

547.317:543.429.23

СООТНОШЕНИЕ ЗВЕНЬЕВ ГЛЮКОЗЫ И ФРУКТОЗЫ В МАКРОМОЛЕКУЛАХ ОБРАЗЦА ИНУЛИНА: ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ^{13}C ЯМР СПЕКТРОСКОПИИ

© И. Г. Конкина¹, С. П. Иванов^{1*}, А. Н. Лобов¹, К. И. Муллагильдина²,
Е. В. Одинокова³, Л. К. Тучкина³, И. С. Файзрахманов², В. Н. Козлов³

¹Уфимский институт химии УФИЦ РАН

Россия, Республика Башкортостан, 450054 г. Уфа, пр. Октября, 71.

²Башкирский государственный университет

Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.

³Московский государственный университет технологий и управления
им. К. Г. Разумовского (Первый казачий университет),

Башкирский институт технологий и управления (филиал)

Россия, Республика Башкортостан, 453850 г. Мелеуз, ул. Смоленская, 34.

Тел.: +7 (347) 235 60 96.

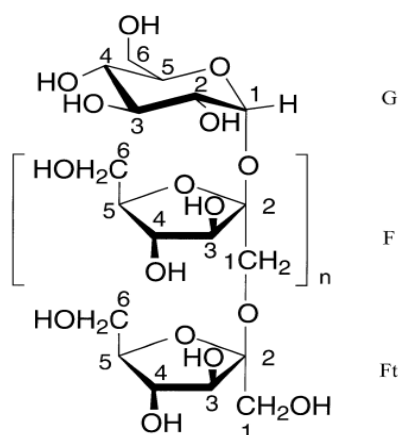
Email: ivanov_sp@anrb.ru

Методом ^{13}C ЯМР спектроскопии без проведения деструкции олигосахарида определено относительное содержание глюкозных и фруктозных фрагментов в макромолекулах пищевого инулина, полученного из топинамбура. Соотношение данных фрагментов составило 1:7.

Ключевые слова: инулин, ^{13}C ЯМР спектроскопия, соотношение глюкозных и фруктозных звеньев.

Инулин (**In**) – распространенный растительный полисахарид фруктанового типа, который обычно состоит из неразветвленной цепи (2 → 1) связанных β-D-фруктозильных остатков (n = 2–60), с концевой группой (1↔2) α-D-глюкозы [1]. Он присутствует в 36 000 видах растений: особенно много его в корнях цикория, которые являются основным сырьем для промышленного получения **In**, а также в клубнях топинамбура, приобретающего в настоящее время лидирующее положение в качестве сырья для производства инулина.

Молекулярная и кристаллическая структура **In** представлена в работах [2–5], и ее специфическим аспектом является то, что содержащиеся в нем фруктозильные остатки входят в углеводный скелет макромолекулы.



Интерес исследователей всего мира к данному продукту определяется уникальным набором его полезных качеств в сочетании с доступностью сырья

и возобновляемостью ресурсов. Основные направления применения – это пищевая и фармацевтическая промышленность. Он используется как заменитель жира, низкокалорийный подсластитель, корректор текстуры. Инулин снижает уровень сахара в крови, нормализует концентрацию инсулина, уменьшает уровень триглицеридов, предупреждает жировое перерождение клеток печени, стимулирует иммунитет, является эффективным пребиотиком, увеличивает всасывание кальция и его содержание в структуре костей [6–11]. Некоторые образцы **In**, а также его производные обладают антипролиферативными свойствами и стимулируют апоптоз раковых клеток [12–13]. При этом авторами отмечается, что физико-химические свойства, пригодность к определенным операциям в пищевой промышленности, а также биологическая активность **In** зависят от степени полимеризации его молекул [7; 14–17], которая определяется видом растения, периодом его развития, способом выделения и обработки. Как правило, степень полимеризации, или длина цепи, выражается в виде соотношения фрагментов глюкозы и фруктозы в макромолекулах полисахарида. Для определения длины цепи в молекулах **In** существуют различные аналитические методики с использованием спектрофотометрии, набора хроматографических методов – ВЭЖХ, ГХ, ТСХ, гельпроникающей хроматографии, масс-спектрометрии, требующими, однако, предварительной деструкции молекул полисахарида [18–20]. В настоящее время развивается использование методов ^1H , а в последние годы и ^{13}C ЯМР спектроскопии, позволяющих количественно оценить соотношение фруктофуранозильных звеньев и концевых остатков глюкозы без проведения деструкции молекул инулина. Эти методы были использованы при изучении полиса-

Таблица 1

Данные спектра ЯМР ^{13}C инулина в воде

№ атома углерода	Химический сдвиг, м.д.	
	Литература [24]	Эксперимент
Фрагмент G		
1	93.58	92.41; 92.09
2	72.43	73.78
3	73.85	73.89
4	70.84	72.50; 72.34
5	73.65	74.19
6	61.20	60.37; 60.03
Фрагмент F		
1	62.14	61.24;
2	104.48; 104.33	103.14
3	78.53; 78.23	77.21; 76.90
4	75.52	74.19
5	82.32	81.15; 80.97
6	63.37	62.08
Фрагмент Ft		
1	61.80	60.79
2	104.93	103.61
3	78.01	76.66
4	75.01	74.19
5	82.32	81.28
6	63.37	62.08

харидов из корней *Morinda officinalis* [21], корней и листьев *Stevia Rebaudiana* [14; 22–23], корней *Arctiumlappa* [24], *Alliumsativum* [12–13], а также при изучении продуктов гидролиза инулина [25].

В настоящей работе метод ^{13}C ЯМР спектроскопии был использован с целью определения соотношения глюкозных и фруктозных звеньев в молекуле имеющегося в нашем распоряжении образца российского инулина из топинамбура, предназначенного для синтеза функциональных соединений.

Экспериментальная часть

В работе использовался инулин пищевой, выделенный из топинамбура (*Helianthus tuberosus*) по ТУ 9187-002-97357430-09 (ООО «Рязанские протесторы»), без дополнительной очистки.

ЯМР ^1H и ^{13}C спектры образцов были зарегистрированы на импульсном спектрометре Bruker Avance-III 500 MHz с рабочей частотой 500.13 МГц (^1H), 125.47 МГц (^{13}C) с использованием 5 мм датчика с Z-градиентом РАВВО при постоянной температуре образца 298 К. С целью увеличения цифрового разрешения применялось дополнение нулями и умножение Фурье-образа спектра на экспоненциальную функцию ($\text{lb} = 0.1$ Гц для ^1H и 1 Гц для ^{13}C). Для интегрирования сигналов ЯМР ^{13}C дополнительно были зарегистрированы спектры ЯМР ^{13}C с обратной прерывистой развязкой от протонов (zgig) с релаксационной задержкой 20.0 с.

Пробы готовились в концентрации 50 мг инулина на 0.9 мл дейтерированной воды. Химические сдвиги в спектрах ЯМР ^{13}C , ^1H приведены в м.д. относительно внешнего стандарта DSS.

Результаты и их обсуждение

На основании анализа двумерных спектров ЯМР, а также с привлечением литературных данных [24], было проведено полное отнесение сигналов для изучаемого образца **In** (табл. 1). В литературе выделяют концевой глюкозный (**G**), концевой фруктозный фрагмент (**Ft**) и фруктозные фрагменты (**F**), находящиеся в середине цепи (см. формулу **In**), которые имеют очень близкие значения в углеродном ЯМР спектре.

Характеристические сигналы атомов углерода C2 и C5 фруктозных фрагментов F и Ft находятся в области 103 и 81 м. д., соответственно, а сигналы атомов углерода C1 глюкозного фрагмента G – в области 92 м.д. Они не перекрываются с остальными сигналами и поэтому были использованы для количественной оценки содержания данных фрагментов в цепочке инулина. В результате интегрирования сигналов C1 глюкозного фрагмента и C2 и C5 фруктозной части, получено их соотношение в макромолекуле инулина, которое составило 1:7 (рис. 1).

Характеристические сигналы атомов углерода C2 и C5 фруктозных фрагментов F и Ft находятся в области 103 и 81 м. д., соответственно, а сигналы атомов углерода C1 глюкозного фрагмента G – в области 92 м.д. Они не перекрываются с остальными сигналами и поэтому были использованы для количественной оценки содержания данных фрагментов в цепочке инулина. В результате интегрирования сигналов C1 глюкозного фрагмента и C2 и C5 фруктозной части, получено их соотношение в макромолекуле инулина, которое составило 1:7 (рис. 1).

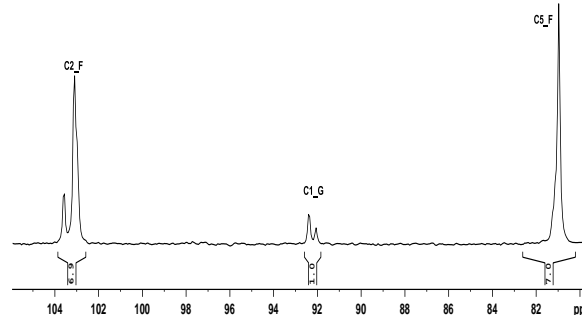


Рис. 1. Фрагмент ^{13}C ЯМР спектра инулина в D_2O после интегрирования площади углеродных сигналов.

Таким образом, без проведения деструкции олигосахарида, методом ^{13}C ЯМР спектроскопии определено содержание глюкозных и фруктозных фрагментов в макромолекулах образца инулина, полученного из топинамбура по ТУ 9187-002-97357430-09.

Работа выполнена в рамках государственных заданий Министерства образования и науки (№ АААА-А17-117011910027-0 и № АААА-А17-117011910033-1) с использованием оборудования ЦКП «Химия» УФИХ УФИЦ РАН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barclay T., Ginic-Marcovic M., Cooper P., Petrovsky N. Inulin – a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses // *Journal of Excipients Food Chemistry*. 2010. Vol. 1. №3. P. 27–50.
2. Andre I., Maseau K., Tvarovska I., Putaux J.-L., Winter W.T., Taravel F.R., Chanzy H. Molecular and crystal structure of inulin from electron diffraction data // *Macromolecules*. 1996. Vol. 29. P. 4626–4635. DOI: 10.1021/ma951799f.
3. Mensink M. A., Frijlinn H. W., Van der Voort Maarschalk K. Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physico-chemical characteristics // *Carbohydrate Polymers*. 2015. Vol. 130. P. 405–419. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.05.026.
4. Cooper P. D., K. Rajapaksha H., Barclay T. G., Ginic-Markovic M., Gerson A. R., Petrovsky N. Inulin crystal initiation via a glucose-fructose cross-link of adjacent polymer chains: Atomic force microscopy and static molecular modeling // *Carbohydrate Polymers*. 2015. Vol. 117. P. 964–972. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.10.022.
5. Barclay T. G., Rajapaksha H., Thilagam A. et al. Physical characterization and in silico modeling of inulin polymer conformation during vaccine adjuvant particle formation // *Carbohydrate Polymers*. 2016. Vol. 143. P. 108–115. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.01.062.
6. Mensink M. A., Frijlinn H. W., Van der Voort Maarschalk K., Hinrichs W.L.J. Inulin, a flexible oligosaccharide. II: Review of its pharmaceutical applications // *Carbohydrate Polymers*. 2015. Vol. 134. P. 418–428. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.08.022.
7. Криштанова Н. А., Сафонова М. Ю., Болотова В. Ц., Павлова Е. Д., Саканья Е. И. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств // *Вестник ВГУ. Сер.: Химия, Биология, Фармация*. 2005. №1. С. 212–221.
8. Chandrashekar P. M., Harish Prashanth K. V., Venkatesh Y. P. Isolation, structural elucidation and immunomodulatory activity of fructans from aged garlic extract // *Phytochemistry*. 2011. Vol. 72. P. 255–264. DOI: 10.1016/j.phytoche.2010.11.015.
9. Karimi R., Azizi M. H., Ghasemlou M., Vaziri M. Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review // *Carbohydrate Polymers*. 2015. Vol. 119. P. 85–100. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.11.029.
10. Vogt L., Meyer D., Pullens G. et al. Immunological properties of inulin-type fructans // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2015. Vol. 55. P. 414–436. DOI: 10.1080/10408398.2012.656772.
11. Li J., Tao Wang T., Zhu Z., Yang F., Cao L., Gao J. Structure features and anti-gastric ulcer effects of inulin-type fructan CP-A from the roots of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf // *Molecules*. 2017. Vol. 22. P. 2258. DOI: 10.3390/molecules22122258.
12. Tsukamoto S., Okamoto K., Inanaga J., Karasaki Yu. Purification and biological activities of a Garlic oligosaccharide // *Journal of UOEH*. 2008. Vol. 30. №2. P. 147–157. DOI: 10.7888/juoeh.30.147.
13. Petrovsky N., Cooper P. D. Advax T. M. A novel microcrystalline polysaccharide particle engineered from delta inulin, provides robust adjuvant potency together with tolerability and safety // *Vaccine*. 2015. Vol. 33.P. 5920–5926. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.09.030.
14. Lopes S.M.S., Krausova G., Rada V., Gonçalves J. E., Gonçalves R.A.C., Oliveira A.J.B. Isolation and characterization of inulin with a high degree of polymerization from roots of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni // *Carbohydrate Research*. 2015. Vol. 411. P. 15–21. DOI: 10.1016/j.carres.2015.03.018.
15. Silva E. K., Meireles M.A.A. Influence of the degree of inulin polymerization on the ultrasound-assisted encapsulation of annatto seed oil // *Carbohydrate Polymers*. 2015. Vol. 133. P. 578–586. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.07.025.
16. Luo D., Liang X., Xu B. et al. Effect of inulin with different degree of polymerization on plain wheat dough rheology and the quality of steamed bread // *Journal of Cereal Science* 2017. Vol. 75. P. 205–212. DOI: 10.1016/j.jcs.2017.04.009.
17. Silva E. K., Zabet G. L., Bargas M. A., Meireles M.A.A. Microencapsulation of lipophilic bioactive compounds using prebiotic carbohydrates: Effect of the degree of inulin polymerization // *Carbohydrate Polymers*. 2016. Vol. 152. P. 775–783. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.07.066.
18. Evans M., Gallagher J. A., Ratsliffe I., Williams P. A. Determination of the degree of polymerisation of fructans from ryegrass and chicory using MALDI-TOF mass spectrometry and gel permeation chromatography coupled to multiangle laser light scattering // *Food Hydrocolloids*. 2016. Vol. 53. P. 155–162. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.01.015.
19. Mutanda T., Wilhelm B. S., Whitey C. G. Biocatalytic conversion of inulin and sucrose into short chain oligosaccharides for potential pharmaceutical applications // *African Journal of Science, Technology, Innovation and Development*. 2015. Vol. 7. №5. P. 371–380. DOI: 10.1080/20421338.2015.1085178.
20. Petkova N. T., Denev P. Methods for determination of inulin // Conference Paper. International Scientific Practical Conference “Food Technologies & Health”. November 21, 2015. Plovdiv. P. 135–140. DOI:10.13140/RG.2.1.1790.4088.
21. Yang Z., Hu J., Zhao M. Isolation and quantitative determination of inulin-type oligosaccharides in roots of *Morinda officinalis* // *Carbohydrate Polymers*. 2011. Vol. 83. P. 1997–2004. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.11.006.
22. Pontes A.G.O., Silva K. L., Fonseca S.G.C. et al. Identification and determination of the inulin content in the roots of the Northeast Brazilian species *Pombalia calceolaria* L. // *Carbohydrate Polymers*. 2016. Vol. 149. P. 391–398. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.04.108.
23. Oliveira A.J.B., Gonçalves R.E.C., Chierrito T.P.C. et al. Structure and degree of polymerization of fructooligosaccharides present in roots and leaves of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni // *Food Chemistry*. 2011. Vol. 129. P. 305–311. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.04.057.
24. Fu Y.L. Isolation, purification, and structural elucidation of a fructan from *Arctium lappae* L. // *Journal of Medicinal Plants Research*. 2009. Vol. 3. №3. P. 171–173.
25. Qiao Y., Pedersen C. M., Huang D. et al. NMR study of the hydrolysis and dehydration of inulin in water: comparison of the catalytic effect of Lewis acid SnCl₄ and Brønsted acid HCl // *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 2016. Vol. 4. P. 3327–3333. DOI: 10.1021/acssuschemeng.6b00377.

Поступила в редакцию 02.08.2018 г.

**THE RATIO OF CHAIN LINKED GLUCOSE AND FRUCTOSE
IN INULINE MACROMOLECULES: DETERMINATION BY THE METHOD
OF ¹³C NMR SPECTROSCOPY**

© I. G. Konkina¹, S. P. Ivanov^{1*}, A. N. Lobov¹, K. I. Mullagildina², E. V. Odinkova³,
L. K. Tuchkina³, I. S. Fayzrakhmanov², V. N. Kozlov³

¹*Ufa Institute of Chemistry, Ufa Federal Research Center of RAS
71 Oktyabrya Avenue, 450054 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

²*Bashkir State University
32 Zaki Validi Street, 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

³*Bashkir Institute of Technologies and Management,
branch of K.G. Razumovsky Moscow State University
of Technologies and Management (the First Cossack University)
34 Smolenskaya Street, 453850 Meleuz, Republic of Bashkortostan, Russia.*

Phone: +7 (347) 235 60 96.

*Email: ivanov_sp@anrb.ru

Macromolecules of common vegetable fructan-type polysaccharide inulin is usually an unbranched chain of (2 → 1) bound β-D-fructosyl residues (n = 2–60) with an α-D-glucose terminal group (1 ↔ 2). The composition and structure of the molecules of inulin, in particular the length of the hydrocarbon chain, have a determining effect on its chemical and consumer properties. Therefore, the development of convenient methods for determining these characteristics is an urgent task. Moreover, it is very important because inulin has different properties depending on raw materials and ways of production. The aim of this work is to establish the ratio of glucose and fructose fragments of food inulin sample obtained from Jerusalem artichoke according to TU 9187-002-97357430-09. The determination was carried out without degradation of the oligosaccharide by ¹H and ¹³C NMR spectroscopy. The complete assignment of signals for this sample of inulin was carried out on the basis of the analysis of two-dimensional NMR spectra and also with the use of literature data. ¹³C NMR spectra with a reverse intermittent decoupling from protons (zgig) with a relaxation delay of 20.0 s were additionally recorded to integrate ¹³C NMR signals. The terminal glucose fragment (G), the terminal fructose fragment (Ft), and located in the middle of the chain fructose fragments (F), which have very close values in the carbon NMR spectrum, usually distinguished by the difference in chemical shifts. The characteristic signals of the carbon atoms C2 and C5 of the fructose fragments F and Ft are located in the region of 103 and 81 ppm, respectively. The signals of the carbon nuclei of the C1 glucose fragment G are located in the region of 92 ppm. They do not overlap with other signals and therefore can be used for quantitative assessment of content of these fragments in the inulin chain. The authors of the article integrated the C1 signals of the glucose fragment and the C2 and C5 signals of fructose rings and obtained the ratio (1:7) of glucose of fructose in the macromolecule of the inulin sample.

Keywords: inulin, NMR spectroscopy, glucose, fructose, ratio.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Barclay T. Journal of Excipients Food Chemistry. 2010. Vol. 1. No. 3. Pp. 27–50.
2. Andre I., Maseau K., Tvarovska I., Putaux J.-L., Winter W.T., Taravel F.R., Chanzy H. Macromolecules. 1996. Vol. 29. Pp. 4626–4635. DOI: 10.1021/ma951799f.
3. Mensink M. A., Frijlinn H. W. Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 130. Pp. 405–419. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.05.026.
4. Cooper P. D., K. Rajapaksha H., Barclay T. G. Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 117. Pp. 964–972. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.10.022.
5. Barclay T. G. Carbohydrate Polymers. 2016. Vol. 143. Pp. 108–115. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.01.062.
6. Mensink M. A., Frijlinn H. W. Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 134. Pp. 418–428. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.08.022.
7. Krishtanova N. A., Safonova M. Yu., Bolotova V. Ts., Pavlova E. D., Sakanyan E. I. Vestnik VGU. Ser.: Khimiya, Biologiya, Farmatsiya. 2005. No. 1. Pp. 212–221.
8. Chandrashekar P. M. Phytochemistry. 2011. Vol. 72. Pp. 255–264. DOI: 10.1016/j.phytoche.2010.11.015.

9. Karimi R., Azizi M. H., Ghasemlou M., Vaziri M. Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 119. Pp. 85–100. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.11.029.
10. Vogt L., Meyer D., Pullens G. et al. Immunological properties of inulin-type fructans. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2015. Vol. 55. Pp. 414–436. DOI: 10.1080/10408398.2012.656772.
11. Li J., Tao Wang T., Zhu Z., Yang F., Cao L., Gao J. Molecules. 2017. Vol. 22. Pp. 2258. DOI: 10.3390/molecules22122258.
12. Tsukamoto S., Okamoto K., Inanaga J., Karasaki Yu. Journal of UOEH. 2008. Vol. 30. No. 2. Pp. 147–157. DOI: 10.7888/juoeh.30.147.
13. Petrovsky N., Cooper P. D. Advax T. M. Vaccine. 2015. Vol. 33. P. 5920–5926. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.09.030.
14. Lopes S.M.S., Krausova G., Rada V., Gonçalves J. E., Gonçalves R.A.C., Oliveira A.J.B. Carbohydrate Research. 2015. Vol. 411. Pp. 15–21. DOI: 10.1016/j.carres.2015.03.018.
15. Silva E. K., Meireles M.A.A. Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 133. Pp. 578–586. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.07.025.
16. Luo D., Liang X., Xu B. et al. Effect of inulin with different degree of polymerization on plain wheat dough rheology and the quality of steamed bread. Journal of Cereal Science 2017. Vol. 75. Pp. 205–212. DOI: 10.1016/j.jcs.2017.04.009.
17. Silva E. K., Zabet G. L., Bargas M. A., Meireles M.A.A. Carbohydrate Polymers. 2016. Vol. 152. Pp. 775–783. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.07.066.
18. Evans M., Gallagher J. A., Ratsliffe I., Williams P. A. Food Hydrocolloids. 2016. Vol. 53. Pp. 155–162. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.01.015.
19. Mutanda T., Wilhelmi B. S., Whiteey C. G. African Journal of Science, Technology, Innovation and Development. 2015. Vol. 7. No. 5. Pp. 371–380. DOI: 10.1080/20421338.2015.1085178.
20. Petkova N. T., Denev P. Conference Paper. International Scientific Practical Conference “Food Technologies & Health”. November 21, 2015. Plovdiv. Pp. 135–140. DOI: 10.13140/RG.2.1.1790.4088.
21. Yang Z., Hu J., Zhao M. Carbohydrate Polymers. 2011. Vol. 83. Pp. 1997–2004. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.11.006.
22. Pontes A.G.O., Silva K. L., Fonseca S.G.C. et al. Identification and determination of the inulin content in the roots of the Northeast Brazilian species *Pombalia calceolaria* L. Carbohydrate Polymers. 2016. Vol. 149. Pp. 391–398. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.04.108.
23. Oliveira A.J.B., Gonçalves R.E.C., Chierrito T.P.C. et al. Structure and degree of polymerization of fructooligosaccharides present in roots and leaves of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Berton. Food Chemistry. 2011. Vol. 129. Pp. 305–311. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.04.057.
24. Fu Y.L. Journal of Medicinal Plants Research. 2009. Vol. 3. No. 3. Pp. 171–173.
25. Qiao Y., Pedersen C. M., Huang D. et al. NMR study of the hydrolysis and dehydration of inulin in water: comparison of the catalytic effect of Lewis acid SnCl₄ and Brønsted acid HCl. ACS Sustainable Chemistry and Engineering. 2016. Vol. 4. Pp. 3327–3333. DOI: 10.1021/acssuschemeng.6b00377.

Received 02.08.2018.