



Смирнова М.В., Койгерова А.А., Цветов Н.С.

Биотестирование глубоких эвтектических растворителей с использованием фитотеста и аллиум-теста (Allium test)

ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Кольский научный центр» Российской академии наук, Научный центр медико-биологических исследований адаптации человека в Арктике, 184209, Апатиты, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Биотестирование может применяться для оценки безопасности различных химических веществ. В настоящей работе производилась оценка токсичности глубоких эвтектических растворителей (хлорид холина + глицерин + вода, хлорид холина + лимонная кислота + вода и лимонная кислота + глицерин + вода) с использованием фитотеста и аллиум-теста (*Allium test*).

Материалы и методы. Методы исследования включали фитотестирование на тест-культурах горчицы белой (*Sinapis alba* L.) и овса голозерного (*Avena nuda* L.) по стандартной методике ФР. 1.31.2024.48371 с измерением длины корней после экспозиции в течение 72 ч и расчётом фитотоксического эффекта торможения, а также аллиум-теста с проращиванием лукович на растворах в течение 96 ч.

Результаты. Составы «хлорид холина + лимонная кислота + вода» в молярном соотношении 1 : 2 : 43 и «лимонная кислота + глицерин + вода» в молярном соотношении 1 : 4 : 20 в концентрации 0,1% также показали слабую фитотоксичность (фитотоксический эффект торможения 34 и 50% у горчицы белой, 43 и 26% у овса голозерного соответственно). Аллиум-тест показал токсическое действие у всех растворов, кроме «хлорид холина + лимонная кислота + вода» в молярном соотношении 1 : 2 : 11 в концентрациях 1 и 0,1% и «хлорид холина + лимонная кислота + вода» в молярном соотношении 1 : 2 : 43 в концентрации 0,1%. Отмечены достоверно значимое понижение митотического индекса клеток и появление слияния хромосом.

Ограничения исследования. Использование для оценки токсичности только растительных объектов.

Заключение. В результате исследования слабую или умеренную токсичность показал состав «хлорид холина + глицерин + вода» в соотношении 1 : 2 : 11. Полученные данные могут быть использованы для развития методов оценки безопасности подобных растворителей при планировании их применения в промышленности.

Ключевые слова: аллиум-тест; фитотоксичность; генотоксичность; глубокие эвтектические растворители; хромосомные aberrации

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике.

Для цитирования: Смирнова М.В., Койгерова А.А., Цветов Н.С. Биотестирование глубоких эвтектических растворителей с использованием фитотеста и аллиум-теста (*Allium test*). *Гигиена и санитария*. 2026; 105(4): 445–449. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2026-105-4-445-449> <https://elibrary.ru/lyzeij>

Для корреспонденции: Смирнова Мария Васильевна, e-mail: zbe3do4et@mail.ru

Вклад авторов: Смирнова М.В. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста; Койгерова А.А. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста; Цветов Н.С. — написание текста. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех её частей.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Работа была выполнена в рамках темы НИР № FMEZ-2025-0064.

Поступила: 04.07.2025 / Поступила после доработки: 22.07.2025 / Принята к печати: 24.03.2026 / Опубликовано: 18.05.2026

Maria V. Smirnova, Alena A. Koigerova, Nikita S. Tsvetov

Biotesting of deep eutectic solvents using phytotest and Allium test

Research Centre for Human Adaptation in the Arctic, Kola Science Centre of the Russian Academy of Sciences, Apatity, 184209, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Biotesting can be used to assess the safety of various chemicals.

The aim of the study was to evaluate the toxicity of deep eutectic solvents: choline chloride+glycerol+water, choline chloride+citric acid+water, and citric acid+glycerol+water using phytotest and Allium test.

Materials and methods. The research methods included phytotesting carried out on test crops of *Sinapis alba* L. and *Avena nuda* L. according to the standard method with root length measurement after experimental exposure for 72 hours and calculation of the of the phytoinhibitory effect (PIE, %) and Allium test with germination of bulbs in solutions for 96 hours.

Results. At a 10% concentration, all DESs exhibited toxicity. $[ChCl][Gly]_2[H_2O]_{11}$ at 1% and 0.1% concentrations showed weak to moderate phytotoxicity, with growth inhibition by 38% and 34% in *S. alba* and 33% and 35% in *A. nuda*. $[ChCl][Cit]_2[H_2O]_{43}$ and $[Cit][Gly]_4[H_2O]_{20}$ at 0.1% concentration also demonstrated weak phytotoxicity, with growth inhibition by 34% and 50% in *S. alba* and 43% and 26% in *A. nuda*, respectively. The Allium test revealed toxic effects for all DESs, except $[ChCl][Gly]_2[H_2O]_{11}$ at 1% and 0.1% and $[ChCl][Cit]_2[H_2O]_{43}$ at 0.1%, where no significant toxicity was observed. A statistically significant decrease in the mitotic index and the occurrence of chromosomal stickiness were noted in the Allium test.

Limitations. Use of only plant objects for toxicity assessment.

Conclusion. $[ChCl][Gly]_2[H_2O]_{11}$ exhibited weak to moderate toxicity, consistent with existing literature. These findings can guide the development of safety assessment methods for DESs in industrial applications.

Keywords: Allium-test; phytotoxicity; genotoxicity; deep eutectic solvents; aberrations

Compliance with ethical standards. The study does not require the submission of a biomedical ethics committee opinion or other documents.

For citation: Smirnova M.V., Koigerova A.A., Tsvetov N.S. Biotesting of deep eutectic solvents using phytotest and Allium test. *JulyGigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2026; 105(4): 445–449. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2026-105-4-445-449> <https://elibrary.ru/lyzeij> (In Russ.)

For correspondence: Maria V. Smirnova, e-mail: zbe3do4et@mail.ru

Contribution: Smirnova M.V. — the concept and design of the study, collection and processing of the material, statistical processing, writing text; Koigerova A.A. — the concept and design of the study, collection and processing of the material, statistical processing, writing text; Tsvetov N.S. — writing text. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. This work was carried out within the frameworks of Research Contracts No. FMEZ-2025-0064.

Received: July 4, 2025 / Revised: July 22, 2025 / Accepted: March 24, 2026 / Published: May 18, 2026

Введение

Глубокие эвтектические растворители (ГЭР), представляющие собой смеси соединений, образующие легкоплавкую смесь при комнатной температуре, в последнее десятилетие стали привлекать внимание исследователей благодаря уникальным физико-химическим свойствам и потенциальному применению в различных областях науки и техники [1]. Зачастую указывается, что эти смеси характеризуются низкой токсичностью, биоразлагаемостью и экологической совместимостью, что делает их перспективными заменителями традиционных органических растворителей [2].

В контексте исследования токсикологических характеристик ГЭР можно отметить, что, несмотря на присутствие в их составе природных компонентов, отдельные составляющие могут проявлять выраженную токсичность по отношению к биологическим объектам. Примечательно, что даже в случаях, когда исходные компоненты ГЭР характеризуются отсутствием токсического потенциала, формирующаяся эвтектическая система может проявлять качественно новые свойства. Исследования свидетельствуют о невозможности адекватной оценки токсикологического профиля ГЭР путём простого суммирования характеристик входящих в его состав компонентов [3]. Дополнительно установлено, что количественные показатели токсичности ГЭР находятся в функциональной зависимости от реологических характеристик, в частности от вязкости системы [4]. Данные наблюдения свидетельствуют о формировании ГЭР как качественно нового типа псевдохимических соединений со специфическими физико-химическими и токсикологическими свойствами, отличающими их от исходных компонентов, требующих пристального изучения.

Одним из ключевых аспектов исследования безопасности соединений является оценка токсичности с помощью биотестирования — способности веществ оказывать влияние на рост и развитие тест-организмов. Некоторые исследования безопасности составов ГЭР и актуальность их биотестирования подтверждают данные работ [5, 6].

Для оценки токсичности используются различные протоколы, среди которых чувствительными и простыми являются методы на основе высших растений — фитотестирование и аллиум-тест [7]. Фитотестирование основано на измерении длины корней проростков растений, выращенных в присутствии исследуемого вещества. Ферментативные реакции влияют на прорастание семян, происходит активизация процессов внутри клетки, а различные ксенобиотики могут подавлять рост и развитие растения [8]. Этот метод позволяет быстро оценить воздействие химического соединения на растительные организмы [9]. Аллиум-тест используется для определения мутагенного потенциала веществ путём анализа хромосомных аномалий в меристематических клетках корня лука и вычисления показателя митотического индекса деления клеток (МИ) [10].

В литературе представлены исследования, посвящённые изучению токсичности ГЭР с применением тест-систем *in vivo* [11] (фитотестирование и др.), например, на семенах пшеницы *Triticum aestivum* (L.) [12–14], кресс-салата *Lepidium sativum* (L.) [15], лука посевного *Lactuca sativa* (L.) [16], а также с совмещением фитотестирования и цитотоксических методов на основе анализа хромосомных aberrаций в клетках меристемы корня чеснока *Allium sativum* (L.) [17].

Ранее была определена антимикробная активность используемых в работе составов ГЭР и экстрактов из листьев *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop на их основе в отношении бактериальных культур *Bacillus pumilus*, *Microbacterium paraoxydants* и *Acinetobacter lwoffii*, а также цитотоксичность ГЭР и растительных экстрактов в отношении клеток линии карциномы шейки матки HeLa и почек эмбриона человека HEK293 с использованием МТТ-теста. Было показано, что все экстракты *C. angustifolium* на основе ГЭР в высоких концентрациях (10, 1 об.%) обладали антимикробной активностью в отношении тестируемых бактериальных штаммов.

При этом наибольшую токсичность для всех бактериальных культур проявил экстракт на основе лимонной кислоты, глицерина и воды в соотношении 1 : 4 : 20. Цитотоксический эффект был меньше выражен для линии клеток почек эмбриона человека после обработки составом ГЭР «хлорид холина + лимонная кислота + вода» в соотношении 1 : 2 : 43, для раковых клеток — «хлорид холина + глицерин + вода» в соотношении 1 : 2 : 11 [18]. Однако указанные в настоящем исследовании составы не тестировались на моделях *in vivo*.

Цель исследования — оценка токсичности глубоких эвтектических растворителей «хлорид холина + глицерин + вода», «хлорид холина + лимонная кислота + вода» и «лимонная кислота + глицерин + вода» с использованием фитотеста и аллиум-теста.

Материалы и методы

Для эксперимента использовали: хлорид холина (99%, Rongsheng Biotech, Китай), глицерин, лимонную кислоту (> 99%, Вектон, Россия), деионизированную воду (Simplicity UV, Германия).

Для приготовления микропрепаратов использовали фиксатор Кларка (96 об.% этиловый спирт + 45 об.% ледяная уксусная кислота в пропорциях 3 : 1), краситель ацеторсеин 1%-й (орсеин, ООО «ПанЭко», Россия), спирт этиловый 96 об.% (ООО «РосБио», Россия), ледяную уксусную кислоту 99,8% (ГК «Русхим, Россия), 1%-ю перекись водорода (ООО «Тульская фармацевтическая фабрика», Россия).

В качестве тест-культур использовали: лук репчатый *Allium cepa* (L.) сорт «Штуттгартен ризен» («Ростлайн Агро-сервис», Россия), семена горчицы белой *Sinapis alba* (L.) (производитель ООО «Агрофирма Балтийская», Россия), семена овса голозёрного *Avena nuda* (L.) (ООО «Аратай», Россия).

Для биотестирования использовали ГЭР «хлорид холина (ChCl) + глицерин (Gly) + вода (H₂O)» в молярном соотношении 1 : 2 : 11, «хлорид холина (ChCl) + лимонная кислота (Cit) + вода (H₂O)» в молярном соотношении 1 : 2 : 43, «лимонная кислота (Cit) + глицерин (Gly) + вода (H₂O)» в молярном соотношении 1 : 4 : 20. Поскольку эти растворители представляют собой водородно-связанные комплексы, то здесь и далее их составы будут записываться как формулы комплексных соединений [ChCl][Gly]₂[H₂O]₁₁, [ChCl][Cit]₂[H₂O]₄₃ и [Cit][Gly]₄[H₂O]₂₀ соответственно. Приготовление и изучение физико-химических характеристик данных составов подробно описано в работах [19, 20].

Фитотестирование. Фитотестирование проводили на семенах горчицы белой с измерением длины корней, расчётом фитозффекта торможения (ФЭТ, %) и полуэффективной концентрации (ЭК₅₀, %). На основании расчётов ФЭТ пробы разделяли по токсичности: нетоксичные (ФЭТ ≤ 20%), слаботоксичные (20 < ФЭТ < 50%) и токсичные (ФЭТ > 50%) [21]. Овёс голозёрный был использован аналогично в качестве тест-культуры.

Для фитотестирования использовали сходные по размеру семена горчицы белой и овса голозёрного. Перед проведением эксперимента семена промывали проточной водой и проводили проверку всхожести семян [21]. Приготовленные составы ГЭР доводили до объёмных концентраций 10; 1 и 0,1% деионизированной водой. В качестве контроля использовали дистиллированную воду. 10 мл раствора вносили на уложенную в планшеты для фитотестирования (ООО «Европолитест», Москва) фильтровальную бумагу и укладывали на неё семена в ряд на расстоянии 1 см друг от друга и от края планшета. На каждую пробу и контроль использовали по 15 семян, экспонировали 72 ч при температуре плюс 22 °С, освещённости 12 ч и влажности 40%. Первые сутки планшеты находились в горизонтальном положении во избежание ссыпания семян на дно планшета. Эксперимент проводили в шестикратных повторностях (три планшета на одно среднее значение ФЭТ). Измерения длины корней проводили с помощью линейки ГОСТ 427–75 от нижней точки стебля до конца корня (в миллиметрах).

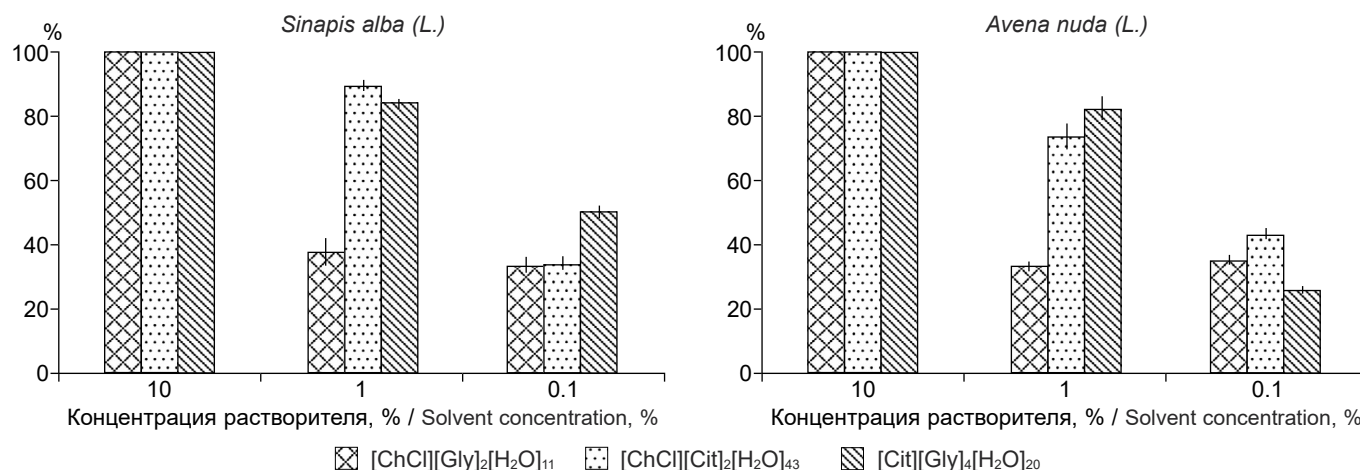


Рис. 1. Графики фитоторможения (ФЭТ, %) после фитотестирования растворителей на семенах *Sinapis alba* (L.) и *Avena nuda* (L.).

Fig. 1. Graphs of the inhibitory phytoeffect (IPE, %) after phytotesting of solvents on the seeds of *Sinapis alba* (L.) and *Avena nuda* (L.).

Аллиум-тест. Процедуру тестирования проводили по методике с предварительной проверкой на жизнеспособность луковицы по Фискедждо [22]. После проверки выбрали по три луковицы на каждый состав ГЭР и концентрации, контроли; экспонировали 96 ч в темноте при температуре плюс 22 °С. В качестве отрицательного контроля была взята дистиллированная вода, в качестве положительного — 1%-я перекись водорода [23]. Корни помещали в фиксатор Кларка на 24 ч, затем промывали 80%-м этиловым спиртом с последующим хранением в нём же.

Для микроскопии корни промывали от этилового спирта в дистиллированной воде и окрашивали по методике Медведевой М.Ю. с соавт. [24]. Для каждой пробы брали по 5 корней и подсчитывали около 1000 клеток в зоне роста корня на увеличении $\times 400$. Отмечали фазы митоза и хромосомные aberrации с помощью фотосъёмки. Данные обрабатывали с помощью программы «Allium сера Tool» автоматического подсчёта клеток на основе искусственного интеллекта и языка программирования Python [25]. МИ рассчитывали как отношение количества всех делящихся клеток к общему количеству подсчитанных клеток в препарате, выраженное в процентах. Также рассчитывали процент хромосомных aberrаций.

Статистическая обработка. Для вычисления средних показателей, расчёта ФЭТ и среднего квадратичного отклонения повторяемости при фитотестировании использовали MS Excel по методике [21].

Статистический анализ данных аллиум-теста (критерий Шапиро — Уилка, однофакторный дисперсионный анализ и критерий Тьюки) и проводили в программе R-studio 4.0.4 (R Core Team, 2021). Уровень значимости был принят при $p < 0,05$.

Результаты

Фитотестирование. Результаты представлены на рис. 1. Было отмечено, что в концентрациях 10% все растворы ГЭР показали токсичность, прорастания семян горчицы не происходило.

Составы $[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$ и $[\text{Cit}][\text{Gly}]_4[\text{H}_2\text{O}]_{20}$ в концентрации 1% также были токсичны (ФЭТ = 89% и ФЭТ = 84% соответственно).

Состав $[\text{Cit}][\text{Gly}]_4[\text{H}_2\text{O}]_{20}$ в концентрации 0,1% показал умеренную токсичность (ФЭТ = 50%).

ГЭР $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$ в концентрациях 1 и 0,1% показали слабую токсичность (ФЭТ = 38% и ФЭТ = 34% соответственно).

Митотический индекс (МИ) и хромосомные aberrации в клетках корневой меристемы *Allium cepa* L. после воздействия глубоких эвтектических растворителей ($n = 5$, 5000 клеток)

Mitotic index (MI) and chromosomal aberrations in cells of root meristem *Allium cepa* L. after exposure to deep eutectic solvents ($n = 5$, 5000 cells)

Глубокий эвтектический растворитель, концентрация Deep eutectic solvent, concentration	Митотический индекс, % Mitotic index, %	Мосты Bridges	Нарушение работы веретена деления Disruption of the cell division spindle	Слипание хромосом Stickiness chromosomes	Отставание хромосом Chromosomes lagging	С-митоз C-Mitosis	Сумма Sum	Аберрации, % Aberrations, %
Отрицательный контроль (дистиллированная вода) Negative control (distilled water)	16.0 ^a	0	1	1	0	3	5	0.7
Положительный контроль (1% H ₂ O ₂) Positive control (1% H ₂ O ₂)	2.4 ^b	0	1	2	0	0	5	3.9
$[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$, 0.1%	2.0 ^b	1	1	0	1	0	3	3.1
$[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$, 1%	11.3 ^b	0	5	5	1	2	13	2.3
$[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$, 0.1%	8.5 ^c	4	0	11	4	0	19	4.3

Примечание. Разными буквами обозначены выборки с достоверными различиями ($p \leq 0,05$).

Note: Samples with significant differences are indicated by different letters ($p \leq 0,05$).

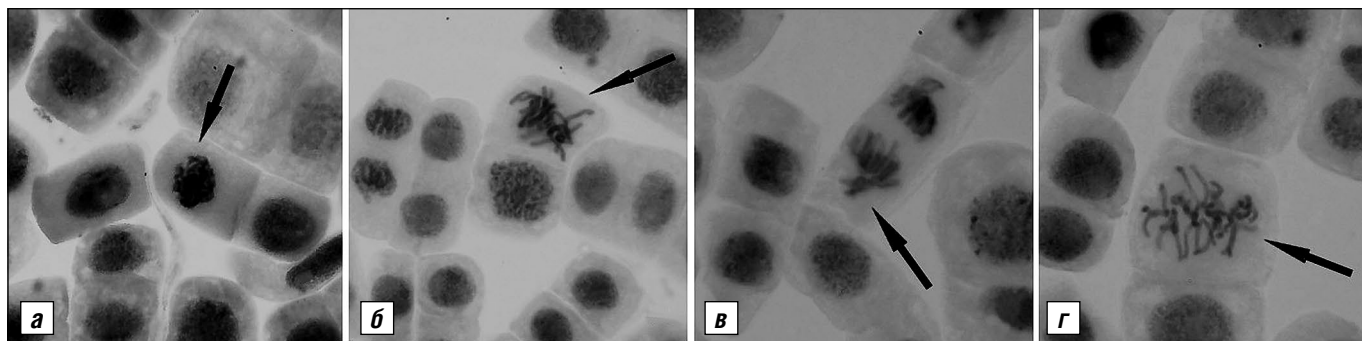


Рис. 2. Хромосомные aberrации в клетках корневой меристемы *Allium cepa* L. после воздействия растворителей (указаны стрелками): а – слипание хромосом в метафазе; б – отставание хромосом в метафазе; в – нарушение работы веретена деления клетки; г – отставание хромосом в анафазе. Окрашивание ацетоорсеином, увеличение $\times 400$.

Fig. 2. Chromosomal aberrations in the cells of the root meristem of *Allium cepa* L. after exposure to solvents (shown by arrows): а – chromosomes stickiness in metaphase; б – chromosome lagging in metaphase; в – disruption of the cell division spindle; г – chromosome lagging in anaphase. Acetoorcein staining, $\times 400$.

ГЭР $[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$ в концентрации 0,1% также показал слабую токсичность ($\Phi\text{ЭТ} = 34\%$) (см. рис. 1).

Фитотестирование на семенах овса показало, что в 10% концентрациях все растворы токсичны, прорастания семян также не происходило.

Растворы $[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$ в концентрации 0,1%, $[\text{Cit}][\text{Gly}]_4[\text{H}_2\text{O}]_{20}$ в концентрации 0,1%, $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$ в концентрациях 1 и 0,1% имели слабую токсичность ($\Phi\text{ЭТ} = 43\%$, $\Phi\text{ЭТ} = 26\%$, $\Phi\text{ЭТ} = 33\%$ и $\Phi\text{ЭТ} = 35\%$ соответственно).

Растворы $[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$, $[\text{Cit}][\text{Gly}]_4[\text{H}_2\text{O}]_{20}$ в концентрации 1% имели высокую токсичность ($\Phi\text{ЭТ} = 74\%$ и $\Phi\text{ЭТ} = 84\%$ соответственно) (см. рис. 1).

После вычисления значения $\Phi\text{ЭТ}$ был сделан расчёт ЭК_{50} для каждого объекта фитотеста. У семян горчицы белой ЭК_{50} составил для $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$ 1,44%, для $[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$ 0,16% и для $[\text{Cit}][\text{Gly}]_4[\text{H}_2\text{O}]_{20}$ 0,09%. Те же расчёты у овса голозёрного показали значения ЭК_{50} $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$ 1,99%, для $[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$ 0,24% и для $[\text{Cit}][\text{Gly}]_4[\text{H}_2\text{O}]_{20}$ 0,25%.

Аллиум-тест. После воздействия составов ГЭР отмечен рост корней в $[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$ в концентрации 0,1%, $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$ в концентрациях 1 и 0,1%. В пробах $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$ 10%, $[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$ 10 и 1%, $[\text{Cit}][\text{Gly}]_4[\text{H}_2\text{O}]_{20}$ 10; 1 и 0,1% отмечена гибель корней.

В результате вычисления показателя митотического индекса (МИ) обнаружены статистически значимые отличия значений опытных растворов по сравнению с положительным и отрицательным контролем ($[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$, 1%, и $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$, 0,1%) и отрицательным контролем ($[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$, 0,1%). Растворы оказывали митодепрессивное действие по сравнению с отрицательным контролем.

По количеству хромосомных aberrаций статистически значимые различия по сравнению с отрицательным контролем показали все растворы. Интересно, что $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$ в концентрации 0,1% вызывал большее количество хромосомных нарушений, чем $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$, 1% (см. таблицу).

Часто встречаемой хромосомной aberrацией было слипание хромосом, единично встречались мосты, нарушения работы веретена деления клетки, С-митоз (рис. 2).

Обсуждение

При биотестировании ГЭР следует учитывать следующий нюанс: в данном случае тестирование именно неразбавленных ГЭР не представляется возможным ввиду либо высокой вязкости, либо низкого значения pH этих растворителей. ГЭР необходимо разбавлять водой также для сни-

жения плотности и вязкости, что облегчает работу с этими смесями. Однако сильное разбавление может разрушить структуру водородных связей. В то же время воздействие чистых ГЭР на окружающую среду маловероятно. Используемые в настоящей работе разбавления ГЭР находятся в области, где происходит разрушение водородных связей между компонентами [26]. Таким образом, следует говорить о комбинированном воздействии раствора компонентов ГЭР на те или иные тест-организмы.

Фитотестирование показало, что в целом результаты соотносятся с данными о биоразлагаемости и слабой токсичности состава на основе $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$ [12]. Аллиум-тест показал, что используемые составы $[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$ и $[\text{Cit}][\text{Gly}]_4[\text{H}_2\text{O}]_{20}$ токсичны для корней, вероятно, из-за изменения pH, разбавления составов водой и синергетических эффектов [5]. Вызываемые составом $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$ хромосомные aberrации в меристематических клетках корня *A. cepa* описаны в целом для тест-модели *A. sativum* после обработки различными составами ГЭР [17].

На основании полученных результатов можно заключить, что компоненты выбранных ГЭР влияют на тестовые объекты, оказывая в разной степени токсическое действие в зависимости от входящих в состав веществ, концентрации раствора и индивидуальных особенностей тест-организмов. Отметим, что индивидуальная реакция живого организма может стать ограничивающим фактором исследования.

Таким образом, проведённое исследование подчёркивает актуальность оценки токсичности составов ГЭР разными методами и в разных условиях тестирования на живых моделях *in vitro* и *in vivo* из-за сложности протекания многих процессов в организме тест-модели, различных изменений в химической структуре составов ГЭР после разбавления водой и совокупности последующих эффектов. Немаловажны также исходные составляющие ГЭР.

Заключение

В настоящей работе была исследована токсичность растворов ГЭР $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$, $[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$ и $[\text{Cit}][\text{Gly}]_4[\text{H}_2\text{O}]_{20}$ в концентрациях 10%; 1 и 0,1% с использованием фитотестирования на горчице белой *S. alba* (L.), овсе голозёрном *A. nuda* (L.) и аллиум-теста на луке репчатом *A. cepa* (L.). Было показано, что составы в концентрации 10% проявляли острую токсичность в отношении всех тестовых организмов.

Состав $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$ в концентрации 1 и 0,1% показал слабую токсичность на выбранных тест-объектах. Примечательно, что концентрация этого состава 0,1% вызывала несколько большее влияние на лук репчатый и овёс, чем концентрация 1%, показывая сходство откли-

Original article

ка тестовых организмов. $[\text{ChCl}][\text{Gly}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{11}$ в целом показал либо слабую, либо умеренную токсичность в отличие от остальных растворов, что согласуется с некоторыми литературными данными и ранее полученными результатами. $[\text{ChCl}][\text{Cit}]_2[\text{H}_2\text{O}]_{43}$ в концентрации 1% показал токсичность в отношении всех тест-организмов, а в концентрации 0,1% показал слабую токсичность для горчицы белой и овса, но оказался токсичен для лука репчатого. $[\text{Cit}][\text{Gly}]_4[\text{H}_2\text{O}]_{20}$ в концентрации 0,1% показал умеренную и слабую фитотоксичность для горчицы белой и овса голозерного, острую — для лука репчатого. Концентрация 1% оказывала токсическое действие на все исследуемые организмы.

Обобщая полученные результаты, можно констатировать, что выбранные тест-организмы показали разную степень чувствительности, что говорит об их индивидуальных реакциях. Следовательно, важна оценка токсичности ГЭР разными методами и в разных условиях составов ГЭР из-за сложных взаимодействий веществ в самом составе и изменения его химической структуры после разбавления водой.

Представленные в настоящей работе данные позволяют составить токсикологический профиль исследуемых составов ГЭР, что необходимо для понимания процессов их биodeградации и действия на тестовые системы для применения в биотехнологических процессах.

Литература (п.п. 1–20, 22, 23, 26 см. References)

21. Кирюшина А.П., Терехова В.А., Вавилова В.М., Кулачкова С.А., Деревенц Е.Д., Кирякина Е.Р. и др. Методика измерений токсичности среднеминерализованных водных сред и отходов по изменению длины корней проростков семян горчицы белой *Sinapis alba* L. М.: 2024.
24. Медведева М.Ю., Болсуновский А.Я., Зотина Т.А. Цитогенетические нарушения у водного растения *Elodea canadensis* в зоне техногенного

- загрязнения р. Енисей. *Сибирский экологический журнал*. 2014; 21(4): 561–72. <https://elibrary.ru/smibrd>
25. Потемкин А.А., Котельникова А.Д., Волков Д.С. Автоматическое детектирование клеток для Allium-теста с помощью YOLOv5. В кн.: *Почвоведение. Горизонты будущего, 2023. Сборник тезисов докладов седьмой конференции молодых ученых Почвенного института им. В.В. Докучаева*. М.: 2023: 132–3. <https://elibrary.ru/gxrtgq>

References

1. Hansen B.B., Spittle S., Chen B., Poe D., Zhang Y., Klein J.M., et al. Deep eutectic solvents: a review of fundamentals and applications. *Chem. Rev.* 2021; 121(3): 1232–85. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00385>
2. Dai Y., van Spronsen J., Witkamp G.J., Verpoorte R., Choi Y.H. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Anal. Chim. Acta*. 2013; 766: 61–8. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.019>
3. Hayyan M., Looi C.Y., Hayyan A., Wong W.F., Hashim M.A. *In vitro* and *in vivo* toxicity profiling of ammonium-based deep eutectic solvents. *PLoS One*. 2015; 10(2): e0117934. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117934>
4. Mbous Y.P., Hayyan M., Wong W.F., Looi C.Y., Hashim M.A. Unraveling the cytotoxicity and metabolic pathways of binary natural deep eutectic solvent systems. *Sci. Rep.* 2017; 7: 41257. <https://doi.org/10.1038/srep41257>
5. Abranches D.O., Coutinho J.A.P. Everything you wanted to know about deep eutectic solvents but were afraid to be told. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* 2023; 14: 141–63. <https://doi.org/10.1146/annurev-chembioeng-101121-085323>
6. Khan A.S., Sakina, Nasrullah A., Nasrullah A., Ullah S., Ullah Z., et al. An overview on phytotoxic perspective of ionic liquids and deep eutectic solvents: the role of chemical structure in the phytotoxicity. *ChemBioEng. Rev.* 2023; 10(2): 174–94. <https://doi.org/10.1002/cben.202200033>
7. Bonciu E., Firbas P., Fontanetti C.S., De Souza C.P., Wusheng J., Liu D., et al. An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. *Caryologia*. 2018; 71(3): 191–209. <https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1503496> <https://elibrary.ru/ybkvsh>
8. Jitareanu A., Caba I.C., Trifan A., Padureanu S., Agoroaei L. Triticum aestivum assay – a useful tool for environmental monitoring and toxicity assessment. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca*. 2019; 47(4): 1005–18. <https://doi.org/10.15835/nbha47411349>
9. Duarte R.M.B.O., Matos J.T.V., Paula A.S., Lopes S.P., Pereira G., Vasconcellos P., et al. Structural signatures of water-soluble organic aerosols in contrasting environments in South America and Western Europe. *Environ. Pollut.* 2017; 227: 513–25. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.011>
10. Munshi M., Tumu K.N., Hasan M.N., Amin M.Z. Biochemical effects of commercial feedstuffs on the fry of climbing perch (*Anabas testudineus*) and its impact on Swiss albino mice as an animal model. *Toxicol. Rep.* 2018; 5: 521–30. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.04.004>
11. Lomba L., Errazquin D., Garralaga P., Lopez N., Giner B. Ecotoxicological study of glucose:choline chloride and sorbitol:choline chloride at different contents of water. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2023; 30(16): 46427–34. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-25538-z>
12. Radošević K., Bubalo M.C., Srček V.G., Grgas D., Dragičević T.L., Redovniković I.R. Evaluation of toxicity and biodegradability of choline chloride based deep eutectic solvents. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2015; 112: 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.034>
13. Rodrigues L.A., Radojic Redovnikovic I., Duarte A.R.C., Matias A.A., Paiva A. Low-phytotoxic deep eutectic systems as alternative extraction media for the recovery of chitin from brown crab shells. *ACS Omega*. 2021; 6(43): 28729–41. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03402>
14. Bagovic Kolic M., Zeleznjak M., Markov K., Srcek V.G., Bubalo M.C., Radošević K., et al. Physicochemical and biological properties of menthol and thymol-based natural deep eutectic solvents. *Molecules*. 2025; 30(8): 1713. <https://doi.org/10.3390/molecules30081713>
15. Samori C., Mazzei L., Ciarli S., Cravotto G., Grillo G., Guidi E., et al. Urease inhibitory potential and soil ecotoxicity of novel «polyphenols-deep eutectic solvents» formulations. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 2019; 7(18): 15558–67. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b03493>
16. Da Costa W.A., de Franca V.F., da Silva Souza L.S., de Andrade A.S.A., de Araujo D.A.M., Moreira E.D.T., et al. Physical-chemical and ecotoxic evaluation of different deep eutectic solvents for green analytical applications. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2023; 30(27): 70701–12. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-27398-z>
17. Wen Q., Chen J.X., Tang Y.L., Wang J., Yang Z. Assessing the toxicity and biodegradability of deep eutectic solvents. *Chemosphere*. 2015; 132: 63–9. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.02.061>
18. Koigerova A., Isakova E., Kremenetskaya U., Tsvetov N., Mizina P. Biological activity of deep eutectic solvent-based extracts of *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. *Probl. Biol. Med. Pharm. Chem.* 2025; 28(4): 12–22. <https://doi.org/10.29296/25877313-2025-04-02>
19. Koigerova A., Gosteva A., Samarov A., Tsvetov N. Deep eutectic solvents based on carboxylic acids and glycerol or propylene glycol as green media for extraction of bioactive substances from *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. *Molecules*. 2023; 28(19): 6978. <https://doi.org/10.3390/molecules28196978>
20. Tsvetov N., Pasichnik E., Korovkina A., Gosteva A. Extraction of bioactive components from *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. with choline chloride and organic acids natural deep eutectic solvents. *Molecules*. 2022; 27(13): 4216. <https://doi.org/10.3390/molecules27134216>
21. Kiryushina A.P., Terekhova V.A., Vavilova V.M., Kulachkova S.A., Derevenets E.D., Kiryakina E.R., et al. A Method for Measuring the Toxicity of Medium-Mineralized Aquatic Media and Waste by Changing the Root Length of White Mustard Seed Seedlings *Sinapis alba* L. [Методика измерения токсичности среднеминерализованных водных сред и отходов по изменению длины корней проростков семян горчицы белой *Sinapis alba* L.] Moscow; 2024. (in Russian)
22. Fiskesjö G. Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters. In: *Plants for Environmental Studies*. CRC Press; 1997: 307–33.
23. Akwu N.A., Naidoo Y., Singh M. Cytogenotoxic and biological evaluation of the aqueous extracts of *Grewia lasiocarpa*: An *Allium cepa* assay. *S. Afr. J. Bot.* 2019; 125: 371–80. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2019.08.009>
24. Medvedeva M.Yu., Bolsunovsky A.Ya., Zotina T.A. Cytogenetic abnormalities in aquatic plant *Elodea canadensis* in anthropogenic contamination zone of Yenisei River. *Contemporary Problems of Ecology*. 2014; 7(4): 422–32. <https://doi.org/10.1134/S1995425514040088> <https://elibrary.ru/uezkih>
25. Potemkin A.A., Kotelnikova A.D., Volkov D.S. Automatic detection of cells for the Allium test using YOLOv5. In: *Soil Science. Horizons of the Future, 2023. Collection of Abstracts of the Seventh Conference of Young Scientists of the V.V. Dokuchaev Soil Institute [Pochвоведение. Горизонты будущего, 2023. Сборник тезисов докладов седьмой конференции молодых ученых Почвенного института им. В.В. Докучаева]*. Moscow; 2023: 132–3. <https://elibrary.ru/gxrtgq> (in Russian)
26. Dai Y., Witkamp G.J., Verpoorte R., Choi Y.H. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. *Food Chem.* 2015; 187: 14–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.123>

Сведения об авторах

Смирнова Мария Васильевна, науч. сотр. лаб. медицинских и биологических технологий, НЦ МБИ адаптации человека в Арктике КНЦ РАН, 184209, Апатиты, Россия. E-mail: zbe3do4et@mail.ru
Койгерова Алена Алексеевна, науч. сотр. лаб. медицинских и биологических технологий, НЦ МБИ адаптации человека в Арктике КНЦ РАН, 184209, Апатиты, Россия. E-mail: a.koygerova@ksc.ru
Цветов Никита Сергеевич, канд. хим. наук, зав. лаб. медицинских и биологических технологий, НЦ МБИ адаптации человека в Арктике КНЦ РАН, 184209, Апатиты, Россия. E-mail: n.tsvetov@ksc.ru

About the authors

Maria V. Smirnova, researcher, Laboratory of medical and biological technologies, Research Centre for Human Adaptation in the Arctic, Kola Science Centre of the Russian Academy of Sciences, Apatity, 184209, Russian Federation, Apatity, 184209, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-9920-1114> E-mail: zbe3do4et@mail.ru
Alena A. Koigerova, researcher, Laboratory of medical and biological technologies, Research Centre for Human Adaptation in the Arctic, Kola Science Centre of the Russian Academy of Sciences, Apatity, 184209, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-8843-0122> E-mail: a.koygerova@ksc.ru
Nikita S. Tsvetov, PhD (Chemistry), head, Laboratory of medical and biological technologies, Research Centre for Human Adaptation in the Arctic, Kola Science Centre of the Russian Academy of Sciences, Apatity, 184209, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-1356-2259> E-mail: n.tsvetov@ksc.ru