

## ЗАВИСИМОСТЬ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА В КОРНЕОБИТАЕМОЙ СРЕДЕ ОТ ФОРМЫ АЗОТА В ПИТАТЕЛЬНОМ РАСТВОРЕ

Кулешова Т.Э., Желначева П.В., Гасиева З.А., Галушко А.С., Панова Г.Г.

Агрофизический научно-исследовательский институт

просп. Гражданский, 14, г. Санкт-Петербург, 195220, РФ; e-mail: www.piter.ru@bk.ru

Поступила в редакцию 07.08.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0558

**Аннотация.** В работе проведено исследование влияния формы азота (нитратная, амидная, нитратно-аммонийная) в составе питательного раствора на электрические характеристики биоэлектрохимической системы, базирующейся на электрогенных свойствах растений салата. Зарегистрирована динамика биоэлектрического потенциала (БЭП) в системе корнеобитаемая среда-растения, биометрические и биохимические показатели растительной продукции при использовании различных питательных растворов в ходе выращивания салата методом панопоники в интенсивной светокультуре. Среднее значение БЭП составило 243 мВ при использовании нитратной формы азота в питательном растворе, 147 мВ для амидной формы и 178 мВ для нитратно-аммонийной формы. Максимально наблюдаемая разность потенциалов была характерна для варианта, содержащего азот в нитратной форме, что, вероятно, указывает на потенциалобразующую роль  $\text{NO}_3^-$ . Отмечено увеличение концентрации положительных ионов ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ) на нижнем электроде и отрицательных ( $\text{NO}_3^-$ ) на верхнем, что соответствует наблюдаемой в БЭС полярности – верхний электрод электроотрицателен относительно нижнего. Показано, что лучшим по величине и стабильности из исследованных вариантов был питательный раствор, содержащий азот в нитратной форме. Перемещение ионов в корнеобитаемой среде в процессе жизнедеятельности растений может стать новым альтернативным источником зеленой электроэнергии.

**Ключевые слова:** биоэлектрохимическая система, растительно-микробный топливный элемент, светокультура, салат, панопоника, электрогенные свойства.

### ВВЕДЕНИЕ

Возобновляемая энергия рассматривается как один из способов облегчения топливных потребностей будущего, преодоления кризиса глобального потепления и снижения выбросов углекислого газа. На данный момент к регенеративным источникам энергии относят солнечный свет, водные потоки, ветер, приливы, геотермальную теплоту, биотопливо (древесины, растительные масла, этанол). Еще одним перспективным альтернативным источником электричества являются растительные организмы, биоэнергия которых генерируется в результате физико-химических превращений энергии света и биохимических реакций в корнеобитаемой среде.

В корнеобитаемых средах наблюдается наличие электрических полей, связанных с протеканием окислительно-восстановительных реакций и формированием различных плотностей подвижных зарядов [1,2]. Градиент концентраций в корнеобитаемой среде наряду с электроактивностью растений и сопутствующей им микрофлоры могут быть положены в основу биоэлектрохимической системы (БЭС) – устройства, преобразующего химическую энергию в электрическую с помощью живых организмов [3]. Потенциал использования электрогенных свойств микроорганизмов и растений, объединенных в растительно-микробном топливном элементе (РМТЭ), впервые был показан Strik D.P. с соавторами в 2008 году [4]. Зарегистрированное напряжение в РМТЭ на основе маники (*Glyceria maxima*) составило 256 мВ на 72 день вегетационного периода, максимальная плотность мощности достигла 67 мВт/м<sup>2</sup>. БЭС имеют большие перспективы в связи с распространенностью, легкостью получения и комбинированными свойствами, однако механизмы их действия, электрические параметры и генеративные возможности еще предстоит исследовать.

В основе электрогенных свойств БЭС лежат окислительно-восстановительные реакции в корнеобитаемой среде, сопутствующие жизнедеятельности растений и окружающей их микрофлоры. В связи с этим ключевым для понимания механизма формирования биоэлектрического потенциала является выявление потенциалобразующих ионов. В качестве таковых рассматривается нитрат, который, однако, также может выступать акцептором электронов и восстанавливаться до  $\text{N}_2$  с последующим его удалением из раствора в результате реакции денитрификации [5] или до  $\text{NH}_4^+$ , который используется растениями для биосинтеза [6]. Данные процессы могут приводить к конкуренции за электроны в окислительно-восстановительных реакциях [7]. В литературе существуют неоднозначные данные по влиянию форм азота в растворе на электрические характеристики биоэлектрохимических систем. Например, в работе [8] показано, что присутствие нитрата не влияло на величину выходной мощности микробного топливного элемента. При использовании безнитратного, с высоким содержанием аммония модифицированного раствора Хогланда отмечается увеличение силы тока в 2,5 раза в РМТЭ на основе спартины (*Spartina anglica*) [9], а в [10] показано, что еженедельное добавление нитрата аммония  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  в РМТЭ, содержащий кактусы (*Opuntia joconostle*), повысило выработку энергии почти в 13 раз.

Таким образом, целью данной работы являлось выявление влияния формы азота в питательном растворе на формировании разности потенциалов в системе корнеобитаемая среда-растения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве фитотест-объекта был выбран листовой салат (*Lactuca sativa* L.) сорта Тайфун производства ООО «Сортсеемвош» (Россия), имеющий развитую корневую систему стержневого типа с множеством боковых ответвлений.

Для изучения электрических явлений, возникающих в корнеобитаемой среде, лучшим объектом являются искусственные среды на основе питательных растворов за счет меньшего количества влияющих внешних факторов (в первую очередь влажность) и большей управляемости параметрами (составом) среды обитания. Растения выращивали по технологии тонкослойной панопоники [11] в условиях интенсивной светокультуры на биополигоне ФГБНУ АФИ в вегетационной установке с лампами ДНаТ-400 в качестве источников света. Облученность составляла  $70-75 \text{ Вт/м}^2$  в области фотосинтетически активной радиации (ФАР), световой период – 14 часов в сутки, температура воздуха  $+20-22 \text{ }^\circ\text{C}$  днем и  $+18-20 \text{ }^\circ\text{C}$  – ночью, относительная влажность воздуха – 65-70%.

Экспериментальная БЭС представляла собой ячейку площадью  $187 \times 137 \text{ мм}^2$  и высотой 36 мм, в которой размещали и выращивали пророщенные семена салата в количестве 2 растений (рис. 1). Измеряемой характеристикой, отражающей биоэлектрическую активность корневой системы и сопутствующих микроорганизмов и протекание метаболических процессов в корнеобитаемой среде, служил биоэлектрический потенциал (БЭП) – разность потенциалов, измеряемая в нашем случае между корневой шейкой и дном емкости для выращивания. Для регистрации БЭП, формируемых в корнеобитаемой среде, в системы для культивирования устанавливали коррозионностойкие биосовместимые электроды из графитового войлока толщиной 5 мм с большой удельной поверхностью, обеспечивающие поверхностный электрический контакт с корневой системой [12]. Мониторинг изменения разности потенциалов осуществляли с помощью аппаратной платформы Arduino каждые 15 минут в течение всего вегетационного периода. Также в процессе эксперимента проводили измерение показателей электропроводности питательных растворов с помощью кондуктометра COM-80 (HM Digital, США).

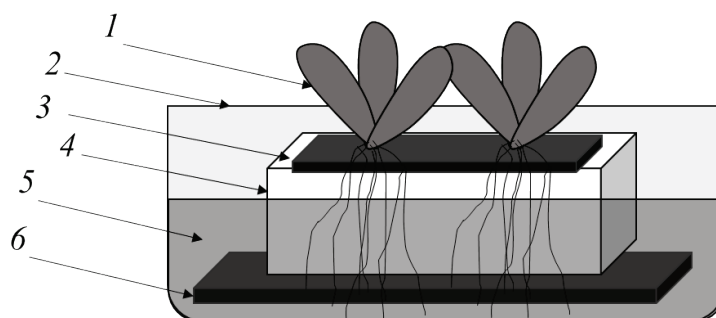
В работе были исследованы следующие варианты питательного раствора Кнопа [13], модифицированные по форме азота:

- 1) вариант 1 (классический раствор Кнопа) содержал нитратную форму азота ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KNO}_3$ );
- 2) вариант 2 – амидную форму азота ( $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ );
- 3) вариант 3 – смешанную нитратно-аммонийную форму азота ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ).

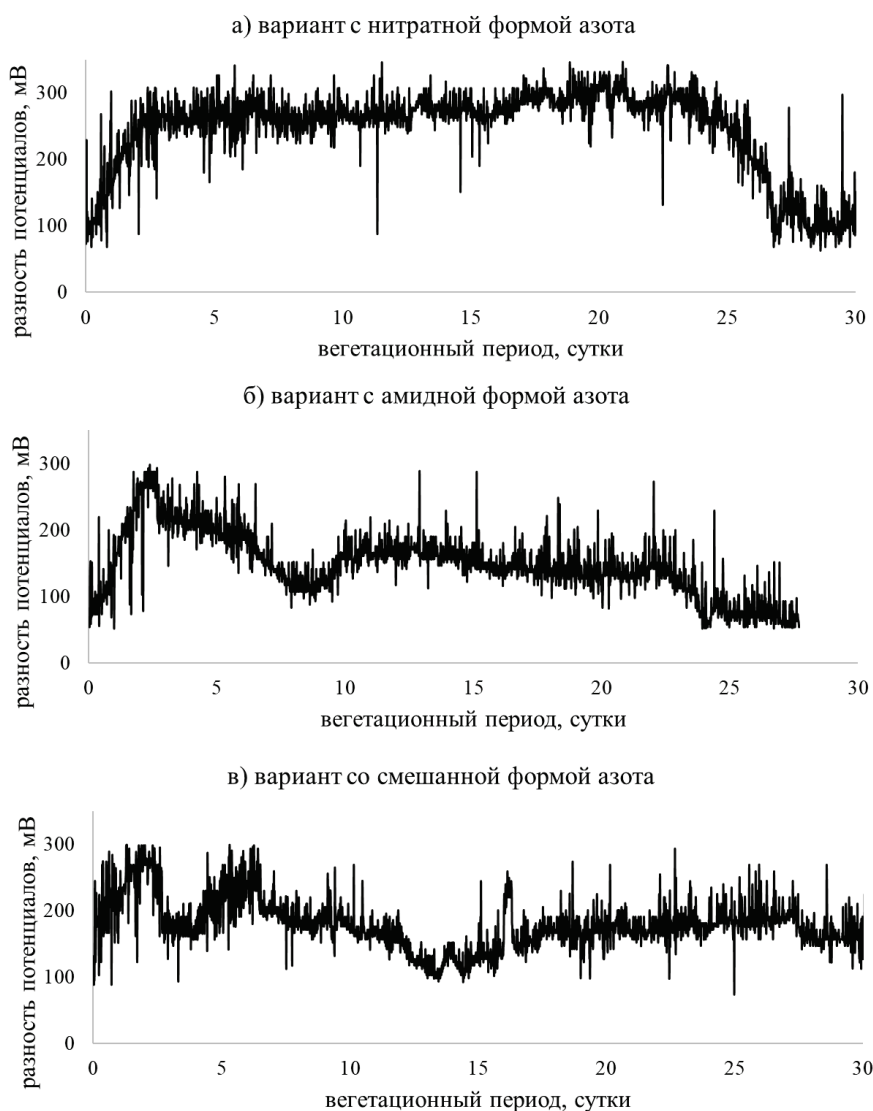
В каждый вариант были дополнительно добавлены микроэлементы по Чеснокову с соавторами [13]. Исследуемые растворы были максимально выровнены по концентрациям элементов питания.

Вегетационный опыт проводили дважды, с 3х-кратной повторностью исследуемых вариантов в каждом эксперименте. Уборку осуществляли на 35 сутки от посева семян. При уборке учитывали сырую массу надземной части и корней, высоту растений. Биохимический анализ содержания сухого вещества и нитрата в листьях проводили в аккредитованной Испытательной лаборатории ФГБНУ АФИ. Концентрацию ионов на электродах в конце эксперимента, определяли готовя водную вытяжку и применяя соответствующие ионоселективные электроды, подключенные к анализатору Экотест-120 (Эконикс, Россия).

Статистическую обработку данных проводили с применением программ Excel 2010. Определяли средние значения изучаемых показателей, доверительные интервалы. Достоверность различий между вариантами оценивали методами параметрической (t-критерий Стьюдента) статистики. Различия между вариантами считали достоверными при  $p \leq 0,05$ .



**Рисунок 1.** Схематическое изображение экспериментальной установки, включающей: 1 – растительный объект, 2 – емкость для выращивания, 3 – верхний электрод, 4 – платформу для растений, покрытую влагопроводящим элементом, 5 – питательный раствор, 6 – нижний электрод



**Рисунок 2.** Динамики разности потенциалов, генерируемых в корнеобитаемой среде при выращивании растений салата методом панопоники с использованием питательных растворов, различающихся по форме азота: а) вариант с нитратной формой азота, б) вариант с амидной формой азота, в) вариант со смешанной нитратно-аммонийной формой азота

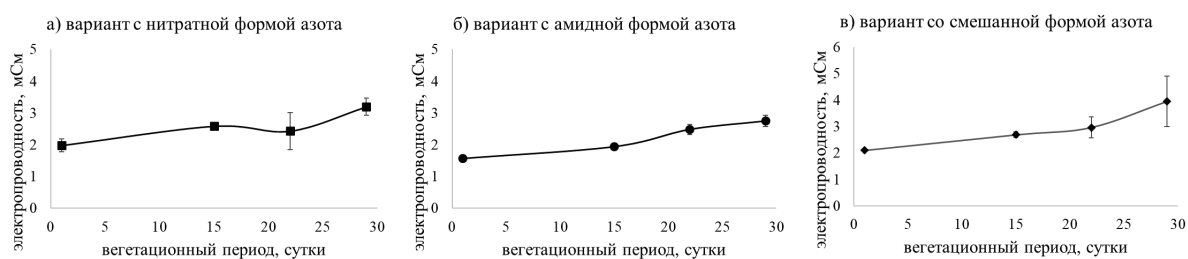
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученная динамика разности потенциалов, формируемых в ходе развития растений в корнеобитаемой среде на основе питательных растворов, различающихся по форме азота, представлена на рис. 2. Для варианта, содержащего азот в нитратной форме, характерна более стабильная генерация разности потенциалов на уровне  $\sim 270$  мВ на протяжении вегетационного периода. Уменьшение напряжения до начальных 100 мВ отмечается лишь в конце эксперимента и, вероятно, связано со снижением интенсивности ростовых процессов. Для вариантов, содержащих амидную и нитратно-аммонийную формы азота в первые 3 дня также наблюдается рост биоэлектрического потенциала до 270-280 мВ, однако затем напряжение падает и остается в пределах 100-200 мВ.

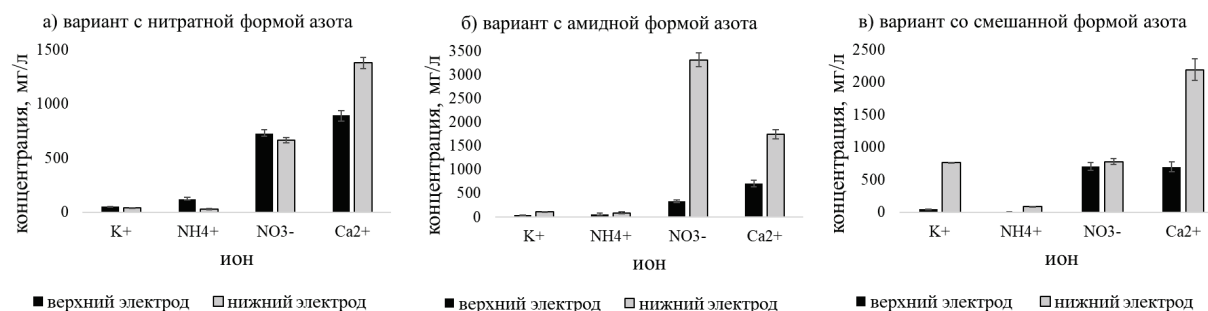
Максимально полученный биопотенциал составил 347 мВ для варианта с питательным раствором, содержащим азот в нитратной форме, и 298 мВ для вариантов с амидной и смешанной формами азота (табл. 1).

**Таблица 1.** Электрические параметры растительных БЭС, содержащих питательный раствор с различными формами азота

Форма азота в БЭС	Средний БЭП, мВ	Максимальный БЭП, мВ
Нитратная	243±64	347
Амидная	147±48	298
Нитратно-аммонийная	178±38	298



**Рисунок 3.** Изменение в ходе вегетационного периода электропроводности питательных растворов, модифицированных по форме азота: а) нитратная, б) амидная, в) нитратно-аммонийная



**Рисунок 4.** Содержание ионов  $K^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $NO_3^-$ ,  $Ca^{2+}$  на верхнем и нижнем электродах растительных БЭС, содержащих питательные растворы, различающиеся по форме азота: а) нитратная, б) амидная, в) нитратно-аммонийная

Наименьшее среднее значение БЭП  $\sim 150$  мВ было характерно для варианта 2, а наибольшее 243 мВ для варианта 1.

В ходе вегетационного периода были проведены измерения электропроводности исследованных питательных растворов, потенциально влияющей на электрические характеристики БЭС (рис. 3). В целом, в оцениваемых трех вариантах растворов наблюдается схожая динамика увеличения показателей на более чем 60 % к концу эксперимента. Скорее всего, это связано с накоплением не использованных растениями ионов минеральных элементов. Интересно отметить, что возрастание способности питательного раствора проводить электрический ток напрямую не коррелирует с электрическими характеристиками БЭС – разность потенциалов в конце вегетационного периода наоборот снижается. Вероятно, решающее значение имеет интенсивность метаболических реакций и концентрационный градиент в корнеобитаемой среде.

Для выявления потенциалообразующих ионов были измерены концентрации ионов  $K^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $NO_3^-$ ,  $Ca^{2+}$  на верхнем и нижнем электродах (рис. 4). Во всех вариантах, разработанных нами, БЭС верхний электрод был электроотрицателен относительно нижнего электрода, что коррелирует с полученным содержанием ионов на них – на нижнем электроде больше положительных ионов  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $NH_4^+$ , а на верхнем электроде отрицательных ионов  $NO_3^-$ .

Нитратная и аммонийная формы азота быстро усваиваются растениями и имеют близкую подвижность ионов –  $7,4 \cdot 10^{-8} \text{ м}^2/(\text{В} \cdot \text{с})$  для  $NO_3^-$  и  $7,6 \cdot 10^{-8} \text{ м}^2/(\text{В} \cdot \text{с})$  для  $NH_4^+$ , при этом поглощение аммонийной формы является более энергетически выгодным. Амидная же форма усваивается в основном через листовую поверхность, что отразилось на биомассе растений [14]. В табл. 2 приведены показатели роста растений салата и безопасности его растительной продукции. По полученным данным можно предположить, что величина БЭП связана с массой корневой системы и напрямую не зависит от массы надземной части. Следует также отметить, что, судя по содержанию нитратов в полученной растительной продукции, она соответствует санитарно-гигиеническим нормативам РФ.

**Таблица 2.** Основные показатели роста и безопасности растительной продукции при выращивании растений салата в регулируемых условиях методом панопоники в БЭС, содержащих питательный раствор с различными формами азота

Форма азота в БЭС	Масса надземной части одного растения, г	Высота растений, см	Сухое вещество в надземной части, %	Масса корней, г	Сухое вещество в корнях, %	Содержание нитрата в листьях, мг/кг н.в.
Нитратная	21,1 $\pm$ 4,3	13 $\pm$ 2,5	6,5 $\pm$ 1,0	8,2 $\pm$ 2,3	6,1 $\pm$ 1,2	940
Амидная	12,1* $\pm$ 2,2	11,5* $\pm$ 3,4	8,4* $\pm$ 0,9	3,3* $\pm$ 3,1	6,5* $\pm$ 1,1	247*
Нитратно-аммонийная	22,9* $\pm$ 2,2	13 $\pm$ 3,1	9,4* $\pm$ 0,2	6,8* $\pm$ 2,3	8,6* $\pm$ 0,7	1157*

Примечание: \* – значение достоверно отличается от такового в варианте 1 (раствор Кнопа с нитратной формой азота) на 5%-ном уровне значимости

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе полученных данных можно сказать, что лучшим по величине и стабильности генерации биоэлектрического потенциала из исследованных вариантов был питательный раствор, содержащий азот в нитратной форме, – разность потенциалов достигала ~300 мВ и была стационарной на протяжении вегетационного периода.

Таким образом, перемещение ионов в корнеобитаемой среде в процессе жизнедеятельности растений может стать новым альтернативным источником электроэнергии. Создание БЭС с наиболее управляемыми потоками ионов является одной из перспективных задач зеленой биоэнергетики.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации (МК-4397.2022.5).*

**Список литературы / References:**

1. Поздняков А.И., Позднякова А.Д. *Электрофизика почв*. Москва-Дмитров: ВНИИМЗ, МГУ, 2004, 48 с. [Pozdnyakov A.I., Pozdnyakova A.D. *Elektrofizika pochv*. Moskva-Dmitrov: VNIIMZ, MGU, 2004, 48 p. (In Russ.)]
2. Поздняков А.И., Позднякова Л.А., Позднякова А.Д. *Стационарные электрические поля в почвах*. М: КМК Scientific Press Ltd., 1996, 358 с. [Pozdnyakov A.I., Pozdnyakova L.A., Pozdnyakova A.D. *Stationary electric fields in soils*. М: КМК Scientific Press Ltd., 1996, 358 p. (In Russ.)]
3. Кулешова Т.Э., Панова Г.Г., Галль Н.Р., Галушко А.С. Концентрационный элемент на основе электрогенных процессов в корнеобитаемой среде. *ПЖТФ*, 2022, № 8. [Kuleshova T.E., Panova G.G., Gall N.R., Galushko A.S. Concentration cell based on electrogenic processes in the root environment. *Technical Physics Letters*, 2022, vol. 48, no. 4, doi: 10.21883/PJTF.2022.08.52363.19066. (In Russ.)]
4. Strik D.P.B.T.B., Hamelers H.V.M., Snel J.F., Buisman C.J. Green electricity production with living plants and bacteria in a fuel cell. *International Journal of Energy Research*, 2008, vol. 32, no. 9.
5. Knowles R. Denitrification. *Microbiological reviews*, 1982, vol. 46, no. 1, doi: 10.1128/mr.46.1.43-70.1982.
6. Johnson R.S., Uriu K. *Mineral nutrition. Peach, Plum and Nectarine: Growing and Handling for Fresh Market*. Oakland, University of California, 1989, p. 68.
7. Pan Y., Ni B.J., Bond P.L., Ye L., Yuan Z. Electron competition among nitrogen oxides reduction during methanol-utilizing denitrification in wastewater treatment. *Water research*, 2013, vol. 47, no. 10, doi: 10.1016/j.watres.2013.02.054.
8. Morris J.M., Jin S. Influence of NO<sub>3</sub> and SO<sub>4</sub> on power generation from microbial fuel cells. *Chemical Engineering Journal*, 2009, vol. 153, no. 1-3, doi: 10.1016/j.cej.2009.06.023.
9. Helder M., Strik D.P.B.T.B., Hamelers H.V.M., Kuisken R.C.P., Buisman C.J.N. New plant-growth medium for increased power output of the Plant-Microbial Fuel Cell. *Bioresource technology*, 2012, vol. 104, doi: 10.1016/j.biortech.2011.11.005.
10. Apollon W., Valera-Montero L.L., Perales-Segovia C., Maldonado-Ruelas V.A., Ortiz-Medina R.A., Gomez-Leyva J.F., Vazquez-Gutiérrez M.A., Flores-Benitez S., Kamaraj S.K., Effect of ammonium nitrate on novel cactus pear genotypes aided by biobattery in a semi-arid ecosystem. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 2022, vol. 49, doi: 10.1016/j.seta.2021.101730.
11. Панова Г.Г., Удалова О.Р., Канаш Е.В., Галушко А.С., Кочетов А.А., Прияткин Н.С., Архипов М.В., Черноусов И.Н. Основы физического моделирования «идеальных» агроэкосистем. *Журнал технической физики*, 2020, т. 90, № 10, doi: 10.21883/JTF.2020.10.49792.429-19. [Panova G.G., Udalova O.R., Kanash E.V., Galushko A.S., Kochetov A.A., Priyatkin N.S., Arkhipov M.V., Chernousov I.N. Fundamentals of Physical Modeling of “Ideal” Agroecosystems. *Technical Physics*, 2020, vol. 65, no. 10, doi: 10.1134/S1063784220100163. (In Russ.)]
12. Кулешова Т.Э., Бушлякова А.В., Галль Н.Р. Неинвазивное измерение биоэлектрических потенциалов растений. *Письма в Журнал технической физики*, 2019, т. 45, № 5, doi: 10.21883/PJTF.2019.05.47387.17541. [Kuleshova T.E., Bushlyakova A.V., Gall N.R. Noninvasive measurement of bioelectric potentials of plants. *Technical Physics Letters*, vol. 45, no. 3, doi: 10.1134/S1063785019030106. (In Russ.)]
13. Чесноков В.А., Базырина Е.Н., Бушуева Т.М. *Выращивание растений без почвы*. Изд. ЛГУ, 1960. [Chesnokov V.A., Bazyrina E.N., Bushueva T.M. *Vyrashchivanie rastenij bez pochvy*. Izd. LGU, 1960.]
14. Битюцкий Н.П. *Минеральное питание растений*. Изд. СПбГУ, 2020. [Bityuckij N.P. *Mineral'noe pitanie rastenij*. Izd. SPGU, 2020. (In Russ.)]

**DEPENDENCE OF THE BIOELECTRIC POTENTIAL IN THE ROOT ENVIRONMENT ON THE NITROGEN FORM IN THE NUTRIENT SOLUTION****Kuleshova T.E., Zhelnacheva P.V., Gasieva Z.A., Galushko A.S., Panova G.G.**

Agrophysical Research Institute

*Grazhdansky pr., 14, St. Petersburg, 195220, Russia; e-mail: www.piter.ru@bk.ru*

Received 07.08.2022. DOI: 10.29039/rusjbp.2022.0558

**Abstract.** The influence of the nitrogen form (nitrate, amide, nitrate-ammonium) in the composition of the nutrient solution on the electrical characteristics of a bioelectrochemical system based on the electrogenic properties of lettuce was studied. The dynamics of the bioelectric potential (BEP) in the root environment-plants system, biometric and biochemical parameters of plant production using various nutrient solutions during the cultivation of lettuce by the panoponic method in intensive artificial lightculture have been registered. The average BEP value was 243 mV when using the nitrate form of nitrogen in the nutrient solution, 147 mV for the amide form and 178 mV for the nitrate-ammonium form. The maximum observed potential difference was characteristic of the variant containing nitrogen in the nitrate form, which probably indicates the potential-forming role of  $\text{NO}_3^-$ . An increase in the concentration of positive ions ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ) on the lower electrode and negative ( $\text{NO}_3^-$ ) on the upper one was noted, which corresponds to the polarity observed in the BES – the upper electrode is electronegative relative to the lower one. It is shown that the nutrient solution containing nitrogen in the nitrate form was the best in terms of size and stability of the studied options. The diffusion of ions in the root environment during the life of plants can become a new alternative source of electricity.

**Key words:** *bioelectrochemical system, plant-microbial fuel cell, lightculture, lettuce, panoponics, electrogenic properties.*