1) pp.101-108.
7. Patil M., S. Kulkarni, 2011 "Desulphurization of hydrocarbon liquid fuels by adsorption," *Journal of Engineering Research and Studies*, 2 (1), pp. 81-98.
8. Ristovski Z., E. Jayaratne, M. Lim, et al., 2006 "Influence of diesel fuel sulfur on nanoparticle emissions from city buses", *Environ. Sci. Technol.* 40 (2), pp. 1314-1320.
9. Serhiy P., 2012 "Application of non catalytic oxidative desulphurization process for obtaining diesel fuels with improved lubricity", *Chemistry and chemical Technology* 6, (2), pp.201-232.
10. Wang H., H. Jianxun, Y. Cairong, 2014 "Deep Extractive Desulfurization of Gasoline with Ionic Liquids Based on Metal Halide", *China Petroleum Processing and Petrochemical Technology Scientific Research*, 16 (2), pp. 65-70.
11. Zongxuan Y., L. Hongying, Zh. Yongna, et al., 2011 "Oxidative Desulfurization of Fuel Oils" *Chinese journal of catalysis*, 32 (5), pp.707-715.

Име на автора/авторите Йорданка Ташева,
Станислава Ташева
Университет „Проф. д-р А. Златаров”- Бургас,
Университет по хранителни технологии - Пловдив
Катедра „Индустиални технологии и мениджмънт”
Катедра „Промислена топлотехника”
8010, гр. Бургас, бул. „Якимов” 1
400e-mail:jtasheva_2006@abv.bg,
st_tasheva@abv.bg



ИЗСЛЕДВАНИЯ ЗА СЪСТАВА НА ТЕЖКИ ФРАКЦИИ

Йорданка Ташева, Тодор Паличев

COMPOSITIONAL STUDIES ON HEAVY FUEL FRACTIONS

Yordanka Tasheva, Todor Palichev

ABSTRACT: Подробното и надеждно охарактеризиране на композиционния състав на тежки нефтени фракции е от голямо значение за оптимизацията на преработващите процеси, оценяване на продуктите, корелация между структура и свойства на суровините и проблемите на околната среда. Познаването на химичния състав на нефта и нефтените фракции на молекулярно ниво занимава учениците от цял свят, поради изключителната сложност на проблема. В настоящата статия е изследван за първи път композиционния състав на тежки нефтени фракции от български произход, направен е подбор на различни разтворители и е изследвана тяхната способност за извличане на отделните компоненти.

Key words: hydrocarbon group types, heavy fuel fractions, arene hydrocarbons

Introduction

The distribution of major structural types of hydrocarbon classes in crude oil, heavy ends and middle distillates is often required for various applications in the petroleum industry. Compositional studies are of much significance in understanding the crude oil source, optimizing refining processes, product performance evaluation, feedstock utilization, structure-property correlations and environmental hazards ((Stratiev D., et al, 2016).

The properties of petroleum and its products are closely related to their chemical compositions. The hydrocarbon compositional information is important for petroleum processing. Group-type analysis is a widely used procedure for obtaining the required information to evaluate petroleum and its products in the petroleum industry. The method normally used for hydrocarbon group-type analysis is the fluorescent indicator adsorption method FIA and it is well known for its simplicity and ease of operation. However, its poor separation is usually encountered in samples with final boiling points higher than 315 °C and dark colored samples (Adams J., et al., 2015) Gas chromatography coupling with mass spectroscopy GC-MS. has been widely used for hydrocarbon analysis of light fractions in oil industry (Adebisi M., V. Thoss, 2014). But the requirement of vaporization of samples limits its application in separation of samples with high

boiling point and poor thermo stability. Supercritical fluid chromatography (SFC) has become a popular analytical tool in petroleum analysis during last few years not only for its ability to analyze thermally unstable and relatively high-molecular-weight compounds, but also because highly efficient and selective capillary columns can be used to achieve unique separations (especially for polycyclic aromatics, (Anand V., R. Freedman, 2012, Aske N., J. Sjoblon, 2002). But the expensive mobile phase-supercritical CO and complicated operation make SFC difficult to apply in production control in refinery.

The application of high performance liquid chromatography (HPLC) to hydrocarbon group type analysis of petroleum products was first reported in 1970s. HPLC is characteristic with its high efficiency, high speed, high sensitivity and wide application range. The development and application of HPLC offer a powerful analytical tool for high boiling distillates. Detail studies on HPLC utilizing alumina, silica and various chemically bonded silica stationary phases to analyze petroleum products have been published (Mansur E., et al., 2012, Santos et al, 2014). But the aromatic-ring number separation of high boiling distillates has been still a difficult task. Traditional open-column chromatography technique is a powerful analytical tool which provides detailed compositional information for alkanes, cycloalkanes and aromatics (Podgorski et al, 2012).

Crude oils have been fractionated into saturates, aromatics, resins and asphaltenes using open-column liquid chromatography. Asphaltenes are *n*-pentane, *n*-hexane- or *n*-heptane-insolubles depending on the *n*-alkane used. The *n*-alkane-soluble materials, termed maltenes, are usually fractionated on a silica or alumina column using appropriate solvents. In general, saturates are extracted with an *n*-alkane (such as *n*-hexane) followed by elution of aromatic and polar fractions with solvents or solvent mixtures of higher eluotropic strengths. Quantitative data are obtained by the gravimetric determination of each fraction after evaporation of solvent or solvent mixture. Rotary evaporation under mild vacuum is a common practice for the concentration of the collected fractions (Bisht H., et al., 2013, Soulgani S., B. Tohidi, 2011).

The present paper considered compositional studies on heavy fuel fractions and affect of different polar solvents under content of arene hydrocarbons.

Experimental

For the purpose of this paper several standard heavy fuel fractions from Bulgarian origin are used. They are called sample 1, 2, 3, 4, 5 and sample 6, respectively. The exploration characteristics of heavy fuel fractions are given in Tables from 1 to 6.

Table 1. Exploration characteristics of heavy fuel fraction – sample 1 /S-1/

	Parameters	value
1	Density at 15 °C, kg/m ³	849,0
2	Distillation characteristics	
	-i.p., °C	305
	-10 %, °C	325
	-20 %, °C	345
3	Sulfur content, %	0,17
4	Asphaltene content, %	0,42

Table 2. Exploration characteristics of heavy fuel fraction – sample 2 /S-2/

	Parameters	Value
1	Density at 15 °C, kg/m ³	864,0
2	Distillation characteristics	
	-i.p., °C	310
	-10 %, °C	328
	-20 %, °C	356
3	Sulfur content, %	0,20
4	Asphaltene content, %	0,48

Table 3. Exploration characteristics of heavy fuel fraction – sample 3 /S-3/

	Parameters	Value
1	Density at 15 °C, kg/m ³	875,0
2	Distillation characteristics	
	-i.p., °C	315
	-10 %, °C	330
	-20 %, °C	360
3	Sulfur content, %	0,22
4	Asphaltene content, %	0,54

Table 4. Exploration characteristics of heavy fuel fraction – sample 4 /S-4/

	Parameters	Value
1	Density at 15 °C, kg/m ³	889,6
2	Distillation characteristics	
	-i.p., °C	319
	-10 %, °C	337
	-20 %, °C	360
3	Sulfur content, %	0,24
4	Asphaltene content, %	0,54

Table 5. Exploration characteristics of heavy fuel fraction – sample 5 /S-5/

	Parameters	Value
1	Density at 15 °C, kg/m ³	904,6
2	Distillation characteristics	
	-i.p., °C	325
	-10 %, °C	349
	-20 %, °C	360
3	Sulfur content, %	0,26
4	Asphaltene content, %	0,66

Table 6. Exploration characteristics of heavy fuel fraction – sample 6 /S-6/

	Parameters	Value
1	Density at 15 °C, kg/m ³	914,0
2	Distillation characteristics	
	-i.p., °C	335
	-10 %, °C	355
	-20 %, °C	-
3	Sulfur content, %	0,29
4	Asphaltene content, %	0,70

The used from us polar solvents are chosen by their polarity, literature and industrial application. We used solvent such as: *n*-pentane, *n*-hexane, cyclohexane, toluene, acetone, methanol and ethanol.

Because asphaltenes can irreversibly absorb to the stationary phase, the first step of the procedure is to precipitate the asphaltene fraction with an excess of alkane solvent - *n*-pentane, *n*-hexane. After deasphalting the fraction that remains dissolved) then successively passed through two percolation columns which are connected in series with the upper column containing Al_2O_3 and the lower one having Al_2O_3 at the top and silica gel at the bottom. The sample solution in pentane or *n*-hexane is added at the top of the upper column. *n*-Pentane or *n*-hexane is then used to elute saturates from Al_2O_3 and silica, leaving polar compounds on the Al_2O_3 and aromatics on the silica. After removing residual aromatics from the Al_2O_3 adsorbent by washing with *n*-pentane or *n*-hexane, then at the top upper column cyclohexane is added to elute cycloalkanes and more weight saturates, polar are desorbed with toluene, acetone, methanol and ethanol. Saturates and polars are determined gravimetrically by complete evaporation of solvents. The amount of aromatics is calculated by difference.

The obtained experimental data are presented in figures 1 and 2. In figure 3 is shown the dependency of arene content from the density of raw material.

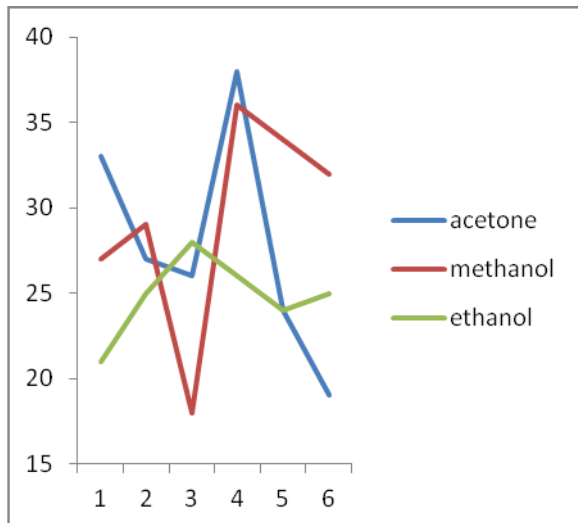


Fig. 1. Dependency of solvent nature on the yield of polar compounds

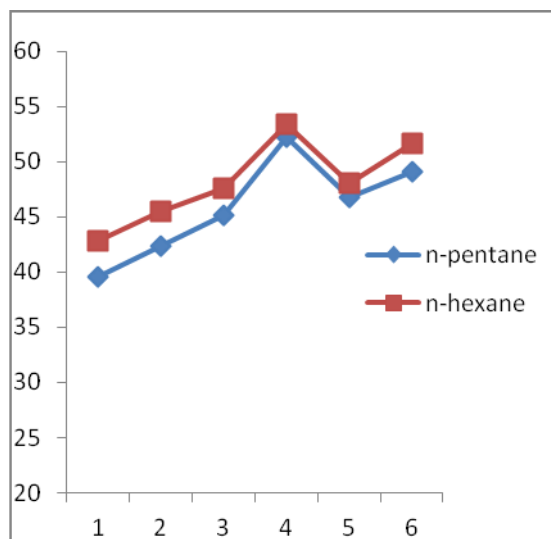


Fig. 2. Dependency of solvent nature on the yield of saturates

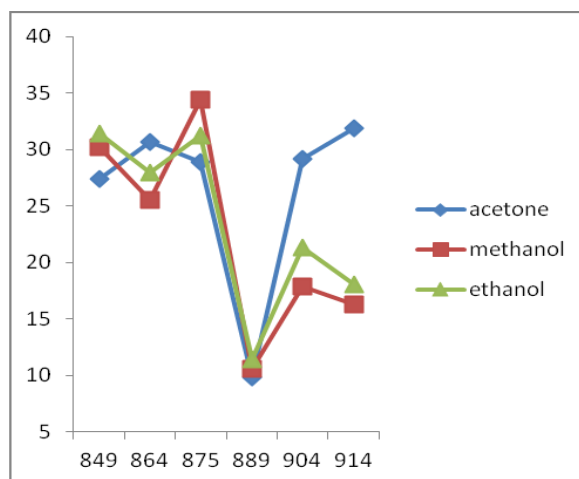


Fig. 3. Dependency of arene content from the density of investigated heavy fuel fractions

It's established that the selected solvents eluted saturates and resins from heavy fuel samples. The best results are obtained with solvent ethanol.

As can be seen from figure 3 the increasing of density of investigated samples haven't been affected under arene content. The dependency of arene content from density of investigated heavy fuel fractions have been non linear.

Conclusion

The investigations of composition of six heavy fuel fraction were done. The obtained experimental data was shown percent content of saturate, polars and arene content. It's estab-

lished that ethanol adsorb polar compounds better than acetone and methanol.

Reference

1. Adams J., J. Schabron, R. Boysen, 2015 "Quantitative vacuum distillation of crude oils to give residues amenable to the asphaltene determinator coupled with saturates, aromatics, and resins separation characterization", *Energy & Fuels*, 29 (1), pp. 2774-2779.
2. Adebisi M., V. Thoss, 2014 "Organic and elemental elucidation of asphaltene fraction of Nigerian crude oils", *Fuel*, 118 (4), pp. 426-433.
3. Anand V., R. Freedman, 2012 "New method for predicting properties of live oils from NMR", *Petrophysics*, 53 (3), pp. 256-271.
4. Aske N., J. Sjöblom, 2002 "Water-in-crude oil emulsion stability studied by critical electric field measurements. Correlation to physico-chemical parameters and near-infrared spectroscopy", *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 36 (1), pp. 1-17.
5. Bisht H., M. Reddy, M. Malvankar, et al., 2013 "Efficient and quick method for saturates, aromatics, resins, and asphaltenes analysis of whole crude oil by thin-layer chromatography-flame ionization detector", *Energy & Fuels*, 27 (3), pp. 3006-3021.
6. Boysen B., J. Schabron, 2013 "The automated asphaltene determinator coupled with saturates, aromatics, and resins separation for petroleum residue characterization" *Energy & Fuels*, 27 (4), pp. 4654-4661.
7. Mansur E., A. de Melo, F. Lucas, 2012 "Determination of asphaltene particle size: influence of flocculant, additive, and temperature" *Energy & Fuels*, 26 (4), pp. 4988-4994.
8. Podgorski C., E. Corilo, V. Lobodin, et al., 2013 "Heavy petroleum composition. Compositional and structural continuum of petroleum revealed", *Energy & Fuels* 27 (1), pp. 1268-1276.
9. Santos G., W. Loh, V. Trevisan, 2014 "An overview of heavy oil properties and its recovery and transportation methods", *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 31 (4), pp. 571-590.
10. Soulgani S., B. Tohidi, 2011 "Modeling formation damage due to asphaltene deposition in the porous media", *Energy & Fuels* 25 (2), pp. 753-761.
11. Stratiev D., Iv. Shishkova, T. Tsaneva, M. Mitkova, D. Yordanov, 2016 "Investigation of relations between properties of vacuum residual oils from different origin and of their deasphalted and asphaltene fractions", *Fuel*, 170 (1), pp. 115-129

Име на автора/авторите Йорданка Ташева,
Тодор Паличев
Университет „Проф. д-р А. Златаров” - Бургас
Катедра „Индустиални технологии и мени-
джмънт”
гр. Бургас, 8010, бул. „Проф. Я. Якимов” 1

e-mail: jtasheva_2006@abv.bg



ХИРАЛНОСТТА ПРЕЗ ПОГЛЕДА НА ФАРМАЦЕВТА

Соня Иванова, Илиян Колев

CHIRALITY THROUGH THE EYES OF A PHARMACIST

Sonya Ivanova, Iliyan Kolev

ABSTRACT: Stereochemistry in pharmaceutical research and development is gaining increasing importance due to the fact that the 3D shape of drug molecules affects both their desired biological activity and clinical application.

More than 40 percent of the currently marketed and used medicines are mixtures of enantiomers and/or diastereoisomers. In most cases, single-enantiomer or diastereoisomer formulations can provide greater target selectivity and specificity, improved therapeutic responses and pharmacokinetic properties, and/or reduced side effects than a mixture of their enantiomers or diastereoisomers, respectively.

The current article reviews the nomenclature and chemistry of chiral drug compounds, emphasizing the differences between their biological, therapeutic, and pharmacological actions.

Acquirements in the stereochemistry of drug agents and their pharmacological manifestations will aid the practicing physician and pharmacist in assuring safe and effective drug therapy of his or her patients, and in providing optimal health outcomes.

Key words: chirality, drugs, pharmacy

Под хиралност се разбира присъщата за някои молекули конфигурационна¹ несъвместимост² с тази на техните огледални изображения. Като хирални се отъждествяват всички съединения, притежаващи асиметричен (хирален) въглероден атом – атом, чиито валенции са ковалентно ангажирани от четири различни по структура (функционалност) заместителя. Причината за възникването на конфигурационна изомерия най-лесно може да бъде открита в особеностите на молекул-

ната симетрия³, с която читателят може да се запознае в детайли, ползвайки посочената тук специализирана литература [1-3].

Присъща за хиралните съединения е способността за взаимодействие с плоскополяризираната светлина. Хиралните съединения предизвикват завъртане равнината на трептене на това лъчение в строго определена посо-

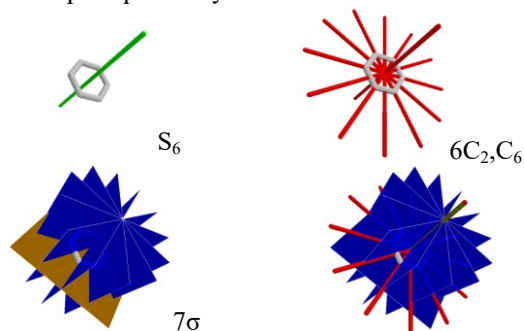
¹ Разположението на атомите (атомните групи) в пространството, без да се отчита тяхната ротация (конформация) относно единични връзки, се бележи като конфигурация. Познати са два типа конфигурация:

- абсолютна - действителната конфигурация на молекулата и

- относителна - конфигурацията на молекулата, отнесена напр. към тази на (R)-(+)-глицералдехида – еталонно природно съединение.

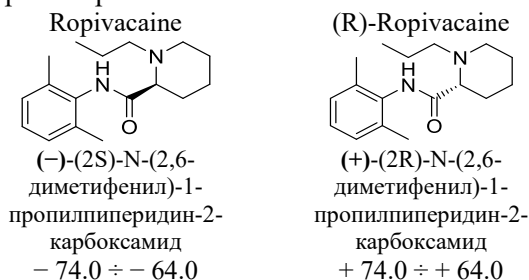
² Тук под несъвместимост се разбира невъзможността в обема на единия стереоизомер да бъде абсолютно точно вместен, при всички възможни начини на ориентиране, неговият структурно идентичен огледален антипод.

³ В някои молекули могат да бъдат открити един или няколко елемента на симетрия (ос – C, равнина – σ и център на симетрия – i), за които са приложими съответен брой симетрични операции (C_n , S_n , отражение (σ) и инверсия на еквивалентни атоми относно център на симетрия (i)). Повечето от елементите на симетрия могат да бъдат представени с пример молекулата на бензена:



ка и под точно определен ъгъл, проявявайки своята т. нар. специфична оптична активност. Отличителна за геометричните антиподи на всяко едно хирално съединение е способността им да завъртат равнината на плоскополяризираната светлина под един и същ по големина ъгъл, но в противоположни посоки – лява и дясна.

Абсолютната геомертчна изомерия се отбелязва с математичните оператори (+) и (-) и определя експериментално с помощта на поляриметър⁴:



Еквимоларната смес от хирални антиподи се нарича рацемат (рацемична смес). Рацематната⁵ смес е оптично неактивна ($[\alpha] = 0^\circ$) и отбелязва със символа ($\pm$).

Геомертчните стереоизомери са наричани още енантиомери. Относителната тяхна кон-

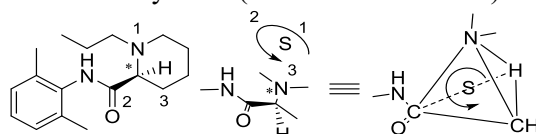
⁴ С помощта на поляриметър се определя специфичния за всеки един енантиомер ъгъл на оптично въртене:

$$[\alpha]_D^T = \alpha / l \cdot c,$$

където с $[\alpha]_D^T$ се отбелязва ъгълът на въртене, предизвикан от разтвор на енантиомера с концентрация 1g/cm³, поместен в тръба с дължина 10 см. В повечето случаи $\lambda = 589.3$ nm (D линията на Na), а $T = 20^\circ\text{C}$.

⁵ В газообразно и течно състояние, вкл. и в разтвор, рацемичната форма проявява сходство по физичните си показатели с тези на съставните ѝ енантиомери. Различия се наблюдават единствено в кристалното състояние, касаещи предимно температурите им на топене; настъпили в резултат на значими изменения в големините на междумолекулните сили на тяхно взаимодействие. Съществуват три вида твърди рацемични форми: конгломерати, рацемати и рацемично смесени кристали. Първите представляват смеси от енантиоморфни или хемиедрични кристални форми на отделни енантиомери, а вторите – хомоедрични молекулни съединения („комплекси“) на двата енантиомера. Рацемично смесените кристали се отъждествяват като „твърди“ разтвори на отделни енантиомери. Повечето рацемични лекарствени вещества проявяват много по-слабо изразено биологично действие от това на техния активен енантиомер. Такъв напр. е случаят с рацемичната смес на ефедриновия хидрохлорид (ефетонин).

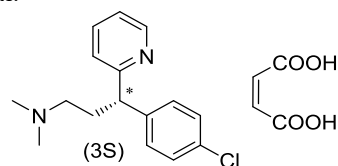
фигурация се определя съгласно възприетото от IUPAC правило на Кан-Инголд-Прелог (R,S-система) за проследяване посоката на намаляване на старшинството (атомната маса) на трите, ориентирани спрямо наблюдателя, „най-тежки“ C*-заместителя. В случаите, в които старшинството на заместителите намалява по посока на движението на часовниковата стрелка, конфигурацията на съединението се означава с главната латинска буква R (от лат. *rectus* - десен), а ако тя намалява в посока, обратна на движението на часовниковата стрелка, отбелязва с помощта на главната латинска буква S (от лат. *sinister* - ляв).



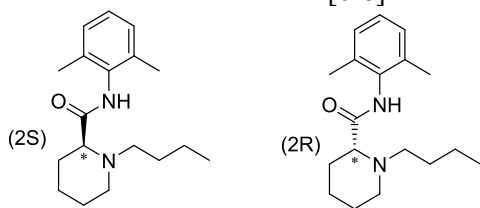
Не е необходимо и задължително условие абсолютната и относителна конфигурация на дадена хирална молекула да съвпадат по направление. Затова в практиката ние се сблъскваме и с четирите възможни типа конфигурационна изомерия: (R)-(+), (R)-(-), (S)-(+) и (S)-(-).

По своето фармакологично поведение, енантиомерите могат да проявят аналогично (агонистично)⁶, противоположно (антагонистично) или разширено по функционалност действие [4,5]. Така например S-изомерът на Bupivacaine Hydrochloride проявява наред с присъщата за неговия R-оптичен антипод анестетична активност и вазоконстриктивна такава. В този случай геометричната изомерия е факторът, който отхвърля необходи-

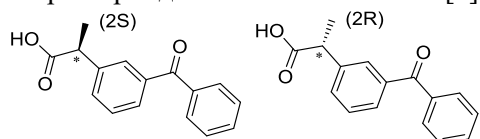
⁶ Във фармацевтичната практика е прието стереоизомерът с най-висока активност да се отбелязва като *еутомер* (*ютомер*), а този с най-ниска фармакологична активност като *дистомер*. Съотношението в потенциала на биологичното действие на двата стереоизомера се бележи като *еудисмично отношение*. Така например, за Dexchlorpheniramine Maleate е определено значително различие в потенциала на биологичното действие на двата негови стереоизомера, равняващо се на еудисмично отношение (S)-(+)/(R)-(-) от 200 единици. Именно затова в медицинската практиката дексхлорфенираминът се прилага само под формата на оптично чиста (S)-(+)-лекарствена субстанция.



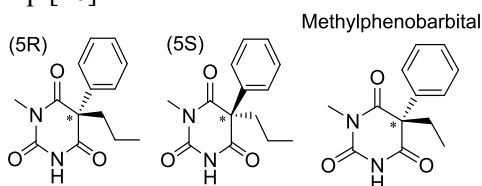
мостта от едновременно приложение на анестетик със симпатикомиметик [6-8].



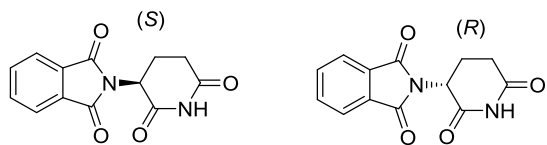
Редица държави въвеждат в обръщение единствено (S)-(+)-изомерът на Ketorprofen, проявяващ противовъзпалителна активност, а други, вкл. и държавите ползватели на *EU Pharmacopoeia*, допускат присъствието и на неговия (R)-(-)-антипод, проявяващ инхибираща активност спрямо загубата на костна тъкан при периодонтални заболявания [9].



Причината, която възпрепятства навлизането на 5-етил-1-метил-5-фенилпиридин-2,4,6 (1H,3H,5H)-триона (Methylphenobarbital-ов аналог) във фармацевтичната практика е проявяваният от неговите стереоизомери функционален анатагонизъм – седативен за (R)-(-)-енантиомер и конвулсивен за (S)-(+)-изомер [10].

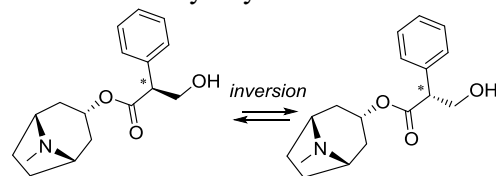


Тук е мястото да се представи и злощастния пример с лекарственото средство Thalidomide - седативен и сънотворен медикамент, допуснат на търговския пазар през 1957 г. от немския фармацевтичен концерн *Chemie Grünenthal*. Непосредствено след впускането му в продажба, талидомидът проявява своя (нерегистриран върху опитни животни) тератогенен ефект. Броят на новородени с малформации, причинени от употребата на този медикамент надхвърля 10 000. Детайлни изследвания доказват, че единствено S-изомерът на това лекарствено съединение има касателство с този трагичен инцидент. Въпреки това, в продажба не е допуснат енантиомерно пречистеният R-талидомиден антипод по причина, че в *in vivo* условия той лесно променя своята конфигурация [10]:



Процесът на изменение (обръщане) конфигурацията на всеки енантиомер се отбелязва като инверсия. Напр.:

Hyoscyamine

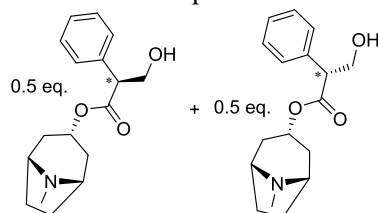


Specific optical rotation:
- 24 to - 29

(1R,3r,5S)-8-метил-8-азабикло[3.2.1]окт-3-ил
(2S)-3-хидрокс-2-фенилпропаноат

Инверсията е равновесен процес, чийто краен реакционен продукт представлява екви-моларна смес от два енантиомера – този на изходния и продуктен антипод [11]. Напр.:

Atropine⁸

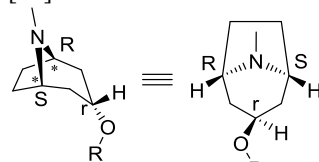


Optical rotation: - 0.50° to + 0.05°

(1R,3r,5S)-8-метил-8-азабикло[3.2.1]окт-3-ил
(2RS)-3-хидрокс-2-фенилпропаноат

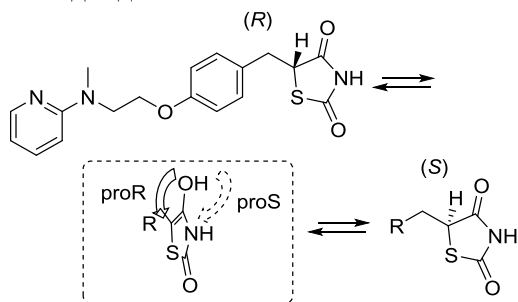
В редица случаи инверсията се осъществява при нормални условия, а в други – в резултат на изменение на някои от параметрите на

⁷ Общоприето е с латинските букви *r* и *s* да се отбелязва относителната конфигурация на псевдоасиметрични въглеродни атоми – атоми, съдържащи двойка идентични по структура, но с противоположна конфигурация заместители. Относителната конфигурация на псевдоасиметрични атоми се определя съгласно въведените от Кан, Инголд и Прелог правила, според които приоритетът на идентичните по своята молекулна маса и структура радикали се приема от R-конфигурационния заместител [11].



⁸ Атропинът е съединение с вторичен произход. Като вторични се отбелязват тези природни съединения, чийто строеж / конфигурация се променя в хода на тяхната екстракция от растителния материал.

реакционната среда (рН, температура и т.н.). „Височината“ на енергетичната бариера на инверсионната реакция се определя предимно от електрон-детерминиращи фактори – присъствие на електрон-акцепторни заместители, наличие на резонансно-стабилизиращи радикали и др. Като пример за това може да бъде представена молекулата на Rosiglitazone⁹ - лекарствено съединение, чиито енантимерно чисти водни разтвори инвертират мигновено дори и в отсъствието на каталитични промотори. Инверсията в случая се детерминира от налични електроотрицателен S-атом и електронакцепторна карбонилна група, ефектът от комбинираното действие на които предопределя високата подвижност на тиазолидиндионовия Н-атом:



Еквимоларният добив на двойка S и R енантиомери се обуславя от факта, че инверсията на тиазолидиндионовия радикал се осъществява посредством синтеза на прохирален хетероциклен енолов интермедиат.

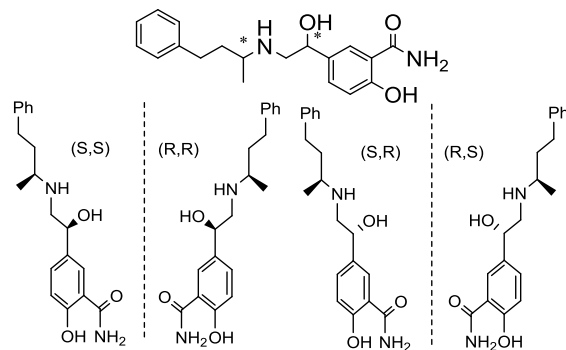
В случаите, при които в състава на дадено органично съединение присъства повече от един асиметричен въглероден център, то в тях освен разгледаната вече енантиомерия се проявява и т. нар. σ -диастереоизомерия¹⁰.

⁹ Росиглитазонът е хипогликемично лекарствено средство, представител на групата тиазолидиндиони - селективни агонисти на γ -PPAR ядрени рецептори.

¹⁰ σ -диастомерите се различават помежду си не само по големината на ъгъла на оптично въртене, но също и по големините на своите физични показатели - т.т., т.к., разтворимост, абсорбционна способност и др.

Допълнително указание за пространствената организация (позициониране) на еквивалентни или „тежки“ (старши) заместители относно оста на валентната връзка, обединяваща съседно разположени асиметрични въглеродни атоми, се постига с помощта на представките *трео*- и *еритро*- (понятия, произлизащи от наименованията на въглехидратите *треоза* и *еритроза*). Представката *еритро*- е указание за еднопосочната ориентация на приоритетни (старши) заместители, а представката *трео*- - за тяхната срещуположна ориентация

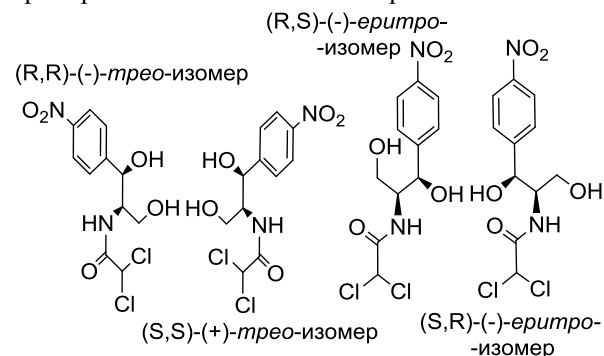
В качеството на пример може да бъде представена стереохимичната особеност на молекулата на Labetalol – антихипертензивен агент, носител на двойка асиметрични C атоми:



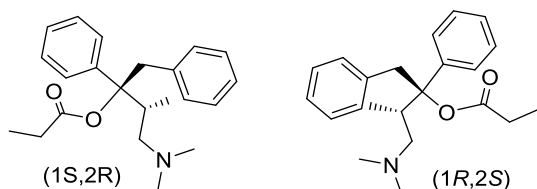
Известно е, че (R,R)-стереоизомерът на Labetalol проявява характерния за високоселективни β -адренергични блокери фармакологичен ефект, докато биологичното поведение на неговия (R,S) антипод - това на не-селективни α -адренергични блокери. Останалите два оптично-активни (S,S) и (S,R) стереоизомера проявяват изключително ниска биологична активност, а присъствието им в състава на лекарствения продукт се отбелязва като изомерен баласт.

Различен профил на биологично действие проявяват и енантиомерите на 4-(диметиламино)-3-метил-1,2-дифенилбутан-2-ил пропионата - (1R,2S)-(+)-Dextropropoxyphene Hydrochloride и (1S,2R)-(-)-Levopropoxyphene Hydrochloride [10].

[11]. Настоящото може да бъде илюстрирано на примера на антибиотика Chloramphenicol:



Установено е, че фармакологична активност проявява единствено (R,R)-треоизомерът на хлорамфеникола. За разлика от него, (S,S)-треоизомерът не проявява антибактериална активност, а двойката еритроизомери – подчертено хепатотоксично действие [10].



Двата енантиомера намират терапевтично приложение и се предлагат като медикаменти с различна клиникотерапевтична принадлежност: Dextropropoxyphene Hydrochloride е опиоиден аналгетик, а Levopropoxyphene Hydrochloride – антитусивен агент.

В заключение можем да кажем, че познанията на фармацевта относно стереохимията на лекарствените вещества могат да изиграят важна роля за разбирането на фармакологичните ефекти на един немалък брой лекарствени представители.

Изложеното тук има за цел да запознае медицинските специалисти с основите на хиралността на молекулното ни обкръжение и да привлече интересите им към тази немаловажна научна област.

Литература

1. Тютюлков, Н.; Дитц, Ф. (2011) Симетрия Строеж и свойства на молекулите. София, Изд. „Изкуства“.
2. Hargittai, M.; Hargittai, I. (2009) Symmetry through the Eyes of a Chemist. Netherlands, Springer.
3. Hochstrasser, R.M. (1966) Molecular Aspects of Symmetry. New York, WA Benjamin.
4. Patil, P. A., Kothekar M. A. (2006) Development of Safer Molecules Through Chirality. *Indian J. Med. Sci.*, 60, 10: 427-37.
5. McConathy, J., Owens, M.J. (2003) Stereochemistry in Drug Action. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*, 5, 2: 70–73.
6. Bardsley, H., Gristwood, R., Baker, H., Watson, N., Nimmo, W. (1998) A comparison of the cardiovascular effects of levobupivacaine and rac-bupivacaine following intravenous administration to healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 46: 245-9.
7. Ivani, G., Borghi, B., van Oven, H. (2001) Levobupivacaine. *Minerva Anesthesiol.*, 67: 20-3.
8. Casati, A., Baciarello, M. (2006) Enantiomeric local anesthetics: Can ropivacaine and levobupivacaine improve our practice? *Curr. Drug Ther.*, 1: 85-9.
9. McGurk, M., Robinson, P., Rajayogeswaran, V., De Luca, M., Casini, A., Artigas, R., Munoz, G., Mauleon, D. (1998) Clinical comparison of dexketoprofen trometamol, ketoprofen, and placebo in postoperative dental pain. *J Clin Pharmacol*, 38, 12: 46S–54S.
10. Silverman, R.; Holladay, M. (2014) The organic chemistry of drug design and drug action. Amsterdam, Elsevier.
11. Eliel, E.; Wilen, S.; Mander, L. (1994) Stereochemistry of organic compounds. New York, John Wiley and Sons.

гл. ас. Илиян Н. Колев, д.х.

Медицински университет “Проф. д-р Параскев Стоянов” Варна
Факултет по фармация,
Катедра „Фармацевтични науки и фармацевтичен мениджмънт“
гр. Варна, п.к. 9000
ул. "Цар Освободител" 84
ilian.kolev@mu-varna.bg

маг. фарм. Соня Й. Иванова
Аптека „ПОЛИ“, ПОЛИМЕКС ЕООД
гр. Варна, п.к. 9000
sonya.j.ivanova@gmail.com



КАРОТЕНОИДИ – ХИМИЯ, АНАЛИЗ, ПРИЛОЖЕНИЕ

Соня Иванова, Илиан Колев

CAROTENOIDS – CHEMISTRY, ANALYSIS, APPLICATION

Sonya Ivanova, Iliyan Kolev

ABSTRACT: Carotenoids are naturally occurring organic pigments which are produced by plants and algae, as well as some bacteria and fungi. There are over 1000 known natural carotenoids with a different chemical composition and distribution. Carotenoids are commonly divided into two major classes - xanthophylls (oxygen-containing carotenoids) and hydrocarbon carotenoids or carotenes. In general, carotenoids absorb photons of green, blue, and violet wavelengths and reflect red, yellow, and orange ones.

In plants and algae, carotenoids serve commonly as compounds - photoabsorbers in the visible range with contribution to the photosynthetic act, and as (photo- and oxido)protectors of chlorophyll.

Today, carotenoids are mainly used in food industry and medicine. Approximately 10% of the carotenoids, consumed as food nutrients, can function as precursors of vitamin A or its functional derivatives. Carotenoids as well as retinoids exhibit a wide spectrum of biological activities. Usually they act as effective antioxidants, inhibitors of malignant tumour growth, inducers of apoptosis, effectors of cell growth, and as modulators of gene expression and immune response.

In this article, we briefly describe both the biological and immunological activities of the main carotenoids, and some of their key toxicological and pharmacopoeial features. A special attention is also paid to the physico-chemical properties of some pharmacopoeial carotenoids and their analysis.

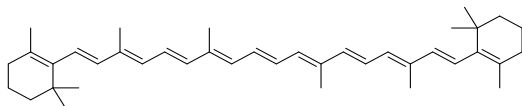
Key words: carotenoids, drug, pharmaceutical analysis

Каротеноидите са растителни пигменти, тетратерпенови производни, представени от множество, различаващи се както по структура, така и по брой и тип функционални групи съединения. Каротеноидите притежават отличителни структурни особености - молекулна симетрия и наличие на специфичен полиметилзаместен полиенов остатък. При някои каротеноиди краищата на полиеновата верига завършват с шестчленни (или петчленни) въглеродородни пръстени, а при други се запазва линейният характер на тяхната основна въглеродородна верига. Наличието на пролонгирана система от делокализирани двойни връзки по дължината на въглеродородната верига на каротеноидите е причината те да абсорбират част от електромагнитно лъчение от видимата област и обособят като пигментни съединения. Установено е, че както интензитета, така и оцветяването на отделните каротеноиди зависи от броя на спрегнати двойни връзки и наличието на ауксохромни групи – кислородсъдържащи радикали.



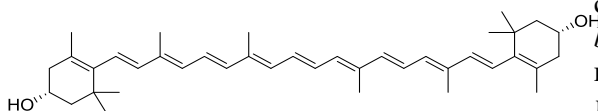
¹ Каротеноиден пигмент, определящ цвета на плодовете на някои растения, като домати, гуава, диня и пр. Неразтворим е във вода, но в присъствието на растителни мазнини формира мицели, които лесно достигат до стената на тънките черва и адсорбират от ентероцитите по пътя на пасивната дифузия. Формираните от ентероцитите ликопин-съдържащи хиломикроци достигат кръвния поток, осигурявайки 40%-на бионаличност от приетия с храната ликопин. В кръвта ликопинът се пренася от липопротеини с ниска плътност, за разлика от други антиоксиданти, с което до голяма степен се обяснява важността му в защита при оксидативен стрес. Ликопинът се използва във фармацевтичната и козметична индустрия като биологично-активна хранителна добавка (антиоксидант) и оцветител (E 160d).

² Каротенът (от лат. *carota* - морков) е жълто-оранжев пигмент, съдържащ се в листата на всички растения, а също и в кореноплодите на морковите, плодовете на шипката и др. Регистриран е



По аналогия с терпените, О-съдържащите каротеноиди се означават с общо тривиално наименование – *ксантофили*. Кислородният атом обикновено влиза в състава на хидроксилна, епоксидна или карбонилна функционална група.

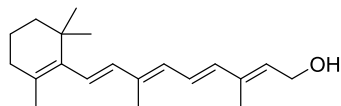
Зеаксантин³



Каротеноидите се съдържат в хлоропластите и хромопластите на растителната клетка. Тяхното присъствие във фотосинтетичния реакционен център обезпечава нуждите от енерго-преносими участници. Каротеноидите инхибират (гасят) също така и действието на фотосинтетично генерирани силно реактивоспособни O_2 форми [4-6].

Значението на каротеноидите в животинския свят

Каротенът е биосинтетичен предшественик на ретинола (витамин А).



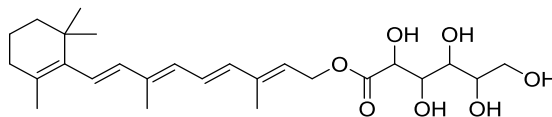
*all*⁴-(E)-3,7-диметил-9-(2,6,6-триметилциклохекс-1-енил)нона-2,4,6,8-тетраен-1-ол

като хранителна добавка E160a. Каротенът инхибира производството на свободни радикали, с което предпазва клетките на имунната система [1]. β -Каротенът е естествен имуностимулант с неспецифично действие. Повишава имунния капацитет на организма, независимо от вида на постъпилите в организма антигени. Установено е, че при подложени на пероксиден стрес лица, каротенът предизвиква значително нарастване на броя на Т-лимфоцити и Т-хелпери [2].

³ Зеаксантинът е един от най-често срещаните ксантофили в природата. Той е пигмент, на който се дължи оцветяването на червения и жълт пипер, царевича, шафрана и много други плодове и зеленчуци. Зеаксантинът е един от двата каротеноида, присъстващи в ретината. Използва се като багрилен компонент в хранителната промишленост (E161h), а във фармацевтичната практика, като добавка, превентор в развитието на макуларно-дегенеративни процеси.

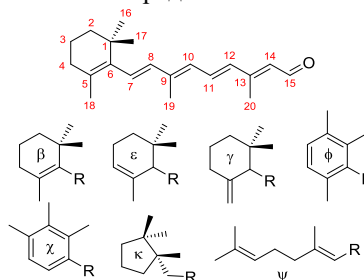
В лигавицата на тънкото черво и черния дроб, под влияние на ензима каротеназа (β -каротен 15-15'-монооксигеназа), молекулата на β -каротена претърпява окислителна деструкция, формирайки удвоено количество ретинол⁵. Синтезираният витамин се превръща в естер и депонира в черния дроб. При необходимост (в случаите на хиповитаминоза) последният се освобождава от чернодробните депа и хидролизира в кръвта до ретинол. Освободеният ретинол се свързва на свой ред със специфични плазмени протеини (*retinol binding pr1,25 smotein (RBP)*), с помощта на които се осигурява неговата тъканна бионаличност.

Ретинолът се екскретира под формата на глюкуроконюгат посредством жлъчката и урината.

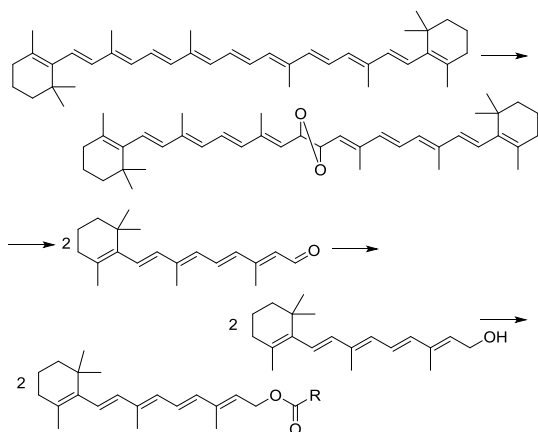


На следната схема е представен маршрутът, по който се осъществява биосинтеза на дитерпеноида ретинол:

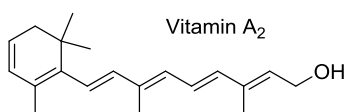
⁴ Представката *all* дава указание за идентичната конфигурация на всички налични двойни връзки в структурата на ретинола. Номерирането на въглеродните атоми в молекулата на ретинола се осъществява по общоприетия класически вариант, съгласно който цифреното означение започва от циклохексенيلовия С-атом, носител на двойка геминални метилови радикала:



⁵ Изолиран за пръв път от Елмър В. Макколъм и М. Дейвис (1912 ÷ 1914 г.).

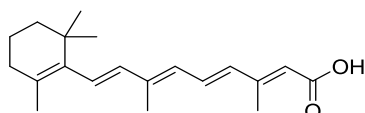


В природата се среща също и дехидроаналога на ретинола, познат като ретинол A_2^6 , с приблизително два пъти по-ниска от тази на ретинола активност.

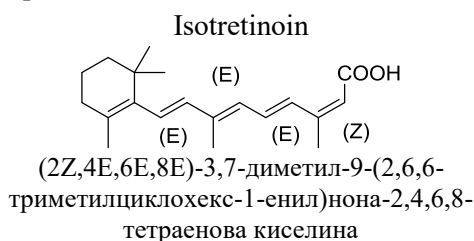


Дехидроретинолът абсорбира УВ лъчение с максимум при $\lambda = 351\div 352$ нм. По аналогия с ретинола, този витамин формира с антимония трихлорид цветно органометално съединение с абсорбционен максимум при 690 нм [7].

Впоследствие е открито и съединение, наподобяващо на ретинола, но с приблизително три пъти по-ниска от него активност, познато като ретинолова киселина.



Ретиноловата киселина е метаболит на ретинола. Значителна фармакологична активност проявяват следните два нейни стереоизомера:

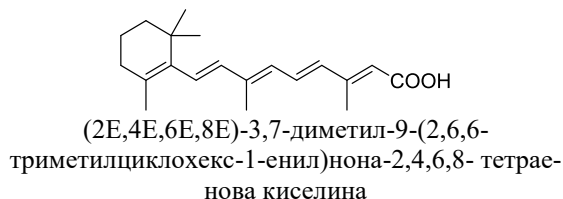


Изотретионинът осъществява терминалния стадий от диференцирането на кератиноцити. Оказва въздействие върху чревната микрофлора, нарушава експресията на гени, отговорни за синтеза на различни видове протеини и редуцира секрецията на масти от мастните жлези. Ретиноидът намира приложение в те-

⁶ Открит в черния дроб на сладководни риби.

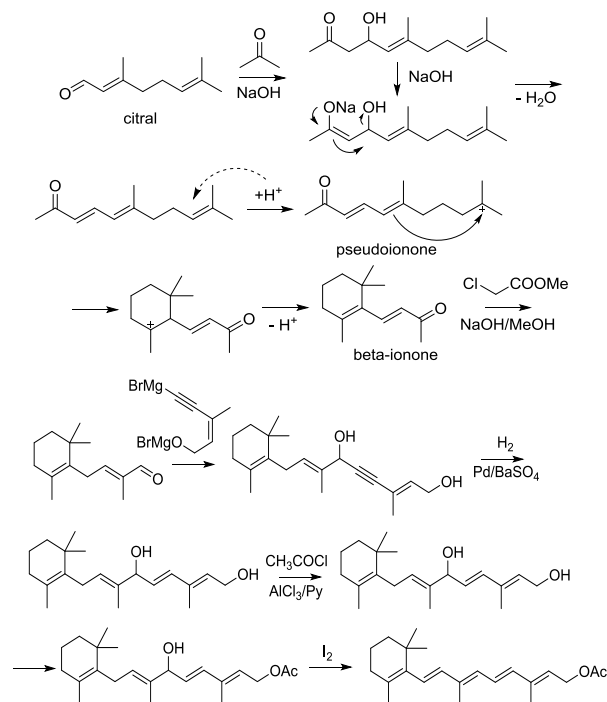
рапията на тежки форми на акне (нодуларно или конфлуиращо акне), ихтиоза, синдром на Арлекин и др. Прилага се също и в терапията на плоскоклетъчен карцином (*squamous cell carcinoma*).

Tretinoin



Третиноинът е антинеопластичен лекарствен медикамент, успешно прилаган в случаите на остра промиелоцитна левкемия (обикновено, когато терапията с антрациклини бива безуспешна). Използва се също и за лечение на по-тежки форми на *Acne vulgaris* (II-III стадий), съпроводени с появата на папули и пустули.

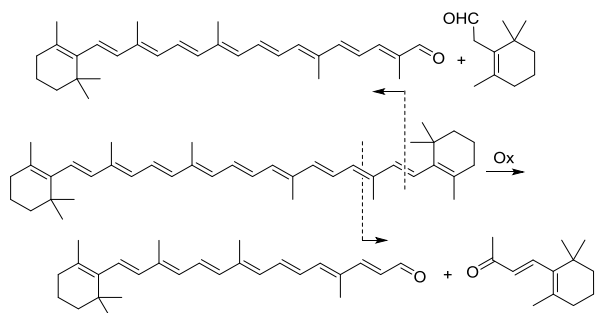
Днес ретинолът се получава по синтетичен път, където, в качеството на прекурсор се използва природното съединение цитрал⁷:



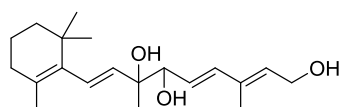
Лабораторният синтез не оползотворява β -каротен по причина, че окислението му не се

⁷ Ациклически монотерпен, съдържащ алдехидна функционална група. Съществува под формата на два изомера – гераниал (Е-изомер) и нерал (Z-изомер). Цитралът присъства в състава на множество етерични масла.

осъществява с необходимата региоселективност:



В тази връзка трябва да се отбележи, че частичното окисление на ретинола поражда формирането на продукти с антивитаминозна активност:



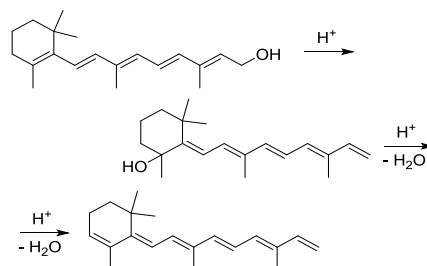
Ретинолът участва в протеиновия обмен на кожата и лигавиците, а също в синтеза на светлочувствителния мембранен хромобелтъчен комплекс родопсин⁸ [7].

Ретинолът стимулира също и синтеза на полови хормони и кортикостероиди, с което се обяснява неговият стимулиращ растежа ефект; повишава също и устойчивостта на организма спрямо ниски температури и инфекциозни заболявания. Дефицитът на ретинол води до изменение концентрационното равновесие между метионин и цистеин в епителните клетки, с което се повишава тяхната склонност за вродяване и ранимост. При хипо- и авитаминоза А се наблюдават керато-за (по кожата и лигавиците), бавно зарастване на раните и отслабване на съпротивителните сили на организма спрямо инфекции [6,8].

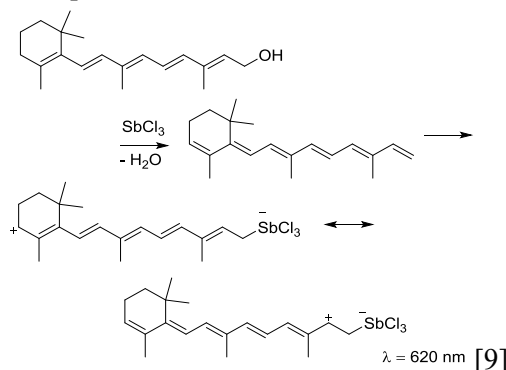
Ретинолът и ретиноловата киселина играят решаваща роля в процесите на генна експресия и цялостното развитие на ембриона. Дефицитът или излишъкът на ретиноиди може да доведе до ранен ембрионален леталитет или малформации по време на ембриогенезата [6, 8].

В присъствието на концентрирана сярна киселина, ретинолът дава интензивно синьо

оцветен продукт, познат под наименованието анхидроретинол А [7].



Взаимодействието на витамина с SbCl_3 в среда от хлороформ поражда формирането на устойчиво цветно органометално съединение. Реакцията е наименувана в чест на нейните откриватели - Кар и Прайс. Днес, тя намира успешна утилизация в качествения и количествения ретинолов анализ.



Ретиноловият ацетат, пропионат и палмитат лесно фотоизомеризират и се окисляват лесно в присъствието на атмосферен кислород. Химическата им неустойчивост налага те да бъдат съхранявани в съдове с максимална херметизация, а въвеждането им в тях да става под азотна атмосфера. Ретиноидите проявяват максимална структурна стабилност при съхранение при ниска температура. Наличието на примеси, които са най-често продукти на нежелано окисление, се установява посредством спектрофотометрирането на ретинолови разтвори при 300, 311.5, 326, 337 и 360 nm [10].

Каротеноидите спомагат за правилното функциониране на изключително голям брой важни за нашия организъм биологични процеси. Познанията ни за тях следва да спомогнат за грижата, която трябва да окажем за всеки пациент. Макар и в чисто академичен стил, представения тук научен материал, следва да посочи основните аспекти от фармакологичното действие на тези съединения и постави в резюме бележки, касаещи химията и анализа на фармакопейни каротеноиди.

⁸ Родопсинът осигурява адаптацията на окото спрямо нискоинтензивна светлина и затова в случаите на хипо- и авитаминоза А се наблюдават хемалопия (кокоша слепота), нарушена адаптация и нарастващо отслабване на зрението.

Литература

1. Santos, J.D., Russell, R.M., Meydani, M., Hennekens, C.H., Gaziano, J.M., Meydani, S.N. (1997) Short- and long-term beta-carotene supplementation do not influence T cell-mediated immunity in healthy elderly persons. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 66,4: 917-24.
 2. Sampliner, R.E., Watson, R.R., Garewal, H.S., Prabhala, R.H., Hicks, M.J. (1991) The effects of 13-cis-retinoic acid and beta-carotene on cellular immunity in humans. *Cancer*, 67,6: 1556-60.
 3. Milani, A., Basirnejad, M., Shahbazi, S., Bolhassani, A. (2017) Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. *Br J Pharmacol.*, 174,11: 1290-1324.
 4. Rock, C.L. (1997) Carotenoids: biology and treatment. *Pharmacol Ther.*, 75,3: 185-97.
 5. Namitha, K.K., Negi, P.S. (2010) Chemistry and biotechnology of carotenoids. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 50,8: 728-60.
 6. Rodriguez-Amaya, D.B. (2015) Food Carotenoids: Chemistry, Biology, and Technology. New York, John Wiley & Sons.
 7. Мелентьева, Г. (1976) Фармацевтическая химия (I и II том), Москва, Медицина.
 8. Ламбев, И., Крушков, И. (2001) Фармакотерапевтичен справочник. София, Медицинско издателство „АРСО“.
 9. Kildahl-Andersen, G., Naess, S.N., Aslaksen, P.B.; Anthonsen, T., Liaaen-Jensen, S. (2007) Studies on the mechanism of the Carr–Price blue colour reaction. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 5,18: 3027-33.
 10. European Pharmacopoeia, Strasbourg: Council of Europe (2013) 8th ed., vol. 1 and 2.
-

гл. ас. Илиян Н. Колев, д.х.

Медицински университет “Проф. д-р Параскев Стоянов“ Варна

Факултет по фармация, Катедра „Фармацевтични науки и фармацевтичен мениджмънт“ гр. Варна, п.к. 9000

ул. "Цар Освободител" 84

ilian.kolev@mu-varna.bg

маг. фарм. Соня Й. Иванова

Аптека „ПОЛИ“, ПОЛИМЕКС ЕООД

гр. Варна, п.к. 9000

sonya.j.ivanova@gmail.com



АЛКЕНИ – ХИМИЯ И АНАЛИЗ

Илиян Колев

ALKENES – CHEMISTRY AND ANALYSIS

Iliyan Kolev

ABSTRACT: Alkenes are unsaturated hydrocarbons containing at least one carbon-carbon double bond. These compounds are also generically known as olefins or unsaturated hydrocarbons.

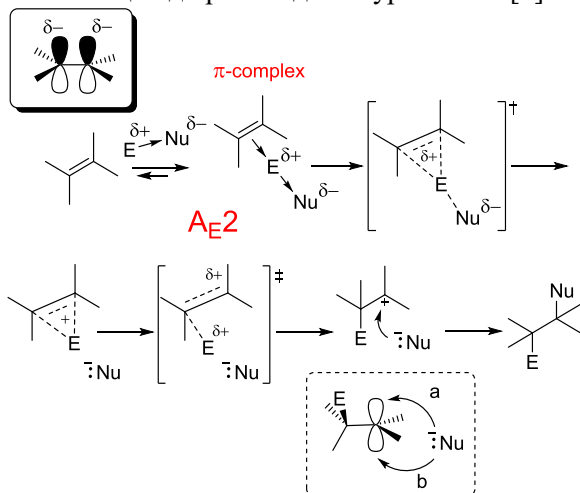
Being analytical subjects, alkenes should be put to undisputable qualitative control – a control, which is designed to give full confirmation of their structures in toto or, partially, of their peculiar unsaturated structural elements.

On the whole, the pharmaceutical qualitative analysis is intended to confirm the identity of pharmaceutical raw materials at the so-defined “acceptable” level of security. Thus, a wide variety of color reactions and some other types of identity tests are included in the scope of the so-called “second identification” pharmacopoeial analysis.

In this article, we briefly describe the qualitative analysis of a wide variety of olefins. Attention is also paid to the chemical reactivity of some pharmacopoeial representatives.

Key words: alkenes, drug, pharmaceutical analysis

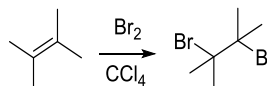
Присъщи за ненаситените въглеводороди са присъединителните реакции. В зависимост от избора на реакционни условия, взаимодействията от този тип могат да бъдат осъществени по йонен или радикалов механизъм. По-често срещани за алкени обаче, са присъединителните електрофилни реакции (A_E) по причина, че техните двойни връзки проявяват характерното за всяка една органична база нуклеофилно поведение. Механизмът на A_E реакция може да се изрази в най-общ вид чрез следното уравнение [1]:



В този тип взаимодействия участие приемат най-различни по структура електрофили и

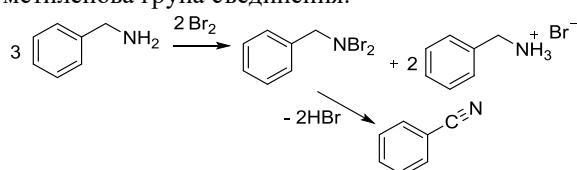
лесно поляризуеми съединения. За целите на качествения функционален анализ, най-често прилагана е реакцията на взаимодействие на алкени с молекулярен бром (Br_2)¹.

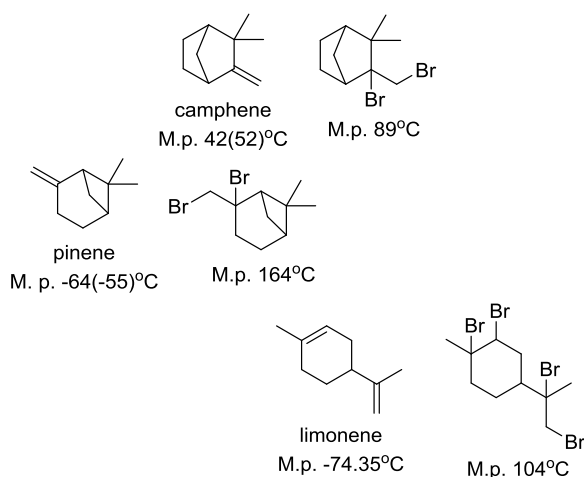
Обикновено анализът се осъществява в присъствието на незначително количество Br_2 , с което субстратът трябва да отреагира изчерпателно и да обезпечи обезцветяването на реакционния обем.



Идентификацията на получените вициални ди- и тетрабромпроизводни се осъществява сравнително лесно - по показателя температура на топене [2]:

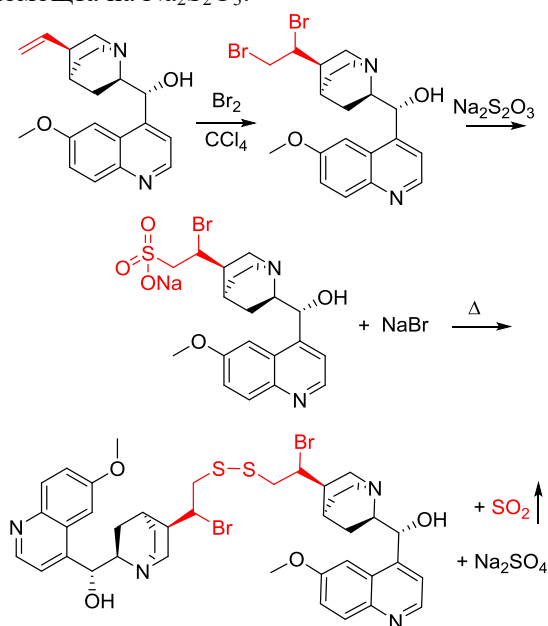
¹ Тетрахлорометанът е превъзходен за повечето неполярни и слабо полярни органични съединения разтворител. В CCl_4 се разтваря бромът, но не и HBr киселина – продукт на взаимодействието на Br_2 с феноли, естери и някои съдържащи активна метиленова група съединения:





Взаимодействието на алкени с молекулярен бром не е строго специфична реакция. Положителна контрола дават също така и повечето алкини (ацителени) и ароматни амини².

Съединения, съдържащи етиленов радикал отреагират по аналогичен с всички останали олефини начин с бромни молекули, формирайки вициални дибромопроизводни, присъствието на които лесно може да се установи с помощта на $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$:



Наличността на етиленови радикали по този метод се установява индиректно, а именно, по отделения и лесно проследим SO_2 [3].

Методът на алифатно бромане е претърпял множество модификации, целящи: 1. минимизиране на възможността за осъществяване

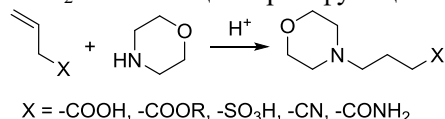
на заместителни реакции; 2. увеличаване на хемоселективността на използвания бромнен реагент спрямо изпитвания клас алифатни съединения и 3. редуциране на способността на бромни молекули да встъпват в окислителни реакции.

Може би един от най-екстравагантните подходи, с помощта на който се реализират повечето от посочените цели е този, предложен от Н. Р. Kaufmann през 1926 г. [4]. За целта, авторът използва *in situ* получения в резултат на смесването на еквимоларни количества Br_2 и KBr в среда от метанол Br_3^- бромращ агент. Огромният брой експериментални изследвания показват, че за разлика от елементния бром, трибромидният анион проявява значително по-висока селективност по отношение на изключително голямо многообразие ненаситени съединения, вкл. и такива с винилов тип структура, а също така и обособява като реагент със значително висока структурна стабилност и моларна наличност при съхранение и експериментална оползотворяемост (*viz* отсъствието на присъщата за бромни молекули летливост). Недостатъците на реагента се свързват с оскъдната му до отсъстваща реактивност по отношение на α,β -ненаситените съединения, съдържащи $-\text{COOH}$, $-\text{COOR}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{SO}_3\text{H}$ и $-\text{C}\equiv\text{N}$ електрон-акцепторни функционали и проявената от него известна окислителна реактивност спрямо молекулите на акролеина и неговите производни. Неочаквани смущения в хода на олефиновия анализ могат да възникнат в резултат на налични вторични алкохолни групи в състава на изследвания аналит, с които този реагент ще встъпи в окислително взаимодействие. Минимизирането на окислителния потенциал на Br_3^- спрямо указаните функционали се постига с поддържането на относително ниска реакционна температура $\leq -10^\circ\text{C}$. Установено е, че идентификацията на олефини, съдържащи първични и вторични аминогрупи, може да осъществи само след прибавянето на подходящо количество оцетна киселина към разтвора на KBr_3 [2].

Пиридиниево-сулфат-дибромидният метод ($\text{C}_5\text{H}_6\text{N} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{Br}_2$) [5] е разновидност на общия метод на алифатно бромане, обикновено приложим в случаите на слабо реактивоспособни алкени (вкл. и указаните по-горе α,β -ненаситени радикали). Склонността на реагента да встъпва в заместителни реакции се ограничава само в случаите, при които

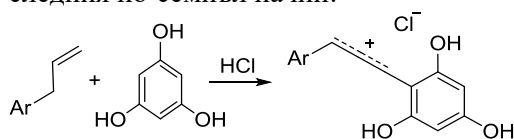
² С ароматни амини бромът встъпва в реакция на електрофилно заместване, формирайки HBr киселина и 4-бромоанилин – реакционни продукти, които взаимодействат помежду си и формират съответна амониева сол.

взаимодействието му с изпитвания анализ се осъществява в отсъствието на ярка светлина. Идентификацията на слабо реактивоспособни двойни връзки в състава на α,β -ненаситени съединения³ може да се осъществи и по метода на Critchfield, Johnson и Funk или т. нар. морфолинов метод [6], съгласно който морфолинът взаимодейства изчерпателно с ненаситения $H_2C=CH-$ акцепторен функционал.



Количественият анализ на Михаелов присъединителен продукт⁴ се осъществява сравнително лесно, с помощта на подходящи за целта титриметрични подходи (методи). Присъствието на етилакрилатни и метил метакрилатни онечиствания в състава на Ammonio Methacrylate Copolymer от тип А и В и Methacrylic Acid – Methyl Methacrylate Copolymer успешно може да бъде установено и количествено оценено с помощта на този аналитичен подход.

Присъствието на проп-2-енилови функционални групи (алилови радикали) в състава на лекарствени вещества може да се установи сравнително лесно с помощта на кондензационна реакция между тествания анализ и съединението флороглуцинол. Успешният ход на това взаимодействие се осъществява в присъствието на HCl киселина. Обикновено формираните реакционни продукти са червено-виолетово оцветени. Реакцията протича по сложен механизъм и с участието на атмосферен кислород, с който субстратът най-вероятно сформира пероксиден интермедиат. В значително голям брой литературни източници реакционното уравнение се представя по следния по-смпъл начин:

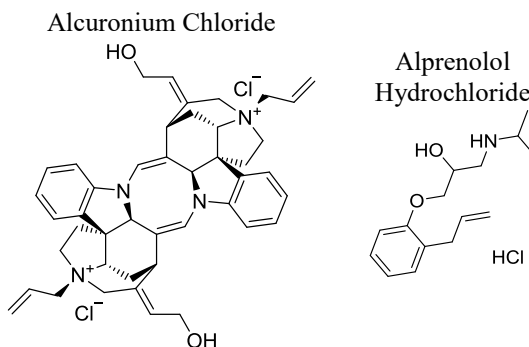


Altizide, Eugenol, Naloxone Hydrochloride Dihydrate, Oxprenolol Hydrochloride, Alcuronium Chloride и Alprenolol Hydrochloride са лекарствените съединения, в състава

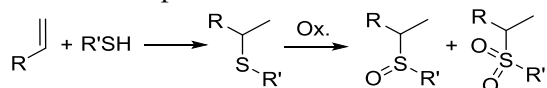
³ Методът е неприложим за анализа на следните съединения: $CH_2=CH-CHO$, $CH_2=CH-COR$ и $CH_2=CH-COOK(Na)$.

⁴ Реакцията е описана за пръв път от Arthur Michael през 1887 г. [7]. Днес, тя намира широко приложение във финия фармацевтичен синтез.

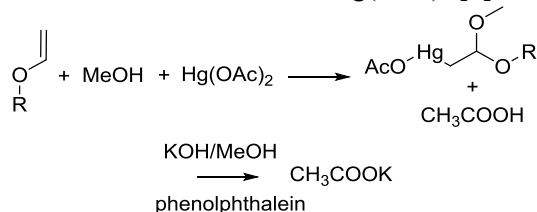
на които присъстват проп-2-енилови радикали.



Идентификацията на олефинови радикали, макар и по един твърде архаичен метод, може да се осъществи с помощта на меркаптани и тиофеноли. С тях алкените образуват устойчиви течни сулфидни кондензационни продукти, които в присъствието на слаби окислителни формират твърди по своето агрегатно състояние сулфонове продукти. Анализът на последните се осъществява сравнително лесно по техния физичен показател - Т.т.:

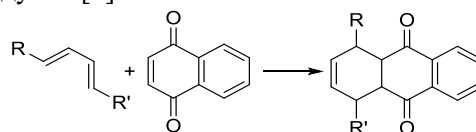


Присъствието на винилетерни радикали, а също така и тяхното количествено съдържание в състава на редица анализи, се установява с помощта на т. нар. меркуро-ацетатен метод. Днес употребата на този аналитичен подход е твърде ограничена, поради високата токсичност на използвания $Hg(OAc)_2$ [8].



Циклоприсъединяване по Дилс–Адлер

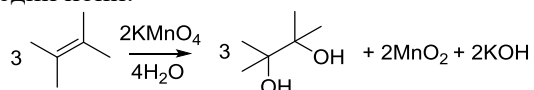
Алифатните въглеводороди, съдържащи спрегнати двойни връзки (диени), лесно встъпват в циклоприсъединителни реакции с диенофилни реагенти, такива каквито са „активирани“ молекули на 1,4-нафтохинона и малеиновия анхидрид, формирайки би- и трициклични утаечни кристални реакционни продукти [2]:



Окисление

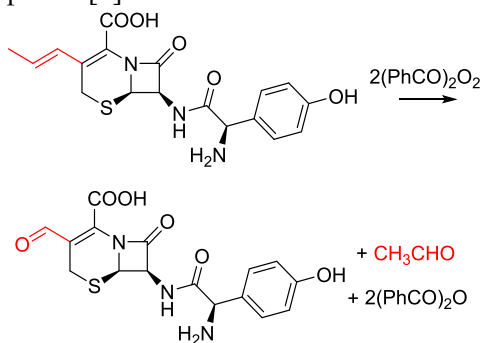
В окислителни реакции алкените участват предимно с налични свои π -връзки, но в ре-

дица случаи, наред с тяхното разлагане, се осъществява и хетеролиза на прилежащата им σ-връзка. „Степента“ на окисление се контролира лесно, посредством избора на окислител. За целите на груповия функционален анализ, често прилагана е реакцията на окисление на алкени с KMnO_4 (окисление по Байер). Взаимодействието на алкени с този реагент се осъществява сравнително лесно и при меки реакционни условия⁵. Присъствието на алкени в състава на изследваните разтвори се отчита по настъпилото моментално обезцветяване на използвания KMnO_4 разтвор (осъществена негова редукция) [9-11]. Продуктите на тази окислителна реакция биват вициални *cis*-диоли (гликоли) – съединения, хелатори на медни йони:

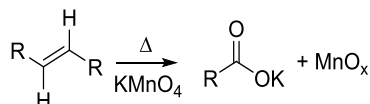


Алдехидите, мравчената киселина, алкохолите, фенолите, ароматните амини и меркаптани са съединения, които също така способстват редукцията на KMnO_4 [12].

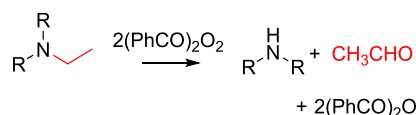
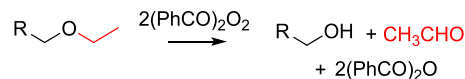
Лекарствените вещества, съдържащи проп-1-енилов радикал (Cefprozil Monohydrate, Anethole, Ioeugenol), лесно могат да бъдат идентифицирани посредством обработката им с бензоил пероксид. Целевият продукт в тази окислителна реакция е ацеталдехида – летливо съединение, чието присъствие в обема над реакционната среда лесно може да се идентифицира с помощта на импрегнирани на филтърна хартия натриев нитропрусид и морфолин [3].



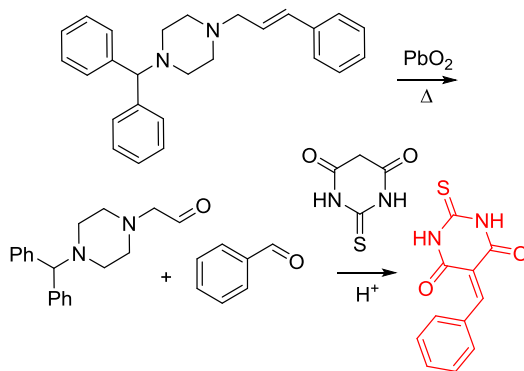
⁵ При нагряване окислението на алкени „продължава“, като участие в окислителния процес взема и C-C връзка. Продуктите на окисление на алкени при тези реакционни условия са карбоксилни киселини.



Анализът е неприложим за съединения, съдържащи алилов или винилов тип радикали. Трябва да се има предвид, че присъствието на етанол или О- и N-етил функционализирани съединения в състава на изследвания аналит могат да бъдат причина за появата на позитивен резултат в хода на тази качествена тест реакция при отсъствието на пропенилов радикал:



Идентификацията на бензал-съдържащи лекарствени съединения (Cinnarizine и Flunarizine Dihydrochloride) се осъществява с помощта на метод, ползващ окислителния потенциал на някои метални оксиди (PbO_2 , MnO_2 и др.) и „колоригенното“ действие на тиобарбитуровата киселина. В присъствието на оксид разглеждания тип съединения деструктират, формирайки еквимоларно количество бензалдехид и съобразно замесен етанал. Присъствието на бензалдехид се установява лесно с помощта на тиобарбитурова киселина, с която ароматният алдехид сформира червено оцветен кондензационен продукт:



Анализът е подходящ за идентификацията на цинамалдехид ((2E)-3-фенилпроп-2-енал) и α,β-ненаситените алдехида цитрал и кротоналдехид ((2E)-бут-2-енал).

Наличието на кратни връзки в състава на лекарствени молекули може да се установи коректно и с помощта на редица инструментални аналитични методи⁶.

Литература

1. Петров, Г. (1996) Органична химия. София, Университетско издателство „Св. Климент Охридски“.
2. Schenk, G.H. Magee, R.J. (1968) Organic Functional Group Analysis - Theory And Development. London, Pergamon.
3. Feigl, F. (1966) Spot Tests In Organic Analysis. Amsterdam, Elsevier.
4. Kaufmann, H.P. (1926) Weitere Versuche zur Bromometrie der Fette. *Z. Untersuch. Lebensm.*, 51: 3-14.
5. Rosenmund, K.W., Kuhmhn, W., Rosenberg-Gruszyński, D., Rosetti, H. (1923) *Z. Untersuch. Nahr. u. Genussm.*, 46: 154-59.
6. Critchfield, F.E., Funk, G.L., Johnson, J.B. (1958) Determination of Alpha, Beta-

Unsaturated Compounds by Reaction with Morpholine. *Anal. Chem.*, 28,1:76-79.

7. Michael, A. (1887) Ueber die Addition von Natriumacetessig- und Natriummalonsäureäthern zu den Aethern ungesättigter Säuren. *Journal für Praktische Chemie.*, 35,1: 349-356.
8. Johnson, J.B., Fletcher, J.P. (1954) *Anal. Chem.*, 26, 10: 1563.
9. Вергейчик, Е.Н. (2016) Фармацевтическая химия. Москва, МЕДпресс-информ.
10. Раменской, Г.В. (ред) (2015) Фармацевтическая химия. Москва, БИНОМ. Лаборатория знаний.
11. Беликов, В.Г. (2009) Фармацевтическая химия. Москва, МЕДпресс-информ.
12. Мелентьева, Г. (1976) Фармацевтическая химия (I и II том). Москва, Медицина.

⁶Широко приложение във фармацевтичния анализ намира UV-VIS (електронна) спектроскопия. Обикновено тя се използва за целите на експресния количествен и качествен (съдържание на примеси, наличие на продукти на окисление и т.н.) анализ на лекарствени съединения, съдържащи единични (изолирани) или спрегнати двойни връзки (т. нар. хромофорни групи). Получените с помощта на UV-VIS спектроскопия електронни спектри са относително семпли на вид, по причина на това, че в тях са отразени преходите между относително малък брой близко разположени молекулни електронни състояния. Формираните в резултат на UV-VIS молекулна абсорбируемост спектрални ивици, се характеризират със строго специфичен интензитет и положение (максимум на поглъщане) в отснетия спектър. Положението на максимума на ивицата съответства на дължината на вълната, респ. на енергията, необходима за осъществяването на електронния преход, а интензитетът на поглъщане се определя от способността (вероятността) за взаимодействие на електронната (молекулна) система с електромагнитното лъчение.

Именно затова, интензитетът и положението на максимума на ивицата на поглъщане в електронния спектър зависят не само от природата на изолирани молекулни химични връзки, но и от структурата на молекулата като цяло. Поради тази причина всяко едно химично съединение формира строго специфичен електронен спектър (електронен „отпечатък“).

гл. ас. Илиян Н. Колев, д.х.

Медицински университет “Проф. д-р Параскев Стоянов” Варна

Факултет по фармация, Катедра „Фармацевтични науки и фармацевтичен мениджмънт“ гр. Варна, п.к. 9000

ул. "Цар Освободител" 84

ilian.kolev@mu-varna.bg



РАЗТВАРЯНЕ НА БИОАКТИВНИ СЪТЪКЛА – ФАКТОРИ ПОВЛИЯВАЩИ ПРОЦЕСА И БИОЛОГИЧЕН ОТГОВОР

Таня Димова, Лъчезар Радев, Илиян Колев

DISSOLUTION OF BIOACTIVE GLASSES – FACTORS AFFECTING THE PROCESS AND BIOLOGICAL RESPONSE

Tanya Dimova, Lachezar Radev, Iliyan Kolev

ABSTRACT: В обзора са представени биоактивни материали като биоактивни стъкла и стъклокерамики при взаимодействието им с разтвори симулиращи телесна течност (SBF). Обърнато е по-специално внимание на факторите повлияващи разтварянето и на биологичните ефекти, до които водят отделените йонни продукти. Разглеждането на тези материали е свързано с бъдещи изследвания и установени специфични нужди в развиващото се поле на регенеративната медицина.

The main objective of this review is to present the reactions between sol-gel glasses and glass-ceramics with Simulated Body Fluid (SBF). Attention has been given to the factors influencing the ions release kinetics and the biological effects resulting in ions releasing products. The current review also presents the specific effect of the released ionic dissolution products on human cell behaviour. The review of these materials is presented with intention for future investigations and identification for specific research needs to advance the field of regenerative medicine.

Key words: bioactive glasses, dissolution, ion release

Въведение

Биоактивните материали, които най-често се прилагат за реконструкция на мускулно-скелетната система са: биоактивните стъкла (BG), керамики като хидроксиапатит (HA) и трикалциев фосфат (TCP), стъклокерамики (Ceravital[®], Cerabone[®] A/W) и др. [1]. Те се използват при възстановяване на колянна, тазобедрена става, сухожилия, ставни връзки, зъби, при пародонтоза, лицево-челюстна реконструкция, уголемяване и стабилизиране на челюстната кост, като костни пълнители след отстраняване на тумор и др. [2, 3].

Причината, за използването на тези материали в регенеративната медицина, се основава на свойството им да образуват химични връзки с меки и твърди тъкани.

Това свойство, според Hench, се определя от биоразградимостта им във физиологични течности и формирането на нова костна тъкан чрез стимулиране на остеобластните клетки. Той предлага и механизъм на свързване между BG и костта [4].

С няколко думи, процесите, стоящи в основата за биоактивността, е добре позната серия от физикохимични процеси между BG и даден биологичен разтвор. Те водят до формиране на HA-слой на повърхността на BG.

В настоящия обзор се акцентира върху спецификата на разтваряне, факторите, които го повлияват и биологичните ефекти настъпващи вследствие на отделените йонни продукти.

Процес на разтваряне

Първа стъпка при процеса на разтваряне е бързата обмяна на катиони между BG и разтвора, следвана от разтваряне на силикатната мрежа и поява на силанолни групи на границата BG-разтвор. По повърхността на BG със силанолните (Si-OH) групи протичат бързи реакции на поликондензация, при която се създава слой, богат на Si. Той формира по-нататък кристализационни центрове за натрупване на кристален Са-Р-слой.

Калциевите фосфати прогресивно кристализират чрез присъединяване на аниони от

разтвора до отлагане на биологично активен карбонатсъдържащ НА (НСА), еквивалентен на минералната фаза на костната тъкан. Трябва да се отбележи, че образуването на стабилен кристален апатит е тясно свързано както със структурата на материала, така и с неговия състав [5].

Разтварянето на BG започва с разкъсването на Si-O-Si връзките в BG. Ето защо, химичният състав е един от най-важните фактори, които могат съществено да повлияят на процеса. За чист силикат хидролизата е почти нулева, но при включването на модификатори в силикатната мрежа, се нарушава нейната структура. Формират се свободни връзки, които намаляват нейната стабилност. Модификаторите могат да напуснат мрежата по-бързо от Si йони, с които са свързани. В следствие на това, се формират свободни места, които подпомагат навлизането на молекули вода в силикатната мрежа. Ето защо, скоростта на разтваряне нараства с нарастването на йонния радиус на модификаторите. Например, когато модификатори са алкални метали, ефектът на йоните върху реактивността на BG следва реда $K > Na > Li$.

Хистопатологични анализи на тъкани показват, че силикатната мрежа се разрушава *in vivo*. След 7 месечно имплантиране на BG е установено отделяне на силиций в разтворима форма чрез урината [6].

Фактори, влияещи върху разтварянето и биоактивността на зол-гелните стъкла

Те могат да бъдат подредени и разгледани в следния ред:

- **Състав на биоактивните стъкла и метод на получаване**

В състава на BG различни оксиди като SiO_2 , B_2O_3 , P_2O_5 , ZnO , CuO , Ag_2O , CrO_2 , TiO_2 , Al_2O_3 осигуряват специфични свойства или подобряват съществуващи такива. Например, антибактериални, механични свойства и др. [7-10].

Свойствата на BG и стъклокерамики могат да бъдат променени с включване в процеса на синтез на елементи като Mg, Ag, Cu, Zn, In, Ba, La, Y, Fe, Cr, Sr, Al, K, F, Zr под формата на йони или оксиди [9, 11-15].

Малки отклонения в състава, могат коренно да променят кинетиката на разтваряне и дори основните механизми на свързване. Например, образуването на НА при BG получени в стопилка (MDBG), се влияе от съдържа-

жия се в тях Na_2O или на други алкални катиони, които повишават рН на граничната повърхност имплант-тъкан при напредване на разтварянето. Добавянето на поливалентни катиони в BG като алуминий, стабилизират структурата му и оттам се забавя образуването на НА. При увеличаване съдържанието на SiO_2 в стъклото, линейно намалява температурата на встъкляване, максималната температура на кристализация, плътността на стъклото и се повишава коефициента на термично разширение. Установено е, че Na_2O разкъсва връзките в силикатната мрежа и на практика намалява биоактивността на стъклото. Прието е, че с увеличаване съдържанието на SiO_2 в MDBG, скоростта на разтваряне намалява, поради редуциране наличието на модификаторни йони в разтвора (такива като Ca^{2+} и HPO_4^{4-}). Освен това се възпрепятства образуването на силикатен слой на повърхността на стъклото. Резултатът от това е, намаляване и евентуално погасяване биоактивността на MDBG, когато съдържанието на SiO_2 в стъклото е по-малко от 60 mol%. Когато обаче съдържанието на SiO_2 е по-голямо от 60 mol%, *in vitro* биоактивността на стъклото е налице [16].

В заключение, силанолните групи (Si-OH), които са формирани по повърхността на аморфните силикатни материали, също могат да влияят на биоактивността на BG, тъй като предоставят възможност за обмен на йони и оттам – за образуване на кристален НА, както е установено в [6].

- **Влияние на рН**

Известен факт е, че рН на разтвора също влияе на разграждането. Както на зол-гелните стъкла (SGBG) и керамики, така и на получените композитни материали с тяхно участие. За силикатните стъкла, например, степента на разграждане се увеличава с повишаване на рН, тъй като Si-O-Si връзките се разкъсват при нуклеофилната атака на OH^- във воден разтвор. От термодинамична гледна точка, разтворимостта слабо зависи от рН в интервала от 2 до 8. В него степента на разтваряне нараства с повишаването на рН. При рН над 8, разтворимостта на стъклата нараства значително, тъй като се образуват по-добре разтворими йони със състав $SiO(OH)_3^-$, както е установено в [6].

- **Състав на разтвора**

Съставът на разтвора е също важен фактор, който определя скоростта на разтваряне на материала.

В началото на 90-те години на миналия век, Т. Kokubo [17] предлага използването на т. нар. разтвор, симулиращ човешката кръвна плазма, известен още като SBF (Simulation

Body Fluid), с който може да се определя *in vitro* биоактивността на различни BG и керамики.

Съставът на разтвора е даден в **Таблица 1**

Таблица 1. Състав на SBF и на човешката кръвна плазма ($\mu\text{mol/L}$) [17, 18].

Йон	Симулатор на кръвната плазма (SBF)	Кръвна плазма
Na^+	142.0	142.0
K^+	5.0	5.0
Mg^{2+}	1.5	1.5
Ca^{2+}	2.5	2.5
Cl^-	148.8	103.0
HCO_3^-	4.2	27.0
HPO_4^{2-}	1.0	1.0
SO_4^{2-}	0.5	0.5

SBF симулира различни характеристики на човешката плазма като pH, йонна концентрация и т.н. При потапянето на BG или на композитни материали с тяхно участие в този разтвор, на повърхността им се отлага кристален HA слой [19], който е мярка за тяхната *in vitro* биоактивност, съгласно ISO 23317 на Международната Организация по Стандартизация [18].

Разтворът на SBF е с pH = 7.4 при 37°C и в него не присъстват клетки, протеини или други органични добавки. По време на приготвянето му не са допустими промени в съдържанието, утаяване или консервиране [18].

Според L.Hench и съвт. [16] параметрите на разтвора – начално pH, йонна сила и температура имат значителен ефект върху степента на разтваряне на имплантирания материал. Йонната концентрация, а следователно и pH, се променят с времето и това, от своя страна, влияе върху скоростта на разтваряне. Ако pH нарастне над критичните за клетките стойности, се наблюдава цитотоксичност.

За изследване разтворимостта на BG във връзка с теста за *in vitro* биоактивност, повечето автори използват три вида разтвори:

- 1) Tris-буфер, който е обикновен органичен буфер.
- 2) разтвор на SBF, който фактически представлява Tris-буфер, съдържащ йони в концентрации близки до тези на човешката кръвна плазма.
- 3) α -MEM и D-MEM, които представляват хранителни среди съдържащи, както неорга-

ничните, така и органичните компоненти на кръвната плазма.

В Tris-буферните разтвори отсъстват Ca и P, така че HA слой се образува само посредством Ca и P йони, освободени от съответния материал. В SBF или PBS (Phosphate-buffered saline) разтвори, отлагане-то на HA слой се ускорява, поради големия брой калциеви и фосфатни йони в тях. При използване на тези разтвори за *in vitro* биоактивност трябва да се очаква, че в даден момент разтварянето ще се преустанови. Биомолекулите в разтворите също влияят върху поведението на разтваряне. ICP-AES (Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy) изследвания показват, че разтварянето на стъкло с означение 58S BG е по-бавно в културална среда, отколкото в разтвор на SBF, поради присъствието на серумни белтъци. Тези положително заредени белтъци могат да се адсорбират по повърхността на BG и да потиснат разтворимостта му. Това естествено поставя ограничения, като се има в предвид, че тези материали са предназначени за прилагане *in vivo* [6]. Проведени са многобройни *in vitro* изследвания за биоактивност на SGBG, принадлежащи към различни системи като $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$, $\text{CaO-MgO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ и CaO-SiO_2 . Те показват, че престояването на стъклата в разтвори на SBF, води до повишаване на pH и оттам на концентрацията на Ca^{2+} , поради частично разтваряне на зол-гелното стъкло. Тези промени влияят както на скоростта на образуване на апатитния слой, така и на взаимодействието на границата между твърдата и течната фаза [20].

Тест на Т. Kokubo за *in vitro* биоактивност

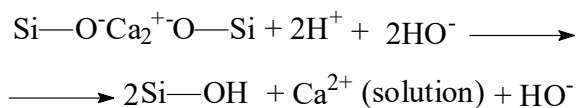
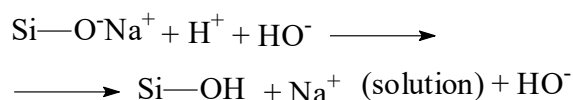
При този тест се използва разтвор на SBF като среда за оценка на *in vitro* биоактивността на BG и керамики. Провежда се при 37 °C в статични или в динамични условия. Те определят степента на освобождаване на йоните от материала и повишаването pH на разтвора. Повечето експерименти се провеждат при статични условия, което означава, че разтворът, не се подменя по време на теста. При динамични условия, разтворът периодично се подменя или обогатява. Съществуват и подходи, при които той циркулира непрекъснато, като осигурява винаги пресен разтвор, взаимодействащ с повърхността на изследвания материал по време на теста. Трудно е да се каже, кой от експерименталните методи най-точно би симулирал процесите в човешкия организъм. В действителност телесните течности циркулират в тялото, като влизат в контакт с наранената тъкан. Независимо от това, ролята на циркулацията не е нито дефинирана, нито изучена напълно. Натрупаните и обобщени досега експериментални резултати показват, че при статичния метод разтворът най-бързо се насища с освободени йони, които образуват по-бързо утаен НА слой, като pH стойността на разтвора при тези условия е висока в сравнение с динамичния подход.

Формиране на НСА. Модел на Hench.

При взаимодействие на BG с воден разтвор, с повърхността му настъпват химически и структурни промени, които са функция от времето. Образоването на НСА върху BG и освобождаването от тях на разтворими Si^{4+} и Ca^{2+} йони към околните тъкани, са ключови фактори за бързото свързване на BG с тъканите и стимулиране растежа на нова тъкан.

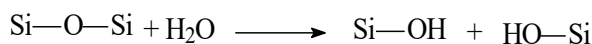
Известни са 11 етапа в процеса на пълно свързване на BG с костта. Етапи 1 - 5 са химически реакции, а етапи 6 - 11 са биологичен отговор:

1) Бърз обмен на Na^+ и Ca^{2+} от стъклото с H^+ или H_3O^+ от разтвора (дифузия контролирана със зависимостта $t_{1/2}$). Това води до хидролиз на силикатните групи, което създава силаноли, както следва от посочените химични реакции:



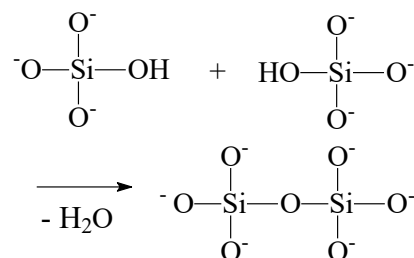
pH на разтвора се увеличава в резултат на замяната на H^+ йони от разтвора с катиони от стъклото.

2) Замяната на катиони повишава концентрацията на OH^- в разтвора, което води до атака на силикатната мрежа на стъклото. Тя се разтваря, като от нея се отделя силиций под формата на $\text{Si}(\text{OH})_4$ и постъпва в разтвора. Това е резултат от разкъсването на $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$ връзките и продължаващото образуване на $\text{Si}-\text{OH}$ (силанолни) групи по повърхността на стъклото.



Този етап обикновено се контролира от междупазовата реакция.

3) Кондензация и реполимеризация на SiO_2 -богатия слой на повърхността:



4) Миграция на Ca^{2+} и PO_4^{3-} групи към повърхността през богатия на SiO_2 слой. Над него се формира аморфен филм богат на Ca^{2+} и PO_4^{3-} йони, който нараства с включването на разтворен калций и фосфор от разтвора.

5) Кристализация на аморфния калциево-фосфатен филм чрез включване на OH^- и CO_3^{2-} аниони от разтвора за формиране на смесения НСА слой.

6) Адсорбция и десорбция на биологични растежни фактори по НСА-слоя активиращи диференциацията на стволови клетки.

7) Действие на макрофагите за отстраняване на остатъци от силикатната мрежа, позволявайки на клетки да заемат пространството.

8) Свързване на стволови клетки по биоактивната повърхност.

9) Диференциация на стволови клетки и формиране на кост-образуващи клетки (остеобласти).

10) Генериране на извънклетъчната матрица от остеобластите и образуване на костна маса.

11) Кристализация на неорганичното калциевофосфатно междуклетъчно вещество и затваряне на костните клетки в живата композитна структура.

Свързването на биоактивния имплантен материал с костта се дължи на съответствието между неорганична ѝ част и нарастващия НСА слой. В меките тъкани колагеновите фибрили са хемисорбирани върху порьозния SiO_2 -богат слой чрез електростатични, йонни и/или водородни връзки, а НСА се утаява и кристализира върху колагеновите влакна и повърхността на стъклото. Реакционни етапи 1) и 2) са отговорни за разтварянето на BG и следователно повлияват значително скоростта на образуване на НСА. Много изследвания са показали, че извличането на Si^{4+} и Na^+ от BG, първоначално протича бързо и има параболичен вид до шестия час, след това реакцията се стабилизира, следвайки линейна зависимост от времето. За биоактивните стъкла и керамики е необходимо да бъде осигурен контрол върху скоростта им на разтваряне. Материали с ниска разтворимост се синтезират, когато се изисква те да имат дълъг живот. Бързо разтварящи се BG и BGC, като 45S5 Bioglass[®], се използват за възстановяване на не-носещи костни тъкани, например при регенерация след залагане на зъбни импланти. С разбиране на факторите, влияещи върху разтворимостта и биоактивността, е възможно да се разработят нови материали с предвабително зададена резорбция [16].

Създаването и търсенето на нови материали е движено и от факта, че имплантните могат да предизвикат редица нежелани ефекти в организма като: неспецифична протеинова адсорбция, клетъчно взаимодействие, кръвосъсирване, активиране системата на комплемента [21]. Освен това, ако материалът е токсичен или биологично неактивен, околните тъкани некротизират или се формира фиброзен слой [2].

Възможно е силикатни материали с микротопография, да претърпят имунно отхвърляне, докато материали с нано-размерни пори по повърхността си, не предизвикват имунен отговор [22].

Най-често, поради оперативни инфекции, биоматериалите не могат да се интегрират с тъканите, което налага съвместното им прилагане с антибиотици като тетрациклин [23] и гатифлоксацин [24].

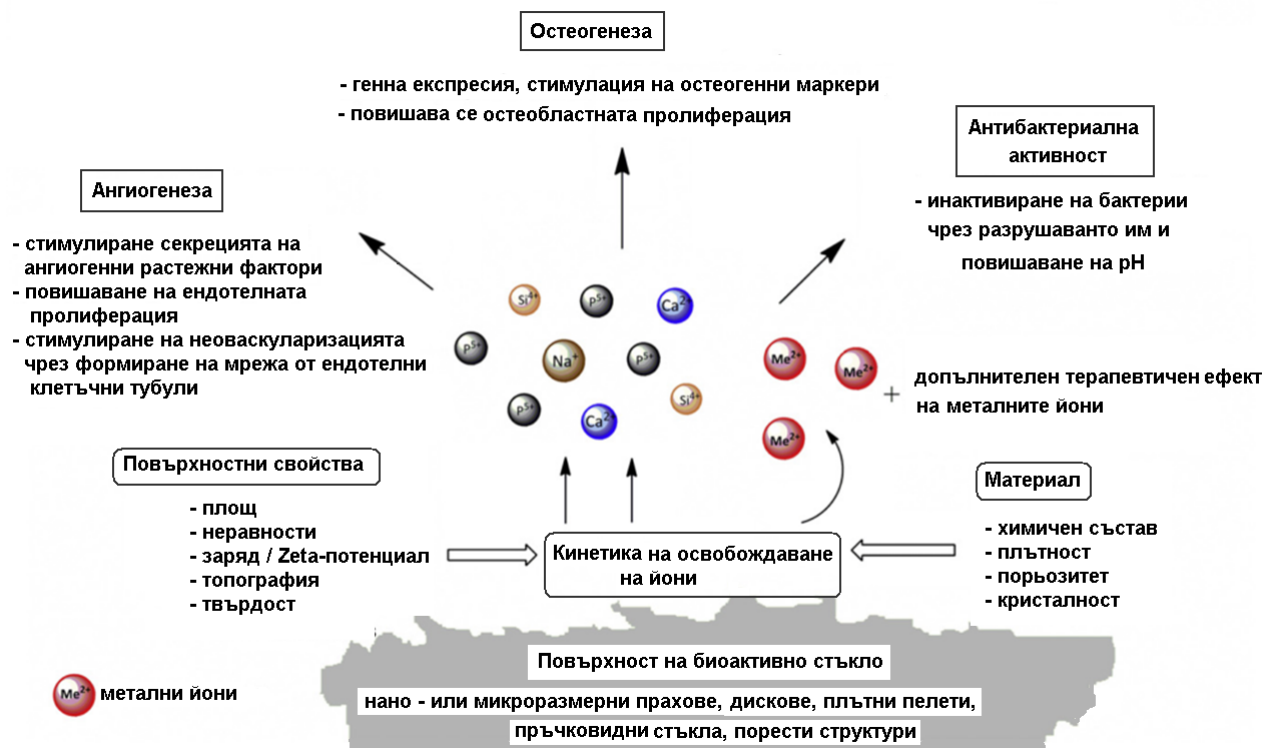
Известен е композит между MDBG със състав $45\text{SiO}_2\text{-}21.2\text{CaO-}26\text{Na}_2\text{O-}7.8\text{P}_2\text{O}_5$ (wt%) и хитозан като лекарство-доставяща система при остеомиелит [24]. Въпреки това, използването на антибиотици е свързано с някои негативни последици, според [25].

Биологичен отговор спрямо йонните продукти при разтварянето на биоактивни стъкла

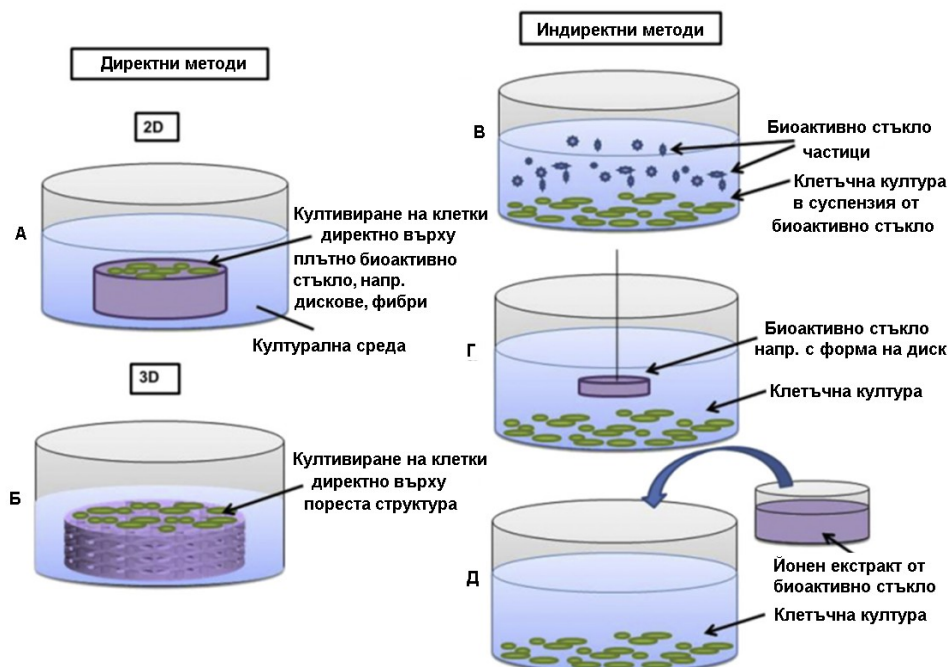
В литературен преглед А. Норре и съавт. [12] събират и разглеждат подробно информацията относно стимулиращите ефекти на неорганичните биоматериали върху остео- и ангиогенезата. Те поставят ударение върху специфичните биологични и терапевтични ефекти, предизвикани от йоните отделени при разтварянето на тези материали.

На **фигура 1**, схематично е представена взаимовръзката между освободените от BG йони, в процеса на неговото разтваряне и ефектите, които те биха могли да предизвикат като отговор от страна на организма.

А. Норре и съавт. дискутират биологичната проява на дотирани и не-дотирани, силикатни BG, стъклокерамики, фосфатни BG, съдържащи различни метални оксиди и други, специфични калциеви и силикатни съединения. В резултат на разгледаните литературни данни, авторите обобщават директни и индиректни методи, прилагани за оценка на клетъчния отговор към разградимите в организма биоматериали, както е показано на **фигура 2**.



Фигура 1. Схематично представяне на биологичния отговор спрямо йонните продукти при разтварянето на биоактивни стъкла /no A. Hoppe, [12]/



Фигура 2. Различни методи за анализ на клетъчния отговор към разтворими биоматериали /no A. Hoppe, [12]/.Роля на освобождаващите се йони от BG и BG/G в костния метаболизъм

Човешката кост е динамична, високо васкуларизирана тъкан, способна да се ремоделира през целия живот чрез регулирана активност на кост-формиращите клетки (остеобласти) и кост-резорбиращите клетки (остеокласти).

Контролът при костообразуването (осификацията) и резорбцията на костна тъкан, т.нар. костно ремоделиране, се осъществява чрез разнообразни системни и локални регулаторни агенти, включително растежни фактори, хормони и стресови за костта действия. В допълнение, отделни неорганични йони като Si, Ca и P, са въввлечени в костния метаболизъм, тъй като активират определени гени и играят физиологична роля при ангиогенезата, растежа и минерализацията на костната тъкан [6, 9].

Нормално в човешкото тяло присъстват макроеlementи като Ca, P, Na, Cl, K и т.н. (>100 mg/dL) и микроelementи като Cu, Fe, Zn, S, Mg, Cr, Sr и т.н. (<100 mg/dL). Тези

elementи се откриват и като компоненти на BG, но количествата им, освобождаващи се при *in vivo* разтваряне, трябва да са лимитирани, за да не достигат токсични за клетките нива.

Йони като Sr^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} , B^{3+} и Co^{2+} присъстват в незначителни количества в човешкото тяло, но те влизат в състава на золгелни материали, тъй като повишават тяхната биоактивност и притежават анаболен ефект върху физиологични процеси като костния метаболизъм.

В състава на BG различни оксиди като SiO_2 , B_2O_3 , P_2O_5 , ZnO , CuO , Ag_2O , CrO_2 , TiO_2 , Al_2O_3 , които осигурят специфични свойства или подобряват съществуващи. Например, антибактериални, механични свойства и др. [7-10].

Таблица 2. дава кратка представа за биологичния отговор към отделни неорганични йони.

Таблица. 2. Ефекти на йоните на някои elementи, съставлящи биоактивни стъкла и керамики, върху човешкия костен метаболизъм и ангиогенеза.

Йон	Биологичен отговор <i>in vitro</i> / <i>in vivo</i>	Литература
Si	- основен за метаболитните процеси - формиране и калцификация на костната тъкан	[26, 27]
	- Si повишава плътността при костната минерализация (BMD - bone mineral density)	[28]
	- в течности Si предизвиква утаяване на HA	[29]
	- $\text{Si}(\text{OH})_4$ стимулира формирането на колаген тип I - предизвиква остеобластна диференциация	[30]
Ca	- в състава на BG служи като средство за костното свързване, а разтвореният калций е необходим за стимулиране на клетките към изграждане на нова костна тъкан	[31]
	- подпомага остеобластната пролиферация, диференциация и минерализация на извънклетъчния матрикс (ECM)	[32]
	- активира Ca-чувствителни рецептори в остеобластните клетки - повишава експресията на растежни фактори, в т.ч. IGF-I или IGF-II (insulin like growth factor), които посредничат за повишаване на остеобластната пролиферация	[33, 34]
P	- стимулира експресията на матричен Gla-протеин (MGP), който е ключов фактор при образуването на костната тъкан	[35]

За металните йони, които присъстват в някои BG, най-общо може да се каже, че те действат като ензимни ко-фактори. По тази причина, повлияват сигнални пътища и стимулират метаболитни ефекти, настъпващи по време на костообразуването [36, 37]. Тези

ефекти правят металните йони атрактивни за използване като терапевтични агенти в тъканното инженерство на меки и твърди тъкани [12, 38].

Освен това изглежда, че при дотираните с различни метални йони BG, се наблюдава по-

добряване на биосъвместимостта и стимулиране на клетъчната пролиферация, както е показано по-горе. Въпреки това, са необходими по-голямо количество експериментални данни за биологичния отговор на съответните клетки към модифицираните BG, за да се докаже специфичната роля на йоните от разтворените силикатни системи в контекста на костното тъканно инженерство [12].

Заклучение

От прегледа на литературните данни могат да се оформят следните по-важни заключения:

1) Разтварянето на BG се повлиява от техния състав, метода на получаване, рН и състава на разтвора за *in vitro* изпитване.

2) За изпитване *in vitro* биоактивността на BG, най-широко прилаган метод е тестът на Т. Kokubo в разтвор на SBF. За определяне *in vitro* на клетъчния отговор към BG и различни други разтворими биоматериали, се използват методи – директни и индиректни, в зависимост от формата, в която е създаден материала за конкретно приложение.

3) Съществува взаимовръзка между освободените от BG йони, в процеса на неговото разтваряне и ефектите, които те биха могли да предизвикат като отговор от страна на организма. Поради това, количеството на въведените в състава на BG модификатори, трябва да е лимитирано. В противен случай, наред с желаните ефекти в мястото на приложение се наблюдават и токсични ефекти.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Cerruti M. G., Characterization of bioactive glasses. Effect of the immersion in solutions that simulate body fluids., PhD Thesis by Marta Cerruti, Turin, (2004).
 [2] Hench L.L., Bioceramics: From Concept to Clinic, J. Am. Ceram. Soc., 74 (1991) 1487-1510.
 [3] Rosario P., Biomaterials Applications for Nanomedicine, www.intechopen.com, (2011).
 [4] Hench L.L., The story of Bioglass, J Mater Sci: Mater Med (2006) 17:967–978, (2006).
 [5] Courthéoux L., J. Lao, J.M. Nedelec, E. Jallot, Controlled Bioactivity in Zinc-Doped Sol-Gel-Derived Binary Bioactive Glasses, The Journal of Physical Chemistry C, 112 (2008) 13663-13667.

[6] Owens G., R.K. Singh, F. Foroutan, M. Alqaysi, C.-M. Han, C. Mahapatra, H.-W. Kim, J.C. Knowles, Sol-gel Based Materials for Biomedical Applications, Progress in Materials Science, (2016).
 [7] Bellantone M., H. D. Williams, L.L. Hench, Broad-spectrum bactericidal activity of Ag₂O-doped bioactive glass, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46 (2002) 1940-1945.
 [8] Goh Y.-F., A.Z. Alshemary, M. Akram, M.R. Abdul Kadir, R. Hussain, In-vitro characterization of antibacterial bioactive glass containing ceria, Ceramics International, 40 (2014) 729-737.
 [9] Kaur G., O. Pandey, K. Singh, D. Homa, B. Scott, G. Pickrell, A review of bioactive glasses: Their structure, properties, fabrication, and apatite formation, (2013).
 [10] Dimova T., L. Radev, I. Michailova, Sol-gel glasses in the SiO₂-CaO-P₂O₅-Ag₂O system: composition, properties and medical application, Industrial Technologies, 4 (2017).
 [11] Singh R., A. Srinivasan, Bioactivity of SiO₂-CaO-P₂O₅-Na₂O glasses containing zinc-iron oxide, Applied Surface Science, 256 (2010) 1725-1730.
 [12] Hoppe A., N.S. Guldal, A.R. Boccaccini, A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics, Biomaterials, 32 (2011) 2757-2774.
 [13] Rath S., A. Brandl, D. Hiller, A. Hoppe, U. Gbureck, R.E. Horch, A.R. Boccaccini, U. Kneser, Bioactive copper-doped glass scaffolds can stimulate endothelial cells in co-culture in combination with mesenchymal stem cells, PloS one, 9 (2014) e113319.
 [14] Cai S., W. Zhang, G.H. Xu, J.Y. Li, D.M. Wang, W. Jiang, Microstructural characteristics and crystallization of CaO-P₂O₅-Na₂O-ZnO glass ceramics prepared by sol-gel method, Journal of Non-Crystalline Solids, 355 (2009) 273-279.
 [15] Rabiee S., N. Nazparvar, M. Azizian, D. Vashaei, L. Tayebi, Effect of ion substitution on properties of bioactive glasses: A review, Ceramics International, 41 (2015) 7241-7251.
 [16] Hench L., J. Jones. L., P. Sepulveda, Chapter 1- Bioactive Materials for Tissue Engineering Scaffolds, Future Strategies for Tissue and Organ Replacement, edited by: Polak J., L. Hench, P Kemp, © Imperial College Press, <http://www.worldscibooks.com/lifesci/p252.html>, (2002) 3-24.
 [17] Kokubo T., Biomaterials, 12 [2] (1991) 155.
 [18] S.C. Bouhazma S., H. Barkai, S. Elabed, S. Ibensouda Koraichi, B. El Bali, M. Lachkar, Synthesis, characterization, in vitro bioactivity and wettability of sol-gel derived SiO₂-CaO-P₂O₅ and SiO₂-CaO-P₂O₅-Na₂O bioglasses, Bouhazma & al. / Mor. J. Chem. 3 N°1 (2015) 19-27, 1 (2015) 19-27.
 [19] A.Ö. M. Erol, Ö. Çelebican, Synthesis, Characterization, and In Vitro Bioactivity of Sol-Gel-Derived Zn, Mg, and Zn-Mg Co-Doped Bioactive Glasses, Chem. Eng. Technol, 33 (2010) 1066-1074.
 [20] M. Mozafari, M. Rabiee, M. Azami, S. Maleknia, Biomimetic formation of apatite on the surface of

- porous gelatin/bioactive glass nanocomposite scaffolds, *Applied Surface Science*, 257 (2010) 1740-1749.
- [21] K. Yu, Y. Mei, N. Hadjesfandiari, J.N. Kizhakkedathu, Engineering biomaterials surfaces to modulate the host response, *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 124 (2014) 69-79.
- [22] A.M. Kamarajan B., Jagadeesh K.A., Nano-rough Topography of the Scaffold Enhances Osteoblast Attachment: A Review, *Trends Biomater. Artif. Organs*, 28(1), 26-31 (2014), 28(1) (2014) 26-31.
- [23] R.F. Carvalho M., Â. Andrade; V. Santos, K. Tavano, W. Vasconcelos, Bioactive glass with antimicrobial agents: In vitro evaluation, *International Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 5 (2014) 109-112.
- [24] C. Soundrapandian, S. Datta, B. Kundu, D. Basu, B. Sa, Porous bioactive glass scaffolds for local drug delivery in osteomyelitis: development and in vitro characterization, *AAPS PharmSciTech*, 11 (2010) 1675-1683.
- [25] S.D.N. E. Verne, M. Bosetti, P. Appendino, C. Vitale Brovarone,, M.C. G. Maina, Surface characterization of silver-doped bioactive glass, *Biomaterials* 26 (2005) 5111-5119, (2005).
- [26] C. E., Silicon: a requirement in bone formation independent of vitamin D1, *Calcif Tissue Int*, 33 (1981) 27-34.
- [27] C. E., Silicon: a possible factor in bone calcification, *Science*, 167 : (1970) 279-280.
- [28] R. Jugdaohsingh, K.L. Tucker, N. Qiao, L.A. Cupples, D.P. Kiel, J.J. Powell, Dietary Silicon Intake Is Positively Associated With Bone Mineral Density in Men and Premenopausal Women of the Framingham Offspring Cohort, *Journal of Bone and Mineral Research*, 19 (2003) 297-307.
- [29] T.C.J. Damen JJM, Silica-induced precipitation of calcium phosphate in the presence of inhibitors of hydroxyapatite formation, *J Dent Res*, 71 (1992) 453-457.
- [30] D.M. Reffitt, N. Ogston, R. Jugdaohsingh, H.F.J. Cheung, B.A.J. Evans, R.P.H. Thompson, J.J. Powell, G.N. Hampson, Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro, *Bone*, 32 (2003) 127-135.
- [31] R.A. Martin, S. Yue, J.V. Hanna, P.D. Lee, R.J. Newport, M.E. Smith, J.R. Jones, Characterizing the hierarchical structures of bioactive sol-gel silicate glass and hybrid scaffolds for bone regeneration, *Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences*, 370 (2012) 1422-1443.
- [32] S. Maeno, Y. Niki, H. Matsumoto, H. Morioka, T. Yatabe, A. Funayama, Y. Toyama, T. Taguchi, J. Tanaka, The effect of calcium ion concentration on osteoblast viability, proliferation and differentiation in monolayer and 3D culture, *Biomaterials*, 26 (2005) 4847-4855.
- [33] P.J. Marie, The calcium-sensing receptor in bone cells: A potential therapeutic target in osteoporosis, *Bone*, 46 (2010) 571-576.
- [34] P. Valerio, M.M. Pereira, A.M. Goes, M.F. Leite, Effects of extracellular calcium concentration on the glutamate release by bioactive glass (BG60S) preincubated osteoblasts, *Biomedical materials*, 4 (2009) 045011.
- [35] M. Julien, S. Khoshniat, A. Lacreusette, M. Gatiús, A. Bozec, E.F. Wagner, Y. Wittrant, M. Masson, P. Weiss, L. Beck, D. Magne, J. Guicheux, Phosphate-Dependent Regulation of MGP in Osteoblasts: Role of ERK1/2 and Fra-1, *Journal of Bone and Mineral Research*, 24 (2009) 1856-1868.
- [36] A.A. Beattie J, Trace element nutrition and bone metabolism, *Nutr Res Rev*, 5 (1992) 167-188.
- [37] W.J. Sun ZL, Hanks CT., Effects of metal ions on osteoblast-like cell metabolism and differentiation, *J Biomed Mater Res*, 34 (1997) 29-37.
- [38] V. Mourino, A.R. Boccaccini, Bone tissue engineering therapeutics: controlled drug delivery in three-dimensional scaffolds, *Journal of The Royal Society Interface*, 7 (2009) 209-227.

Assist. Prof. Tanya Dimova, MscPharm

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

Assoc. Prof. Lachezar Radev, PhD

University of Chemical Technology and Metallurgy, Department of Fundamental Chemical Technology, Sofia 1756, Bulgaria
E-mail: l_radev@abv.bg

Assist. Prof. Iliyan Kolev, PhD

Medical University of Varna, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Sciences and Pharmaceutical Management,
Bul. "Tsar Osvoboditel" 84, Varna, 9000
E-mail: ilian.kolev@mu-varna.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– юни 2018



INDUSTRIAL TECHNOLOGIES

Technical Editor
Ivan Dimitrov

Cover Design
Krasimir Nikolov
House Press

Prof. Dr Assen Zlatarov University

Format – 206 / 290

Published – June 2018