

На правах рукописи



Соркина Татьяна Александровна

**ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ
ДОСТУПНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЖЕЛЕЗА,
СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ГУМИНОВЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ**

Специальность 03.02.08 – Экология (в химии)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2014

Работа выполнена на кафедре органической химии Химического факультета
Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Перминова Ирина Васильевна
(Химический факультет МГУ имени
М.В. Ломоносова)

Официальные оппоненты: доктор химических наук, доцент
Иванов Владимир Константинович
(Институт общей и неорганической
химии имени Н.С. Курнакова РАН)

кандидат химических наук, доцент
Гречищева Наталья Юрьевна
(РГУ Нефти и Газа имени И.М. Губкина)

Ведущая организация: ГНУ Почвенный институт имени
В.В. Докучаева Россельхозакадемии.

Защита состоится 16 декабря 2014 г. в 10.00 на заседании Диссертационного
Совета Д 212.200.12 в ФГБОУ ВПО «Российский государственный университет
нефти и газа им. И.М. Губкина» по адресу: 119991, г. Москва, Ленинский пр-т,
д.65, аудитория 202 .

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВПО «Российского
государственного университета нефти и газа им. И.М. Губкина» и на сайте
www.gubkin.ru

Автореферат диссертации разослан 14 ноября 2014 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета
Д 212.202.12



к.т.н., доц. Иванова Л.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Одним из способов минимизации воздействия химических веществ на природные и искусственные агроэкосистемы является замена опасных для окружающей среды реагентов и агрохимикатов на безопасные аналоги на основе природных соединений. Перспективным сырьем для получения таких препаратов являются гуминовые вещества (ГВ) – соединения природного происхождения с широкой ресурсной базой, включающей окисленные бурые угли, торфы, сапропели, лигносодержащие отходы целлюлозно-бумажных и биоэтанольных производств. ГВ образуются при разложении растительных и животных останков и формируют основной компонент органического вещества почв, природных вод, торфов и углей. При этом они представляют собой природные полиэлектролиты с окислительно-восстановительными и поверхностно-активными свойствами, что в сочетании с безопасностью для окружающей среды делает их реальной альтернативой многим синтетическим реагентам. Особый интерес представляет способность ГВ стабилизировать высокодисперсные формы соединений железа, описанная на примере почвенных коллоидов, органоминеральных комплексов и других соединений, встречающихся в почве и природных водах. Данное свойство может быть положено в основу получения широкого спектра гибридных соединений с различными функциональными свойствами. Наиболее перспективными областями применения препаратов Fe – ГВ являются сельское хозяйство и природоохранные технологии.

Отсутствие доступных, безопасных и эффективных препаратов биологически доступного железа является одной из проблем современного сельского хозяйства. При дефиците железа у растений возникает комплексное заболевание, сопровождающееся угнетением роста, которое приводит к снижению урожайности и питательной ценности сельскохозяйственных продуктов. Основным симптомом данного состояния является нарушение синтеза хлорофилла, которое проявляется в виде пожелтения листьев, в связи с чем данное заболевание получило название ***железодефицитный хлороз***. Возникает оно у растений, выращиваемых на почвах с высоким содержанием карбонатов, в жарких и засушливых регионах, а также в оранжереях и теплицах. Для коррекции данного заболевания используют либо растворимые соли железа, которые в низких дозах малоэффективны, а в высоких токсичны, либо синтетические хелаты (Fe-ЭДТА, Fe-ДТПА, Fe-ЭДДГА и другие), которые оказывают негативное воздействие на окружающую среду. В связи с тем, что

такие хелатные комплексы устойчивы в условиях окружающей среды и требуют регулярного внесения, они накапливаются в почве и попадают в природные водоемы, обладая высокой хелатирующей способностью по отношению к многозарядным катионам металлов, способствуют повышению подвижности тяжелых металлов и их фитоэкстракции (извлечению из почвы и поступлению в растения). В связи с этим, проблема создания безопасных и эффективных препаратов биодоступного железа стоит очень остро.

Другой перспективной областью применения реагентов на основе гуминовых веществ и железа является очистка природных вод и загрязненных территорий от различных экотоксикантов, включая тяжелые металлы, радионуклиды и полиароматические углеводороды. Дезактивирующее действие ГВ на соединения указанных классов достаточно подробно изучено, а стабилизация в их составе наночастиц оксидов железа позволяет регулировать растворимость и заряд поверхности, а также создавать магнитоуправляемые препараты, что расширяет возможности их практического применения.

Кроме того, важным достоинством гуминовых веществ является их относительно низкая стоимость и наличие больших запасов сырья в нашей стране, что делает возможным производство и широкомасштабное применение препаратов на их основе в сельскохозяйственных и природоохранных технологиях.

При этом систематические исследования по применению гуминовых веществ для стабилизации биологически доступных форм железа, по механизмам их влияния на формирование и рост частиц оксидов железа, а также по изучению форм существования железа в составе таких препаратов на настоящий момент отсутствуют, что затрудняет их практическое использование. Указанные проблемы определили постановку целей и задач настоящей работы.

Цель работы состояла в получении высокодисперсных соединений железа, стабилизированных гуминовыми веществами, и оценке возможности их практического применения в качестве безопасных и эффективных источников биологически доступного железа.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- Разработать способы направленного получения высокодисперсных соединений железа, стабилизированных ГВ.
- Определить формы железа в составе таких соединений, и факторы, влияющие на их формирование.

- Определить растворимость в воде и коллоидную устойчивость полученных препаратов.
- Оценить биологическую доступность железа в составе полученных препаратов Fe-ГВ для растений с различными стратегиями поглощения железа.
- Оценить токсичность соединений Fe, стабилизированных ГВ.

Научная новизна. Впервые систематизированы и научно обоснованы способы получения биологически доступных форм железа, стабилизированных гуминовыми веществами. На основании комплексного исследования полученных препаратов Fe-ГВ современными методами анализа впервые показано, что основными формами существования железа в составе гуминовых матриц являются не хелатированные ионы, а высокодисперсные частицы гидратированных оксидов железа. Впервые показано также, что железо, стабилизированное ГВ, является биологически доступным для растений как в форме железа (II), так и железа (III). Впервые осуществлено получение наночастиц ферроксигита δ' -FeOOH в водных растворах ГВ, а также продемонстрировано влияние ГВ на формирование и рост частиц оксидов железа в водных растворах.

Практическая значимость работы. Сформулированные в работе теоретические подходы и практические рекомендации могут быть использованы для разработки технологий производства гуминовых микроудобрений, заменяющих синтетические хелатные комплексы, направленных на минимизацию воздействия химических производств и реагентов на окружающую среду. Полученные в работе характеристики форм существования железа могут быть использованы для контроля качества препаратов биологически доступного Fe, стабилизированного ГВ. Результаты изучения влияния гуминовых веществ на формирование и рост частиц оксидных соединений в водных растворах могут быть использованы для создания полифункциональных сорбентов, в том числе магнитоуправляемых. Результаты оценки биодоступности железа в составе препаратов Fe-ГВ для растений с различными стратегиями поглощения могут быть использованы для разработки оптимальных способов применения и доз гуминовых микроудобрений.

Работа выполнялась в соответствии с планами проектов РФФИ 10-03-0083а, 11-03-12177, Госконтракта Министерства науки и образования РФ 16.11, а также проектов У.М.Н.И.К.-2009, У.М.Н.И.К.-2010 Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере.

Положения, выносимые на защиту.

- 1) Способ получения растворимых в воде препаратов Fe-ГВ с высоким содержанием железа.
- 2) Результаты исследования форм существования железа в составе препаратов Fe-ГВ физико-химическими методами анализа.
- 3) Результаты исследования влияния гуминовых макролигандов на рост частиц оксидов железа в водных растворах.
- 4) Результаты исследования цитотоксичности препаратов Fe-ГВ.
- 5) Результаты определения биологической доступности соединений железа, стабилизированных ГВ, для растений с различными стратегиями поглощения железа.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на 26 различных конференциях: IV и V Всероссийских конференциях "Гуминовые вещества в биосфере" (Москва, 2007 и Санкт-Петербург, 2010); на Всероссийских научных конференциях "Нанотехнологии в онкологии-2008" и "Нанотехнологии в онкологии-2009" (Москва, 2008, 2009); на Международных конкурсах научных работ молодых ученых в области нанотехнологий в рамках форумов «Роснанотех-08» и «Роснанотех-09» (Москва, 2008, 2009); на Международном симпозиуме по применению эффекта Мессбауэра (Будапешт, Венгрия, 2008); на 14-ом и 15-ом Съездах международного гуминового общества (Москва-Санкт-Петербург, 2008 и Пуэрто де ла Круз, Тенерифе, Испания, 2010); на Всероссийской конференции "Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества" (Москва, 2009); на выставке инновационных проектов "80 лет химическому факультету" (Москва, 2009); на конференции "Гуминовые вещества и фитогормоны в сельском хозяйстве Радостим-2009" (Днепропетровск, Украина, 2009); на Международной конференции по применению эффекта Мессбауэра (Вена, Австрия, 2009); на 8-ой Международной научной конференции "Гуминовые вещества в экосистемах" (Сопорна, Словакия, 2009); на 12-м Северо-Балтийском симпозиуме по природному органическому веществу в окружающей среде (Таллинн, Эстония, 2009); на национальной конференции "Рентгеновское, Синхротронное излучение, Нейтроны и Электроны для

исследования наносистем и материалов. Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии" (Москва, 2009), на 2-ой и 3-ей Всероссийских школах-конференциях "Макромолекулярные нанообъекты и полимерные нанокомпозиты" (Московская обл., пансионат «Союз», 2010 и 2011); на Всероссийской школе-семинаре «Нанотехнологии: проблемы и перспективы» (Белгород, 2010); на X и XI конференциях молодых ученых "Актуальные проблемы неорганической химии" (Звенигород, 2010 и 2011); на IV Всероссийской конференции по наноматериалам «НАНО-2011» (Москва, 2011), на Всероссийской конференции "Радиохимия – наука настоящего и будущего" (Москва, 2011) и на XIX Менделеевском Съезде по общей и прикладной химии (Волгоград, 2011), на Первой и Второй международных конференциях по гуминовым инновационным технологиям «Природные и синтетические полифункциональные соединения и наноматериалы в медицине и биомедицинских технологиях» (Москва, 2010) и «Природные и синтетические наночастицы в технологиях очистки вод и почв» (Москва, 2012) и на XII Международной конференции «Мёссбауэровская спектроскопия и её применения» (Суздаль, 2012).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 44 работы, включая 12 статей (из них 6 в журналах, рекомендованных ВАК) и 32 Всероссийских и международных конференций.

Личный вклад автора. Все эксперименты по получению высокодисперсных соединений железа, стабилизированных ГВ, определению их растворимости и содержания железа, по исследованию их биологической активности по отношению к растениям, спектрофотометрическое определение содержания железа и хлорофилла, а также титриметрическое определение содержания кислотных групп в препаратах ГВ и на поверхности оксидов железа выполнены автором лично или в соавторстве с другими исследователями. Все результаты физико-химических анализов были обработаны, обсуждены и интерпретированы при непосредственном участии автора.

Структура диссертационной работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы. Диссертация изложена на 157 страницах печатного текста, содержит 37 рисунков и 31 таблицу, список цитируемой литературы включает 225 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Краткая характеристика объектов исследования

Гуминовые вещества (ГВ) – это сложные смеси устойчивых к биологическому разложению высокомолекулярных органических соединений природного происхождения, образующихся при распаде растительных и животных остатков под действием микроорганизмов и абиотических факторов среды. В результате данных процессов образуются рандомизованные полимеры полиоксикарбоновых кислот с включениями углеводных и пептидных фрагментов (рис. 1).

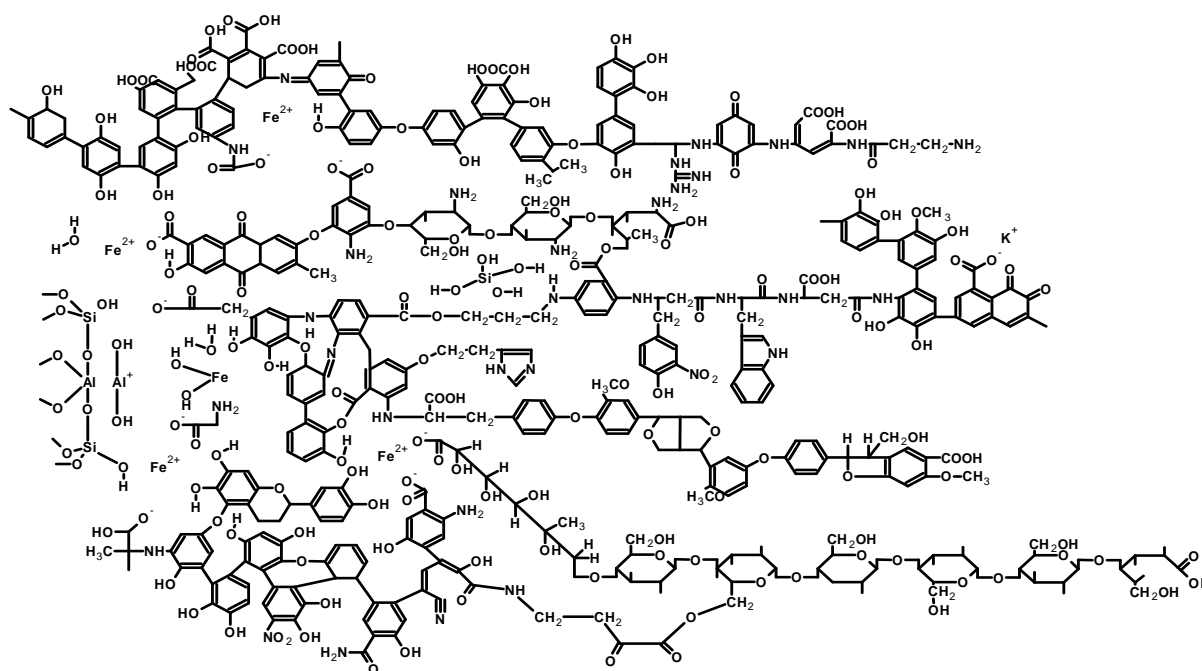


Рис. 1 Гипотетический структурный фрагмент ГВ почв [Kleinhempel D. *Albrecht-Thaer-Archiv.*, 1970, 14 (1), pp. 3-14].

Широкий спектр функциональных групп обеспечивает комплексообразующие и окислительно-восстановительные свойства ГВ. Одной из важных функций ГВ в окружающей среде является их способность стабилизировать биологически доступные формы различных металлов, в том числе железа.

Несмотря на то, что железо является четвертым по распространенности химическим элементом на Земле, лишь немногие его соединения являются биологически доступными и могут быть поглощены живыми организмами в качестве источника этого микроэлемента.

Дефицит этого биогенного металла является наиболее распространенным нарушением минерального питания не только у животных и человека, но и растений. Дефицит железа у растений сопровождается снижением темпов роста, отмиранием надземных частей растений и снижением синтеза хлорофилла. Для коррекции дефицита железа у растений традиционно используют синтетические хелаты, которые содержат железо в виде комплексных соединений с органическими лигандами, существенным недостатком которых является опасность вторичного загрязнения окружающей среды в результате их регулярного внесения.

Способность ГВ образовывать соединения с металлами и их оксидами, их окислительно-восстановительные свойства, а также отсутствие собственной токсичности открывают широкие возможности для их практического применения. В представленной работе была проведена попытка применения природных гуминовых макролигандов для стабилизации высокодисперсных форм оксидов железа для различных практических применений.

Характеристика исходных препаратов ГВ

В качестве исходных препаратов ГВ использовали коммерческие гуматы калия, извлекаемые щелочной экстракцией из верхнего окисленного слоя бурого угля «PowHumus» (Humintech, Германия) СНР-К и «Гумат Сахалинский» (Биомир-2000, РФ) СНS-К, а также выделенные из них препараты гуминовых кислот (ГК) СНР-Н и СНS-Н, соответственно. Элементный состав препаратов характеризовали методом элементного СНN - анализа. Содержание железа определяли спектрофотометрически после разложения органической части. Содержание кислотных групп определяли с использованием титриметрических методов (таблица 1).

Таблица 1 Характеристики использованных в работе коммерческих гуматов калия

ШИФР	ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ					СОДЕРЖАНИЕ КИСЛОТНЫХ ГРУПП	
	Зольность	С	Н	N	Fe	С _{COOH}	С _{AR-OH}
	%, масс.					ммоль/г	
СНР-К	21,6	52,8	3,9	1,1	1,0	3,5	2,2
СНС-К	33,7	31,7	3,3	1,1	1,0	4,1	5,2

Как видно из данных, приведенных в таблице 1, содержание зольных компонентов (33,7 %, здесь и далее - % по массе) в гумате калия отечественного производства значительно выше, чем у импортного аналога (21,6 %), что связано с

более высоким содержанием гидроксида калия, а также с особенностями минерального состава природного сырья. В состав обоих гуматов калия входит около 1 % железа, которое не удаляется в процессе обессоливания. Содержание карбоксильных групп различается незначительно, в то время как фенольных групп в отечественном препарате CHS-K в два с половиной раза больше, чем в импортном аналоге. Для получения высокодисперсных соединений Fe, стабилизированных ГВ, высокое содержание кислотных групп является преимуществом, что, в сочетании с более высокой доступностью отечественного препарата, делает его более перспективным для дальнейшего масштабирования.

Получение биодоступных соединений железа, стабилизированных ГВ

Согласно классическим представлениям, соединения Fe-ГВ с высоким содержанием органической части, представляют собой комплексные соединения. В связи с этим получение соединений Fe-ГВ, проводили в условиях, когда макролигандная активность ГВ максимальна, то есть при значениях pH выше 9, когда все карбоксильные, а также большая часть фенольных групп находятся в депротонированном состоянии. Однако в данных условиях гидролиз и окисление железа (II) являются доминирующими процессами, и переход иона железа (II) в гидратированные оксиды железа (III) может происходить быстрее, чем образование комплексов с ГВ. Поэтому в реакционную среду вводили стабилизаторы, замедляющие процессы окисления и гидролиза железа (II). Схема процесса получения приведена на рисунке 2.

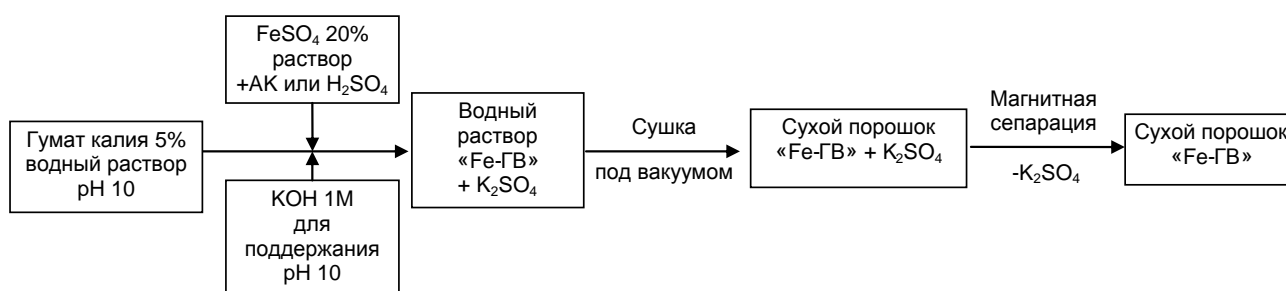


Рис. 2 Получение соединений железа, стабилизированных ГВ.

В качестве стабилизирующих добавок в насыщенный раствор сульфата железа вводили либо серную, либо аскорбиновую кислоту (АК). В результате было получено 5 препаратов железа с ГВ. Физико-химические и биологические свойства полученных препаратов сопоставляли с коммерческими аналогами: хелатным комплексом этилендиамин-N,N'-ди (2-гидрокси-фенил)-ацетатом железа (III) (Fe-ЭДДГА) и препаратом на основе ГВ и железа - Humiron (Humintech, Германия), а также с

синтезированным в работе трисалицилатом железа (FeSal_3), хелатным комплексом железа (III) с салициловой кислотой. Характеристики использованных препаратов приведены в таблице 2.

Таблица 2 Исследованные препараты железа и их характеристики

Соединения Fe-ГВ									
Шифр	Стаб. агент	рН ($\pm 0,5$)	Растворимость, г/л	Зола	С	Н	N	Fe	
				% по массе					
Fe-CHP-01	АК	10,0	135	55,5	23,2	2,1	0,7	9,0	
Fe-CHS-02	АК	11,5	<1	46,0	24,8	2,0	1,0	8,9	
Fe-CHS-03	АК	9,5	125	50,1	22,2	2,1	1,2	8,7	
Fe-CHS-04	-	9,5	55	49,0	25,1	2,1	1,4	8,7	
Fe-CHS-05	H_2SO_4	10,0	130	68	17,8	1,8	0,7	11,3	
Модельные соединения									
Шифр	Растворимость, г/л		Состав				Fe, % по массе		
FeSal_3	не опр.		$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{O}_9\text{Fe}$				11,7		
Fe-ЭДДГА*	120		$\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{N}_2\text{NaFe}$				6		
Humiron*	100		40%, масс. – ГВ				6		

* Согласно описанию, предоставленному производителем

Содержание железа в составе полученных препаратов варьировалось от 8,7 до 11,3 %, что существенно выше, чем в коммерческих препаратах Fe-ЭДДГА и Humiron (6 %). Также важно и то, что все препараты Fe-ГВ, за исключением Fe-CHS-02, полученного при $\text{pH} > 11$, характеризовались высокой растворимостью в воде (55-135 г/л). Отсутствие растворимости указанного препарата было объяснено тем, что в данных условиях образуются соли гуминовых веществ с железом, которые в отличие от гибридных соединений, содержащих наночастицы оксидов, не растворимы в воде.

По результатам элементного анализа и ИК-спектроскопии было показано, что органический каркас природных ГВ при введении дополнительных соединений железа изменений не претерпевает. Признаков образования связи железа с какими-либо функциональными группами гуминовых веществ обнаружено не было. Следующим этапом исследования было исследование форм существования железа в составе соединений Fe – ГВ с использованием комплекса физико-химических методов анализа.

Исследование форм существования железа, стабилизированных ГВ

Для изучения микроструктуры и морфологии соединений Fe - ГВ был использован метод просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), а для

идентификации кристаллических включений – метод спектроскопии химических потерь энергии электронов (ХПЭЭ). На рис. 3 приведена микрофотография гумата Fe-CHS-05, картина дифракции электронов, а также спектр ХПЭЭ для данного препарата.

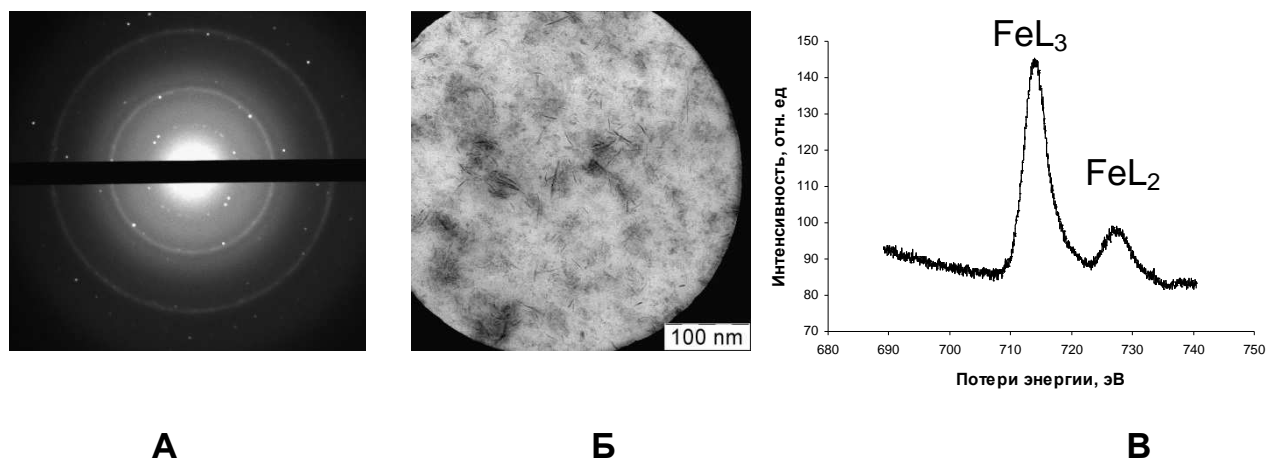


Рис. 3 Дифракции электронов (А), микрофотография ПЭМ (Б) и спектр ХПЭЭ (В) для препарата Fe-CHS-05

По результатам анализа полученных данных (рис. 3) было установлено, что в составе соединений Fe-ГВ присутствуют кристаллические включения, которые, согласно результатам ХПЭЭ, представляют собой соединения железа. Все исследованные препараты содержали кристаллические включения с размерами от 10 до 300 нм. В препаратах, синтезированных из отечественного гумата калия, размер кристаллических включений не превышал 30 нм, в то время как препараты Fe-CHP-01 и Numigon, полученные из импортного аналога, содержали включения до 200 и 300 нм, соответственно. Принимая во внимание, что аморфные и высокодисперсные формы железа являются более доступными для растений, использование отечественного гумата калия в качестве сырья является более предпочтительным.

Для изучения локального окружения железа использовали методы спектроскопии рентгеновского поглощения EXAFS/XANES, основанные на изучении тонкой структуры спектров поглощения рентгеновских лучей. В исследуемую выборку вводили стандартный образец оксида железа (III) $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Наиболее ценная аналитическая информация была получена из спектров EXAFS после фурье-преобразования (рис. 4).

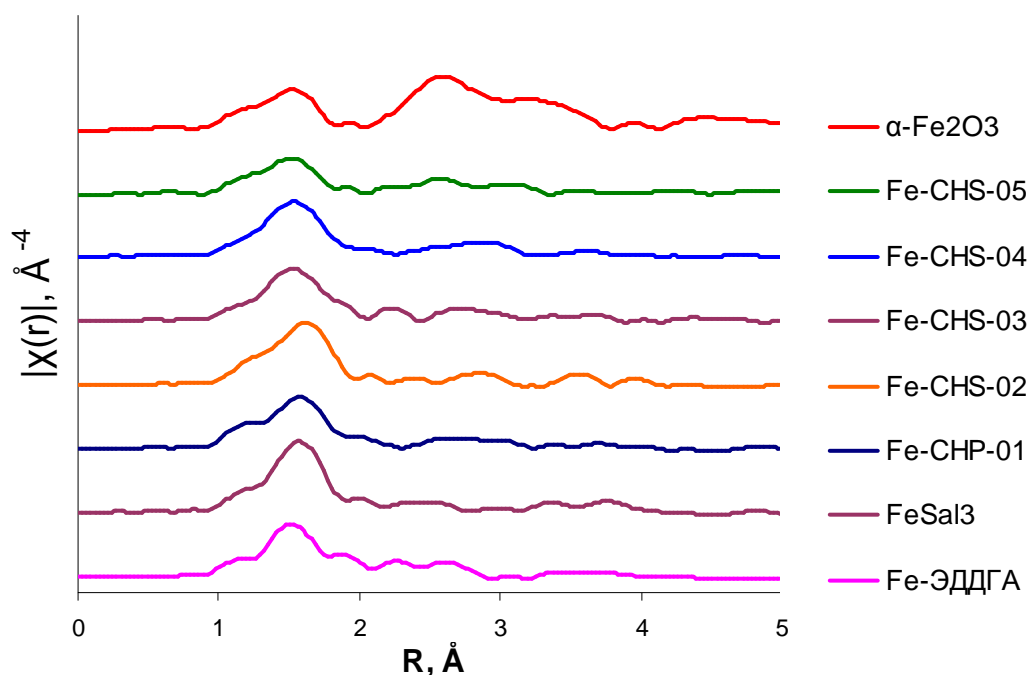


Рис. 4 Результаты фурье-преобразования спектров EXAFS железа в составе исследованных препаратов Fe-ГВ, Fe-ЭДДГА и FeSal₃.

Общий вид кривых, приведенных на рис. 4 указывает на сходство строения первой координационной сферы железа (участок от 0 до 2,5 Å) во всех исследуемых препаратах за исключением Fe-ЭДДГА. На участке, соответствующем второй координационной сфере ($2 \leq R \leq 4$ Å), интенсивные пики наблюдаются только на спектре оксида α -Fe₂O₃, находящегося в виде объемной фазы. Отсутствие пиков, отвечающих второй координационной сфере, в спектрах остальных образцов указывает на отсутствие в их структурах дальнего порядка.

Для интерпретации полученных данных был проведен расчет параметров первой координационной сферы железа в приближении односферной модели, включающей атомы кислорода на расстоянии около 2 Å от атома Fe. Для анализа использовали интервалы 2-10 Å⁻¹ в k-пространстве и 1-2,5 Å в R-пространстве. Варьировали расстояние до атомов кислорода, их количество, степень разупорядоченности (параметр Дебая-Валлера) и положение уровня Ферми. Полученные параметры аппроксимации локального окружения атома железа приведены в таблице 3.

Таблица 3 Оценка параметров локального окружения атома железа по первой координационной сфере для исследованных препаратов (К.Ч. – координационное число атома железа).

Препарат	Фактор сходимости R_f , %	Межатомное расстояние R_{Fe-O} , Å	К.Ч.	Фактор Дебая-Валлера σ^2_o , Å ²	Положение уровня Ферми E_o , эВ
Fe-CHP-01	0,0144	1,961(4)	5,3±0,2	0,011(5)	6,8±0,4
Fe-CHS-02	0,0041	1,977(7)	5,7±0,4	0,011(1)	7,6±0,6
Fe-CHS-03	0,0027	1,964(5)	5,0±0,3	0,009(6)	7,1±0,6
Fe-CHS-05	0,0065	1,975(5)	4,8±0,9	0,011(1)	3,1±2,3
FeSal ₃	0,0153	1,964(9)	6,0±0,6	0,009(1)	7,8±1,0
α-Fe ₂ O ₃	0,4	1,97(1)	6,0±0,0	0,011(1)	5,5±1,8

Длины связей «Fe-O» во всех исследуемых образцах оказались близки между собой (около 1,97Å); значения фактора сходимости указывают на высокое качество аппроксимации. Полученные значения координационных чисел свидетельствуют о том, что в отличие от оксида α-Fe₂O₃, для всех исследованных препаратов наблюдается искаженная октаэдрическая координация атома железа. Описать строение первой координационной сферы железа в Fe-ЭДДА с помощью той же модели не удалось, что согласуется с данными о строении хелата, в котором атом железа находится в октаэдрическом окружении из 4 атомов азота и 2 атомов кислорода, в то время как в остальных препаратах - в октаэдрическом окружении из 6 атомов кислорода. Таким образом, по результатам методов спектроскопии рентгеновского поглощения можно сделать вывод, что железо в составе гуматов находится в искаженном октаэдрическом окружении из атомов кислорода, вероятнее всего, в виде высокодисперсных гидратированных оксидов железа (III). Однако полученных данных недостаточно, чтобы однозначно ответить на вопрос, содержится ли оно в хелатной форме или в виде высокодисперсных гидратированных оксидов железа (III).

Более полную информацию, касающуюся способа координации атомов железа в соединениях Fe-ГВ, можно получить, используя метод *мессбауэровской спектроскопии*. Данный метод позволяет охарактеризовать не только локальную структуру, но и тип связи железа с окружающими атомами, а также степень окисления железа, в том числе в аморфных соединениях. В таблице 4 приведены параметры исследованных препаратов, рассчитанные из мессбауэровских спектров, полученных при комнатной температуре.

Таблица 4 Параметры исследованных препаратов железа, рассчитанные из мессбауэровских спектров, полученных при комнатной температуре.

Препарат	Степень окисления железа	Подспектр (Д-дублет)	I _s ,	Q _s ,	G,	S _{отн.} , %
			мм/с			
Fe-СНР-01	+2	Д1	1,13	2,56	0,29	17,38
	+3	Д2	0,37	0,54	0,36	32,76
		Д3	0,38	0,85	0,45	49,86
Fe-СНС-02	+2	Д1	1,09	2,40	0,72	2,43
	+3	Д2	0,38	0,57	0,34	22,86
		Д3	0,38	0,90	0,55	74,71
Fe-СНС-03	+2	Д1	1,19	2,25	0,43	4,98
	+3	Д2	0,36	0,59	0,36	36,74
		Д3	0,36	0,92	0,51	58,28
Fe-СНС-04	+3	Д1	0,35	0,57	0,36	40,85
		Д2	0,35	0,91	0,51	59,15
Fe-СНС-05	+2	Д1	1,12	2,38	0,49	30
	+3	Д2	0,39	0,64	0,51	70
FeSal ₃	+3	Д1	0,48	1,75	0,28	45
		Д2	0,41	1,60	0,33	55
Fe-ЭДДА	+3	Д1	0,38	1,05	0,76	52
		Д2	0,36	0,67	0,41	48
Humiron	+3	Д1	0,35	0,54	0,35	33
		Д1	0,34	0,84	0,53	67

При анализе данных, приведенных в таблице 4, было установлено, что большая часть атомов железа (от 70 до 100%) в составе гуматов имеет значения изомерного сдвига 0,35 -0,39 мм/с, что соответствует степени окисления железа +3, однако в составе препаратов, полученных с использованием аскорбиновой и серной кислот, обнаружено железо (2 - 7% и 30%, соответственно) со значениями изомерного сдвига 1,09-1,19 мм/с, что соответствует степени окисления железа +2. Кроме того, параметры, полученные при обработке спектров соединений Fe-ГВ, отличаются от аналогичных, полученных для трисалицилата, что указывает на различное химическое окружение железа в их составе. Согласно литературным данным, значения полученных параметров соответствуют значениям для гидратированных оксидов железа (III).

Таким образом, нами было подтверждено ранее высказанное предположение о том, что железо (III) в составе гуматов существует в виде частиц гидратированных оксидов железа, а не в виде хелатных комплексов с салицилатными фрагментами. Кроме форм железа в степени окисления +3 в составе препаратов, в синтезе которых использовали аскорбиновую или серную кислоту, присутствует также и железо в

степени окисления +2. Сравнительный анализ полученных и литературных данных показал, что значения мессбауэровских параметров железа (II) наиболее близко соответствуют аналогичным значениям для зеленых ржавчин, смешанных гидроксисульфатов железа (II)/(III), что согласуется с данными о формировании в почвах в присутствии ГВ минерала фужерита, содержащего зеленые ржавчины.

Для более подробной характеристики структуры и идентификации форм существования железа в исследуемых соединениях были получены мессбауэровские

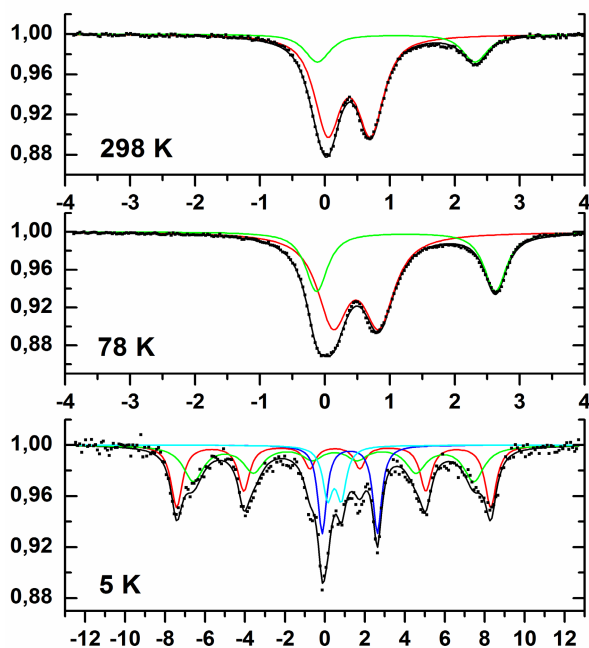


Рис. 5 Мессбауэровские спектры препарата Fe-CHS-05 при различных температурах: 298К, 78К, 5К

спектры при низких температурах (78 и 5К). Из спектров, приведенных на рис. 5, видно, что величина резонансного поглощения атомов железа (II) (дублет зеленого цвета) заметно возрастает при понижении температуры с 298 К до 78 К, в то время как аналогичный параметр для железа (III) (дублет красного цвета) не изменяется. Увеличение резонансного поглощения при понижении температуры характерно для аморфных соединений, которые при охлаждении переходят в более упорядоченное

состояние. В то же время отсутствие значимого увеличения поглощения характерно для кристаллических соединений, которые при охлаждении до 78 К не претерпевают значительных структурных изменений. К таким соединениям относятся оксиды и гидроксиды железа. При понижении температуры до 5 К на спектре соединения Fe-ГВ спектр можно описать 4 линиями: двумя секстетам, которые соответствуют магнитоупорядоченным фазам железа (III), и двумя дублетами, соответствующими формам железа (II) и (III). Из полученных спектров были рассчитаны мессбауэровские параметры, которые приведены в таблице 5.

Таблица 5 Параметры, рассчитанные из мессбауэровских спектров гумата железа Fe-CHS-05, полученных при температурах 298, 78 и 5 К

Т, К	СТЕПЕНЬ ОКИСЛЕНИЯ ЖЕЛЕЗА	ПОДСПЕКТР	Is,	Qs,	G,	H, кЭ	S _{отн.} , %
			мм/с				
298	+2	Д1	1,12	2,38	0,49	-	30
	+3	Д2	0,39	0,64	0,51	-	70
78	+2	Д1	1,25	2,75	0,41	-	33
	+3	Д2	0,48	0,71	0,58	-	67
5	+3	С1	0,47	-0,06	0,67	488,1	35
		С2	0,46	-0,05	1,23	436,1	35
	+2	Д1	0,48	0,68	0,60	-	12
		Д2	1,25	2,76	0,53	-	18

Сравнение полученных параметров (таблица 5) с данными, приведенными в литературе, показало, что железо (III) находится в составе гумата железа Fe-CHS-05 в виде высокодисперсных оксигидроксидов железа (III), а именно - гетита α -FeOOH, лепидокрокита γ -FeOOH и фероксигита δ' -FeOOH, а также в виде смешанных гидроксисульфатов Fe (II)/Fe (III), называемых *зелеными ржавчинами*. В работе были получены сульфатные зеленые ржавчины, исследование мессбауэровских спектров которых показало, что величина мессбауэровского эффекта также возрастает при понижении температуры, что окончательно подтвердило предположение о том, что железо (II) в составе полученного соединения Fe-ГВ существует в виде зеленых ржавчин $[\text{Fe}^{2+}_{1-x}\text{Fe}^{3+}_x(\text{OH})_2]^{x+}[\text{x}/2\text{SO}_4^{2-}, \text{mH}_2\text{O}]^{x-}$.

В результате анализа результатов комплекса физико-химических методов было показано, что ГВ обладают способностью стабилизировать высокодисперсные формы оксидов железа. Для более подробного изучения влияния ГВ на рост и формирование частиц оксидов железа в водных растворах был произведен направленный синтез наночастиц гидратированных оксидов железа (III) в растворах ГВ. Для стабилизации наночастиц оксидов железа с использованием ГВ были выбраны фероксигит δ' -FeOOH и лепидокрокит γ -FeOOH, так как эти соединения встречаются в высокодисперсных состояниях в почвах на ранних стадиях образования оксидов железа.

Влияния ГВ на рост частиц оксигидроксидов железа в водных растворах
Для оценки эффективности ГВ в качестве дисперсионных агентов проводили синтез наночастиц в водных растворах ГВ и сравнивали их характеристики с аналогичными характеристиками наночастиц, полученных в воде без использования стабилизатора. Выбранные способы получения оксигидроксидов железа (III) фероксигита δ' -FeOOH

и лепидокрокита $\gamma\text{-FeOOH}$ основаны на контролируемом окислении FeCl_2 в водном растворе, при этом для получения фероксигита в качестве окислителя использовали перекись водорода в щелочной среде, а для лепидокрокита - кислород воздуха в нейтральной среде. В качестве препарата ГВ был использован отечественный гумат калия CHS-K, эффективность которого в качестве макролиганда была продемонстрирована ранее. По результатам рентгенофазового анализа было установлено, что присутствие в растворе гумата калия с концентрацией 100 мг/л не препятствует формированию указанных фаз оксигидроксидов железа. Поперечный размер гексагональных частиц со 160 ± 100 до 20 ± 5 нм (рис. 7). В то же время на размер частиц лепидокрокита, имеющих стержнеобразную морфологию, присутствие ГВ не оказывало заметного влияния. Их продольный размер снизился с 125 ± 70 нм до 110 ± 70 , а поперечный остался тем же - 4 ± 1 нм. Таким образом, было показано, ГВ могут выступать в качестве эффективного дисперсионного агента при синтезе фероксигита, но не обладают значимой эффективностью при синтезе оксидной фазы с другой морфологией.

В связи с этим, было высказано предположение о возможном механизме действия ГВ на рост наночастиц гидратированных оксидов железа (III), согласно

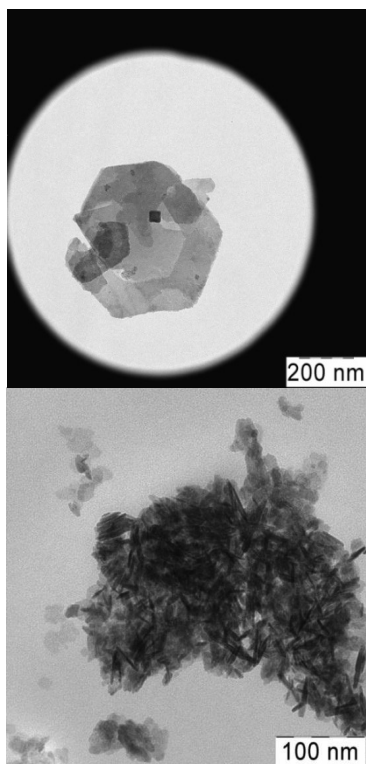


Рис. 6 Микрофотографии ПЭМ фероксигита, полученного в воде без ГВ (А) и с ГВ (Б)

которому, присутствие в растворе гуминовых макролигандов замедляет рост и агрегацию частиц за счет пространственного затруднения диффузии и компенсации положительного заряда на поверхности частиц гидроксидов железа. Первоначально адсорбция ГВ происходит на поверхности гексагональных частиц $\text{Fe}(\text{OH})_2$, и под действием перекиси водорода происходит быстрое окисление железа (II) без изменения пространственной структуры. Для более подробного изучения влияния ГВ на формирование и рост частиц оксидов железа был использован метод *мессбауэровской спектроскопии быстрозамороженных растворов*. Для этого на каждом этапе синтеза отбирали аликвоты, замораживали их в жидком азоте и снимали мессбауэровские спектры. С помощью данного экспериментального подхода было показано наличие специфического взаимодействия ГВ с

поверхностью ультрадисперсного $\text{Fe}(\text{OH})_2$, которое, видимо, затрудняет дальнейший рост кристаллов. Дальнейшее окисление частиц $\text{Fe}(\text{OH})_2$ в ферроксигит $\delta\text{-FeOON}$ происходит без изменения пространственной структуры (топотактическое окисление), в результате чего стабилизированными ГВ становятся уже наночастицы ферроксигита. Стабилизация высокодисперсных частиц магнитных фаз имеет важное практическое значение, так как для многих областей применения нужны частицы, проявляющие суперпарамагнитное поведение.

По данным магнитометрии, полученный образец представляет собой магнитомягкий ферримагнетик с намагниченность насыщения 4,8 э.м.е./г и коэрцитивной силой около 100 Э, что позволяет рассматривать его как материал для создания магнитных жидкостей для биомедицинского применения и магнитоуправляемых сорбентов. Для оценки возможности практического применения полученных соединений была охарактеризована их агрегативная устойчивость в физиологическом растворе (рис. 7). Суспензию наночастиц ферроксигита, полученных в растворе гумата калия, помещали в физиологический раствор (рН 7, ионная сила 150 ммоль/л) и проводили определение содержания железа в суспензии и размер частиц в течение 9 дней. Для сравнения использовали аналогичную суспензию, полученную в воде без использования ГВ, которую также помещали в физиологический раствор.

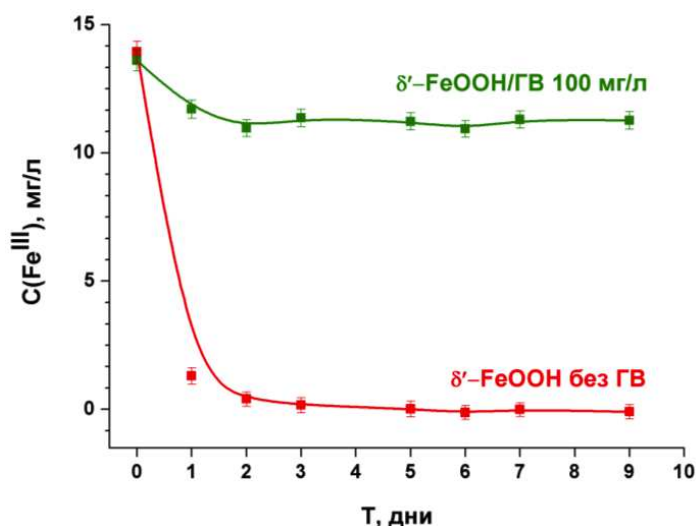


Рис. 7 Изменение содержания железа в суспензиях наночастиц ферроксигита, синтезированных в присутствии и в отсутствии ГВ в физиологическом растворе

Результаты исследования коллоидной устойчивости показали, за первые сутки в суспензии устанавливается равновесие, после чего концентрация не изменяется и в течение 9 дней остается на уровне ~ 80% от изначально введенной, в то время как в отсутствие стабилизатора частицы ферроксигита практически полностью осаждаются ко второму дню измерений. Таким образом, было

показано, что ГВ значительно повышают агрегативную устойчивость водных

суспензий наночастиц ферроксигита при уровне рН и ионной силы, соответствующих физиологическим условиям.

В результате экспериментов по определению стабильности суспензий в присутствии фонового электролита (NaCl) было установлено, что критическая концентрация коагуляции составляет 180 ммоль/л, в то время как в отсутствие ГВ аналогичный показатель составлял 30 ммоль/л.

Оценка безопасности – определение цитотоксичности препаратов Fe-ГВ

Результаты определения *цитотоксичности* методом МТТ-тест на клеточной культуре фибробластов показали, что полученные соединения при разбавлении в питательной среде в 10 и в 100 раз не обладают цитотоксичностью: выживаемость клеток составляла более 90%. На основе полученных данных можно сделать вывод, что использование соединений железа, стабилизированные ГВ безопасны для окружающей среды и могут быть использованы в сельскохозяйственных и природоохранных технологиях.

Таким образом, было показано, что ГВ могут быть использованы для стабилизации высокодисперсных форм соединений железа для различных практических применений. Следующим этапом работы было исследование биологической доступности железа в составе полученных соединений для растений.

Исследование биологической доступности высокодисперсных форм соединений железа, стабилизированных ГВ

Роль железа в жизни высших растений настолько велика, что для его поглощения существует две специализированные стратегии: растения со стратегией I выделяют органические кислоты, способствующие растворению соединений железа в области ризосферы и белки, восстанавливающие Fe(III) до Fe(II); растения со стратегией II выделяют фитосидерофоры – органические вещества, которые образуют хелатные комплексы с Fe(III). В качестве тест-культуры со стратегией I были выбраны огурцы; со стратегией II – пшеница, обе культуры имеют важное сельскохозяйственное значение. Для оценки эффективности исследуемых препаратов определяли длину и массу корней и побегов, содержание железа и хлорофилла в листьях, а также интенсивность флуоресценции хлорофилла. Опыты проводили методом водной и почвенной культуры. Для растений огурца использовали питательную среду Хогланда, для пшеницы – питательную среду Кнопа, приготовленные на особо

чистой воде. Контрольные растения выращивали на питательных средах, содержащих все компоненты, кроме железа, в остальных случаях железо вносили в виде исследуемых препаратов.

Результаты экспериментов *на растениях огурца методом водной культуры* показали, что в выбранных условиях наблюдалось выраженное угнетение контрольных растений, обусловленное отсутствием железа в питательной среде.

Внесение исследованных препаратов приводило к выраженному улучшению состояния растений, которое проявлялось в более эффективном накоплении биомассы и быстром развитии, появлении усов и цветов. Все исследованные препараты положительно влияли на накопление растениями хлорофилла и железа (рис. 8). Отдельно стоит отметить положительное влияние гумата калия К-СНС, что подтверждает полученные другими исследователями данные о стимулирующем действии ГВ на растения в условиях недостатка микроэлементов.

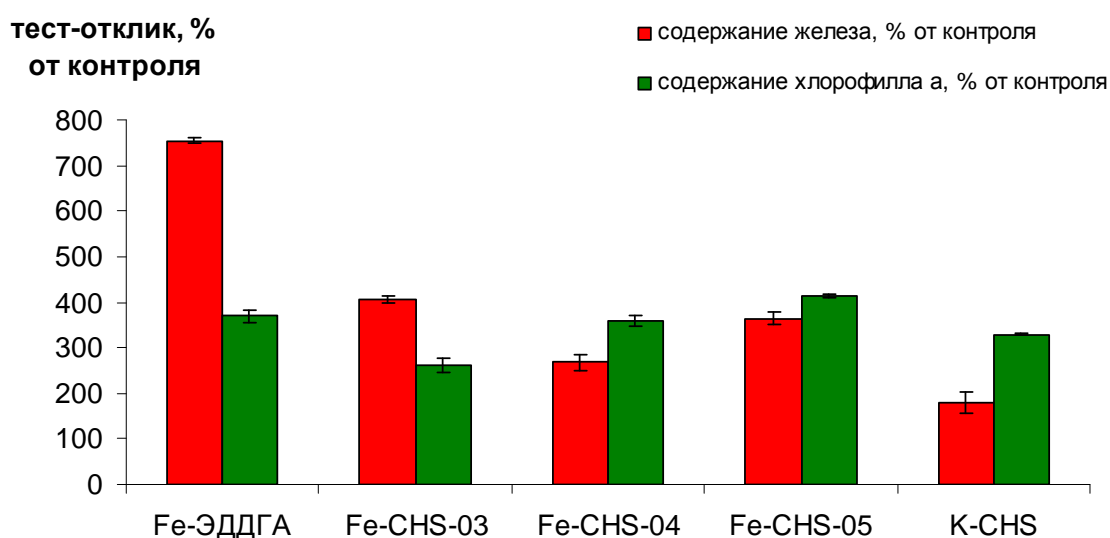


Рис. 8 Влияние исследованных препаратов на накопление железа и хлорофилла а в листьях огурцов.

Стимулирующее влияние исследованных препаратов Fe-ГВ на растения огурца в условиях дефицита железа, характеризующееся накоплением хлорофилла в листьях (рис. 8), не уступало действию коммерческого хелата Fe-ЭДДГА и даже превосходило его (Fe-СНС-05). При этом применение препарата, содержащего аскорбиновую кислоту (Fe-СНС-03) приводило к менее эффективному накоплению хлорофилла, чем применение гумата калия К-СНС, что может указывать на угнетающее действие этого биологически активного вещества на растения. Влияние коммерческого хелата на накопление железа в листьях было более ярко выражено, но

использование соединений Fe-ГВ также приводило к увеличению содержания железа в несколько раз по сравнению с растениями контрольного варианта. При этом содержание железа в растениях, обработанных препаратами, содержащими железо (II) (Fe-CHS-03 и Fe-CHS-05), было выше, чем в растениях, обработанных аналогичным препаратом, содержащим только железо (III) (Fe-CHS-04), что свидетельствует о более высокой биологической доступности железа в указанных препаратах. На основании полученных результатов был выбран препарат Fe-CHS-05, применение которого обеспечивает максимальный эффект на накопление железа и хлорофилла. Следующим этапом работы была оценка биологической активности выбранного препарата по отношению к растениям пшеницы, использующим стратегию II для поглощения соединений железа.

Результаты экспериментов на растениях *пшеницы методом водной культуры* показали: биомасса побегов пшеницы, выращенных с использованием исследуемых препаратов железа, увеличивалась в 1,6-1,9 раза, что хорошо согласуется с данными, полученными нами для огурцов; при этом гумат железа оказывал более выраженное стимулирующее действие, чем коммерческий хелат (рис. 9).

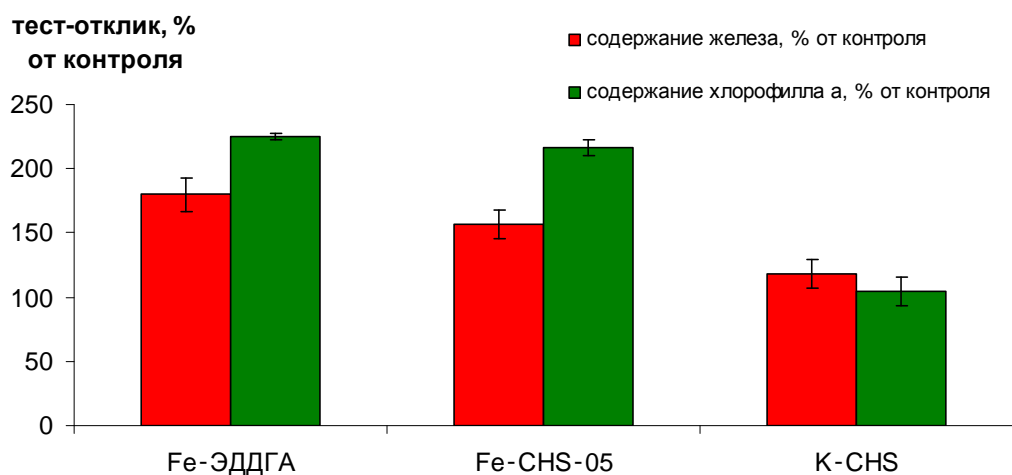


Рис. 9 Влияние исследованных препаратов на накопление железа и хлорофилла *a* в листьях пшеницы.

При внесении исследуемых препаратов в питательную среду пшеницы наблюдали рост хлорофилла *a* всего в 2,2-2,3 раза (рис. 9), в то время, как для растений огурца в аналогичных условиях этот показатель возрастал в 3,7-4,2 раза. Установленная меньшая отзывчивость пшеницы к внесению железосодержащих препаратов по сравнению с огурцами может быть связана с более высокой устойчивостью пшеницы к дефициту железа, которая обеспечивается наличием специального механизма - синтеза фитосидерофоров. При этом действие гуминового

препарата на накопление железа и хлорофилла практически не уступало эффекту от использования коммерческого хелата Fe-ЭДДА.

Эксперименты по исследованию биологической активности на растениях огурца *методом почвенной культуры* проводили с использованием аридных пустынных почв государства Оман, любезно предоставленные д.с.-х.н., проф. Ю.Н. Водяницким. Как показали результаты эксперимента, в условиях почвенной культуры, растения огурца испытывают значительное угнетение, обусловленное недостатком различных элементов питания. Использование препаратов Fe-ГВ позволяло нормализовать содержание железа в листьях, но не устраняло полностью признаков физиологических нарушений, что указывает на то, что в аридных пустынных почвах дефицит железа сопровождается недостатком других микроэлементов, в связи с чем необходимо использовать комплексные препараты, включающие не только железо, но и другие микроэлементы.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны способы получения высокодисперсных биологически доступных соединений железа, стабилизированных гуминовыми веществами (ГВ), для использования вместо небезопасных для окружающей среды хелатов железа.
2. Установлено, что ГВ могут быть использованы в качестве стабилизирующих агентов при получении высокодисперсных форм оксидных соединений железа.
3. Установлено, что применение препаратов Fe-ГВ позволяет эффективно устранить дефицит железа, содержание железа в листьях огурцов возрастает до 360% от контроля, а хлорофилла - до 400% от контроля.
4. Установлено, что полученные препараты Fe-ГВ образуют устойчивые суспензии в водных растворах при концентрации фонового электролита более 150 ммоль/л, что подтверждает возможность их практического применения в виде коллоидных растворов.
5. Установлено, что препараты Fe-ГВ не обладают цитотоксичностью по отношению к клеточной линии НЕр-2 (выживаемость клеток составляет более 90%), что подтверждает их безопасность для окружающей среды.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. **Sorkina T.A.**, Polyakov A. Yu., Kulikova N.A., Goldt A.E., Philippova O.I., Aseeva A.A., Veligzhanin A.A., Zubavichus Y.V., Pankratov D.A., Goodilin E.A., Perminova I.V. 2014. Nature-inspired soluble iron-rich humic compounds: new look at the structure and properties. *Journal of Soils and Sediments.*, 14 (2) , p. 261-268.
2. Polyakov A.Yu, **Sorkina T.A.**, Goldt A.E., Pankratov D.A., Perminova I.V., Goodilin E.A. 2013. Mossbauer spectroscopy of frozen solutions as a stepwise control tool in preparation of biocompatible humic-stabilized ferrihydrite nanoparticles. *Hyperfine Interactions*, 219, 1-3, p. 113-120
3. Polyakov A.Yu, Goldt A.E., **Sorkina T.A.**, Perminova I.V., Pankratov D.A., Goodilin E.A., Tretyakov Y.D. 2012. Constrained growth of anisotropic magnetic δ -FeOOH nanoparticles in the presence of humic substances. *CrystEngComm*, 14, 23, p. 8097-8102
4. **Соркина Т.А.**, Куликова Н.А., Филиппова О.И., Панкратов Д.А., Перминова И.В., Петросян В.С. 2010. Корректоры железодефицитного состояния растений на основе гуминовых веществ угля: получение и применение. *Экология и промышленность*, 2010, февраль, с. 33-36.
5. Поляков А.Ю., Гольдт А.Е., **Соркина Т.А.**, Давыдова Г.А., Гудилин Е.А., Перминова И.В. Синтез биосовместимых магнитных наночастиц с различной морфологией и их стабилизация гуминовыми кислотами. 2010. *Перспективные материалы*, 9, с. 204-210.
6. Chekanova A.E., **Sorkina T.A.**, Nikiforov V.N., Davidova G.A., Selezneva I.I., Goodilin E.A., Dubov A.L., Trusov L.A., Korolev V.V., Aref'ev I.M., Perminova I.V., Tretyakov Y.D. 2009. New environmental nontoxic agents for the preparation of core-shell magnetic nanoparticles. *Mendeleev Commun.*, 19, с. 1-4.

Статьи в журналах и сборниках:


7. Куликова Н.А., **Соркина Т.А.**, 2010. Гуматы железа как перспективные наноматериалы для сельского хозяйства, Сборник учебно-методических материалов Всероссийской школы-семинара для студентов, аспирантов и молодых ученых «Нанотехнологии: проблемы и перспективы», Белгород, 6-9 октября 2010 года, с. 27-31.
8. Поляков А.Ю., Гольдт А.Е., **Соркина Т.А.**, Гудилин Е.А., Перминова И.В. 2010. Исследование стабилизации суспензий магнитных наночастиц различной морфологии с применением гуминовых кислот. *Труды V Всероссийской*

- конференции "Гуминовые вещества в биосфере", Санкт-Петербург, 1-4 марта 2010 года, том I, с. 432-438.
9. Chekanova A., **Sorkina T.**, Dubov A., Goodilin E., Kulikova N., Perminova I. 2008. Humic Substances as Stabilizing Agents for Superparamagnetic Nanoparticles. In: From Molecular Understanding to Innovative Applications of Humic Substances; Proceedings of the 14th International Meeting of the International Humic Substances Society, September 14-19, 2008, Moscow - Saint Petersburg, Russia, Editors: I. V. Perminova, N. A. Kulikova, Vol. II, Humus Sapiens, Moscow, pp. 585-586.
 10. **Sorkina T.A.**, Kulikova N.A., Necvetay A.M., Philippova O.I., Lebedeva G.F., Perminova I.V. 2008. Synthesis and use of iron humate for correction of iron chlorosis in higher plants. In: From Molecular Understanding to Innovative Applications of Humic Substances; Proceedings of the 14th International Meeting of the International Humic Substances Society, September 14-19, 2008, Moscow - Saint Petersburg, Russia, Editors: I. V. Perminova, N. A. Kulikova, Vol. II, Humus Sapiens, Moscow, pp. 719-720.
 11. Перминова И.В., Карпюк Л.А., Пономаренко С.А., Коваленко А.Н., Щербина Н.С., Куликова Н.А., **Соркина Т.А.**, Лунин В.В. 2007. Дизайн гуминовых препаратов с заданными свойствами. Труды IV Всерос. конф. "Гуминовые вещества в биосфере", Москва, 19-21 дек. 2007, с. 508-509.
 12. **Соркина Т.А.**, Куликова Н.А., Филиппова О.И., Лебедева Г.Ф., Перминова И.В. 2007. Биологическая активность гумата железа по отношению к проросткам пшеницы. Труды IV Всерос. конф. "Гуминовые вещества в биосфере", Москва, 19-21 дек. 2007, 517-520.

ВЫРАЖЕНИЕ ПРИЗНАТЕЛЬНОСТИ

Автор выражает глубокую признательность руководителю работы д.х.н., проф. Перминовой И.В., зав. лабораторией ФОХ каф. органической химии д.х.н., проф. Петросяну В.С. и зав. каф. органической химии химического ф-та МГУ акад. Н.С. Зефирову за всестороннюю помощь в выполнении работы. За помощь в проведении экспериментов и обсуждении результатов автор выражает огромную признательность сотрудникам кафедры органической химии к.ю.н. Константинову А.И., Кудрявцеву А.В., Юдову М.В., к.х.н., доц. Тарасевичу Б.Н., к.х.н. Арутюновой А.С. и м.н.с. Морозову А.С., сотрудникам факультета почвоведения МГУ д.б.н., с.н.с. Куликовой Н.А., д.с.-х.н., проф. Водяницкому Ю.Н., к.б.н., доц. Лебедевой Г.Ф., Филипповой О.И., к.б.н. Железовой С.В. и Снег А.А, сотрудникам факультета наук о материалах МГУ д.х.н., проф., чл.-корр. РАН Гудилину Е.А. и к.х.н. Гольдт А.Е., зав. кафедрой радиохимии д.х.н., проф. Калмыкову С.Н., зав. лабораторией ядерно-химических методов каф. радиохимии химического ф-та МГУ д.х.н., проф. Перфильеву Ю.Д. и с.н.с., к.х.н., доц. Панкратову Д.А, зав. лабораторией РНЦ «Курчатовский институт» д.х.н. Зубавичусу Я. В. и к.ф.-м.н., н.с. Велигжанину А.А., с.н.с. лаборатории роста клеток и тканей ИТЭБ РАН к.ф.-м.н. Давыдовой Г.А., доценту МИОО к.х.н. Жилину Д.М., н.с. Почвенного института им. В.В. Докучаева РАСХН к.б.н. Холодову А.В., профессору Университета г. Сегеда (Венгрия) Томбаш Э., аспиранту ФНМ МГУ Полякову Александру, Асеевой Алине и Нецветай Анне, а также сотрудникам научно-технического департамента ООО «УК «РОСНАНО», своим друзьям и близким за постоянную помощь и поддержку.

Заказ № 54-Р/11/2014 Подписано в печать 11.11.14 Тираж 100 экз. Усл. п.л. 1,0

ООО "Цифровичок", г. Москва, Большой Чудов пер., д.5
тел. (495)649-83-30
 www.cfr.ru ; e-mail: zakpark@cfr.ru

