

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ

ИРКУТСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия
и биотехнология

Том 15 N 4 (55) 2025



ИЗДАТЕЛЬСТВО
Иркутского национального исследовательского
технического университета



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
ПРИКЛАДНАЯ ХИМИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ
Том 15 N 4 (55) 2025

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор:

Евстафьев С.Н.

д.х.н., профессор, заведующий кафедрой химии и биотехнологии Иркутского национального исследовательского технического университета (Иркутск, Россия)

Заместитель главного редактора:

Львов А.Г.

д.х.н., профессор кафедры химии и биотехнологии Иркутского национального исследовательского технического университета (Иркутск, Россия)

Члены редакционной коллегии:

Базарнова Ю.Г.

д.т.н., профессор, директор Высшей школы биотехнологии и пищевых производств Института биомедицинских систем и биотехнологий Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого (Санкт-Петербург, Россия)

Боровский Г.Б.

д.б.н., профессор, заместитель директора Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (Иркутск, Россия)

Братская С.Ю.

д.х.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией сорбционных технологий и функциональных материалов Института химии ДВО РАН (Владивосток, Россия)

Варфоломеев С.Д.

д.х.н., профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (Москва, Россия)

Верпоорт Фрэнсис

доктор наук, профессор, государственная ключевая лаборатория передовых технологий синтеза и обработки материалов, Уханьский технологический университет (Ухань, Китай)

Воронов В.К.

д.х.н., профессор, Заслуженный деятель науки РФ, профессор-консультант, отделение прикладной математики и информатики Иркутского национального исследовательского технического университета (Иркутск, Россия)

Го Эньцзюнь

доктор наук, декан Китайско-российского института химии конструкционных материалов Ляонинского университета науки и технологии (Ляонин, Китай)

Дадашев М.Н.

д.т.н., профессор, главный научный сотрудник кафедры физической и коллоидной химии Российского государственного университета нефти и газа им. И.М. Губкина (Москва, Россия)

Жеребцов С.И.

д.х.н., главный научный сотрудник, заведующий лабораторией института углехимии и химического материаловедения Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН (Кемерово, Россия)

Непомнящих А.И.

д.ф.м.н., профессор, Заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник лаборатории физики монокристаллов Института геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН (Иркутск, Россия)

Никольшин П.А.

д.х.н., заместитель генерального директора по науке АО «Всероссийский научно-исследовательский институт по переработке нефти» (Москва, Россия)

Пуревсурен Б.

доктор наук, академик АН Монголии, заведующий лабораторией химии угля Института химии и химической технологии АН Монголии (Улан-Батор, Монголия)

Рахимнеджад Мостафа

доктор наук, профессор кафедры химической инженерии Технологического университета Бабола Ноширвани (Бабол, Иран)

Саловарова В.П.

д.б.н., профессор, заведующая кафедрой физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики Иркутского государственного университета (Иркутск, Россия)

Санжиб Кумар Панда

доктор наук, профессор, профессор кафедры наук о жизни и биоинформатики Университета Ассам (Силхар, Индия)

Сироткин А.С.

д.т.н., директор Института пищевых производств и биотехнологии Казанского национального исследовательского технического университета (Казань, Россия)

Ульянов Б.А.

д.т.н., профессор кафедры химической технологии топлива Ангарского государственного технического университета (Ангарск, Россия)

Хуторянский В.В.

к.х.н., профессор фармацевтической школы Университета Рединга (Лондон, Великобритания)

Цивилева О.М.

д.б.н., ведущий научный сотрудник Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (Саратов, Россия)

Чхенкели В.А.

д.б.н., профессор, генеральный директор ООО «Биотехвет» (Иркутск, Россия)

Шэнь Яньмин

профессор, заместитель декана факультета химической инженерии Шеньянского института химической технологии (Шеньян, Китай)

Ответственный секретарь:

Чеснокова А.Н.

к.х.н., доцент кафедры химии и биотехнологии Иркутского национального исследовательского технического университета (Иркутск, Россия)

Журнал основан в 2011 г.

Периодичность издания – ежеквартально

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Свидетельство ПИ № ФС77-62814 от 18 августа 2015 г.

Подписной индекс в ООО «Урал-Пресс» – 41903

Адрес ООО «Урал-Пресс»: 620026, Свердловская область, Екатеринбург, ул. Мамина-Сибиряка, 130

Учредитель и издатель:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Иркутский национальный исследовательский технический университет»

Россия, 664074, Иркутск, ул. Лермонтова, 83

Издательство:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Иркутский национальный исследовательский технический университет»

Россия, 664074, Иркутск, ул. Лермонтова, 83А

Адрес редакции:

Россия, 664074, Иркутск, ул. Лермонтова, 83, ауд. Е-211

E-mail: biochem@istu.edu

**PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
APPLIED CHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY
IZVESTIYA VUZOV
PRIKLADNAYA KHIMIYA I BIOTEKHNOLOGIYA
Volume 15 No. 4 (55) 2025**

EDITORIAL BOARD

Editor in Chief

Sergei N. Evstaf`ev

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Head of Chemistry and Biotechnology Department, Irkutsk National Research Technical University (Irkutsk, Russia)

Deputy Chief Editor

Andrey G. Lvov

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Chemistry and Biotechnology Department, Irkutsk National Research Technical University (Irkutsk, Russia)

Editorial council

Julia G. Bazarnova

Dr. Sci. (Engineering), Professor, Director of the Higher School of Biotechnology and Food Technologies, Institute of Biomedical Systems and Biotechnology, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University (St. Petersburg, Russia)

Gennadiy B. Borovskii

Dr. Sci. (Biology), Professor, Deputy Director of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Irkutsk, Russia)

Svetlana Yu. Bratskaya

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Correspondent member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Sorption Technologies and Functional Materials, Institute of Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (Vladivostok, Russia)

Sergey D. Varfolomeyev

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Correspondent member of the Russian Academy of Sciences, Scientific supervisor of N.M. Emmanuel Institute of Biochemical Physics (Moscow, Russia)

Francis Verpoort

Ph.D. (Chemistry), Professor, State Key Laboratory of Advanced Technology for Material Synthesis and Processing, Wuhan University of Technology (Wuhan, China)

Vladimir K. Voronov

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Consulting Professor, Department of Applied Mathematics and Computer Science, Irkutsk National Research Technical University (Irkutsk, Russia)

Enjun Gao

Dr. Sci., Dean of the Chinese-Russian Institute of Chemistry of Engineering Materials, University of Science and Technology Liaoning (Liaoning, China)

Mirali N. Dadashev

Dr. Sci. (Engineering), Professor, Chief Researcher, Physical and Colloid Chemistry Department, Gubkin Russian State University of Oil and Gas, (Moscow, Russia)

Sergey I. Zhrebtsov

Dr. Sci. (Chemistry), Chief Researcher; Head of the Laboratory of Institute of Coal Chemistry and Chemical Materials Science, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Kemerovo, Russia)

Alexander I. Nepomnyashchikh

Dr. Sci. (Phys.Math.), Professor, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Chief Researcher, Laboratory of Physics of Single Crystals of Vinogradov Institute of Geochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Irkutsk, Russia)

Pavel A. Nikulshin

Dr. Sci. (Chemistry), Deputy General Director for Science, All-Russian Research Institute for Oil Refining (Moscow, Russia)

Purevsuren Barnasan

Dr. Sci. (Chemistry), Academician of Mongolian AS, Head of the Laboratory of Coal Chemistry, Institute of Chemistry and Chemical Technology of the Mongolian Academy of Sciences (Ulan Bator, Mongolia)

Mostafa Rahimnejad

Ph.D. (Biotechnology-Chemical Engineering), Professor, Chemical Engineering Department, Babol Noshirvani University of Technology (Babol, Iran)

Valentina P. Salovarova

Dr. Sci. (Biology), Professor, Head of Physical and Chemical Biology, Bioengineering and Bioinformatics Department, Irkutsk State University (Irkutsk, Russia)

Sanjib Kumar Panda

Ph.D., Professor, Department of Life Science and Bioinformatics, Assam University (Silchar, India)

Alexander S. Sirotkin

Dr. Sci. (Engineering), Director of Institute of Food Production and Biotechnology, Kazan National Research Technical University (Kazan, Russia)

Boris A. Ulyanov

Dr. Sci. (Engineering), Professor, Chemical Technology of Fuel Department, Angarsk State Technical University (Angarsk, Russia)

Vitaliy V. Khutoryanskiy

Cand. Sci. (Chemistry), Professor, Pharmaceutical School, University of Reading (London, Great Britain)

Olga M. Tsivileva

Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences (Saratov, Russia)

Vera A. Chkhenkeli

Dr. Sci. (Biology), Professor, General Director of OOO Biotechvet (Irkutsk, Russia)

Yanming Shen

Professor, Vice-Dean of Department of Chemical Engineering, Shenyang Institute of Chemical Technology (Shenyang, China)

Executive Secretary

Alexandra N. Chesnokova

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor, Chemistry and Biotechnology Department, Irkutsk National Research Technical University (Irkutsk, Russia)

The journal was founded in 2011

The journal is issued quarterly

The journal is registered with the Federal Agency for Supervision of Communications,
Information Technologies and Mass Media

Certificate registration FS 77-62814 of 18 August, 2015

The subscription code in Ural-Press LLC: 41903

The postal address of Ural-Press LLC: 130, Mamin-Sibiryak St., Yekaterinburg, 620026, Russian Federation

Founder and Publisher:

the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education
"Irkutsk National Research Technical University"
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074, Russian Federation

Publishing Office:

the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education
"Irkutsk National Research Technical University"
83A, Lermontov St., Irkutsk, 664074, Russian Federation

Editorial address:

E-211, 83, Lermontov St., Irkutsk, 664074, Russian Federation,
E-mail: biochem@istu.edu

СОДЕРЖАНИЕ

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Черепанов И.С., Тарасова Д.А., Егорова А.И.** Изучение строения продуктов взаимодействия *L*-аскорбиновой кислоты с *p*-аминоацетанилидом..... **446**
- Акимова Е.С., Султанова Р.М., Рабаев Р.У., Борисова Ю.Г., Злотский С.С.** Синтез несимметричных вторичных аминов и их антикоррозионная активность..... **456**

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

- Белова Д.Д., Шарова Н.Ю.** Биотехнологический потенциал холодоактивных ферментов в промышленности: обзор последних достижений..... **465**
- Собханян С.А., Ахмади А., Рогани М., Хассанло П., Хамуши Ш.** Защитное действие некоторых биоактивных компонентов из экстрактов и эфирного масла шалфея лекарственного при остром поражении печени и почек у мышей, вызванном ацетаминофеном..... **476**
- Сюй Х., Базарнова Ю.Г., Балабаев А.А.** Влияние ультразвуковой обработки бересты на выход бетулина при экстракции из *Betula*..... **487**
- Каманина О.А., Рыбочкин П.В., Соромотин В.Н.** Использование микроорганизмов для извлечения металлов из водных объектов и создание на их основе катализаторов..... **495**
- Новиков А.В., Приставка А.А., Михайленко В.Л., Ефременко З.А., Ярыгин Д.А., Юринова Г.В., Саловарова В.П.** Оценка биологического потенциала водных экстрактов древесных отходов с использованием ультрафиолетовой/видимой спектроскопии и тест-объектов..... **503**
- Петухова Н.И., Колобова С.А., Зорин В.В.** Использование бактериальной целлюлозы в процессе получения энзиматически активной биомассы дрожжей *Debaryomyces hansenii* – биокатализатора энантиоселективного восстановления ацетофенона в *S*-1-фенилэтанол..... **515**
- Вавилина Т.Н., Малыгина Е.В., Бельшенко А.Ю., Имидоева Н.А., Жиленков В.М., Моргунова М.М., Дмитриева М.Е., Шелковникова В.Н., Баталова А.А., Аксёнов-Грибанов Д.В.** Изучение влияния пищевой добавки на основе трюфелевых грибов на гематологические и физиологические показатели лабораторных крыс..... **528**
- Хасанова А.А., Сироткин А.С., Перушкина Е.В.** Влияние физико-химических факторов среды на устойчивость бактериальных биопленок на основе микробных сообществ активного ила..... **535**
- Колотова Д.С., Боровинская Е.В., Бордиян В.В., Деркач С.Р.** Экстракция и характеристика альгината натрия из бурых водорослей *Fucus vesiculosus*..... **548**

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

- Дадашев М.Н.** О перспективах применения сверхкритических флюидных технологий в различных отраслях промышленности..... **559**
- Алыева А.Б., Ананичева С.А., Крапивницкая Т.О., Денисенко А.Н., Ананичев А.А., Преображенский Е.И., Широков Д.А., Глявин М.Ю., Песков Н.Ю.** Микроволновый пиролиз древесины дуба: исследование процесса и характеристика продуктов..... **573**
- Липин А.Г., Липин А.А.** Покрывтия на основе масел для регулирования скорости высвобождения питательных веществ..... **582**

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

- Скиба Е.А., Миронова Г.Ф.** Летучие примеси биоэтанола-сырца из мискантуса гигантского..... **590**

CONTENTS

CHEMICAL SCIENCES

- Cherepanov I.S., Tarasova D.A., Egorova A.I.** Structural analysis of products arising from the interaction between *L*-ascorbic acid and *p*-aminoacetanilide..... **446**
- Akimova E.S., Sultanova R.M., Rabaev R.U., Borisova Yu.G., Zlotsky S.S.** Synthesis of asymmetric secondary amines and their anticorrosive properties..... **456**

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

- Belova D.D., Sharova N.Yu.** Biotechnological potential of cold-active enzymes in industry: A review of recent progress..... **465**
- Sobhanian S.A., Ahmadi A., Roghani M., Hassanlo P., Khamoush Sh.** Protective activities of some bioactive components from *Salvia officinalis* extracts and essential oil in acetaminophen-induced model of acute liver and kidney injury in mice..... **476**
- Xu H., Bazarnova Ju.G., Balabaev A.A.** Effect of ultrasonic treatment of birch bark on betulin yield in extraction from *Betula*..... **487**
- Kamanina O.A., Rybochkin P.V., Soromotin V.N.** Use of microorganisms to recover metals from water bodies and create catalysts on their basis..... **495**
- Novikov A.V., Pristavka A.A., Mikhailenko V.L., Efremenko Z.A., Yarygin D.A., Yurina G.V., Salovarova V.P.** Biological potential assessment of aqueous wood-waste extracts using ultraviolet/visible spectroscopy and test objects..... **503**
- Petukhova N.I., Kolobova S.A., Zorin V.V.** Use of bacterial cellulose to produce enzymatically active biomass of *Debaryomyces hansenii* yeast – a biocatalyst for the enantioselective reduction of acetophenone to *S*-1-phenylethanol..... **515**
- Vavilina T.N., Malygina E.V., Belyshenko A.Yu., Imidoeva N.A., Zhilenkov V.M., Morgunova M.M., Dmitrieva M.E., Shelkovnikova V.N., Batalova A.A., Axenov-Gribanov D.V.** Effect of a truffle-based food supplement on hematological and physiological parameters in laboratory rats..... **528**
- Khasanova A.A., Sirotkin A.S., Perushkina E.V.** Resistance of bacterial biofilms comprising activated sludge microbial communities to physicochemical external factors..... **535**
- Kolotova D.S., Borovinskaya E.V., Bordiyan V.V., Derkach S.R.** Extraction and characterization of sodium alginate from the brown alga *Fucus vesiculosus*..... **548**

CHEMICAL TECHNOLOGY

- Dadashev M.N.** On the prospects for applying supercritical fluid technologies in various industries..... **559**
- Alyeva A.B., Ananicheva S.A., Krapivnitckaia T.O., Denisenko A.N., Ananichev A.A., Preobrazhensky E.I., Shirokov D.A., Glyavin M.Yu., Peskov N.Yu.** Microwave pyrolysis of oak wood: Process analysis and product characterization..... **573**
- Lipin A.G., Lipin A.A.** Oil-based coatings for controlled nutrient release..... **582**

BRIEF COMMUNICATION

- Skiba E.A., Mironova G.F.** Volatile impurities in crude bioethanol produced from giant miscanthus..... **590**



Изучение строения продуктов взаимодействия L-аскорбиновой кислоты с *p*-аминоацетанилидом

И.С. Черепанов✉, Д.А. Тарасова, А.И. Егорова

Удмуртский государственный университет, Ижевск, Российская Федерация

Аннотация: Продукты реакций L-аскорбиновой кислоты с различными азотсодержащими биологически активными веществами открывают пути к получению препаратов нового типа, перспективных к применению в фармацевтической, пищевой и косметической индустрии. В настоящей работе изучено взаимодействие L-аскорбиновой кислоты с *p*-аминоацетанилидом в этанольной среде при варьированном (1:1 и 1:2) соотношении компонентов. Получение целевых продуктов проводили термостатированием водно-этанольных растворов, содержащих заданные количества компонентов (50 °C, 1 ч) с последующим медленным удалением растворителя в течение 24 ч. Непосредственно после термостатирования реакционные системы в виде тонких пленок на KBr-подложках исследовали методом колебательной спектроскопии. После медленного удаления растворителя промытые безводным эфиром и его смесью с этанолом твердые фазы изучали при помощи инфракрасной спектроскопии в KBr-матрице. Анализ колебательных спектров реакционной системы 1:1 показал, что в ходе термостатирования не происходит образования ионного ассоциата, последующее удаление растворителя приводит к выделению твердой фазы продукта сокристаллизации, формирование которого подтверждено анализом спектров средней и ближней инфракрасной области. Установлено, что в реакционной системе при соотношении компонентов 1:2 на стадии термостатирования происходит формирование основания Шиффа по C₃-фрагменту аскорбиновой кислоты, перегруппировывающегося впоследствии при медленном удалении растворителя в 3-замещенное N-производное аскорбиновой кислоты (3-дезоксиг-3-(*p*-ацетамидофениламино)-L-аскорбиновую кислоту). Характер электронных спектров обеих реакционных систем указывает на незначительное протекание побочных процессов меланоидинообразования в выбранных условиях эксперимента. Структурные аналоги выделенных продуктов, согласно литературным данным, характеризуются достаточной в сравнении с алифатическими производными устойчивостью, а также заметными антиоксидантными свойствами, что предполагает актуальность их дальнейшего изучения.

Ключевые слова: L-аскорбиновая кислота, *p*-аминоацетанилид, электронные спектры, ИК-спектры, синтез, антиоксидантная активность

Для цитирования: Черепанов И.С., Тарасова Д.А., Егорова А.И. Изучение строения продуктов взаимодействия L-аскорбиновой кислоты с *p*-аминоацетанилидом // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 446–455. DOI: 10.21285/achb.1014. EDN: RUQCNS.

CHEMICAL SCIENCES

Original article

Structural analysis of products arising from the interaction between L-ascorbic acid and *p*-aminoacetanilide

Igor S. Cherepanov✉, Dar'ya A. Tarasova, Alina I. Egorova

Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation

Abstract. Products of reactions between L-ascorbic acid and various nitrogen-containing biologically active substances can be used to develop new preparations with promising applications in the pharmaceutical, food,

and cosmetic industries. The present study examined the interaction of L-ascorbic acid with *p*-aminoacetanilide in ethanol medium at component ratios of 1:1 and 1:2. The target products were obtained by controlling the temperature of aqueous ethanol solutions containing the specified amounts of components (50 °C, 1 h), which was followed by slow solvent removal for 24 h. Immediately after the temperature control stage, the reaction systems, in the form of thin films on KBr substrates, were analyzed via vibrational spectroscopy. Following slow solvent removal, the solid phases washed with anhydrous ether and its mixture with ethanol were studied in a KBr matrix using infrared spectroscopy. The vibrational spectra of the 1:1 reaction system revealed that no ionic associate is formed during the temperature control stage; subsequent solvent removal leads to the release of the solid phase of co-crystallization product, whose formation is confirmed by analysis of the mid- and near-infrared spectra. With the 1:2 component ratio, the reaction system was found to form a Schiff base at the C₃ of ascorbic acid during the temperature control stage, which subsequently rearranged during slow solvent removal into a 3-substituted *N*-derivative of ascorbic acid (3-deoxy-3-(*p*-acetamidophenylamino)-L-ascorbic acid). The electronic spectra of both reaction systems indicate insignificant side processes of melanoidin formation under the selected experimental conditions. According to published sources, the structural analogs of released products are characterized by sufficient stability compared to aliphatic derivatives, as well as notable antioxidant properties, which indicates the importance of their further study.

Keywords: L-ascorbic acid, *p*-aminoacetanilide, electronic spectra, IR spectra, synthesis, antioxidant activity

For citation: Cherepanov I.S., Tarasova D.A., Egorova A.I. Structural analysis of products arising from the interaction between L-ascorbic acid and *p*-aminoacetanilide. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):446-455. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1014. EDN: RUQCNS.

ВВЕДЕНИЕ

В последние несколько лет существенно возрос интерес к изучению продуктов взаимодействия L-аскорбиновой кислоты с различными биоактивными веществами, в частности с катехинами [1], антоцианами [2], циклодекстрином [3], протеинами [4], углеводами [5], природными карбоновыми кислотами [6]; описаны комплексы с линейными биополимерами [7, 8]. Большое количество исследований посвящено изучению реакций аскорбиновой кислоты с азотсодержащими производными [9–13], что приводит к образованию биологически активных веществ, при этом возможно несколько схем взаимодействия. Так, авторы исследования [9] описывают строение H-связанных молекулярных комплексов аскорбиновой кислоты с основаниями Шиффа. В работе [10] описаны механизмы образования продуктов взаимодействия аскорбиновой кислоты с аминокислотами по лактонной C=O группе. Реакции алифатических аминов с аскорбиновой кислотой, по данным исследования [11], протекают как замещение по C₃-ОН-фрагменту L-аскорбиновой кислоты. Кислотные свойства аскорбиновой кислоты обуславливают возможность образования солеобразных соединений с алифатическими и ароматическими аминами [12]. Молекула аскорбиновой кислоты может входить в состав продуктов конденсации с аминами как в циклической, так и в ациклической трансформированной форме [13].

Одним из наиболее интересных ароматических аминопроизводных является *l*-аминоацетанилд: в практическом плане важное значение имеют его оптические и антиокислительные свойства [14, 15]. Ранее были изучены процессы конденсации *l*-аминоацетанилида с углеводами [14], выполнена оценка антиокислительных свойств выделенных продуктов. Показано, что наряду с доступностью реагентов и простотой синтеза, очистки и выделения полученные *N*-гликозиламиноацетанилиды обладают достаточной антиокислительной способностью в реакциях липидного окисления. Дополнительно описаны механизмы их восстановительной активности [16], установлен синергизм действия структурных составляющих. Таким образом, актуальным представляется изучение

возможности синтеза производных, сочетающих фрагменты с антиокислительными свойствами. Изучение динамики взаимодействия аскорбиновой кислоты с аминопроизводными показывает влияние соотношения реагентов на параметры реакции (состав и выход продуктов, степень связывания в комплексы) [17]. В связи с этим целью настоящей работы является изучение процессов образования и строения продуктов взаимодействия L-аскорбиновой кислоты с *l*-аминоацетанилидом при варьированном соотношении реагентов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез. Целевые процессы были реализованы термостатированием этанольных (96% EtOH, 20 мл, Мерск, Германия) растворов, содержащих варьироваемые количества 1:1 (0,001 моль : 0,001 моль) и 1:2 (0,001 моль : 0,002 моль) L-аскорбиновой кислоты (ч.д.а.) и *l*-аминоацетанилида (ч.д.а.) в колбах с обратным холодильником при 50 °C в течение 1 ч.

Изучение реакционных систем. По окончании синтезов пробы растворов капиллярной пипеткой наносили в виде капли на солевые подложки KBr, которые высушивали струей воздуха до образования равномерной тонкой пленки. Колебательные спектры полученных пленок регистрировали на инфракрасном (ИК) спектрометре ФСМ-2201 (ООО «Инфраспек», Россия) в интервале волновых чисел 4000–400 см⁻¹ с разрешением 4 см⁻¹ при 40 сканах относительно чистых KBr-подложек. Итоговые спектры обрабатывали в программе FSPEC 4.2.0.9. Дополнительно отбирали пробы (5 мл) и регистрировали электронные спектры реакционных систем на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия) в кварцевых кюветах (*l* = 1 см) в интервале длин волн 400–800 нм с шагом 5 нм. Спектры обрабатывали в программе Microsoft Excel.

Выделение продуктов. Удаление растворителя из раствора по окончании термостатирования (25 °C, 24 ч) приводило к образованию твердых продуктов, которые промывали безводным эфиром и спиртово-эфирной смесью (50:50) для очистки от продуктов меланоидинообразования, что позволило после высушивания получить

порошки серо-коричневого цвета массой 0,24 г (1:1) и 0,15 г (1:2), температуры плавления которых были определены равными 102 °С (1:1) и 183 °С (1:2).

Изучение строения конечных твердых фаз. Колебательные спектры твердых фаз в средней ИК-области регистрировали в режиме пропускания (1:200 KBr, 40 сканов, интервал волновых чисел 4000–400 см⁻¹, разрешение по волновому числу 4 см⁻¹). Колебательные спектры в ближней ИК-области регистрировали в режиме пропускания (1:100 KBr, 150 сканов, интервал волновых чисел 7000–6000 см⁻¹, разрешение по волновому числу 8 см⁻¹) относительно KBr [18]. Спектры вторых производных получали в результате численного дифференцирования в окнах до 10 точек при сглаживании полиномом 4-го порядка и обрабатывали в программе FSpec 4.2.0.9.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основная информация о строении продуктов взаимодействия была получена при помощи анализа колебательных спектров, полное отнесение полос для исходных веществ представлено в таблице.

Спектры как аскорбиновой кислоты, так и *p*-аминоацетанилида характеризуются большим количеством полос, отнесение которых не всегда однозначно. Сопоставление спектров исходных веществ со спектрами

продуктов, полученных в виде пленки из раствора *in situ* и после полного удаления растворителя и высушивания продукта, приведено на рис. 1 и 2 соответственно.

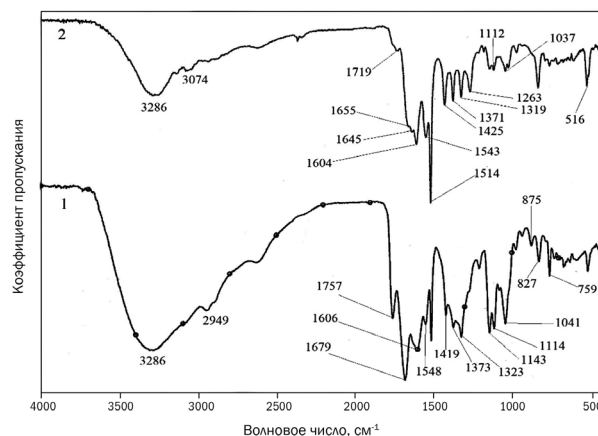


Рис. 1. Инфракрасные спектры реакционных систем L-аскорбиновая кислота – *p*-аминоацетанилид (пленка на KBr-подложке) при соотношении реагентов 1:1 (1) и 1:2 (2)

Fig. 1. Infrared spectra of L-ascorbic acid – *p*-aminoacetanilide (film on KBr-plate) at reagent relation 1:1 (1) and 1:2 (2)

Отнесение полос в инфракрасных спектрах исходных веществ

Assignment of bands in the infrared spectra of the starting materials

L-Аскорбиновая кислота		<i>p</i> -Аминоацетанилид	
ν , см ⁻¹	Отнесение [19–21]	ν , см ⁻¹	Отнесение [15]
3540	$\nu_{\text{OH}}(\text{C}_6)$	3370	$\nu^{\text{as}}_{\text{NH}_2}$
3410	$\nu_{\text{OH}}(\text{C}_{3(5)})$	3283	ν_{NH}
3330	$\nu_{\text{OH}}(\text{C}_{5(3)})$	3244	$\nu^{\text{s}}_{\text{NH}_2}$
3216	$\nu_{\text{OH}}(\text{C}_2)$	3177	NH- δ -оберттон
3030	$\nu_{\text{OH}} + \nu_{\text{CH}}$	3126	NH- δ -оберттон
2915	$\nu_{\text{C}_4\text{-H}}$	3062	ν_{CHAr}
1754	$\nu_{\text{C}_1=\text{O}}$	2970	ν_{CH}
1674	$\nu_{\text{C}_2=\text{C}_3}$	2926	ν_{CH}
1497	δ_{CH_2}	2864	ν_{CH}
1321	$\nu_{\text{C}_2-\text{O}}$	1662	$\nu_{\text{C}=\text{O}} + \delta_{\text{NH}}$
1274	$\omega_{\text{CH}} + \delta_{\text{C}_2-\text{OH}}$	1608	$\nu_{\text{C}=\text{Ar}} + \delta_{\text{NH}, \text{NH}_2}$
1248	$\delta_{\text{C}_3-\text{OH}}$	1552	$\nu_{\text{C}=\text{Ar}} + \delta_{\text{NH}}$
1221	$\rho_{\text{C}_4\text{-H}}$	1513	$\nu_{\text{C}=\text{Ar}} + \delta_{\text{NH}}$
1142	$\nu_{\text{C}_3-\text{O}} + \delta_{\text{C}_5-\text{OH}}$	1452	$\delta^{\text{as}}_{\text{CH}_3}$
1120	$\nu_{\text{C}_5-\text{C}_6} + \delta_{\text{C}_6-\text{OH}}$	1424	$\nu_{\text{C}-\text{N}} + \nu_{\text{ring}}$
1076	$\nu_{\text{C}_6-\text{O}}$	1370	$\delta^{\text{s}}_{\text{CH}_3}$
1044	$\delta_{\text{ring}}(\text{C}-\text{O}-\text{C})$	1322	$\nu_{\text{C}-\text{N}} + \nu_{\text{ring}}$
1026	$\delta_{\text{ring}}(\text{C}-\text{O}-\text{C})$	1262	$\nu_{\text{C}-\text{N}} + \nu_{\text{C}-\text{NH}_2}$
989	$\rho_{\text{CH}_2} + \nu_{\text{C}_5-\text{O}} + \delta_{\text{C}_5\text{C}_6\text{H}_6}$	1175	δ_{CHAr}
869	$\nu_{\text{C}_5-\text{C}_6}$	1090	γ_{NH_2}
820	δ_{ring}	1030	γ_{CH_3}
755	$\nu_{\text{C}_4-\text{C}_5}$	825	$\delta_{\text{CCAr}} + \gamma_{\text{CHAr}}$
720	$\gamma_{\text{C}_2-\text{O}}$	780	γ_{NH_2}
680	$\alpha_{\text{ring}}, \delta_{\text{C}=\text{C}-\text{O}}$	730	γ_{CHAr}
630	$\nu_{\text{C}_1-\text{C}_2}$	700	γ_{CHAr}
592	$\omega_{\text{C}_3-\text{C}_4}$	662, 600	δ_{CCC}
567	$\omega_{\text{C}_7-\text{C}_3}$	520	γ_{CCC}

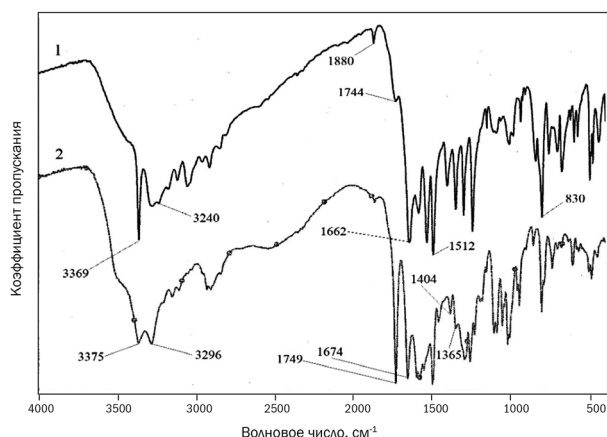


Рис. 2. Инфракрасные спектры твердых продуктов взаимодействия L-аскорбиновой кислоты с *p*-аминоацетанилидом (KBr, 1:200) при соотношении реагентов 1:1 (1) и 1:2 (2)

Fig. 2. Infrared spectra of solid products of L-ascorbic acid – *p*-aminoacetanilide interaction (KBr, 1:200) at reagent relation 1:1 (1) and 1:2 (2)

Спектры системы с соотношением реагентов 1:1 в низкочастотной области показывают наличие полос, относимых к фрагментам как L-аскорбиновой кислоты, так и *p*-аминоацетанилида.

В спектре 1 также наблюдается уширение сигнала 1606 см^{-1} , связанное с появлением полос деформационных колебаний ассоциированной группы NH_3^+ (1600 , 1620 см^{-1} [13]) *p*-аминоацетанилида **2**, образующейся при частичном депротонировании $\text{C}_3\text{-OH}$ -фрагмента аскорбиновой кислоты **1** [10, 11] (рис. 3). Дополнительным свидетельством в пользу образования ионного ассоциата **3** является появление полосы 1419 см^{-1} ,

относимой к валентным колебаниям ионизированной $\text{v}_{\text{C}_3\text{-O}^-}$ при отсутствии сигнала 1248 см^{-1} ($\delta_{\text{C}_3\text{-OH}}$) [20]:

Сигналы, характеризующие сопряженный фрагмент аскорбиновой кислоты C=O (1757 см^{-1}), C=C (1679 см^{-1}), практически не изменяют своего положения; усиление интенсивности последней может быть связано с наложением полос *p*-аминоацетанилида (см. таблицу). Отсутствие смещения указанных сигналов в низкочастотную область, наблюдаемое для Na-аскорбата [21], может быть связано с меньшей степенью разделения зарядов и, как следствие, меньшей приводящей к снижению «двоесвязанности» трансформацией O=C-C=C -сайта, что, по данным источника [12], характерно для спектров ариламмоний-L-аскорбинатов.

Спектр системы с соотношением реагентов 1:2 отличается от описанного выше в первую очередь изменением положения и интенсивности полос в области валентных колебаний кратных связей. Полоса валентных колебаний C=O снижается по интенсивности и смещается к значению 1719 см^{-1} , интенсивность полосы $\text{v}_{\text{NH}_3\text{OH}}$ существенно снижается, указывая на взаимодействие по первичной аминогруппе. Также в виде спутных полос на высокочастотном крыле сигнала 1604 см^{-1} наблюдаются пики 1655 и 1644 см^{-1} . Подобные изменения могут свидетельствовать о присутствии в системе кратных связей в различном структурном окружении (рис. 4), в частности об образовании оснований Шиффа **4** [11, 13, 22], протекающем через образование кето-формы L-аскорбиновой кислоты (рис. 4).

Образующаяся структура подтверждается исчезновением полосы валентных колебаний $\text{C}_2=\text{C}_3$ -связи аскорбиновой кислоты (1674 см^{-1}), смещение полосы валентных колебаний C=O к значению 1719 см^{-1} , сопровождающееся понижением ее интенсивности, указывает на образование достаточно прочных $\text{C=O}\cdots\text{H}$ -связей [8, 23], вероятно, с OH-группой при C_2 (сигнал 1274 см^{-1} сме-

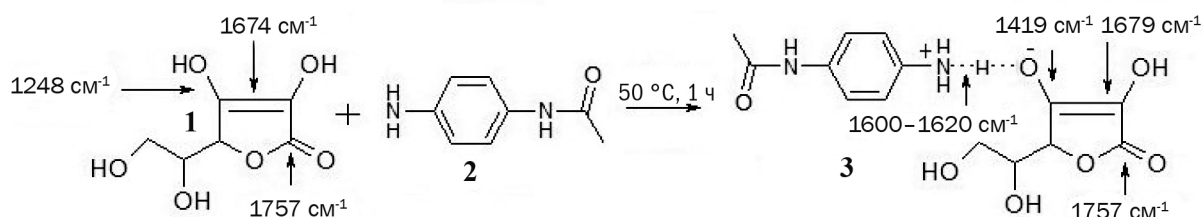


Рис. 3. Взаимодействие L-аскорбиновой кислоты и *p*-аминоацетанилида в соотношении 1:1 непосредственно по окончании синтеза

Fig. 3. Interaction of L-ascorbic acid with *p*-aminoacetanilide at relation 1:1 directly after synthesis

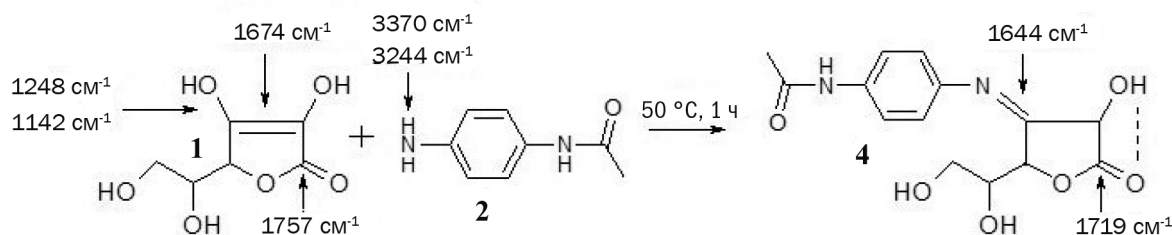


Рис. 4. Взаимодействие L-аскорбиновой кислоты и *p*-аминоацетанилида в соотношении 1:2 непосредственно по окончании синтеза

Fig. 4. Interaction of L-ascorbic acid with *p*-aminoacetanilide at relation 1:2 directly after synthesis

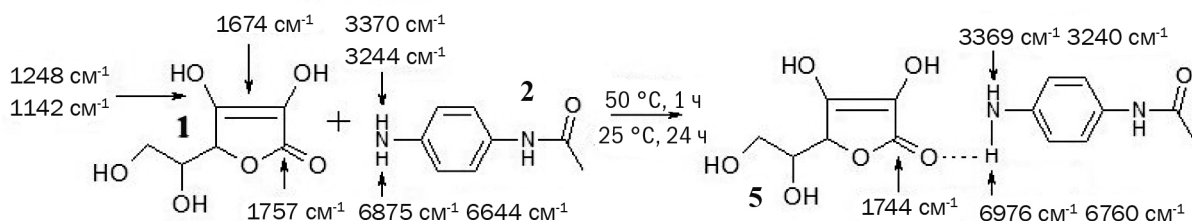


Рис. 5. Взаимодействие *L*-аскорбиновой кислоты и *p*-аминоацетанилида в соотношении 1:1 после полного удаления растворителя в течение 24 ч

Fig. 5. Interaction of *L*-ascorbic acid with *p*-aminoacetanilide at relation 1:1 after total solvent evaporation during 24 h

щается в низкочастотную область, сливаясь с полосой 1263 cm^{-1} *p*-аминоацетанилида). Отсутствие в спектре полос 1248 ($\delta_{\text{C}_3\text{-OH}}$) и 1142 ($\nu_{\text{C}_3\text{-O}}$) cm^{-1} подтверждает 3-замещение в лактонном цикле.

Медленное удаление растворителя по окончании термостатирования также может приводить к структурным изменениям в результате дальнейшего развития процессов [12]. Колебательные спектры твердых продуктов после удаления растворителя в течение суток, промывки и высушивания в эксикаторе представлены на рис. 2.

Спектр твердой фазы, выделенной из системы с соотношением реагентов 1:1, показывает наличие малоинтенсивной полосы 1744 cm^{-1} водородно-связанной C=O группы аскорбиновой кислоты, а также полос *p*-аминоацетанилида (1880, 1662, 1604, 1512 cm^{-1}) (рис. 5). Подобные изменения спектральных профилей могут характеризовать образование молекулярных конъюгатов **5** [9].

Резкая полоса 3369 cm^{-1} в совокупности со снижающим свою интенсивность пиком 3240 cm^{-1} , относимые к колебаниям первичной аминогруппы, оказываются незначительно смещенными в низкочастотную область относительно положения сигналов *p*-аминоацетанилида.

Подтверждением участия аминогруппы *p*-аминоацетанилида в образовании молекулярного комплекса может служить анализ спектров ближней ИК-области: первые ν -обертоны основных асимметричных колебаний NH-групп ариламинов регистрируются в области 7000–6600 cm^{-1} [24]. В спектре чистого *p*-аминоацетанилида фиксируются четкие сигналы 6875 и 6644 cm^{-1} (рис. 6). Участие NH_2 -функции в конъюгации с *L*-аскорбиновой кислотой подтверждается наличием полос 6976 и 6760 cm^{-1} , относимых к NH-колебаниям связанной с *L*-аскорбиновой кислотой аминогруппы [24].

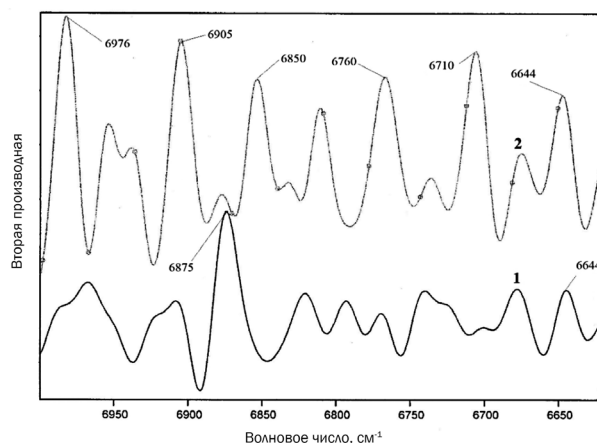


Рис. 6. Вторые производные инфракрасных спектров ближней инфракрасной области чистого *p*-аминоацетанилида (1) и твердого продукта взаимодействия *L*-аскорбиновой кислоты с *p*-аминоацетанилидом в соотношении 1:1 (2)

Fig. 6. Near infrared spectra second derivative of pure *p*-aminoacetanilide (1) and solid product *L*-ascorbic acid – *p*-aminoacetanilide interaction at relation 1:1 (2)

Спектр твердого продукта, выделенного из системы с соотношением реагентов 1:2, показывает наличие химического взаимодействия компонентов, что проявляется в сглаживании полосы асимметричных валентных колебаний первичной аминогруппы, полоса $\nu_{\text{NH}_2}^s$ (3244 cm^{-1}) нивелируется полностью (рис. 7). Кроме того, в спектре присутствует новый сигнал 1365 cm^{-1} , характерный, по данным источника [25], для $\nu_{\text{C-N}}$ -колебаний химически связанных *L*-аскорбиновой кислоты и *p*-аминоацетанилида. Взаимодействие идет с участием C₃-OH-реакционного

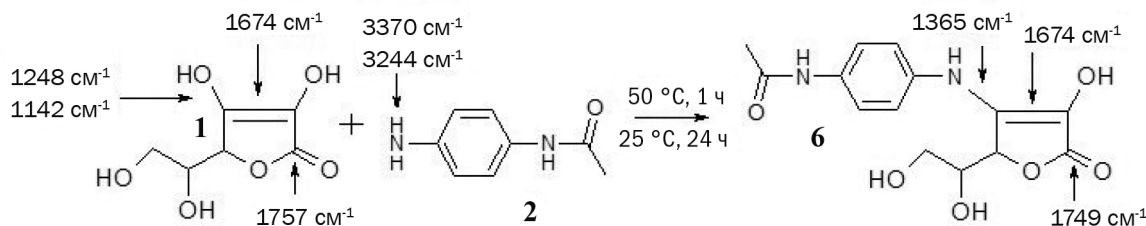


Рис. 7. Взаимодействие *L*-аскорбиновой кислоты и *p*-аминоацетанилида в соотношении 1:2 после полного удаления растворителя в течение 24 ч

Fig. 7. Interaction of *L*-ascorbic acid with *p*-aminoacetanilide at relation 1:2 after total solvent evaporation during 24 h

центра, что подтверждается исчезновением полос 1248 ($\delta_{\text{C}_3\text{-OH}}$) и 1142 ($\nu_{\text{C}_3\text{-O}}$) cm^{-1} в спектре продукта. Можно предположить, что при выдерживании раствора после термостатирования происходит прототропная перегруппировка с образованием более устойчивого енаминольного производного – 3-дезоксиз-3-(*p*-ацетамидофениламино)-L-аскорбиновой кислоты 6.

Подтверждением образования предложенной структуры можно также считать снижение интенсивности полос скелетных колебаний L-аскорбиновой кислоты в области 900–500 cm^{-1} при перераспределении электронной плотности в лактонном цикле при образовании 3-замещенного N-производного [23].

Различие в характере образующихся в системах с разным соотношением реагентов продуктов может быть связано с тем, что увеличение концентрации амина приводит к активизации его атаки на ендиольный фрагмент аскорбиновой кислоты, принимая в этом случае протекание ее взаимодействия с *p*-аминоацетанилидом через последовательные стадии нуклеофильного присоединения – элиминирования.

Дополнительно изучалась степень протекания реакции Майяра, приводящей к трансформации первичных продуктов взаимодействия L-аскорбиновой кислоты и *p*-аминоацетанилида. Электронные спектры реакционных систем в видимой области по окончании термостатирования представлены на рис. 8.

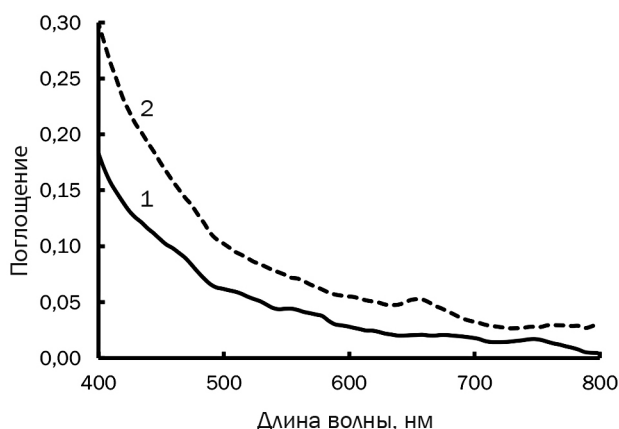


Рис. 8. Электронные спектры реакционных систем L-аскорбиновая кислота – *p*-аминоацетанилид при соотношении реагентов 1:1 (1) и 1:2 (2)

Fig. 8. Ultraviolet-visible-spectra of L-ascorbic acid – *p*-aminoacetanilide reactive systems at reagent relation 1:1 (1) and 1:2 (2)

Отношения A_{465}/A_{650} для реакционных систем составляют 4,5 (1:1) и 2,9 (1:2), что указывает на определенную долю конденсированных ароматических продуктов. Тем не менее невысокие абсолютные значения оптической плотности растворов свидетельствуют о незначительной степени протекания побочных процессов меланоидинообразования. Продукты последних достаточно полно отделяются при промывке, что подтверждается отсутствием в спектрах выделенных веществ полос продуктов деструкции аскорбиновой кислоты (1790–1820 cm^{-1}) как более активного компонента [16].

Полученные результаты согласуются с литературными данными по изучению образования молекулярных комплексов [9] и продуктов конденсации [11] аскорбиновой кислоты с аминами. Структурные аналоги выделенных продуктов, согласно литературным данным [9, 11], характеризуются заметной биологической активностью (антиоксидантные и антибактериальные свойства), что предполагает актуальность их дальнейшего изучения. Как видно из изложенных выше результатов, ендиольный фрагмент аскорбиновой кислоты, обуславливающий антиокислительные свойства, сохраняется в продукте взаимодействия системы 1:1, в связи с чем на следующем этапе работы изучалась его антиокислительная активность в модельной реакции окисления вазелинового масла [26].

Фрагменты спектров изученных систем в области C=O валентных колебаний представлены на рис. 9 (спектры 2–6 сложены с константами для большей наглядности представления).

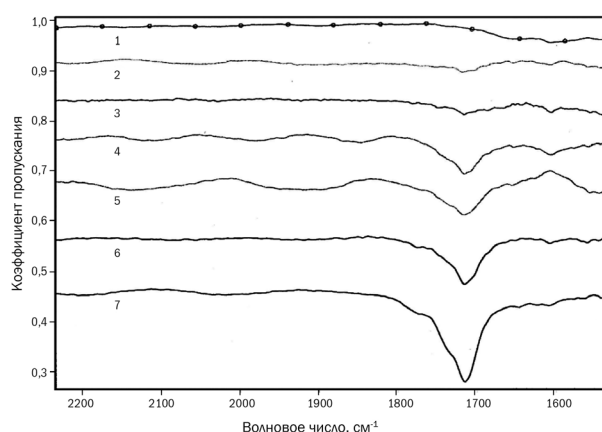


Рис. 9. Фрагменты спектров в области валентных колебаний C=O: 1 – суспензия конъюгата в масле (25 °C); 2 – суспензия конъюгата в масле (140 °C, 2 ч); 3 – масло (140 °C, 2 ч); 4 – суспензия конъюгата в масле (140 °C, 3 ч); 5 – масло (140 °C, 3 ч); 6 – суспензия конъюгата в масле (140 °C, 4 ч); 7 – масло (140 °C, 4 ч)

Fig. 9. Spectra fragments in C=O-stretching vibration area: 1 – conjugate suspension in oil (25 °C); 2 – conjugate suspension in oil (140 °C, 2 h); 3 – oil (140 °C, 2 h); 4 – conjugate suspension in oil (140 °C, 3 h); 5 – oil (140 °C, 3 h); 6 – conjugate suspension in oil (140 °C, 4 h); 7 – oil (140 °C, 4 h)

Сопоставление данных указывает на наличие заметного ингибирующего окисление масла эффекта при 4-часовом временном интервале (спектры 6 и 7). Сравнение полученных данных (140 °C, 4 ч) с аналогичными, полученными для чистых компонентов, представлено на рис. 10 (спектры 2–4 сложены с соответствующими константами). Сравнительный анализ иллюстрирует убывание интенсивности полосы 1715 cm^{-1} в ряду компонентов масло > *p*-аминоацетанилид > конъюгат > аскорбиновая кислота, указывая на максимальную ингибирующую активность последней. При этом ингибирующая окисление вазелинового масла способность конъюгата выше, чем у чистого *p*-аминоацетанилида.

Электронные спектры этанольных экстрактов про-

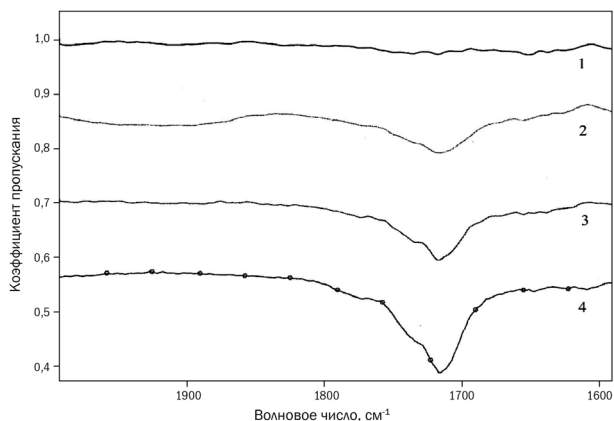


Рис. 10. Фрагменты спектров в области валентных колебаний C=O (140 °C, 4 ч): 1 – суспензия аскорбиновой кислоты в масле (0); 2 – суспензия конъюгата в масле (0,06); 3 – суспензия *п*-аминоацетанилида в масле (0,10); 4 – масло (0,19) (в скобках указаны значения I_{g0}/I , рассчитанные по методу базовой линии)

Fig. 10. Spectra fragments in C=O-stretching vibration area (140 °C, 4 h): 1 – ascorbic acid suspension in oil (0); 2 – conjugate suspension in oil (0.06); 3 – suspension of *p*-aminoacetanilide in oil (0.10); 4 – oil (0.19) (values I_{g0}/I , estimated by baseline method)

дуктов окисления представлены на рис. 11. Сопоставление спектров показывает наличие конденсированных окрашенных продуктов окислительной деструкции (поглощение выше 550 нм) для суспензии аскорбиновой кислоты, что отчасти объясняет антиокислительное действие последней.

В экстрактах из суспензий *п*-аминоацетанилида и конъюгата подобные продукты не образуются, определяя возможность применения синтезированного препарата в совокупности с его установленной антиокислительной активностью в качестве ингибитора окисления технических масел. Аскорбиновая кислота в ходе термодеструкции образует значительное количество окрашенных продуктов, что ухудшает потребительские качества масел.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Изучено взаимодействие *L*-аскорбиновой кислоты с *п*-аминоацетанилидом в этанольной среде при мольном

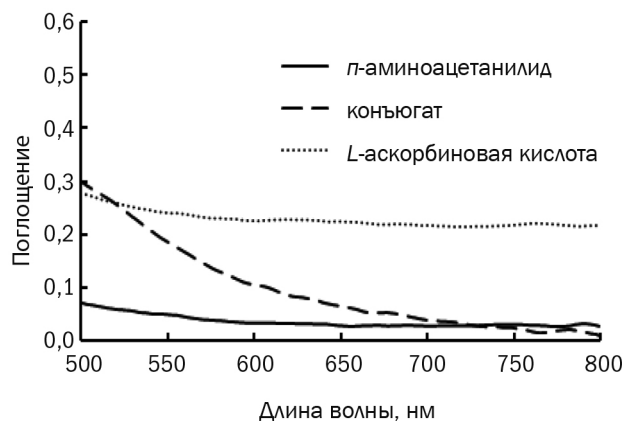


Рис. 11. Фрагменты электронных спектров этанольных экстрактов продуктов термоокисления

Fig. 11. Ultraviolet-visible-spectra fragments of ethanolic extracts of thermooxidation products

соотношении компонентов 1:1 и 1:2.

2. При помощи анализа колебательных спектров реакционной системы 1:1 показано, что в ходе термостатирования происходит образование ионного ассоциата, последующее удаление растворителя приводит к выделению твердой фазы продукта сокристаллизации, формирование которого подтверждено анализом спектров средней и ближней ИК-области.

3. Установлено, что в реакционной системе при соотношении компонентов 1:2 на стадии термостатирования происходит формирование основания Шиффа по C_3 -фрагменту аскорбиновой кислоты, перегруппировывающегося впоследствии при медленном удалении растворителя в 3-замещенное *N*-производное – 3-дезоксид-3-(*п*-ацетамидофениламино)-*L*-аскорбиновую кислоту.

4. Характер электронных спектров реакционных систем указывает на незначительное протекание побочных процессов меланоидинообразования в выбранных условиях эксперимента.

5. Изучение антиокислительного действия молекулярного конъюгата системы 1:1 в процессах высокотемпературного окисления (140 °C, 4 ч) вазелинового масла показывает снижение восстановительной активности в ряду аскорбиновая кислота – конъюгат *L*-аскорбиновая кислота – *п*-аминоацетанилид – *п*-аминоацетанилид, при этом аскорбиновая кислота в ходе деструкции образует существенное количество окрашенных продуктов, что ухудшает потребительские качества масел.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Spizzirri U., Garullo G., De Cicco L., Crispini A., Scarpelli F., Restuccia D., et al. Synthesis and characterization of a (+)-catechin and *L*(+)-ascorbic acid cocrystal as a new functional ingredient for tea drink // *Heliyon*. 2019. Vol. 5, no. 8. P. e02291. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02291.
2. Levy R., Okun Z., Shpigelman A. The influence of chemical structure and the presents of ascorbic acid on anthocyanins stability and spectral properties in purified model systems // *Foods*. 2019. Vol. 8, no. 6. P. 207. DOI: 10.3390/foods8060207.
3. Inoue Y., Horage M., Suzuki R., Niiyama D., Urano R.,

Ando S., et al. Study on complexation of ascorbic acid derivatives with γ -cyclodextrin // *International Journal of Pharmacy*. 2017. Vol. 7, no. 1. P. 9–21.

4. Chanphai P., Tajmir-Riahi H. Conjugation of vitamin C with serum proteins: a potential application for vitamin delivery // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. Vol. 137. P. 966–972. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.07.059.

5. Palanisamy V., Sanphui P., Palanisamy K., Prakash M., Bansail A.K. Design of ascorbic acid eutectic mixtures with sugars to inhibit oxidative degradation // *Frontiers in Chemistry*. 2022. Vol. 10. P. 754269. DOI: 10.3389/fchem.2022.754269.

6. Zhang H., Zeng H., Li M., Song Y., Tian S., Xiong J., et al. Novel ascorbic acid co-crystal formulations for improved stability // *Molecules*. 2022. Vol. 27, no. 22. P. 7998. DOI: 10.3390/molecules27227998.
7. Farias M.D.P., Albuquerque P.B.S., Soares P.A.G., de Sá D.M.A.T., Vicente A.A., Carneiro-da-Cunha M.G. Xyloglucan from *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* seeds as encapsulating agent of L-ascorbic acid // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018. Vol. 107. P. 1559–1566. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.10.016.
8. Garnerio C., Longhi M. Study of ascorbic acid interaction with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and triethanolamine, separately and in combination // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2007. Vol. 45, no. 4. P. 536–545. DOI: 10.1016/j.jpba.2007.07.030.
9. Xavier A., Raj M., Marie J. Synthesis and characterization of an aminoacetophenone-based Schiff base and its interaction studies with ascorbic acid // *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2012. Vol. 4, no. 1. P. 669–672.
10. Сарыбаева Б.Д., Пищугин Ф.В., Тулебердиев И.Т. Кинетика и механизм взаимодействия L-аскорбиновой кислоты с азотсодержащими органическими соединениями // *Научное обозрение. Международный научно-практический журнал*. 2017. N 3. С. 12. EDN: ZGIVYP.
11. Pischetsrieder M., Larisch B., Muller U., Severin T. Reaction of ascorbic acid with aliphatic amines // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1995. Vol. 43, no. 12. P. 3004–3006. DOI: 10.1021/jf00060a002.
12. Dikuser E.A., Kozlov N.G., Mel'nichuk L.A. Salts of L-ascorbic acid with certain substituted amines and triphenylphosphine // *Chemistry of Natural Compounds*. 2004. Vol. 40. P. 406–407. DOI: 10.1023/B:CONC.0000048259.21776.2e.
13. Малинкина О.Н., Провозина А.А., Шиповская А.Б. Оценка химического взаимодействия гидрохлорида хитозана с аскорбиновой кислотой методами ИК- и ЯМР-спектроскопии // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия «Химия. Биология. Экология»*. 2014. Т. 14. N 3. С. 20–24. EDN: SXUADF.
14. Черепанов И.С. Синтез и антиокислительная активность продуктов конденсации D-глюкозы с p-аминоацетанидом // *Химия и технология органических веществ*. 2020. N 3. С. 71–78. DOI: 10.54468/25876724_2020_3_71. EDN: ZFCPUG.
15. Abraham J.P., Sajan D., Hubert Joe I., Jayakumar J.S. Molecular structure, spectroscopic studies and first-order molecular hyperpolarizabilities of p-aminoacetanilide // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2008. Vol. 71, no. 2. P. 355–367. DOI: 10.1016/j.saa.2008.01.010.
16. Черепанов И.С., Корепанова Я.С. Поведение антиоксидантов ряда N-гликозиларилдиаминов в условиях окислительного стресса // *Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов*. 2021. N 1. С. 3–7.
- DOI: 10.33979/2219-8466-2021-66-1-3-7. EDN: VIONRL.
17. Пирнязов К.К., Анварова Г.К., Рашидова С.Ш. Влияние условий синтеза на комплексообразование хитозана с аскорбиновой кислотой // *Известия Уфимского научного центра Российской академии наук*. 2018. N 3. С. 72–74. EDN: XWQPKH.
18. Casian T., Reznik A., Vonica-Gligor A.L., Van Renterghem J., De Beer T., Tomuța I. Development, validation and comparison of near infrared and Raman spectroscopic methods for fast characterization of tablets with amlodipine and valsartan // *Talanta*. 2017. Vol. 167. P. 333–343. DOI: 10.1016/j.talanta.2017.01.092.
19. Dabbagh H.A., Azami F., Farrokhpour H., Chermahini N. UV-Vis, NMR and FTIR spectra of tautomers of vitamin C. Experimental and DFT calculation // *Journal of the Chilean Chemical Society*. 2014. Vol. 59, no. 3. P. 2248–2254. DOI: 10.4067/S0717-97072014000300013.
20. Ferrer E., Williams P., Baran E. Interaction of vanadyl (IV) cation with L-ascorbic acid and related system // *Zeitschrift für Naturforschung B*. 1998. Vol. 53, no. 2. P. 256–262. DOI: 10.1515/znb-1998-0220.
21. Lohmann W., Pagel D., Penka V. Structure of ascorbic acid and its biological activity. Determination of the conformation of ascorbic acid and isoascorbic acid by infrared and ultraviolet investigation // *European Journal of Biochemistry*. 1984. Vol. 138, no. 3. P. 479–480. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1984.tb07941.x.
22. Saleh T.A.-K., Al-Samarrai R.R.H., Abdul-Razzaq N.E. The antioxidant and antimicrobial activity for some new synthesized Schiff base derived from ascorbic acid // *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2019. Vol. 10, no. 2. P. 1510–1515. DOI: 10.26452/ijrps.v10i2.730.
23. Tajmir-Riahi H.A. Coordination chemistry of vitamin C. Part I. Interaction of L-ascorbic acid with alkaline earth metal ions in the crystalline solid and aqueous solution // *Journal of Inorganic Biochemistry*. 1990. Vol. 40, no. 2. P. 181–188. DOI: 10.1016/0162-0134(90)80051-x.
24. Onoda H., Inoue Y., Ezawa T., Murata I., Chantadee T., Limmatvapirat S., et al. Preparation and characterization of triamterene complex with ascorbic acid derivatives // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2020. Vol. 46, no. 12. P. 2032–2040. DOI: 10.1080/03639045.2020.1842439.
25. Wang L., Choi W.M., Chung J.S., Hur S.H. Multicolor emitting N-doped carbon dots derived from ascorbic acid and phenylenediamine precursors // *Nanoscale Research Letters*. 2020. Vol. 15. P. 222. DOI: 10.1186/s11671-020-03453-3.
26. Wang P., Wang Y., Sun Y., Cao Z., Zhu W., Wang H. Thermal and spectroscopic studies of the thermal-oxidation stabilities of lubricants // *Journal of Applied Spectroscopy*. 2021. Vol. 88. P. 847–854. DOI: 10.1007/s10812-021-01249-6.
1. Spizzirri U., Garullo G., De Cicco L., Crispini A., Scarpelli F., Restuccia D., et al. Synthesis and characterization of a (+)-catechin and L-(+)-ascorbic acid cocrystal as a new functional ingredient for tea drink. *Heliyon*. 2019;5(8):e02291. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02291.
2. Levy R., Okun Z., Shpigelman A. The influence of chemical structure and the presents of ascorbic acid on anthocyanins stability and spectral properties in purified model systems. *Foods*. 2019;8(6):207. DOI: 10.3390/foods8060207.
3. Inoue Y., Horage M., Suzuki R., Niiyama D., Urano R., Ando S., et al. Study on complexation of ascorbic acid

derivatives with γ -cyclodextrin. *International Journal of Pharmacy*. 2017;7(1):9-21.

4. Chanphai P., Tajmir-Riahi H. Conjugation of vitamin C with serum proteins: a potential application for vitamin delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;137:966-972. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.07.059.

5. Palanisamy V., Sanphui P., Palanisamy K., Prakash M., Bansail A.K. Design of ascorbic acid eutectic mixtures with sugars to inhibit oxidative degradation. *Frontiers in Chemistry*. 2022;10:754269. DOI: 10.3389/fchem.2022.754269.

6. Zhang H., Zeng H., Li M., Song Y., Tian S., Xiong J., et al. Novel ascorbic acid co-crystal formulations for improved stability. *Molecules*. 2022;27(22):7998. DOI: 10.3390/molecules27227998.

7. Farias M.D.P., Albuquerque P.B.S., Soares P.A.G., de Sá D.M.A.T., Vicente A.A., Carneiro-da-Cunha M.G. Xyloglucan from *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* seeds as encapsulating agent of L-ascorbic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;107:1559-1566. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.10.016.

8. Garnerio C., Longhi M. Study of ascorbic acid interaction with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and triethanolamine, separately and in combination. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2007;45(4):536-545. DOI: 10.1016/j.jpba.2007.07.030.

9. Xavier A.J.M., Raj M.A., Marie J.M. Synthesis and spectral characterization of an aminoacetophenone-based Schiff base and its interaction studies with ascorbic acid. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2012;4(1):669-672.

10. Sarybayeva B.D., Pishchugin F.V., Tuleberdiev I.T. Kinetics and the mechanism of interaction of L-ascorbic acid with nitrogen-containing organic compounds. *Nauchnoe obozrenie. Mezhdunarodnyi nauchno-prakticheskii zhurnal*. 2017;3:66. (In Russian). EDN: ZGIVYP.

11. Pischetsrieder M., Larisch B., Muller U., Severin T. Reaction of ascorbic acid with aliphatic amines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1995;43(12):3004-3006. DOI: 10.1021/jf00060a002.

12. Dikumar E.A., Kozlov N.G., Mel'nikhuk L.A. Salts of L-ascorbic acid with certain substituted amines and triphenylphosphine. *Chemistry of Natural Compounds*. 2004;40:406-407. DOI: 10.1023/B:CONC.0000048259.21776.2e.

13. Malinkina O.N., Provozina A.A., Shipovskaya A.B. Evaluation of the chemical interaction between chitosan hydrochloride and ascorbic acid by IR and NMR spectroscopy. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*. 2014;14(3):20-24. (In Russian). EDN: SXUADF.

14. Cherepanov I.S. Synthesis and antioxidative activity of D-glucose - p-aminoacetanilide condensation products. *Chemistry and Technology of Organic Substances*. 2020;3:71-78. (In Russian). DOI: 10.54468/25876724_2020_3_71. EDN: ZFCPUG.

15. Abraham J.P., Sajan D., Hubert Joe I., Jayakumar J.S. Molecular structure, spectroscopic studies and first-order molecular hyperpolarizabilities of p-aminoacetanilide.

Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2008;71(2):355-367. DOI: 10.1016/j.saa.2008.01.010.

16. Cherepanov I.S., Korepanova Ya.S. Behavior of N-glycosylaryldiamine antioxidants under oxidative stress conditions. *Technology and merchandising of the innovative foodstuff*. 2021;1:3-7. (In Russian). DOI: 10.33979/2219-8466-2021-66-1-3-7. EDN: VIONRL.

17. Pirniyazov K.K., Anvarova G.K., Rashidova S.Sh. Effect of synthesis conditions on the complexation of chitosan with ascorbic acid. *Proceedings of the RAS Ufa Scientific Centre*. 2018;3:72-74. (In Russian). EDN: XWQPKH.

18. Casian T., Reznec A., Vonica-Gligor A.L., Van Renterghem J., De Beer T., Tomuța I. Development, validation and comparison of near infrared and Raman spectroscopic methods for fast characterization of tablets with amlodipine and valsartan. *Talanta*. 2017;167:333-343. DOI: 10.1016/j.talanta.2017.01.092.

19. Dabbagh H.A., Azami F., Farokhpour H., Chermahini N. UV-Vis, NMR and FTIR spectra of tautomers of vitamin C. Experimental and DFT calculation. *Journal of the Chilean Chemical Society*. 2014;59(3):2248-2254. DOI: 10.4067/S0717-97072014000300013.

20. Ferrer E., Williams P., Baran E. Interaction of vanadyl (IV) cation with L-ascorbic acid and related system. *Zeitschrift für Naturforschung B*. 1998;53(2):256-262. DOI: 10.1515/znb-1998-0220.

21. Lohmann W., Pagel D., Penka V. Structure of ascorbic acid and its biological activity. Determination of the conformation of ascorbic acid and isoascorbic acid by infrared and ultraviolet investigation. *European Journal of Biochemistry*. 1984;138(3):479-480. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1984.tb07941.x.

22. Saleh T.A.-K., Al-Samarrai R.R.H., Abdul-Razzaq N.E. The antioxidant and antimicrobial activity for some new synthesized Schiff base derived from ascorbic acid. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2019;10(2):1510-1515. DOI: 10.26452/ijrps.v10i2.730.

23. Tajmir-Riahi H.A. Coordination chemistry of vitamin C. Part I. Interaction of L-ascorbic acid with alkaline earth metal ions in the crystalline solid and aqueous solution. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 1990;40(2):181-188. DOI: 10.1016/0162-0134(90)80051-x.

24. Onoda H., Inoue Y., Ezawa T., Murata I., Chantadee T., Limmatvapirat S., et al. Preparation and characterization of triamterene complex with ascorbic acid derivatives. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2020;46(12):2032-2040. DOI: 10.1080/03639045.2020.1842439.

25. Wang L., Choi W.M., Chung J.S., Hur S.H. Multicolor emitting N-doped carbon dots derived from ascorbic acid and phenylenediamine precursors. *Nanoscale Research Letters*. 2020;15:222. DOI: 10.1186/s11671-020-03453-3.

26. Wang P., Wang Y., Sun Y., Cao Z., Zhu W., Wang H. Thermal and spectroscopic studies of the thermal-oxidation stabilities of lubricants. *Journal of Applied Spectroscopy*. 2021;88:847-854. DOI: 10.1007/s10812-021-01249-6.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Черепанов Игорь Сергеевич,

к.х.н., доцент,
Удмуртский государственный университет,
426034, г. Ижевск, ул. Университетская, 1,
Российская Федерация,
✉ cherchem@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0880-5474>

Тарасова Дарья Александровна,

ассистент,
Удмуртский государственный университет,
426034, г. Ижевск, ул. Университетская, 1,
Российская Федерация,
dashatarasova20@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0005-4555-2196>

Егорова Алина Игоревна,

ассистент,
Удмуртский государственный университет,
426034, г. Ижевск, ул. Университетская, 1,
Российская Федерация,
ealiapril@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0002-6602-4008>

Вклад авторов

И.С. Черепанов – разработка концепции, разработка методологии, курирование данных, научное руководство, редактирование рукописи.
Д.А. Тарасова – проведение исследования, валидация результатов, получение финансирования.
А.И. Егорова – проведение исследования, визуализация, валидация результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 26.12.2024.
Одобрена после рецензирования 16.04.2025.
Принята к публикации 03.12.2025.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Igor S. Cherepanov,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Udmurt State University,
1, Universitetskaya St., Izhevsk, 426034,
Russian Federation,
✉ cherchem@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0880-5474>

Dar'ya A. Tarasova,

Assistant,
Udmurt State University,
1, Universitetskaya St., Izhevsk, 426034,
Russian Federation,
dashatarasova20@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0005-4555-2196>

Alina I. Egorova,

Assistant,
Udmurt State University,
1, Universitetskaya St., Izhevsk, 426034,
Russian Federation,
ealiapril@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0002-6602-4008>

Contribution of the authors

Igor S. Cherepanov – conceptualization, methodology, data curation, supervision, editing.
Dar'ya A. Tarasova – investigation, validation, funding acquisition.
Alina I. Egorova – investigation, visualization, validation.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 26.12.2024.
Approved after reviewing 16.04.2025.
Accepted for publication 03.12.2025.



Синтез несимметричных вторичных аминов и их антикоррозионная активность

**Е.С. Акимова, Р.М. Султанова✉, Р.У. Рабаев,
Ю.Г. Борисова, С.С. Злотский**

Уфимский государственный нефтяной технический университет, Уфа, Россия

Аннотация. Поиск новых ингибиторов коррозии является актуальным и важным направлением развития современной химической отрасли ввиду необходимости защиты металлических конструкций и оборудования от разрушительного воздействия агрессивных сред. Коррозия значительно снижает долговечность и надежность металлических изделий, что ведет к увеличению эксплуатационных расходов, повышает риск аварий и негативно сказывается на экологической безопасности, в связи с чем представляется актуальным синтез соединений с потенциально возможным антикоррозионным действием. С целью расширения рядов таких веществ при помощи конденсации циклических альдегидов и первичных аминов, а также восстановления продуктов конденсации получены вторичные амины. Строение синтезированных соединений подтверждено методами инфракрасной спектроскопии, спектроскопии ядерного магнитного резонанса (^1H , ^{13}C). В инфракрасных спектрах синтезированных азометинов наблюдаются характерные для иминов полосы поглощения валентных колебаний связей $\text{C}=\text{N}$ при $1650\text{--}1570\text{ см}^{-1}$. В спектрах ядерного магнитного резонанса ^1H протоны азометиновой группы резонируют в области $8,15\text{--}8,25\text{ м.д.}$, в спектрах ядерного магнитного резонанса ^{13}C атомы углерода иминной группы проявляются в области δ , $158,00\text{--}161,00\text{ м.д.}$ Способность полученных соединений препятствовать коррозии в модельной среде была проверена гравиметрическим методом. Оценка защитных свойств исследованных соединений проводилась электрохимическим методом. Результаты коррозионной активности полученных соединений соотносятся с данными, приведенными в библиографических источниках. Наиболее высокий результат показал вторичный амин 2-((2-((4-хлорбензил)амино)этил)амино)этан-1-ол, проявляющий антикоррозионные свойства в сероводородной среде и обеспечивающий степень защиты, равную 97%.

Ключевые слова: имины, основания Шиффа, восстановление, амины, конденсация

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке программы развития Уфимского государственного нефтяного технического университета «Приоритет-2030» (Лидерский проект 2025 года № Б17619).

Для цитирования: Акимова Е.С., Султанова Р.М., Рабаев Р.У., Борисова Ю.Г., Злотский С.С. Синтез несимметричных вторичных аминов и их антикоррозионная активность // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 456–464. DOI: 10.21285/achb.1000. EDN: FMPXDF.

CHEMICAL SCIENCES

Original article

Synthesis of asymmetric secondary amines and their anticorrosive properties

**Elisaveta S. Akimova, Rimma M. Sultanova✉, Ruslan U. Rabaev,
Yulianna G. Borisova, Semen S. Zlotsky**

Ufa State Petroleum Technological University, Ufa, Russian Federation

Abstract. Given the need to protect metal structures and equipment from the destructive effects of aggressive media, the search for new corrosion inhibitors constitutes a relevant and important area of development in the

modern chemical industry. Corrosion significantly reduces the durability and reliability of metal products, which increases maintenance costs and the risk of failures, while also negatively affecting environmental safety. Therefore, it is relevant to synthesize compounds with potential anticorrosive properties. In order to expand the range of such substances, secondary amines were obtained by condensing cyclic aldehydes and primary amines, as well as by reducing condensation products. The structure of the synthesized compounds was confirmed via infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance spectroscopy (^1H and ^{13}C). The infrared spectra of the synthesized azomethines reveal imine-characteristic $\text{C}=\text{N}$ stretch absorption bands at $1650\text{--}1570\text{ cm}^{-1}$. In the ^1H nuclear magnetic resonance spectra, the protons of the azomethine group resonate at $8.15\text{--}8.25\text{ ppm}$; the ^{13}C nuclear magnetic resonance spectra reveal the carbon atoms of the imine group at δ_c of $158.00\text{--}161.00\text{ ppm}$. The ability of the obtained compounds to inhibit corrosion in a model medium was tested using a gravimetric method. Their protective properties were evaluated using an electrochemical method. The properties of the obtained compounds are consistent with data presented in bibliographic sources. The best result was obtained for the secondary amine 2-((2-((4-chlorobenzyl)amino)ethyl)amino)ethan-1-ol, which exhibits anticorrosive properties in a hydrogen sulfide medium and provides a 97% protection level.

Keywords: imines, Schiff bases, reduction, amines, condensation

Funding. The work was carried out with the financial support of the development program of the Ufa State Petroleum Technological University "Priority 2030" (Leadership Project of 2025 no. B17619).

For citation: Akimova E.S., Sultanova R.M., Rabaev R.U., Borisova Yu.G., Zlotsky S.S. Synthesis of asymmetric secondary amines and their anticorrosive properties. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):456-464. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1000. EDN: FMPXDF.

ВВЕДЕНИЕ

Использование ингибиторов коррозии является одним из наиболее эффективных методов защиты металлических поверхностей от данного процесса, особенно в кислых средах [1, 2]. К наиболее эффективным ингибиторам коррозии относятся органические соединения, содержащие атомы азота, кислорода, серы и кратные связи в молекулах, которые облегчают адсорбцию на поверхности металла [3]. Следует отметить, что азотсодержащие соединения образуют менее токсичные продукты взаимодействия с коррозионной средой, поэтому они предпочтительнее для разработки и создания эффективных антикоррозионных присадок [4]. Среди азотсодержащих соединений высокую антикоррозионную активность проявляют замещенные имидазолины [5–7], амины различного строения [8–10], четвертичные аммониевые соли на основе аминов гетероциклического ряда [11], аминоктилэтаноламин, а также азометины, известные как поглотители сероводорода из нефтепродуктов и товарной нефти [12], и компоненты летучих ингибиторов коррозии [13].

Целью настоящей работы явился синтез азометинов на основе конденсации промышленных аминов (этилендиамина, (*N,N*-диметил)пропилендиамина, 3-(пиперазин-1-ил)пропан-1-амина, 2-((2-аминоэтил)амино)этан-1-ола, 2-аминоэтан-1-ола) с ароматическими и гетероароматическими альдегидами, их восстановление до вторичных аминов и изучение антикоррозионной активности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) ^1H и ^{13}C регистрировали на спектрометре Bruker Avance III HD 400 (Bruker, Германия) с рабочими частотами 400,15 и 100,63 МГц соответственно, внутренний стандарт – Me_4Si .

Инфракрасные (ИК) спектры регистрировали на приборе Shimadzu IR Prestige 21 (Shimadzu, Япония) в тонком слое. Ход реакций и чистоту соединений контролировали с помощью тонкослойной хроматографии на пластинках с силикагелем марки Sorbfil (Россия).

Растворители (бензол, гексан, метиловый спирт, этиловый спирт) очищали по стандартным методикам¹.

Получение оснований Шиффа (общая методика). К раствору альдегида **1a,b** (7 ммоль) в 35 мл бензола добавляли амин **2a–e** (7 ммоль) и катализатор КУ-2-8 20%, перемешивали при температуре $80\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 25–40 мин (в случае получения бис-иминов берется соотношение 1:2). После окончания реакции смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли 20 мл этилацетата, фильтровали для удаления катализатора, растворитель удаляли при пониженном давлении. В случае необходимости кристаллизовали из метилового спирта.

(E)-2-((4-хлорбензилиден)амино)этан-1-ол 3a. Выход 0,5 г, 50%, масло. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 1632, 1584 ($\text{C}=\text{N}$), 1082, 833 ($\text{C}-\text{Cl}$), 3622 ($\text{O}-\text{H}$). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , ppm (J, Hz): 3,78–3,75 м (2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3,94–3,92 м (2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 5,42 с (1H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 7,41 д (2H, C^2 , C^6 , C_6H_4 , J 8,46), 7,69 д (2H, C^3 , C^5 , C_6H_4 , J 8,47), 8,30 с (1H, $\text{CH}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , ppm: 62,3 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 63,2 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 128,9 (C^3 , C^5 , C_6H_4), 129,3 (C^2 , C^6 , C_6H_4), 134,3 (C^4 , C_6H_4), 136,8 (C^1 , C_6H_4), 161,7 ($\text{CH}=\text{N}$).

(E)-2-((пиридин-4-илметил)амино)этан-1-ол 3b. Выход 0,90 г, 90%, масло. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3062 ($\text{C}=\text{N}_{\text{py}}$), 1681, 1540 ($\text{C}=\text{N}$), 3321 ($\text{O}-\text{H}$). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , ppm (J, Hz): 2,70 с (1H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3,85–3,78 м (2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3,71–3,68 м (2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 7,42–7,40 м (2H, C^3 , C^5 , C_6H_4), 8,16 с (1H, $\text{CH}=\text{N}$), 8,48–8,47 м (2H, C^2 , C^6 , C_6H_4). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , ppm: 60,2 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 65,5 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 121,9 (C^3 , C^5 , C_6H_4), 142,8 (C^4 , C_6H_4), 149,4 (C^2 , C^6 , C_6H_4), 160,65 ($\text{CH}=\text{N}$).

¹Gordon A.J., Ford R.A. The chemist's companion: a handbook of practical data, techniques, and references. New York: John Wiley & Sons, 1973. 560 p.

(Е)-3-((4-хлорбензилиден)амино)-N,N-диметилпропан-1-амин **3c**. Выход 0,48 г, 48%, масло. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 1653, 1531 (C=N), 1113, 831 (C-Cl). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 1,90–1,83 м (2H, CH₂CH₂CH₂), 2,25 с (6H, N(CH₃)₂), 2,41–2,36 м (2H, CH₂CH₂CH₂), 3,63–3,60 м (2H, CH₂CH₂CH₂), 7,36 д (2H, C², C⁶, C₆H₄, J 8,46), 7,64 д (2H, C³, C⁵, C₆H₄), 8,22 с (1H, CH=N). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ , ppm: 28,5 (CH₂CH₂CH₂), 45,1 (N(CH₃)₂), 57,2 (CH₂CH₂CH₂), 59,3 (CH₂CH₂CH₂), 128,8 (C², C⁶, C₆H₄), 130,8 (C³, C⁵, C₆H₄), 134,7 (C⁴, C₆H₄), 136,4 (C¹, C₆H₄), 159,7 (CH=N).

(Е)-1-(4-хлорфенил)-N-(2-(пиперазин-1-ил)этил)метанимин **3d**. Выход 0,69 г, 69%, масло. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 1671, 1535 (C=N), 1085, 842 (C-Cl). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 1,96 с (1H, NH, C₄H₉N₂), 2,53 с (2H, C², C³, C⁵, C⁶, C₄H₉N₂), 2,70–2,64 м (4H, C², C³, C⁵, C⁶, C₄H₉N₂), 2,92–2,89 м (4H, C², C³, C⁵, C⁶, C₄H₉N₂), 3,77–3,63 м (2H, CH₂CH₂), 7,38–7,27 м (4H, C², C⁶, C₆H₄), 7,66–7,61 м (4H, C³, C⁵, C₆H₄), 8,25 с (1H, CH=N). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ , ppm: 45,9 (C³, C⁵, C₄H₉N₂), 54,5 (C², C⁶, C₄H₉N₂), 58,9 (CH₂CH₂), 59,3 (CH₂CH₂), 128,3 (C², C⁶, C₆H₄), 128,8 (C³, C⁵, C₆H₄), 134,6 (C⁴, C₆H₄), 136,5 (C¹, C₆H₄), 160,5 (CH=N).

(Е)-2-(((4-хлорбензилиден)амино)метил)аминоэтан-1-ол **3e**. Выход 0,85 г, 85%, масло. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 1648, 1583 (C=N), 1032, 845, 820 (C-Cl), 3398 (N-H), 3632, 3320 (O-H). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 2,94–2,71 м (4H, CH₂CH₂), 3,14 с (2H, CH₂CH₂), 3,76–3,63 м (4H, NHCH₂CH₂OH), 7,29 д (2H, C², C⁶, C₆H₄, J 2,05), 7,63 д (2H, C³, C⁵, C₆H₄, J 1,71), 8,17 с (1H, CH=N), 8,28 с (2H, NHCH₂CH₂OH). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ , ppm: 52,5 (CH₂CH₂), 52,8 (NHCH₂CH₂-OH), 60,8 (CH₂CH₂), 65,3 (NHCH₂CH₂-OH), 128,92 (C² и C⁶, C₆H₄), 129,2 (C³, C⁵, C₆H₄), 136,6 (C⁴, C₆H₄), 138,3 (C¹, C₆H₄), 160,7 (CH=N).

(Е)-N,N-диметил-3-((пиридин-4-илметил)амино)пропан-1-амин **3f**. Выход 0,59 г, 80%, масло. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3073, 3040 (C=N_{py}), 1648, 1589 (C=N). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 1,56–1,49 м (2H, CH₂CH₂CH₂), 1,87 с (6H, N(CH₃)₂), 2,02–1,98 м (2H, CH₂CH₂CH₂), 3,34–3,31 м (2H, CH₂CH₂CH₂), 7,24 д (2H, C³, C⁵, C₆H₄, J 4,62), 7,90 с (1H, CH=N), 8,32 д (2H, C², C⁶, C₆H₄, J 4,58). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ , ppm: 28,2 (CH₂CH₂CH₂), 45,0 (N(CH₃)₂), 56,9 (CH₂CH₂CH₂), 59,1 (CH₂CH₂CH₂), 121,7 (C³, C⁵, C₆H₄), 142,7 (C⁴, C₆H₄), 149,9 (C², C⁶, C₆H₄), 158,7 (CH=N).

(Е)-N-(2-(пиперазин-1-ил)этил)-1-(пиридин-4-ил)метанимин **3g**. Выход 0,49 г, 66%, масло. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3060, 3023 (C=N_{py}), 1683, 1541 (C=N). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 1,88 с (1H, NH, C₄H₉N₂), 2,50–2,36 м (2H, CH=N-CH₂CH₂-N), 2,72–2,65 м (8H, C², C³, C⁵, C⁶, C₄H₉N₂), 3,81–3,73 м (2H, CH=N-CH₂CH₂-N), 7,56 д.д (4H, C², C³, C⁵, C⁶, C₆H₄, ²J 11,48, ³J 5,82), 8,67 д (2H, CH=N, J 5,78). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ , ppm: 46,0 (C³, C⁵, C₄H₉N₂), 54,8 (C², C⁶, C₄H₉N₂), 58,5 (CH=N-CH₂CH₂-N), 59,4 (CH=N-CH₂CH₂-N), 121,8 (C², C⁶, C₆H₄), 142,8 (C⁴, C₆H₄), 150,3 (C³, C⁵, C₆H₄), 159,9 (CH=N).

(Е)-2-((2-((пиридин-4-илметил)амино)этил)амино)этан-1-ол **3h**. Выход 0,56 г, 80%, масло. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3076, 3031 (C=N_{py}), 1649, 1587 (C=N), 3315 (N-H), 3625 (O-H). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 2,66–2,53 м (2H, NHCH₂CH₂-OH), 2,84–2,81 м (2H, CH₂CH₂), 3,97–3,92 м (3H, CH₂CH₂), 4,09 с (NHCH₂CH₂-OH), 7,28 д (2H, C³, C⁵, C₆H₄, J 5,89), 8,15 с (1H, CH=N), 8,40 д (2H, C², C⁶, C₆H₄, J 3,66). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ , ppm: 49,3 (CH₂CH₂),

52,8 (NHCH₂CH₂-OH), 59,6 (CH₂CH₂), 60,5 (NHCH₂CH₂-OH), 121,7 (C³, C⁵, C₆H₄), 142,7 (C⁴, C₆H₄), 150,1 (C², C⁶, C₆H₄), 160,1 (CH=N).

(¹E,¹'E)-N,N'-(этан-1,2-диил)бис(1-(4-хлорфенил)метанимин) **3i**. Выход 0,46 г, 92%, белые блестящие кристаллы. Т.пл. 149–150 °С. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 1647, 1594 (C=N), 1082, 835, 818 (C-Cl). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 3,97 с (4H, CH=N-CH₂CH₂-N=CH), 7,28 с (2H, C², C⁶, C₆H₄), 7,38–7,35 м (2H, C², C⁶, C₆H₄), 7,65–7,62 м (4H, C³, C⁵, C₆H₄), 8,24 с (2H, CH=N). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ , ppm: 61,4 (CH=N-CH₂CH₂-N=CH), 128,8 (C², C⁶, C₆H₄), 129,2 (C³, C⁵, C₆H₄), 134,5 (C⁴, C₆H₄), 136,6 (C¹, C₆H₄), 161,3 (CH=N).

(¹E,¹'E)-N,N'-(этан-1,2-диил)бис(1-(пиридин-4-ил)метанимин) **3j**. Выход 0,34 г, 91%, светло-коричневый порошок. Т.пл. 128–130 °С. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3076, 3040 (C=N_{py}), 1649, 1599, 1558 (C=N). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 4,05 с (4H, CH=N-CH₂CH₂-N=CH), 7,61–7,55 м (4H, C³, C⁵, C₆H₄), 8,28 с (2H, CH=N), 8,71–8,67 м (4H, C², C⁶, C₆H₄). Спектр ЯМР ¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ , ppm: 61,2 (CH=N-CH₂CH₂-N=CH), 121,8 (C³, C⁵, C₆H₄), 142,6 (C⁴, C₆H₄), 150,4 (C², C⁶, C₆H₄), 160,8 (CH=N).

Восстановление оснований Шиффа (общая методика). К раствору имина **3a–j** (10 ммоль) в 30 мл бензола добавляли заранее приготовленный раствор NaBH₄ (20 ммоль) в ледяной уксусной кислоте (60 ммоль) и 10 мл бензола. Смесь перемешивали в течение 6 ч при комнатной температуре и оставляли на ночь. Далее к получившейся смеси приливали 50 мл раствора NaOH 20%. Органический слой отделяли, сушили MgSO₄. Растворитель упаривали, твердый остаток перекристаллизовывали из этанола.

2-((4-хлорбензил)амино)этан-1-ол **4a**. Выход 0,5 г, 50%, масло. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3622 (O-H), 3348 (N-H), 1082, 832 (C-Cl). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 2,07 с (2H, CH₂NHCH₂CH₂OH), 2,76 с (2H, CH₂CH₂OH), 3,62 с (2H, CH₂NH), 3,86 с (2H, CH₂CH₂OH), 7,27–7,21 м (2H, C³, C⁵, C₆H₄), 7,29 д (2H, C², C⁶, C₆H₄, J 8,25). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ , ppm: 50,3 (CH₂CH₂OH), 57,7 (CH₂NH), 61,08 (CH₂CH₂OH), 129,8 (C³N, C⁵, C₆H₄), 131,0 (C², C⁶, C₆H₄), 134,6 (C¹, C₆H₄), 137,1 (C⁴, C₆H₄).

2-((пиридин-4-илметил)амино)этан-1-ол **4b**. Выход 0,5 г, 33%, масло. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3382 (N-H), 3321 (O-H), 3068, 3091 (C=N_{py}). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 3,75–3,66 м (4H, CH₂CH₂OH), 3,88 с (2H, CH₂NH), 5,95 с (2H, CH₂NH), 7,34–7,28 м (2H, C³, C⁵, C₆H₄), 8,53 д.д (2H, C², C⁶, C₆H₄, ²J 5,49, ³J 4,30). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ , ppm: 50,4 (CH₂CH₂OH), 51,7 (CH₂NH), 59,5 (CH₂CH₂OH), 123,7 (C³, C⁵, C₆H₄), 148,4 (C⁴, C₆H₄), 149,5 (C², C⁶, C₆H₄).

N¹-(4-хлорбензил)-N³,N³-диметилпропан-1,3-диамин **4c**. Выход 1,2 г, 39%, масло. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3443 (N-H), 1110, 838 (C-Cl). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 1,84 с (6H, CH₂NHCH₂CH₂N(CH₃)₂), 1,98–1,93 м (4H, CH₂CH₂CH₂), 2,51–2,46 т (2H, CH₂CH₂CH₂, J 21,91), 2,87–2,79 м (2H, CH₂NH), 3,37 с (1H, CH₂NH), 7,27–7,11 м (4H, C², C³, C⁵, C⁶, C₆H₄). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ , ppm: 22,0 (CH₂CH₂CH₂), 42,7 (N(CH₃)₂), 44,4 (CH₂CH₂CH₂), 50,4 (CH₂NH), 54,9 (CH₂CH₂CH₂), 128,9 (C³, C⁵, C₆H₄), 131,1 (C², C⁶, C₆H₄), 132,6 (C¹, C₆H₄), 137,4 (C⁴, C₆H₄).

N-(4-хлорбензил)-3-(пиперазин-1-ил)пропан-1-амин **4d**. Выход 2 г, 80%, масло. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3329 (N-H), 1081, 854 (C-Cl). Спектр ЯМР ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ , ppm (J, Hz): 2,67–2,26 м (8H, C², C³, C⁵, C⁶, C₄H₉N₂), 2,90 с (1H, NH,

$C_4H_9N_2$), 3,43–3,36 м (2H, $CH_2NHCH_2CH_2N$), 3,73–3,66 м (2H, $CH_2NHCH_2CH_2N$), 4,50 с (2H, $CH_2NHCH_2CH_2N$), 7,39–7,13 м (4H, C^2 , C^3 , C^5 , C^6 , C_6H_4), 8,68 с (1H, $CH_2NHCH_2CH_2N$). Спектр ЯМР ^{13}C (125 МГц, $CDCl_3$), δ , ppm: 44,4 (C^3 , C^5 , $C_4H_9N_2$), 50,6 ($CH_2NHCH_2CH_2N$), 52,6 (C^2 , C^6 , $C_4H_9N_2$), 52,9 ($CH_2NHCH_2CH_2N$), 53,3 ($CH_2NHCH_2CH_2N$), 128,2 (C^2 , C^6 , C_6H_4), 130,4 (C^3 , C^5 , C_6H_4), 132,7 (C^4 , C_6H_4), 136,4 (C^1 , C_6H_5).

2-((2-(4-хлорбензил)амино)этил)амино)этан-1-ол **4е**. Выход 1 г, 44%, масло. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3340 (N-H), 3627, 3327 (O-H), 3412 (N-H), 1035, 831, 825 (C-Cl). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$), δ , ppm (J , Hz): 2,86–2,73 м (6H, $CH_2NHCH_2CH_2$), 3,58–3,50 м (2H, $NHCH_2CH_2OH$), 3,77–3,61 м (2H, $CH_2NHCH_2CH_2$), 4,39 с (3H, $CH_2NHCH_2CH_2N$), 7,36–7,22 м (4H, C^2 , C^3 , C^5 , C^6 , C_6H_4). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$), δ , ppm: 50,2 ($CH_2NHCH_2CH_2$), 51,4 ($CH_2NHCH_2CH_2$), 52,6 ($CH_2NHCH_2CH_2$), 53,1 ($CH_2NHCH_2CH_2$), 61,2 ($NHCH_2CH_2OH$), 128,9 (C^3 , C^5 , C_6H_4), 130,2 (C^2 , C^6 , C_6H_4), 132,9 (C^1 , C_6H_4), 137,6 (C^4 , C_6H_4).

N^1, N^1 -диметил- N^3 -(пиридин-4-илметил)пропан-1,3-диамин **4ф**. Выход 0,9 г, 47%, масло. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3431 (N-H), 3072, 3044 ($C=N_{py}$). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$), δ , ppm (J , Hz): 1,47–1,42 м (2H, $CH_2CH_2CH_2$), 1,67–1,58 м (6H, $N(CH_3)_2$), 1,83–1,78 м (2H, $CH_2CH_2CH_2$), 2,11–2,06 м (2H, $CH_2CH_2CH_2$), 3,21 д (2H, CH_2NH , J 6,57), 4,07 с (1H, CH_2NH), 6,77–6,71 м (2H, C^3 , C^5 , C_6H_4), 8,01–7,94 м (2H, C^2 , C^6 , C_5H_4). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$), δ , ppm: 27,1 ($CH_2CH_2CH_2$), 44,7 ($N(CH_3)_2$), 47,3 ($CH_2CH_2CH_2$), 52,0 (CH_2NH), 57,2 ($CH_2CH_2CH_2$), 122, 4 (C^3 , C^5 , C_5H_4), 148,0 (C^4 , C_5H_4), 149,1 (C^2 , C^6 , C_6H_4).

2-(пиперазин-1-ил)- N -(пиридин-4-илметил)этан-1-амин **4г**. Выход 1,5 г, 68%, масло. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3411 (N-H), 3061, 3041 ($C=N_{py}$). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$), δ , ppm (J , Hz): 2,04 с (2H, $CH_2NHCH_2CH_2N$), 2,34–2,19 м (4H, C^3 , C^5 , $C_4H_9N_2$), 2,50–2,47 м (2H, $CH_2NHCH_2CH_2N$), 2,67–2,65 м (2H, C^2 , $C_4H_9N_2$), 3,34–3,28 м (2H, C^6 , $C_4H_9N_2$), 3,62 с (2H, $CH_2NHCH_2CH_2N$), 6,53 с (2H, $CH_2NHCH_2CH_2N$, NH , $C_4H_9N_2$), 7,14–7,07 м (2H, C^3 , C^5 , C_5H_4), 8,40–8,32 м (2H, C^2 , C^6 , C_6H_4). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$), δ , ppm: 45,9 (C^3 , C^5 , $C_4H_9N_2$), 48,2 ($CH_2NHCH_2CH_2N$), 52,4 (C^2 , C^6 , $C_4H_9N_2$), 53,0 ($CH_2NHCH_2CH_2N$), 54,5 ($CH_2NHCH_2CH_2N$), 122,7 (C^2 , C^6 , C_5H_4), 147,48 (C^4 , C_5H_4), 149,7 (C^3 , C^5 , C_6H_4).

2-((2-(4-илметил)амино)этил)амино)этан-1-ол **4н**. Выход 0,8 г, 41%, масло. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3629 (O-H), 3397 (N-H), 3061, 3310 (N-H), 3078 ($C=N_{py}$). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$), δ , ppm (J , Hz): 2,58–2,46 м (4H, CH_2CH_2), 2,71–2,63 м (2H, $NHCH_2CH_2OH$), 3,48–3,41 м (2H, $CH_2NHCH_2CH_2OH$), 3,89 с (2H, CH_2NH), 7,19 д (1H, J 5,79, C^2 , C_5H_4), 7,46 д (1H, J 5,94, C^6 , C_5H_4), 8,06 с (3H, $CH_2NHCH_2CH_2NHCH_2CH_2OH$), 8,59 д.д (2H, C^2 , C^6 , C_6H_4 , 2J 46,93, 3J 5,94). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$), δ , ppm: 51,0 (CH_2CH_2), 51,1 (CH_2CH_2), 54,6 ($NHCH_2CH_2OH$), 55,7 (CH_2NH), 59,7 ($NHCH_2CH_2OH$), 123,4 (C^3 , C^5 , C_5H_4), 148,3 (C^4 , C_6H_4), 149,0 (C^2 , C^6 , C_5H_4).

N^1, N^2 -бис(4-хлорфенил)этан-1,2-диамин **4и**. Выход 1 г, 32%, белый кристаллический порошок. Т.пл. 123–125 °С. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 1082, 835, 818 (C-Cl). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$), δ , ppm (J , Hz): 1,60 с (2H, $CH_2NHCH_2CH_2NHCH_2$), 2,54–2,44 м (4H, $CH_2NHCH_2CH_2NHCH_2$), 3,22–3,11 м (4H, $CH_2NHCH_2CH_2NHCH_2$), 7,25 д.д (4H, C^3 , C^5 , C_6H_4 , 2J 28,32, 3J 8,34), 7,56 д.д (4H, C^2 , C^6 , C_6H_4 , 2J 67,20, 3J 8,35). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$), δ , ppm: 50,6 ($CH_2NHCH_2CH_2NHCH_2$), 56,1 ($CH_2NHCH_2CH_2NHCH_2$), 128,3 (C^3 , C^5 , C_6H_4), 129,7 (C^2 , C^6 , C_6H_4), 132,6 (C^1 , C_6H_4), 137,4 (C^4 , C_6H_4).

N^1, N^2 -бис(пиридин-4-илметил)этан-1,2-диамин **4ж**. Выход 1 г, 42%, желтое масло. ИК-спектр, ν , cm^{-1} : 3263 (N-H), 3076, 3038 (C-N). Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$), δ , ppm (J , Hz): 2,63 с (2H, $CH_2NHCH_2CH_2NHCH_2$), 2,70 с (4H, $CH_2NHCH_2CH_2NHCH_2$), 3,75 д (4H, $CH_2NHCH_2CH_2NHCH_2$, J 4,72), 7,21–7,12 м (4H, C^3 , C^5 , C_5H_4), 8,61–8,41 м (4H, C^2 , C^6 , C_5H_4). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$), δ , ppm: 48,3 ($CH_2NHCH_2CH_2NHCH_2$), 55,8 ($CH_2NHCH_2CH_2NHCH_2$), 123,3 (C^3 , C^5 , C_5H_4), 147,6 (C^4 , C_5H_4), 149,8 (C^2 , C^6 , C_5H_4).

Методика определения антикоррозионной активности веществ в сероводородсодержащей среде. Для оценки способности веществ препятствовать коррозии применялся электрохимический метод исследования. Электрохимический анализ осуществлялся с использованием анализатора скорости коррозии «Монитор-2М» (УГНТУ, Россия). Устройство состоит из двух электродов, изготовленных из стали Ст3. Перед началом экспериментов поверхность стальных электродов обрабатывалась шлифовальной бумагой с зернистостью 180, а затем 240, при этом шлифовка осуществлялась вдоль длины электродов. Очистка подготовленных образцов от жировых загрязнений проводилась ацетоном непосредственно перед началом испытания. После этого электроды подвергали активации посредством многоступенчатой промывки. Изучаемое вещество (0,25 мл) растворялось в 25 мл этилового спирта. Лабораторные цилиндрические ячейки наполнялись определенным количеством 3%-го раствора хлорида натрия и насыщались азотом в течение 30 мин. После продувки в раствор добавляли рассчитанный объем сероводородной воды и 1,25 мл раствора исследуемого вещества в спирте. Затем электроды погружались в электрохимическую ячейку, предварительно заполненную исследуемой средой, и измерялась скорость коррозии в течение 60 мин. Для обеспечения точности результатов проводились одновременные испытания в двух ячейках с идентичной средой, а затем вычислялось среднее арифметическое значение скоростей коррозии.

Степень защиты от коррозии Z определяли по формуле

$$Z = \frac{n_0 - T_1}{n_0} \times 100\%,$$

где n_0 – скорость коррозии без ингибитора, мм/год; T_1 – скорость коррозии с ингибитором, мм/год.

Коэффициент торможения I определяли по формуле

$$I = \frac{n_0}{T_1},$$

где n_0 – скорость коррозии без ингибитора, мм/год; T_1 – скорость коррозии с ингибитором, мм/год.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что для синтеза азометинов в качестве катализаторов используются пара-толуолсульфокислота [14] и ледяная уксусная кислота [15], которые способствуют протонированию атома кислорода карбонильной группы, что облегчает образование иминной связи, а также ацетат калия [16] как щелочной катализатор. При использовании «зеленого растворителя» – полипропиленгликоля, применение катализатора не требуется [17]. Как правило, синтез протекает от 1 до 24 ч, выход целевого продукта составляет 90–98%.

В данной работе в качестве катализатора был выбран промышленно доступный КУ-2-8, позволяющий осуществлять реакции в мягких условиях.

Конденсацией альдегидов **1a,b** с моно- и диаминами (2-аминоэтан-1-ол **2a**, (*N,N*-диметил)пропилендиамин **2b**, 3-(пиперазин-1-ил)пропан-1-амин **2c**, 2-((2-аминоэтил)амино)этан-1-ол **2d**, этилендиамин **2e**) при кипячении в бензоле в присутствии КУ-2-8 в течение 25–45 мин были получены азометины **3a–j** с выходами 48–92%. Конденсация альдегидов **1a,b** с этилендиамином **2e** привела к образованию бис-иминов **3i,j** (рис. 1).

Строение полученных соединений **3a–j** подтверждено данными ^1H , ^{13}C ИК- и ЯМР-спектроскопии. В ИК-спектрах полученных азометинов **3i–j** наблюдаются характерные для иминов полосы поглощения валентных колебаний связей $\text{C}=\text{N}$ при 1650–1570 cm^{-1} . В спектрах ЯМР ^1H протоны азометиновой группы ($\text{CH}=\text{N}$) резонируют в области 8,15–8,25 м.д., в спектрах ЯМР ^{13}C атомы углерода иминной группы проявляются в области δ_c 158–161 м.д.

Полученные основания Шиффа **3a–h** были восстановлены до соответствующих вторичных аминов **4a–h** NaBH_4 в присутствии ледяной уксусной кислоты с выходами 30–80%. Реакция протекала при комнатной температуре в бензоле за 6 ч (рис. 2).

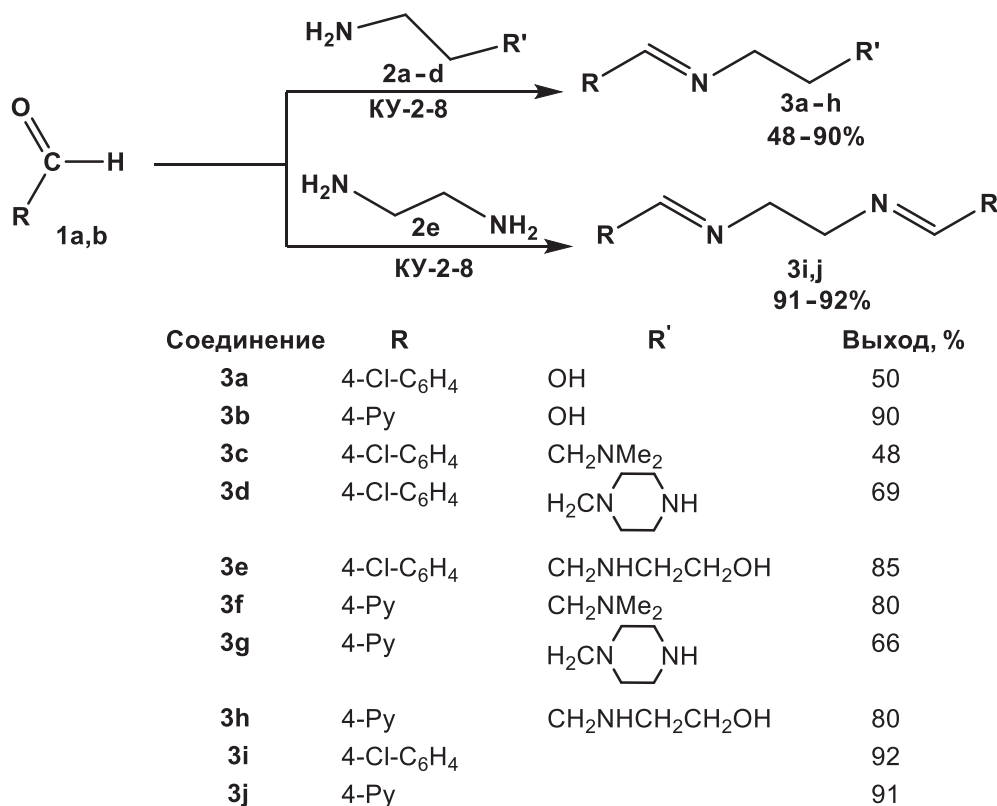
Восстановление бис-иминов в выбранных условиях протекало по обоим связям $\text{C}=\text{N}$, соответствующие диамины **4i,j** были выделены с выходами 30–42%.

Строение полученных соединений **4a–h** подтверждено данными ^1H , ^{13}C ИК- и ЯМР-спектроскопии. В ИК-спектрах вторичных аминов **4a–h** появляются сигналы поглощения в области 3300–3400 cm^{-1} , характерные для связи NH . В спектрах ЯМР ^1H появляются уширенные синглеты, характерные для связи NH , а в спектрах ЯМР ^{13}C присутствуют сигналы атомов углерода, связанные с аминогруппой $\text{CH}_2\text{-NH}$, в области ~45–53 м.д.

В рамках исследования нами была оценена способность полученных соединений **3a–h** и **4a–i** препятствовать коррозии в модельной среде, насыщенной сероводородом и содержащей сильные активаторы коррозионного процесса. В растворе хлорида натрия данной концентрации (3%) наблюдается максимальная активность синтезированных соединений.

Оценка защитных свойств исследованных соединений проводилась электрохимическим методом. В этом случае эффективность защиты оценивают коэффициентом торможения, показывающим, во сколько раз ингибитор замедляет скорость коррозии, или степенью защиты, характеризующей полноту защиты [18]. В таблице представлены значения степени защиты исследуемых соединений.

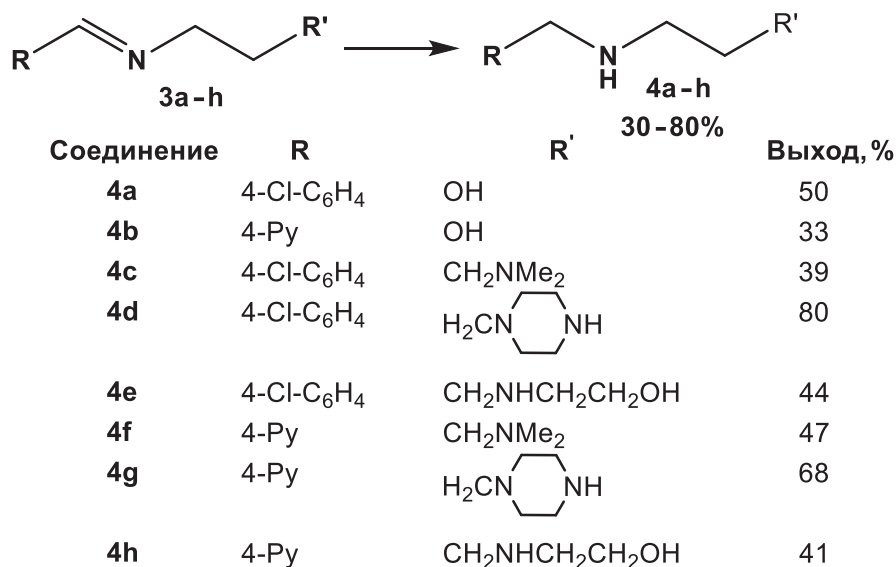
Наилучшие результаты по защите от коррозии показало соединение **4e**, обеспечившее 97% защиты (коэффициент торможения 30,05). Азометины **3a–h** продемонстрировали защитные свойства в диапазоне от 38 до 68% (коэффициент торможения 1,61–3,09). При этом



Условия реакции: бензол, КУ-2-8, 25–40 мин

Рис. 1. Синтез снований Шиффа

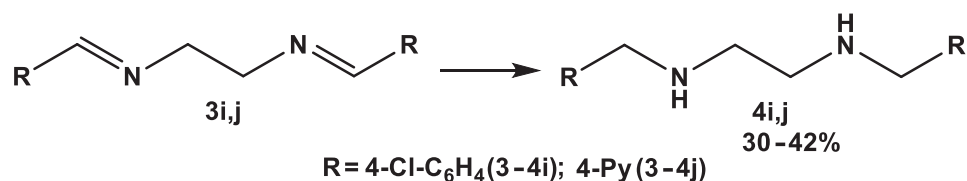
Fig. 1. Schiff base synthesis



Условия реакции: бензол, CH₃COOH, NaBH₄, 6 ч, T = 25 °C

Рис. 2. Восстановление иминов 3a–h

Fig. 2. Reduction of imines 3a–h



Условия реакции: бензол, CH₃COOH, NaBH₄, 18 ч, T = 25 °C

Рис. 3. Восстановление бис-иминов

Fig. 3. Reduction of bis-imines

Значения степени защиты и коэффициент торможения веществ 3a–h и 4a–i в сероводородсодержащей среде

Values of the protection degree and braking coefficient of substances 3a–h and 4a–i in a hydrogen sulfide containing medium

Номер соединения	Скорость коррозии, мм/год	Степень защиты, %	Коэффициент торможения	pKa*
3a	0,206	60	2,5	14,710
3b	0,196	62	2,6	14,580
3d	0,317	38	1,6	3,777
3e	0,165	68	3,1	9,049
3f	0,179	65	2,8	9,981
3g	0,189	63	2,7	3,613
3h	0,182	64	2,8	8,885
4a	0,056	89	9,1	14,744
4c	0,123	76	4,1	9,570
4d	0,086	83	5,9	9,193
4e	0,017	97	30,0	14,777
4i	0,115	78	4,6	9,160
Без ингибитора	0,511	–	–	–

Примечание. * – данные взяты из базы данных CAS SciFinder.

вторичные амины **4a-i** оказались более эффективными – их степень защиты варьировалась от 76 до 97%. Более низкие значения защитных свойств иминов связаны, по-видимому, с меньшей адсорбцией на поверхности металла. Полученные результаты хорошо коррелируют с данными, приведенными в библиографических источниках, свидетельствующими о том, что эффективность ингибирования коррозии стали основаниями Шиффа снижается с повышением температуры и увеличением продолжительности контакта и соответствует механизму физической адсорбции [19] и что основные амины, имеющие высокое значение рКа, лучше подавляют коррозию [20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенной работы предложен метод синтеза вторичных аминов, основанный на восстановлении азометинов боргидридом натрия в присутствии ледяной уксусной кислоты.

Исследована способность полученных соединений **3a-h** и **4a-i** препятствовать коррозии в модельной среде, насыщенной сероводородом. Установлено, что наибольшей антикоррозионной активностью обладают преимущественно вторичные амины. Определено, что соединение 2-((2-((4-хлорбензил)амино)этил)амино)этан-1-ол проявляет антикоррозионные свойства в сероводородной среде и обеспечивает степень защиты, равную 97%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sastry V.S. Corrosion Inhibitors. Principles and applications. New York: John Wiley & Sons, 1998. 903 p.
2. Bouayed M., Rabaa H., Srhiri A., Saillard J.-Y., Ben Bachir A., Le Beuze A. Experimental and theoretical study of organic corrosion inhibitors on iron in acidic medium // Corrosion Science. 1998. Vol. 41, no. 3. P. 501–517. DOI: 10.1016/S0010-938X(98)00133-4.
3. Bentiss F., Lagrenee M., Traisnel M., Hornez J.C. Bentiss F. et al. The corrosion inhibition of mild steel in acidic media by a new triazole derivative // Corrosion Science. 1999. Vol. 41, no. 4. P. 789–803. DOI: 10.1016/S0010-938X(98)00153-X.
4. Mandal S., Singh J.K., Lee D.-E., Park T. Ammonium phosphate as inhibitor to mitigate the corrosion of steel rebar in chloride contaminated concrete pore solution // Molecules. 2020. Vol. 25, no. 17. P. 3785. DOI: 10.3390/molecules25173785.
5. Фахретдинов П.С., Голубев И.Ю., Хамидуллин Р.Ф., Романов Г.В. Новые имидазолиновые соединения на основе оксиэтилированных алкилфенолов – ингибиторы кислотной коррозии // Вестник Казанского технологического университета. 2010. N 1. С. 280–287. EDN: KYTEHZ.
6. Cruz J., Martínez R., Genesca J., García-Ochoa E. Experimental and theoretical study of 1-(2-ethylamino)-2-methylimidazoline as an inhibitor of carbon steel corrosion in acid media // Journal of Electroanalytical Chemistry. 2004. Vol. 566, no. 1. P. 111–121. DOI: 10.1016/j.jelechem.2003.11.018.
7. Исмаилов О.Д. Исследование причин коррозии нефтепромыслового оборудования и разработка ингибиторов-бактерицидов на основе имидазолинов // SOCAR Proceedings. 2019. Т. 4. С. 61–66. DOI: 10.5510/OGP20190400412. EDN: ISHLJZ.
8. Finšgar M., Jackson J. Application of corrosion inhibitors for steels in acidic media for the oil and gas industry: a review // Corrosion Science. 2014. Vol. 86. P. 17–41. DOI: 10.1016/j.corsci.2014.04.044.
9. Goncharova O.A., Luchkin A.Yu., Kuznetsov Yu.I., Andreev N.N., Andreeva N.P., Vesely S.S. Octadecylamine, 1,2,3-benzotriazole and a mixture thereof as chamber inhibitors of steel corrosion // International Journal of Corrosion and Scale Inhibition. 2018. Vol. 7, no. 2. P. 203–212. DOI: 10.17675/2305-6894-2018-7-2-7.
10. Шатинова М.И., Авдеев Я.Г., Джафарова У.Ш. Замещенные пропаргиламины – ингибиторы кислотной коррозии сталей для нефтедобычи // Журнал прикладной химии. 2021. Т. 94. N 8. С. 1040–1049. EDN: VAVZEV. DOI: 10.31857/S0044461821080107.
11. Ившин Я.В., Угрюмов О.В., Варнавская О.А. Ингибиторы коррозии на основе гетероциклических аминов. 1. Влияние структуры молекулы на защитные свойства // Вестник технологического университета. 2015. Т. 18. N 2. С. 77–80. EDN: TJLSUR.
12. Мумриков М.В., Цыпышев О.Ю., Сапожников Ю.Е., Лаптев А.Б., Бугай Д.Е. Поглотители сероводорода на основе азометиновых соединений // Башкирский химический журнал. 2012. Т. 19. N 1. С. 195–198. EDN: OYEYUT.
13. Кузнецов Ю.И., Агафонкин А.В., Зель О.О. Летучие ингибиторы атмосферной коррозии металлов на основе азометинов // Коррозия: материалы, защита. 2009. N 4. С. 17–23. EDN: KXJCCR.
14. Das S., Das V.K., Saikia L., Thakur A.J. Environment-friendly and solvent-free synthesis of symmetrical bis-imines under microwave irradiation // Green Chemistry Letters and Reviews. 2012. Vol. 5, no. 3. P. 457–474. DOI: 10.1080/17518253.2012.667443.
15. Al-Lami A.K. Preparation and mesomorphic characterization of supramolecular hydrogen-bonded dimer liquid crystals // Polycyclic Aromatic Compounds. 2016. Vol. 36, no. 3. P. 197–212. DOI: 10.1080/10406638.2014.957408.
16. Liang Z.-P., Li J. Synthesis and structural characterization of (2E,3E)-N¹,N²-Bis(4-chlorobenzylidene)ethane-1,2-diamine // Asian Journal of Chemistry. 2013. Vol. 25, no. 2. P. 663–665. DOI: 10.14233/ajchem.2013.12108b.
17. Van den Ancker T.R., Cave G.W.V., Raston C.L. Benign approaches for the synthesis of bis-imine Schiff bases // Green Chemistry. 2006. Vol. 8, no. 1. P. 50–53. DOI: 10.1039/b513289d.
18. Краснопёрова М.В. Изучение влияния некоторых аминов на коррозионное поведение стали // Молодой ученый. 2009. N 12. С. 113–116. EDN: LMUXPK.
19. Мехдиева Л.А., Мамедова П.Ш., Бабаев Э.Р. Применение оснований Шиффа в качестве ингибиторов коррозии // Вестник КНИИ РАН. Серия «Естественные и технические науки». 2023. Т. 3. С. 38–48. DOI: 10.34824/VKNIIRAN.2023.14.3.004. EDN: OOVTYF.
20. Гончарова О.А., Андреев Н.Н., Мамонов В.А. Об эффективности некоторых ЛИК в условиях интенсивной конденсации влаги. // Коррозия: защита материалов и методы исследований. 2023. N 3. С. 77–87. DOI: 10.61852/2949-3412-2023-1-3-77-87. EDN: PAZOGN.

REFERENCES

1. Sastry V.S. *Corrosion Inhibitors. Principles and applications*. New York: John Wiley & Sons; 1998, 903 p.
2. Bouayed M., Rabaa H., Srhiri A., Saillard J.-Y., Ben Bachir A., Le Beuze A. Experimental and theoretical study of organic corrosion inhibitors on iron in acidic medium. *Corrosion Science*. 1998;41(3):501-517. DOI: 10.1016/S0010-938X(98)00133-4.
3. Bentiss F., Lagrene M., Traisnel M., Hornez J.C. Bentiss F. et al. The corrosion inhibition of mild steel in acidic media by a new triazole derivative. *Corrosion Science*. 1999;41(4):789-803. DOI: 10.1016/S0010-938X(98)00153-X.
4. Mandal S., Singh J.K., Lee D.-E., Park T. Ammonium phosphate as inhibitor to mitigate the corrosion of steel rebar in chloride contaminated concrete pore solution. *Molecules*. 2020;25(17):3785. DOI: 10.3390/molecules25173785.
5. Fakhretdinov P.S., Golubev I.Yu., Khamidullin R.F., Romanov G.V. New imidazolinium compounds based on oxyethylated alkylphenols – acid corrosion inhibitors. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*. 2010;1:280-287. (In Russian). EDN: KYTEHZ.
6. Cruz J., Martínez R., Genesca J., García-Ochoa E. Experimental and theoretical study of 1-(2-ethylamino)-2-methylimidazoline as an inhibitor of carbon steel corrosion in acid media. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2004;566(1):111-121. DOI: 10.1016/j.jelechem.2003.11.018.
7. Ismailov O.D. The investigation of corrosion causes of oilfield equipment and development of biocide-inhibitors on the basis imidazolines. *SOCAR Proceedings*. 2019;4:61-66. (In Russian). DOI: 10.5510/OGP20190400412. EDN: ISHLJZ.
8. Finšgar M., Jackson J. Application of corrosion inhibitors for steels in acidic media for the oil and gas industry: a review. *Corrosion Science*. 2014;86:17-41. DOI: 10.1016/j.corsci.2014.04.044.
9. Goncharova O.A., Luchkin A.Yu., Kuznetsov Yu.I., Andreev N.N., Andreeva N.P., Vesely S.S. Octadecylamine, 1,2,3-benzotriazole and a mixture thereof as chamber inhibitors of steel corrosion. *International Journal of Corrosion and Scale Inhibition*. 2018;7(2):203-212. DOI: 10.17675/2305-6894-2018-7-2-7.
10. Shatirova M.I., Avdeev Y.G., Dzhafarova U.S. Substituted propargylamines-acid corrosion inhibitors for steel in petroleum industry. *Zhurnal prikladnoi khimii*. 2021;94(8):1040-1049. EDN: VAVZEV. DOI: 10.31857/S0044461821080107.
11. Ivshin Ya.V., Ugriumov O.V., Varnavskaya O.A. Corrosion inhibitors based on heterocyclic amines. 1. The effect of the molecule structure on protective properties. *Herald of Technological University*. 2015;18(2):77-80. (In Russian). EDN: TJLSUR.
12. Mumrikov M.V., Tsypyshev O.Yu., Sapozhnikov Yu.E., Laptev A.B., Bugay D.E. Hydrogen sulfide scavengers based on azomethine compounds. *Bashkir Chemical Journal*. 2012;19(1):195-198. (In Russian). EDN: OYEYTY.
13. Kuznetsov Yu.I., Agafonkin A.V., Zel O.O. Volatile inhibitors of atmospheric corrosion of metals based on azomethines. *Korroziya: materialy, zashchita*. 2009;4:17-23. (In Russian). EDN: KXJCXR.
14. Das S., Das V.K., Saikia L., Thakur A.J. Environment-friendly and solvent-free synthesis of symmetrical bis-imines under microwave irradiation. *Green Chemistry Letters and Reviews*. 2012;5(3):457-474. DOI: 10.1080/17518253.2012.667443.
15. Al-Lami A.K. Preparation and mesomorphic characterization of supramolecular hydrogen-bonded dimer liquid crystals. *Polycyclic Aromatic Compounds*. 2016;36(3):197-212. DOI: 10.1080/10406638.2014.957408.
16. Liang Z.-P., Li J. Synthesis and structural characterization of (2E,3E)-N¹,N²-Bis(4-chlorobenzylidene)ethane-1,2-diamine. *Asian Journal of Chemistry*. 2013;25(2):663-665. DOI: 10.14233/ajchem.2013.12108b.
17. Van den Ancker T.R., Cave G.W.V., Raston C.L. Benign approaches for the synthesis of bis-imine Schiff bases. *Green Chemistry*. 2006;8(1):50-53. DOI: 10.1039/b513289d.
18. Krasnoperova M.V. Study of the amines effect on the corrosion behavior of steel. *Molodoi uchenyi*. 2009;12:113-116. (In Russian). EDN: LMUXPK.
19. Mehdiyeva L.A., Mammadova P.Sh., Babayev E.R. Application of Schiff bases as a corrosion inhibitors. *Bulletin of the Research Institute of the Russian Academy of Sciences. The series "Natural and Technical Sciences"*. 2023;3:38-48. (In Russian). DOI: 10.34824/VKNIIRAN.2023.14.3.004. EDN: OOVTYF.
20. Goncharova O.A., Andreev N.N., Mamonov V.A. The effectiveness of some volatile corrosion inhibitors in conditions of intense condensation of moisture. *Korroziya: zashchita materialov i metody issledovaniy*. 2023;3:77-87. (In Russian). DOI: 10.61852/2949-3412-2023-1-3-77-87. EDN: PAZOGN.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Акимова Елизавета Сергеевна,
аспирант,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
elizaveta_a@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0002-4439-2440>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Elisaveta S. Akimova,
Postgraduate Student.
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450064,
Russian Federation,
elizaveta_a@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0002-4439-2440>

Султанова Римма Марсельевна,
д.х.н., профессор, профессор,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
✉ rimmams@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6719-2359>

Рабаев Руслан Уралович,
к.т.н., доцент,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
nauka_ugntu@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8673-5240>

Борисова Юлианна Геннадьевна,
к.х.н., доцент,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
yulianna_borisova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6452-9454>

Злотский Семён Соломонович,
д.х.н., профессор, заведующий кафедрой,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
nocturne@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6365-5010>

Вклад авторов

Е.С. Акимова – проведение исследования,
написание черновика рукописи.
Р.М. Султанова – научное руководство,
разработка методологии,
редактирование рукописи.
Р.У. Рабаев – курирование данных.
Ю.Г. Борисова – курирование данных.
С.С. Злотский – научное руководство,
курирование данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 31.05.2025.
Одобрена после рецензирования 04.10.2025.
Принята к публикации 20.10.2025.

Rimma M. Sultanova,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Professor,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450064,
Russian Federation,
✉ rimmams@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6719-2359>

Ruslan U. Rabaev,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450064,
Russian Federation,
nauka_ugntu@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8673-5240>

Yulianna G. Borisova,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450064,
Russian Federation,
yulianna_borisova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6452-9454>

Semen S. Zlotskii,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Head of the Department,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450064,
Russian Federation,
nocturne@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6365-5010>

Contribution of the authors

Elisaveta S. Akimova – investigation,
writing – original draft.
Rimma M. Sultanova – supervision,
methodology, editing.
Ruslan U. Rabaev – data curation.
Yulianna G. Borisova – data curation.
Semen S. Zlotsky – supervision,
data curation.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests
regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 31.05.2025.
Approved after reviewing 04.10.2025.
Accepted for publication 20.10.2025.



Биотехнологический потенциал холодоактивных ферментов в промышленности: обзор последних достижений

Д.Д. Белова✉, Н.Ю. Шарова

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок –
филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Аннотация. Психрофильные/психротрофные микроорганизмы широко распространены по всему миру и встречаются в глубинах морей, озер и океанов, ледниках, полярных регионах, льдах Арктики, вершинах горных массивов, пещерах. Они способны выживать в холодном климате и экспрессируют адаптированные к холоду ферменты, наделенные уникальными каталитическими свойствами по сравнению с их мезофильными и термофильными аналогами. Холодоактивные ферменты обладают более высокой каталитической активностью при низких температурах, термолабильностью и структурной гибкостью активных центров. Благодаря данным характеристикам эти ферменты становятся все более привлекательными для промышленного применения, поскольку они могут снизить энергетические затраты на проведение реакции, сократить количество побочных реакций и достаточно просто инактивируются. Кроме того, повышенная структурная гибкость может привести к широкой субстратной специфичности, что расширяет сферу их применения. Из-за относительной простоты крупномасштабного производства по сравнению с ферментами растительного и животного происхождения коммерческое использование микробных ферментов становится все более привлекательным. Рынок ферментов стремительно развивается. Холодоактивные ферменты могут использоваться в различных биотехнологических и промышленных процессах, включая молекулярную биологию, биотрансформацию, производство моющих средств, продуктов питания и напитков, текстильную промышленность, очистку сточных вод, производство биоцеллюлозы, биоремедиацию окружающей среды в холодном климате и др. Генетически модифицированные штаммы, продуцирующие определенные виды холодоактивных ферментов, представляют особый интерес для различных биотехнологических процессов. В данной статье представлен обзор нескольких последних работ в области получения холодоактивных ферментов микробного происхождения и их применения.

Ключевые слова: холодоактивные ферменты, психрофильные микроорганизмы, аргиназы, лактазы, ксиланазы, протеазы, липазы, амилазы

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Всероссийского научно-исследовательского института пищевых добавок – филиала ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН» по теме FGUS-2022-0003.

Для цитирования: Белова Д.Д., Шарова Н.Ю. Биотехнологический потенциал холодоактивных ферментов в промышленности: обзор последних достижений // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 465–475. DOI: 10.21285/achb.1004. EDN: AEBKRQ.

Biotechnological potential of cold-active enzymes in industry: A review of recent progress

Daria D. Belova✉, Natalya Yu. Sharova

All-Russian Research Institute of Food Additives – a branch of the Federal Scientific Center for Food Systems named after V.M. Gorbatov, Russian Academy of Science, Saint Petersburg, Russian Federation

Abstract. Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms are widespread throughout the world and found in the depths of seas, lakes, and oceans, as well as in glaciers, polar regions, Arctic ice, caves, and on mountain peaks. Unlike their mesophilic and thermophilic counterparts, these microorganisms can survive in cold climates by expressing cold-adapted enzymes that have unique catalytic properties. Cold-active enzymes exhibit higher catalytic activity at low temperatures, structural flexibility of active sites, and thermolability. Due to the specified characteristics, these enzymes are becoming increasingly attractive for industrial use, as they can lower the energy costs of the reaction, decrease the number of side reactions, and are relatively easy to inactivate. In addition, increased structural flexibility can lead to broad substrate specificity, which expands their scope of application. Due to the relative simplicity of large-scale production (as compared to that of plant and animal enzymes), microbial enzymes are becoming increasingly attractive for commercial use, which contributes to the rapid development of the enzyme market. Cold-active enzymes can be used in various biotechnological and industrial processes: molecular biology, biotransformation, detergent production, food and beverage production, the textile industry, wastewater treatment, biocellulose production, environmental bioremediation in cold climates, etc. Of particular interest for various biotechnological processes are genetically modified strains producing certain types of cold-active enzymes. This article provides a review of several recent studies on the production of cold-active microbial enzymes and their application.

Keywords: cold-active enzymes, psychrophilic microorganisms, arginases, lactases, xylanases, proteases, lipases, amylases

Funding. The work was carried out within the framework of the state assignment of the All-Russian Research Institute of Food Additives – a branch of the Federal Scientific Center for Food Systems named after V.M. Gorbatov, Russian Academy of Science (topic FGUS-2022-0003).

For citation: Belova D.D., Sharova N.Yu. Biotechnological potential of cold-active enzymes in industry: A review of recent progress. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):465-475. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1004. EDN: AEBKRQ.

ВВЕДЕНИЕ

Холодные среды представляют собой большую часть биосферы Земли и включают в себя глубоководные моря, океаны, озера, ледники, горные вершины, арктические и высокогорные почвы, пещеры и др. Микроорганизмы (бактерии, археи, простейшие, одноклеточные водоросли и грибы), населяющие эти среды обитания, в процессе своего существования выработали несколько физиологических и молекулярных механизмов, чтобы приспособиться для жизни в данных условиях. Среди микроорганизмов, способных к росту при низких температурах, выделяют психрофилов (холодолюбивые микроорганизмы, которые развиваются при температуре около 15 °C и ниже) и психротрофов (холодоустойчивые микроорганизмы, которые выживают при температурах ниже 0 °C, но оптимально растут при 20–25 °C) [1–3]. Все внутриклеточные компоненты психрофильных бактерий организованы таким образом, что могут функционировать при низких температурах, а белки-антифризы помогают избежать образования кристаллов льда. Длительный процесс адаптации микро-

организмов к новым условиям существования влечет за собой изменения в геноме, которые, в свою очередь, приводят к продуцированию ферментов, активных при низких температурах [4–6].

Холодоактивные ферменты обладают высокой каталитической активностью при температурах ниже 25 °C и часто более термолабильны по сравнению с их мезофильными и термофильными аналогами. Эти свойства не только предотвращают реакции распада соединений при более высоких температурах, но и обеспечивают мягкий способ их селективной термической инактивации из-за низкой термической стабильности, что особенно важно для процессов с термолабильными субстратами или продуктами. Кроме того, способность холодоактивных ферментов катализировать реакции при низких температурах помогает снизить воздействие на окружающую среду и энергопотребление процесса по сравнению с ферментами, адаптированными к высоким температурам [1, 7–9]. Холодоактивные ферменты сохраняют свою каталитическую активность в органических растворителях, поскольку имеют плотную гидратную обо-

лочку. Также среди них встречаются солеустойчивые ферменты [10].

Способность психрофильных ферментов проявлять каталитическую активность при низких температурах обусловлена их структурной гибкостью. Третичная структура каждого белка характеризуется сочетанием элементов вторичной структуры (α -спиралей, β -тяжей), а также гибких участков полипептидной цепи, называемых петлями. Гибкие участки имеют решающее значение для распознавания макромолекулярных взаимодействий и изменения кинетики связывания и сродства [4, 11]. Также на структурную гибкость белка оказывают влияние особый аминокислотный состав (низкое содержание пролина, аргинина и повышенное содержание глицина), ослабление внутримолекулярных связей (водородных связей, ароматических, электростатических и солевых мостиков), уменьшение компактности гидрофобного ядра, увеличение количества гидрофобных боковых цепей, подверженных воздействию растворителя, более длинные и гидрофильные петли и снижение сродства к связыванию металлов [1, 10, 12]. У некоторых холодоактивных ферментов четвертичная структура образована меньшим количеством протомеров (т.е. более низким состоянием олигомеризации) по сравнению с мезофильными и термофильными аналогами [13]. Однако в других случаях было обнаружено, что более высокое состояние олигомеризации способствует гибкости и активности при низких температурах [14–16]. Холодовая активность не подразумевает наличия всех этих механизмов, достаточно одного или нескольких из них, отобранных в процессе эволюции [10, 12].

Благодаря своим свойствам холодоактивные ферменты востребованы во многих отраслях пищевой, текстильной, фармацевтической и медицинской промышленности, находят применение при производстве моющих средств, в процессах биоремедиации, молекулярной биологии и др. [1, 4, 7, 17]

На протяжении последних нескольких десятилетий предметом исследований научных сообществ являлись ферменты, проявляющие активность при низких температурах. Эти ферменты обладают значительным технологическим потенциалом и могут найти применение в различных биотехнологических процессах. Целью данного обзора является анализ недавних работ по выделению холодоактивных ферментов микробного происхождения и изучению областей их применения.

АРГИНАЗЫ

Аргиназы являются важными ферментами в регуляции метаболизма аргинина, выработке оксида азота и опосредовании сигнальных путей, участвующих в цикле мочевины. Кроме того, регуляция и экспрессия L-аргиназы связаны со многими патологическими заболеваниями, включая заболевания сердечно-сосудистой, центральной нервной системы, почек, иммунной системы, а также рак. L-аргиназы (L-аргинин-амидиногидролаза, КФ 3.5.3.1) катализируют гидролиз L-аргинина до L-орнитина и мочевины. Этот катализ необходим в цикле образования мочевины для удаления токсичного аммиака и пролиферации клеток во всех живых организмах [18–20].

В работе [21] описана холодоактивная аргиназа (GaArg), синтезируемая психрофильными дрожжами *Glaciozyma antarctica* PI12, выделенными на территории

Антарктиды. GaArg является первой зарегистрированной аргиназой, которая активна при низких температурах, чему способствуют ее уникальные структурные характеристики. Данный фермент катализирует гидролиз L-аргинина при 20 °C и pH 9,0, что на 10–15 °C ниже, чем у других известных мезофильных аргиназ. GaArg в 2–3 раза выше по сродству к субстрату и каталитической эффективности, хотя и с аналогичным оптимумом pH и предпочтениями ионов металлов (кроме K⁺) по сравнению с другими известными аргиназами. Это первый зарегистрированный случай, когда K⁺ служит в качестве ионов металла для аргиназы. GaArg имеет общую трехмерную структурную модель, схожую с другими известными аргиназами, но состоит преимущественно из более мелких и незаряженных аминокислот, а также имеет меньшее количество внутримолекулярных взаимодействий, что может обеспечивать повышение его общей структурной гибкости и способствовать адаптации к низким температурам.

ЛАКТАЗЫ

β -Галактозидаза (КФ 3.2.1.23), более известная как лактаза, представляет собой гликозидгидролазу, которая гидролизует β -гликозидные связи β -галактозидов с образованием молекул глюкозы и галактозы. Основное применение β -галактозидазы в молочной промышленности заключается в гидролизе лактозы в молоке для получения безлактозной продукции, предназначенной для питания людей с непереносимостью лактозы. Другое применение β -галактозидазы заключается в переносе лактозы и моносахаридов в ряд галактоолигосахаридов, которые являются функциональными галактозилированными продуктами [22]. Адаптированная к холоду β -галактозидаза является важным пищевым ферментом, который гидролизует лактозу в молоке при низких температурах. Кроме того, отходы сырной промышленности, например сыворотка, преобразуются в более легко ферментируемую глюкозу и галактозу адаптированной к холоду β -галактозидазой [23].

М. Манджагалли и М. Лотти [1] рассмотрели классификацию, структуру, молекулярные механизмы адаптации к холоду и биотехнологическое применение холодоактивных β -галактозидаз. Данные авторы также представили их практическое применение при производстве безлактозных молочных продуктов и синтез гликозильных компонентов из молочной сыворотки для пищевой, косметической и фармацевтической промышленности.

Большинство известных β -галактозидаз представляют собой рекомбинантные ферменты, полученные путем гетерологической экспрессии, а не выделенные из природных источников. β -Галактозидаза (BgaPw) из психрофильной бактерии *Paenibacillus wynnii*, полученная рекомбинантным путем в *Escherichia coli*, представлена в работе [24]. Частично очищенный фермент имеет оптимум pH 7,0, температурный максимум 40 °C, высокую стабильность при 8 °C и период полураспада 77 дней. В сравнительном исследовании на молоке лактоза была полностью гидролизована β -галактозидазой (BgaPw) за 72 ч при температуре 8 °C, в то время как две другие известные β -галактозидазы были менее эффективны и гидролизировали только около 90% лактозы за тот же период времени.

Авторы работы [25] изучали способность штаммов бактерий, выделенных из образцов почвы и донных отложений Антарктического полуострова, продуцировать холодоактивные β -галактозидазы. Скрининг выявил 81 из 304 штаммов с активностью β -галактозидазы. Наибольшую активность показал штамм *Rahnella inusitata*, который продуцировал β -галактозидазу, активную при низких температурах (4–15 °C). Данный фермент обладал более высокой эффективностью по сравнению с коммерческим ферментом из *Aspergillus oryzae*.

Ген фосфо- β -галактозидазы (BsGal1332) был клонирован из *Bacillus velezensis* SW5 и успешно экспрессирован в *Escherichia coli* BL21(DE3). На основании гомологии последовательностей BsGal1332 был отнесен к классу GH1 и продемонстрировал высокую гидролазную активность по отношению к лактозе с трансгликозилирующей активностью при низкой температуре [26].

Бактерия *Alteromonas* sp. ML52, выделенная из глубоководных морских вод, синтезирует внутриклеточную β -галактозидазу (Gal), адаптированную к холоду. Ген β -галактозидазы из штамма ML52 был клонирован и экспрессирован в *Escherichia coli*. Рекомбинантный фермент проявлял максимальную активность при 35 °C и pH 8,0. Анализ гидролиза лактозы, проведенный с использованием молока, показал, что более 90% лактозы в молоке было гидролизировано после инкубации в течение 5 ч при 25 °C или 24 ч при 4 и 10 °C. Данные характеристики предполагают, что Gal может быть полезна при производстве безлактозного молока в молочной промышленности [22].

КСИЛАЗЫ

Ксиланазы катализируют гидролиз ксилана – основного компонента гемицеллюлозы в клеточных стенках растений. В зависимости от происхождения структура ксилана может существенно различаться. Ксиланазы используются в различных промышленных и биотехнологических процессах, включая молекулярную биологию, медицину, производство продуктов питания, напитков, моющих средств, текстиля [27]. Ксиланазы обладают высоким потенциалом в целлюлозно-бумажной промышленности. Они взаимодействуют с ксиланом в древесине, разрушая связи лигнин – углеводов, тем самым улучшая качество бумаги при использовании в процессах биопульпирования и биоотбеливания [23, 28].

β -1,3-Ксиланазы (КФ 3.2.1.32) – гидролитические ферменты, которые действуют на гидролиз β -1,3-ксилана. Они являются одними из важнейших гидролитических ферментов для получения олигосахаридов в качестве функциональных продуктов питания из морских водорослей. Ч.-В. Цай и др. [29] идентифицировали β -1,3-ксиланазу (Xyl512) из глубоководной бактерии *Flammeovirga pacifica* WPAGA1 и охарактеризовали ее биохимические свойства. Психрофильные и галофильные свойства фермента соответствуют требованиям пищевой промышленности к низкой температуре и высокой концентрации соли.

Эндо- β -1,4-ксиланазы (КФ 3.2.1.8) способны гидролизовать гликозидную связь арабиноксиланов пшеницы и изменять их физико-химические свойства, тем самым улучшая свойства рафинированного пшеничного хлеба за счет уменьшения размера молекул и водоудерживающей способности некрахмальных полисахаридов,

присутствующих в пшеничной муке. Кроме того, пребиотические ксилоолигосахариды, образующиеся при ферментативном гидролизе ксилана, также могут принести потенциальную пользу для здоровья. В работе [30] идентифицирована ксиланаз семейства гликозид-гидролаз 8 из миксобактерии *Sorangium cellulosum*. Полученная ксиланаз проявляла наибольшую активность при 50 °C, однако и при 4 °C частично сохраняла ее, также она показала широкую субстратную специфичность и стабильность pH. Добавление ксиланазы в низкой дозировке (0,05–0,20 мг/кг муки) улучшило удельный объем и текстуру хлеба, и эффект был лучше, чем у коммерческого мезофильного фермента.

С.М. Малик с соавторами [31] изучали способность грибов *Penicillium canescens* (BPF4), *Truncatella angustata* (BPF5) и *Pseudogymnoascus roseus* (BPF6) продуцировать внеклеточные ксиланазы при низкой температуре. Наибольшее количество ксиланазы продуцировал гриб *T. angustata* в процессе глубокой ферментации при 20 °C, pH 4,5 и 9,0.

ПРОТЕАЗЫ

Протеазы (протеиназы или пептидазы) представляют собой класс гидролаз (КФ 3.4.21), расщепляющих пептидные цепи в белках. Протеазы относятся к многофункциональным ферментам, на долю которых приходится около 60% всего рынка ферментов, и широко используются в пищевой, фармацевтической, кожевенной, биотехнологической отраслях промышленности, при производстве моющих средств и переработке отходов [32].

Бактерии рода *Bacillus* способны продуцировать большое количество внеклеточных сериновых протеаз и являются основным источником почти всех сериновых щелочных протеаз, используемых в моющих средствах.

Психротрофная бактерия *Bacillus pumilus* B01, выделенная из почвы ледника в Гималаях, продуцирует холодоактивную сериновую щелочную протеазу Apr B01. Очищенная протеаза показала максимальную удельную активность (37,02 ед/мг) при 20 °C с казеином в качестве субстрата и сохраняла активность в диапазоне температур 5–35 °C и pH 6,0–12,0 с оптимальной температурой 20 °C при pH 9,0. Также она была более устойчива к органическим растворителям, поверхностно-активным веществам, ионам металлов и восстановителям, чем большинство щелочных протеаз [33].

Авторами работы [34] из образцов почвы озера Вулар (Кашмир, Южная Азия) выделена психротрофная бактерия *Bacillus subtilis* WLCP1, продуцирующая холодоактивную алкофильную протеазу. Оптимальное значение pH очищенной протеазы составило 10,0, также она была стабильна при pH 7,0–11,0. Оптимальная температура фермента составила 15 °C. Очищенная протеаза из *Bacillus subtilis* WLCP1 совместно с моющим средством улучшила удаление пятен при 15 °C, что делает ее перспективной в качестве добавки к моющему средству для холодной стирки из-за ее способности работать в алкофильных диапазонах pH и низкой температуре.

Холодоактивная внеклеточная протеаза была выделена из морской бактерии *Planococcus* sp. M7 [35]. Фермент проявлял щелочную мезофильную активность при оптимальном значении pH 10,0 и температуре 35 °C. Также он сохранял свою активность при температуре от 5 °C до 35 °C и был устойчив к многократному

замораживанию и оттаиванию, но полностью инактивировался при температуре 55 °С. Активность фермента увеличивалась на 17,5% в присутствии Fe^{3+} и на 6,3% – в присутствии Ca^{2+} . Протеаза также показала хорошую стабильность и совместимость со стандартными моющими средствами, не содержащими ферментов, что указывает на возможность ее использования при разработке моющих средств.

В статье [36] сообщается о протеазе, синтезируемой психротрофным бактериальным штаммом *Chryseobacterium polytrichastri* ERM1:04. Полученная протеаза была активна в широком диапазоне температур 5–65 °С (оптимум при 37 °С) и pH 6,0–10,0 (оптимум при pH 8,0), ингибировалась ЭДТА и 1,10-фенантролином, активировалась Ca^{2+} , Mn^{2+} , гексаном и сохраняла свою активность с поверхностно-активными веществами и моющими средствами. Гидролиз соевого белка протеазой ERM1:04 позволял получить пептиды, обладающие антиоксидантными свойствами.

Авторы работы [37] идентифицировали протеазу (Pro21717), активную при низких температурах, из психрофильной бактерии *Pseudoalteromonas arctica* RAMC 21717 и определили кристаллическую структуру ее каталитического домена с разрешением 1,4 Å. Структурные различия, обнаруженные в Pro21717-CD, включая длину петли активного центра и размер субстратного кармана, указывают на более широкий сайт связывания субстрата. Данные особенности могут способствовать уменьшению конформационных изменений, необходимых для формирования промежуточного комплекса ацил – фермент, тем самым способствуя снижению оптимальной температуры и энергии активации катализируемой реакции.

В процессе скрининга бактериальных штаммов, выделенных из почвы предгорья ледника в холмах Ларсеманн (Восточная Антарктида), на способность продуцировать ферменты, активные при низких температурах, был выбран штамм *Psychrobacter* sp. 94-6PB. С помощью сравнительного анализа геномов *Psychrobacter* была идентифицирована кодирующая последовательность внеклеточной сериновой протеазы, амплифицированная с помощью полимеразной цепной реакции в штамме 94-6PB и экспрессированная в *Escherichia coli*. Очищенный фермент (80 кДа) оказался щелочной протеазой, которая наиболее активна при температурах 20–30 °С и pH 7,0–9,0. Полученный фермент стабилен в присутствии обычных ингибиторов (β -меркаптоэтанола, дитиотреитола, мочевины, фенилметилсульфонилфторида и ЭДТА) и совместим с моющими средствами и поверхностно-активными веществами (Tween 20, Tween 80, перекись водорода и Triton X-100). Благодаря этим свойствам протеаза P94-6PB может быть полезна для получения новых видов стиральных порошков для холодной стирки, а также в других областях промышленности [38].

ЛИПАЗЫ

Липазы (КФ 3.1.1.3) являются широко распространенными ферментами, которые катализируют гидролиз длинноцепочечных триацилглицеринов до жирных кислот и глицерина [39]. Липазы являются эффективными биокатализаторами в реакциях этерификации, переэтерификации, алкоголиза, ацидолиза, аминоллиза, а также гидролизуют

органические карбонаты, благодаря чему находят применение в пищевой, нефтехимической, косметической, фармацевтической, текстильной отраслях промышленности, при производстве моющих средств, очистке сточных вод, дублении и производстве биодизеля [40, 41].

После успешного применения протеаз липазы также были включены в состав стиральных порошков. Во время стирки липазы адсорбируются на поверхности ткани, а затем гидролизуют масляные пятна, присутствующие на ней. Липазы, совместимые с моющими средствами, должны быть стабильны в щелочной среде, растворимы в воде, обладать низкой субстратной специфичностью, устойчивы к поверхностно-активным веществам и действию протеаз, входящих в состав моющих средств. В работе С. Сахай, Д. Чухан [42] получены липазы из психротрофных грибковых изолятов *Penicillium canescens* BPF4 и *Pseudogymnoascus roseus* BPF6. Липазы BPF4 и BPF6 показали максимальную активность при pH 11,0 и 9,0 соответственно и при 40 °С. Остаточная активность при 20 °С и 4 °С липазы BPF4 составила 35 и 20%, а липазы BPF6 – 70 и 20% соответственно. Оба фермента оказались стабильны при 4, 20 и 40 °С в течение 2 ч, теряя не более 20% активности. Наличие ионов Ca^{2+} способствовало увеличению их каталитической активности почти в 3 раза, однако они ингибировались под действием NaClO_3 и H_2O_2 . После 1 ч инкубации в выбранных марках моющих средств (Tide, Ariel, Wheel и Surf Excel) обе липазы сохраняли 90% своей каталитической активности, что указывает на их потенциал для включения в состав моющих средств.

Низкомолекулярная (27 кДа) щелочная (pH 9,0) холодоактивная (20 °С) липаза из *Acinetobacter radioresistens* PR8 представлена в работе [43]. Основываясь на активирующей липазу роли ионов Mn^{2+} и Na^+ , оптимальной температуре, pH, отсутствии хромогенных субстратов и индикаторных красителей, был разработан новый метод зимографии для определения липазы.

В результате скрининга штаммов бактерий, выделенных из образцов глубоководных отложений, идентифицирован штамм *Pseudomonas marinensis* gcc21. В геноме штамма gcc21 выявлены два новых гена, кодирующих холодоактивные липазы (липаза 1 и липаза 2). Гены, кодирующие липазу 1 и липазу 2, были амплифицированы с помощью полимеразной цепной реакции и вставлены в сайты рестрикции экспрессионной плазмиды pET-28a (+). Липаза 1 была клонирована в pET-28a (+) с помощью эндонуклеаз рестрикции *EcoR* I и *Xho* I, а липаза 2 была клонирована в pET-28a (+) с помощью эндонуклеаз рестрикции *Hind* III и *Bam* HI соответственно. Обе липазы проявляли наибольшую активность при 4 °С. Однако каталитическая активность липазы 2 была выше, чем у липазы 1, при различных тестируемых значениях pH и температуры. Кроме того, липаза 2 была более стабильной, чем липаза 1, при обработке различными ионами металлов, детергентами, потенциальными ингибиторами и органическими растворителями [8].

Холодоактивная щелочная липаза, полученная с помощью бактериального изолята *Pseudomonas* sp. A6, выделенного из образцов морской воды Средиземного моря (Александрии, Египет), представлена в работе [44]. Очищенная липаза с молекулярной массой 65 кДа проявляла максимальную активность 23,36 У/мл при pH 8,0, температуре 10 °С и среде следующего компонентного

состава, г/л: пептон – 7,14; соевое масло – 7,5% (об/об.); K_2HPO_4 – 0,4; $MgSO_4$ – 0,1; глюкоза – 2.

В работе [45] представлена характеристика холодо-активной липазы психротрофной бактерии *Psychrobacter cryohalolentis* K5T, обладающей высокой активностью при низких температурах и широкой субстратной специфичностью. Эти свойства Lip1Pc представляют значительный интерес для биотехнологического применения. Фермент проявлял максимальную липолитическую активность при 25 °C и pH 8,0 с использованием р-нитрофенилдодеканата в качестве субстрата. Повышение температуры выше 40 °C, добавление различных ионов металлов и органических растворителей подавляло ферментативную активность Lip1Pc. Большинство неионных детергентов, таких как Triton X-100 и Tween-20, увеличивало активность липазы, в то время как додецилсульфат натрия полностью ингибировал ее.

Д.А. Русакова с соавторами [46] изучали экстремные и психротолерантные штаммы бактерий рода *Pseudomonas*. Исследуемые штаммы представляют научный и практический интерес благодаря проявлению ферментативной активности к нескольким субстратам одновременно при разных температурах (4 и 25 °C), а также способности продуцировать холодоактивную липазу, пектиназу и протеазу. Выделенные штаммы отличались высокой фосфат-солюбилизирующей активностью как при 4, так и при 25 °C.

АМИЛАЗЫ

Амилазы – это внеклеточные ферменты, которые гидролизуют крахмал до олигосахаридов и глюкозы. Например, α -амилазы (КФ 3.2.1.1) относятся к классу гидролаз, которые случайным образом расщепляют 1,4- α -D-глюкозидные связи между соседними глюкозными звеньями в линейной амилазной цепи крахмала. Амилазы являются одними из важнейших промышленных ферментов, используемых в пищевой, текстильной, бумажной и биотехнологической областях. Промышленные методы переработки крахмала требуют интенсивного потребления энергии, и поэтому необходимо разрабатывать более энергоэффективные процессы [47]. Использование амилазы для гидролиза крахмала приводит к снижению потребления энергии по сравнению с традиционными физико-химическими процессами. Коммерческий интерес к амилазам постоянно растет, так как продукты гидролиза крахмала используются для производства сиропа глюкозы, различных напитков, текстиля, биоэтанола и моющих средств [48–50].

Холодоактивные амилазы представляют интерес для целого ряда промышленных процессов, таких как производство моющих средств для холодной стирки,

биоремедиация, осахаривание крахмала, производство биотоплива, для пищевой, текстильной, спиртовой, бумажной, фармацевтической промышленности и молекулярной биологии.

Холодоактивная α -амилаза из штамма *Bacillus cereus* RGUS2023 описана в работе [51]. Выделенный фермент показал максимальную активность с 2%-м раствором крахмала при 28 °C и pH 6,5 после 30 мин инкубации и был стабилен при комнатной температуре (30 °C) в течение длительного периода времени. Активность фермента увеличивалась в присутствии ионов Mn^{2+} , Mg^{2+} и Sn^{2+} и ингибировалась в присутствии Pb^{2+} и Cu^{2+} .

Н. Арабачи и Б. Арикан в своей работе [52] представили холодоактивную щелочную α -амилазу, синтезируемую *Bacillus subtilis* N8 при 15 °C и pH 10,0 на агаровых пластинах, содержащих крахмал. Полученный фермент проявлял наибольшую активность при 25 °C и pH 8,0, также был высокостабилен в щелочной среде (pH 8,0–12,0) и сохранял 96% своей исходной активности при низких температурах (10–40 °C) в течение 24 ч. Активность амилазы увеличивалась в присутствии β -меркаптоэтанола (103%) и ингибировалась под действием ионов Ba^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ , Zn^{2+} , Mn^{2+} , H_2O_2 и Triton X-100. Фермент показал устойчивость к некоторым денатурирующим веществам, таким как SDS, ЭДТА и мочевины (52, 65 и 42% соответственно). α -Амилаза N8 показала максимальную остаточную активность 56% с 3% NaCl. Полученная холодоактивная α -амилаза перспективна для производства моющих средств, продуктов питания, в процессах биоремедиации и производстве пробиотиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время исследования холодоактивных ферментов не теряют актуальности. Психрофильные и психротрофные микроорганизмы привлекают внимание исследователей во всем мире из-за их уникальной метаболической способности продуцировать холодоактивные ферменты. Существуют научные предпосылки по созданию индивидуальных и комплексных холодоактивных ферментных препаратов. Область применения данных ферментов включает пищевую, фармацевтическую, текстильную промышленность, производство моющих средств, молекулярную биологию и др. Это связано с их способностью катализировать реакции при низких температурах, что делает процесс гидролиза более экономически выгодным и эффективным. Поиск и изучение новых холодоактивных ферментов открывает новые возможности проведения технологических процессов и может способствовать решению биотехнологических и экологических проблем.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Mangiagalli M., Lotti M. Cold-active β -galactosidases: insight into cold adaptation mechanisms and biotechnological exploitation // *Marine Drugs*. 2021. Vol. 19, no. 1. P. 43. DOI: 10.3390/md19010043.
2. Margesin R., Collins T. Microbial ecology of the cryosphere (glacial and permafrost habitats): current knowledge // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019. Vol. 103. P. 2537–2549. DOI: 10.1007/s00253-019-09631-3.
3. Troncoso E., Barahona S., Carrasco M., Villarreal P., Alcaíno J., Cifuentes V., et al. Identification and characterization of yeasts isolated from the South Shetland Islands and the Antarctic Peninsula // *Polar Biology*. 2017. Vol. 40. P. 649–658. DOI: 10.1007/s00300-016-1988-9.
4. Hamid B., Bashir Z., Yatoo A.M., Mohiddin F., Majeed N., Bansal M., et al. Cold-active enzymes and their potential industrial applications – a review // *Molecules*. 2022. Vol. 27, no. 18. P. 5885. DOI: 10.3390/molecules27185885.
5. Zhang J., Liu R., Xi S., Cai R., Zhang X., Sun C. A novel bacterial thiosulfate oxidation pathway provides a new clue about the formation of zero-valent sulfur in deep

- sea // The ISME Journal. 2020. Vol. 14. P. 2261–2274. DOI: 10.1038/s41396-020-0684-5.
6. Furhan J., Salaria N., Jabeen M., Qadri J. Partial purification and characterisation of cold-active metalloprotease by *Bacillus* sp. Ap1 from Apharwat peak, Kashmir // Pakistan Journal of Biotechnology. 2019. Vol. 16, no. 1. P. 47–54. DOI: 10.34016/pjbt.2019.16.1.8.
7. Mangiagalli M., Brocca S., Orlando M., Lotti M. The “cold revolution”. Present and future applications of cold-active enzymes and ice-binding proteins // New Biotechnology. 2020. Vol. 55. P. 5–11. DOI: 10.1016/j.nbt.2019.09.003.
8. Guo C., Zheng R., Cai R., Sun C., Wu S. Characterization of two unique cold-active lipases derived from a novel deep-sea cold seep bacterium // Microorganisms. 2021. Vol. 9, no. 4. P. 802. DOI: 10.3390/microorganisms9040802.
9. Stark C., Bautista-Leung T., Siegfried J., Herschlag D. System investigation of the link between enzyme catalysis and cold adaptation // eLife. 2022. Vol. 11. P. e72884. DOI: 10.7554/eLife.72884.
10. Santiago M., Ramírez-Sarmiento C.A., Zamora R.A., Parra L.P. Discovery, molecular mechanisms, and industrial applications of cold-active enzymes // Frontiers in Microbiology. 2016. Vol. 7. P. 1408. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01408.
11. Parvizpour S., Hussin N., Shamsir M.S., Razmara J. Psychrophilic enzymes: structural adaptation, pharmaceutical and industrial applications // Applied Microbiology and Biotechnology. 2021. Vol. 105, no. 3. P. 899–907. DOI: 10.1007/s00253-020-11074-0.
12. Collins T., Margesin R. Psychrophilic lifestyles: mechanisms of adaptation and biotechnological tools // Applied Microbiology and Biotechnology. 2019. Vol. 103. P. 2857–2871. DOI: 10.1007/s00253-019-09659-5.
13. Pucci F., Rooman M. Physical and molecular bases of protein thermal stability and cold adaptation // Current Opinion in Structural Biology. 2017. Vol. 42. P. 117–128. DOI: 10.1016/j.sbi.2016.12.007.
14. Brocca S., Ferrari C., Barbiroli A., Pesce A., Lotti M., Nardini M. A bacterial acyl aminoacyl peptidase couples flexibility and stability as a result of cold adaptation // The FEBS Journal. 2016. Vol. 283, no. 23. P. 4310–4324. DOI: 10.1111/febs.13925.
15. Mangiagalli M., Lapi M., Maione S., Orlando M., Brocca S., Pesce A., et al. The co-existence of cold activity and thermal stability in an Antarctic GH42 β -galactosidase relies on its hexameric quaternary arrangement // The FEBS Journal. 2021. Vol. 288, no. 2. P. 546–565. DOI: 10.1111/febs.15354.
16. Zanphorlin L.M., de Giuseppe P.O., Honorato R.V., Tonoli C.C.C., Fattori J., Crespim E., et al. Oligomerization as a strategy for cold adaptation: Structure and dynamics of the GH1 β -glucosidase from *Exiguobacterium antarcticum* B7 // Scientific Reports. 2016. Vol. 6. P. 23776. DOI: 10.1038/srep23776.
17. Bruno S., Coppola D., di Prisco G., Giordano D., Verde C. Enzymes from marine polar regions and their biotechnological applications // Marine Drugs. 2019. Vol. 17, no. 10. P. 544. DOI: 10.3390/md17100544.
18. Li Z., Wang L., Ren Y., Huang Y., Liu W., Lv Z., et al. Arginase: shedding light on the mechanisms and opportunities in cardiovascular diseases // Cell Death Discovery. 2022. Vol. 8. P. 413. DOI: 10.1038/s41420-022-01200-4.
19. Niu F., Yu Y., Li Z., Ren Y., Li Z., Ye Q., et al. Arginase: an emerging and promising therapeutic target for cancer treatment // Biomedicine and Pharmacotherapy. 2022. Vol. 149. P. 112840. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.112840.
20. Caldwell R.W., Rodriguez P.C., Toque H.A., Narayanan S.P., Caldwell R.B. Arginase: a multifaceted enzyme important in health and disease // Physiological Reviews. 2018. Vol. 98, no. 2. P. 641–665. DOI: 10.1152/physrev.00037.2016.
21. Yusof N.Y., Quay D.H.X., Kamaruddin S., Jonet M.A., Md Illias R., Mahadi N.M., et al. Biochemical and in silico structural characterization of a cold-active arginase from the psychrophilic yeast, *Glaciozyma antarctica* PI12 // Extremophiles. 2024. Vol. 28. P. 15. DOI: 10.1007/s00792-024-01333-7.
22. Sun J., Yao C., Wang W., Zhuang Z., Liu J., Dai F., et al. Cloning, expression and characterization of a novel cold-adapted β -galactosidase from the deep-sea bacterium *Alteromonas* sp. ML52 // Marine Drugs. 2018. Vol. 16, no. 12. P. 469. DOI: 10.3390/md16120469.
23. Kuddus M., Roohi, Bano N., Sheik G.B., Joseph B., Hamid B., et al. Cold-active microbial enzymes and their biotechnological applications // Microbial Biotechnology. 2024. Vol. 17, no. 4. P. e14467. DOI: 10.1111/1751-7915.14467.
24. Lutz-Wahl S., Mozer H., Kussler A., Schulz A., Seitz I., Fischer L. A new β -galactosidase from *Paenibacillus wynnii* with potential for industrial applications // Journal of Dairy Science. 2024. Vol. 107, no. 6. P. 3429–3442. DOI: 10.3168/jds.2023-24122.
25. Núñez-Montero K., Salazar R., Santos A., Gómez-Espinoza O., Farah S., Troncoso C., et al. Antarctic *Rahnella inusitata*: a producer of cold-stable β -galactosidase enzymes // International Journal of Molecular Sciences. 2021. Vol. 22, no. 8. P. 4144. DOI: 10.3390/ijms22084144.
26. Liu Y., Wu Z., Zeng X., Weng P., Zhang X., Wang C. A novel cold-adapted phospho-beta-galactosidase from *Bacillus velezensis* and its potential application for lactose hydrolysis in milk // International Journal of Biological Macromolecules. 2021. Vol. 166. P. 760–770. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.10.233.
27. Kumar D., Kumar S.S., Kumar J., Kumar O., Mishra S.V., Kumar R., et al. Xylanases and their industrial applications: a review // Biochemical and Cellular Archives. 2017. Vol. 17, no. 1. P. 353–360.
28. Pandey L.K., Kumar A., Dutt D., Singh S.P. Influence of mechanical operation on the biodelignification of *Leucaena leucocephala* by xylanase treatment // 3 Biotech. 2022. Vol. 12. P. 20. DOI: 10.1007/s13205-021-03024-y.
29. Cai Z.-W., Ge H.-H., Yi Z.-W., Zeng R.-Y., Zhang G.-Y. Characterization of a novel psychrophilic and halophilic β -1, 3-xylanase from deep-sea bacterium, *Flammeovirga pacifica* strain WPAG1 // International Journal of Biological Macromolecules. 2018. Vol. 118. P. 2176–2184. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.090.
30. Li X., Zhang L., Jiang Z., Liu L., Wang J., Zhong L., et al. A novel cold-active GH8 xylanase from cellulolytic myxobacterium and its application in food industry // Food Chemistry. 2022. Vol. 393. P. 133463. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.133463.
31. Malik S.M., Ayub M., Bhadra A., Manjula A.C., Modi R., Lavanya G., et al. Screening and production of cold-active xylanase from *Truncatella Angustata* (Bpf5) under submerged fermentation // European Chemical Bulletin. 2023. Vol. 12, no. 10. P. 422–430. DOI: 10.48047/ecb/2023.12.si10.0046.

32. Song P., Zhang X., Wang S., Xu W., Wang F., Fu R., et al. Microbial proteases and their applications // *Frontiers in Microbiology*. 2023. Vol. 14. P. 1236368. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1236368.
33. Farooq S., Nazir R., Ganai S.A., Ganai B.A. Isolation and characterization of a new cold-active protease from psychrotrophic bacteria of Western Himalayan glacial soil // *Scientific Reports*. 2021. Vol. 11, no. 1. P. 12768. DOI: 10.1038/s41598-021-92197-w.
34. Furhan J., Awasthi P., Sharma S. Biochemical characterization and homology modelling of cold-active alkophilic protease from Northwestern Himalayas and its application in detergent industry // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019. Vol. 17. P. 726–735. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.01.028.
35. Chen K., Mo Q., Liu H., Yuan F., Chai H., Lu F., et al. Identification and characterization of a novel cold-tolerant extracellular protease from *Planococcus* sp. CGMCC 8088 // *Extremophiles*. 2018. Vol. 22. P. 473–484. DOI: 10.1007/s00792-018-1010-2.
36. Mukhia S., Kumar A., Kumar R. Generation of antioxidant peptides from soy protein isolate through psychrotrophic *Chryseobacterium* sp. derived alkaline broad temperature active protease // *LWT*. 2021. Vol. 143. P. 111152. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111152.
37. Park H.J., Lee C.W., Kim D., Do H., Han S.J., Kim J.E., et al. Crystal structure of a cold-active protease (Pro21717) from the psychrophilic bacterium, *Pseudoalteromonas arctica* PAMC 21717, at 1.4 Å resolution: structural adaptations to cold and functional analysis of a laundry detergent enzyme // *PLoS One*. 2018. Vol. 13, no. 2. P. e0191740. DOI: 10.1371/journal.pone.0191740.
38. Perfumo A., Freiherr von Sass G.J., Nordmann E.-L., Budisa N., Wagner D. Discovery and characterization of a new cold-active protease from an extremophilic bacterium via comparative genome analysis and *in vitro* expression // *Frontiers in Microbiology*. 2020. Vol. 11. P. 881. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00881.
39. Adetunji A.I., Olaniran A.O. Production strategies and biotechnological relevance of microbial lipases: a review // *Brazilian Journal of Microbiology*. 2021. Vol. 52. P. 1257–1269. DOI: 10.1007/s42770-021-00503-5.
40. Ali S., Khan S.A., Hamayun M., Lee I.-J. The recent advances in the utility of microbial lipases: a review // *Microorganisms*. 2023. Vol. 11, no. 2. P. 510. DOI: 10.3390/microorganisms11020510.
41. Chandra P., Enespa, Singh R., Arora P.K. Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review // *Microbial Cell Factories*. 2020. Vol. 19. P. 169. DOI: 10.1186/s12934-020-01428-8.
42. Sahay S., Chouhan D. Study on the potential of cold-active lipases from psychrotrophic fungi for detergent formulation // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2018. Vol. 16, no. 2. P. 319–325. DOI: 10.1016/j.jgeb.2018.04.006.
43. Gupta K.K., Jagtap S., Priya R., Ramadas K. Purification, characterization of alkaline cold active lipase from *Acinetobacter radioresistens* PR8 and development of a new zymography method for lipase detection // *Protein and Peptide Letters*. 2018. Vol. 25, no. 10. P. 897–907. DOI: 10.2174/0929866525666180905113206.
44. Abdella B., Youssif A.M., Sabry S.A., Ghazlan H.A. Production, purification, and characterization of cold-active lipase from the psychrotroph *Pseudomonas* sp. A6 // *Brazilian Journal of Microbiology*. 2023. Vol. 54. P. 1623–1633. DOI: 10.1007/s42770-023-01079-y.
45. Новотоцкая-Власова К.А., Петровская Л.Е., Ривкина Е.М., Долгих Д.А., Кирпичников М.П. Характеристика холодоактивной липазы *Psychrobacter cryohalolentis* K5T и ее делеционных мутантов // *Биохимия*. 2013. Т. 78. N 4. С. 501–512. EDN: QBLFAB.
46. Русакова Д.А., Сидоренко М.Л., Ким А.В. Характеристика бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных из глинистых органогенных отложений пещеры мраморная (Приморский край) // *Микробиология*. 2024. Т. 93. N 1. С. 79–90. DOI: 10.31857/S0026365624010086. EDN: EOPWGG.
47. Nwagu T.N., Aoyagi H., Okolo B., Moneke A., Yoshida S. Citraconylation and maleylation on the catalytic and thermodynamic properties of raw starch saccharifying amylase from *Aspergillus carbonarius* // *Heliyon*. 2020. Vol. 6, no. 7. P. e04351. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04351.
48. Kizhakedathil M.P.J., Devi C.S. Acid stable α -amylase from *Pseudomonas balearica* VITPS19 – production, purification and characterization // *Biotechnology Reports*. 2021. Vol. 30. P. e00603. DOI: 10.1016/j.btre.2021.e00603.
49. Frantz S.C., Paludo L.C., Stutz H., Spier M.R. Production of amylases from *Coprinus comatus* under submerged culture using wheat-milling by-products: optimization, kinetic parameters, partial purification and characterization // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019. Vol. 17. P. 82–92. DOI: 10.1016/j.bcab.2018.11.004.
50. Cakmak U., Tuncay F.O., Kolcuoğlu Y. Cold active α -amylase obtained from *Cladophora hutchinsiae* – purification, biochemical characterization and some potential applications // *Food Bioscience*. 2022. Vol. 50. P. 102078. DOI: 10.1016/j.fbio.2022.102078.
51. Samanta A., Pradhan S., Jana S.C. Cold active amylase production from *Bacillus cereus* RGUS2023 // *Tropical Journal of Natural Product Research*. 2023. Vol. 7, no. 11. P. 5172–5177. DOI: 10.26538/tjnpr/v7i11.20.
52. Arabaci N., Arikian B. Isolation and characterization of a cold-active, alkaline, detergent stable α -amylase from a novel bacterium *Bacillus subtilis* N8 // *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 2018. Vol. 48, no. 5. P. 419–426. DOI: 10.1080/10826068.2018.1452256.

REFERENCES

1. Mangiagalli M., Lotti M. Cold-active β -galactosidases: insight into cold adaptation mechanisms and biotechnological exploitation. *Marine Drugs*. 2021;19(1):43. DOI: 10.3390/md19010043.
2. Margesin R., Collins T. Microbial ecology of the cryosphere (glacial and permafrost habitats): current knowledge. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019;103:2537–2549. DOI: 10.1007/s00253-019-09631-3.
3. Troncoso E., Barahona S., Carrasco M., Villarreal P., Alcaíno J., Cifuentes V., et al. Identification and characterization of yeasts isolated from the South Shetland Islands and the Antarctic Peninsula. *Polar Biology*. 2017;40:649–658. DOI: 10.1007/s00300-016-1988-9.
4. Hamid B., Bashir Z., Yatoo A.M., Mohiddin F., Majeed N., Bansal M., et al. Cold-active enzymes and their potential industrial applications – a review. *Molecules*.

2022;27(18):5885. DOI: 10.3390/molecules27185885.

5. Zhang J., Liu R., Xi S., Cai R., Zhang X., Sun C. A novel bacterial thiosulfate oxidation pathway provides a new clue about the formation of zero-valent sulfur in deep sea. *The ISME Journal*. 2020;14:2261-2274. DOI: 10.1038/s41396-020-0684-5.

6. Furhan J., Salari N., Jabeen M., Qadri J. Partial purification and characterisation of cold-active metalloprotease by *Bacillus* sp. Ap1 from Apharwat peak, Kashmir. *Pakistan Journal of Biotechnology*. 2019;16(1):47-54. DOI: 10.34016/pjbt.2019.16.1.8.

7. Mangiagalli M., Brocca S., Orlando M., Lotti M. The "cold revolution". Present and future applications of cold-active enzymes and ice-binding proteins. *New Biotechnology*. 2020;55:5-11. DOI: 10.1016/j.nbt.2019.09.003.

8. Guo C., Zheng R., Cai R., Sun C., Wu S. Characterization of two unique cold-active lipases derived from a novel deep-sea cold seep bacterium. *Microorganisms*. 2021;9(4):802. DOI: 10.3390/microorganisms9040802.

9. Stark C., Bautista-Leung T., Siegfried J., Herschlag D. System investigation of the link between enzyme catalysis and cold adaptation. *eLife*. 2022;11:e72884. DOI: 10.7554/eLife.72884.

10. Santiago M., Ramírez-Sarmiento C.A., Zamora R.A., Parra L.P. Discovery, molecular mechanisms, and industrial applications of cold-active enzymes. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:1408. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01408.

11. Parvizpour S., Hussin N., Shamsir M.S., Razmara J. Psychrophilic enzymes: structural adaptation, pharmaceutical and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2021;105(3):899-907. DOI: 10.1007/s00253-020-11074-0.

12. Collins T., Margesin R. Psychrophilic lifestyles: mechanisms of adaptation and biotechnological tools. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019;103:2857-2871. DOI: 10.1007/s00253-019-09659-5.

13. Pucci F., Rooman M. Physical and molecular bases of protein thermal stability and cold adaptation. *Current Opinion in Structural Biology*. 2017;42:117-128. DOI: 10.1016/j.sbi.2016.12.007.

14. Brocca S., Ferrari C., Barbiroli A., Pesce A., Lotti M., Nardini M. A bacterial acyl aminoacyl peptidase couples flexibility and stability as a result of cold adaptation. *The FEBS Journal*. 2016;283(23):4310-4324. DOI: 10.1111/febs.13925.

15. Mangiagalli M., Lapi M., Maione S., Orlando M., Brocca S., Pesce A., et al. The co-existence of cold activity and thermal stability in an Antarctic GH42 β -galactosidase relies on its hexameric quaternary arrangement. *The FEBS Journal*. 2021;288(2):546-565. DOI: 10.1111/febs.15354.

16. Zanthorlin L.M., de Giuseppe P.O., Honorato R.V., Tonoli C.C.C., Fattori J., Crespim E., et al. Oligomerization as a strategy for cold adaptation: Structure and dynamics of the GH1 β -glucosidase from *Exiguobacterium antarcticum* B7. *Scientific Reports*. 2016;6:23776. DOI: 10.1038/srep23776.

17. Bruno S., Coppola D., di Prisco G., Giordano D., Verde C. Enzymes from marine polar regions and their biotechnological applications. *Marine Drugs*. 2019;17(10):544. DOI: 10.3390/md17100544.

18. Li Z., Wang L., Ren Y., Huang Y., Liu W., Lv Z., et al. Arginase: shedding light on the mechanisms and opportunities in cardiovascular diseases. *Cell Death Discovery*. 2022;8:413. DOI: 10.1038/s41420-022-01200-4.

19. Niu F., Yu Y., Li Z., Ren Y., Li Z., Ye Q., et al. Arginase: an emerging and promising therapeutic target for cancer treatment. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2022;149:112840. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.112840.

20. Caldwell R.W., Rodriguez P.C., Toque H.A., Narayanan S.P., Caldwell R.B. Arginase: a multifaceted enzyme important in health and disease. *Physiological Reviews*. 2018;98(2):641-665. DOI: 10.1152/physrev.00037.2016.

21. Yusof N.Y., Quay D.H.X., Kamaruddin S., Jonet M.A., Md Illias R., Mahadi N.M., et al. Biochemical and in silico structural characterization of a cold-active arginase from the psychrophilic yeast, *Glaciozyma antarctica* PI12. *Extremophiles*. 2024;28:15. DOI: 10.1007/s00792-024-01333-7.

22. Sun J., Yao C., Wang W., Zhuang Z., Liu J., Dai F., et al. Cloning, expression and characterization of a novel cold-adapted β -galactosidase from the deep-sea bacterium *Alteromonas* sp. ML52. *Marine Drugs*. 2018;16(120):469. DOI: 10.3390/md16120469.

23. Kuddus M., Roohi, Bano N., Sheik G.B., Joseph B., Hamid B., et al. Cold-active microbial enzymes and their biotechnological applications. *Microbial Biotechnology*. 2024;17(4):e14467. DOI: 10.1111/1751-7915.14467.

24. Lutz-Wahl S., Mozer H., Kussler A., Schulz A., Seitz I., Fischer L. A new β -galactosidase from *Paenibacillus wynnii* with potential for industrial applications. *Journal of Dairy Science*. 2024;107(6):3429-3442. DOI: 10.3168/jds.2023-24122.

25. Núñez-Montero K., Salazar R., Santos A., Gómez-Espinoza O., Farah S., Troncoso C., et al. Antarctic *Rahnella inusitata*: a producer of cold-stable β -galactosidase enzymes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(8):4144. DOI: 10.3390/ijms22084144.

26. Liu Y., Wu Z., Zeng X., Weng P., Zhang X., Wang C. A novel cold-adapted phospho-beta-galactosidase from *Bacillus velezensis* and its potential application for lactose hydrolysis in milk. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;166:760-770. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.10.233.

27. Kumar D., Kumar S.S., Kumar J., Kumar O., Mishra S.V., Kumar R., et al. Xylanases and their industrial applications: a review. *Biochemical and Cellular Archives*. 2017;17(1):353-360.

28. Pandey L.K., Kumar A., Dutt D., Singh S.P. Influence of mechanical operation on the biodelignification of *Leucaena leucocephala* by xylanase treatment. *3 Biotech*. 2022;12:20. DOI: 10.1007/s13205-021-03024-y.

29. Cai Z.-W., Ge H.-H., Yi Z.-W., Zeng R.-Y., Zhang G.-Y. Characterization of a novel psychrophilic and halophilic β -1, 3-xylanase from deep-sea bacterium, *Flammeovirga pacifica* strain WPAG1. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;118:2176-2184. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.090.

30. Li X., Zhang L., Jiang Z., Liu L., Wang J., Zhong L., et al. A novel cold-active GH8 xylanase from cellulolytic myxobacterium and its application in food industry. *Food Chemistry*. 2022;393:133463. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.133463.

31. Malik S.M., Ayub M., Bhadra A., Manjula A.C., Modi R., Lavanya G., et al. Screening and production of cold-active xylanase from *Truncatella Angustata* (Bpf5) under submerged fermentation. *European Chemical Bulletin*. 2023;12(10):422-430. DOI: 10.48047/ecb/2023.12.si10.0046.

32. Song P., Zhang X., Wang S., Xu W., Wang F., Fu R., et al. Microbial proteases and their applications. *Frontiers in Microbiology*. 2023;14:1236368. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1236368.
33. Farooq S., Nazir R., Ganai S.A., Ganai B.A. Isolation and characterization of a new cold-active protease from psychrotrophic bacteria of Western Himalayan glacial soil. *Scientific Reports*. 2021;11(1):12768. DOI: 10.1038/s41598-021-92197-w.
34. Furhan J., Awasthi P., Sharma S. Biochemical characterization and homology modelling of cold-active alkophilic protease from Northwestern Himalayas and its application in detergent industry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019;17:726-735. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.01.028.
35. Chen K., Mo Q., Liu H., Yuan F., Chai H., Lu F., et al. Identification and characterization of a novel cold-tolerant extracellular protease from *Planococcus* sp. CGMCC 8088. *Extremophiles*. 2018;22:473-484. DOI: 10.1007/s00792-018-1010-2.
36. Mukhia S., Kumar A., Kumar R. Generation of anti-oxidant peptides from soy protein isolate through psychrotrophic *Chryseobacterium* sp. derived alkaline broad temperature active protease // LWT. 2021;143:111152. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111152.
37. Park H.J., Lee C.W., Kim D., Do H., Han S.J., Kim J.E., et al. Crystal structure of a cold-active protease (Pro21717) from the psychrophilic bacterium, *Pseudoalteromonas arctica* PAMC 21717, at 1.4 Å resolution: structural adaptations to cold and functional analysis of a laundry detergent enzyme. *PLoS One*. 2018;13(2):e0191740. DOI: 10.1371/journal.pone.0191740.
38. Perfumo A., Freiherr von Sass G.J., Nordmann E.-L., Budisa N., Wagner D. Discovery and characterization of a new cold-active protease from an extremophilic bacterium via comparative genome analysis and *in vitro* expression. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:881. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00881.
39. Adetunji A.I., Olaniran A.O. Production strategies and biotechnological relevance of microbial lipases: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2021;52:1257-1269. DOI: 10.1007/s42770-021-00503-5.
40. Ali S., Khan S.A., Hamayun M., Lee I.-J. The recent advances in the utility of microbial lipases: a review. *Microorganisms*. 2023;11(2):510. DOI: 10.3390/microorganisms11020510.
41. Chandra P., Enespa, Singh R., Arora P.K. Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. *Microbial Cell Factories*. 2020;19:169. DOI: 10.1186/s12934-020-01428-8.
42. Sahay S., Chouhan D. Study on the potential of cold-active lipases from psychrotrophic fungi for detergent formulation. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2018;16(2):319-325. DOI: 10.1016/j.jgeb.2018.04.006.
43. Gupta K.K., Jagtap S., Priya R., Ramadas K. Purification, characterization of alkaline cold active lipase from *Acinetobacter radioresistens* PR8 and development of a new zymography method for lipase detection. *Protein and Peptide Letters*. 2018;25(10):897-907. DOI: 10.2174/0929866525666180905113206.
44. Abdella B., Youssif A.M., Sabry S.A., Ghazlan H.A. Production, purification, and characterization of cold-active lipase from the psychrotroph *Pseudomonas* sp. A6. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2023;54:1623-1633. DOI: 10.1007/s42770-023-01079-y.
45. Novototskaya-Vlasova K.A., Rivkina E.M., Petrovskaya L.E., Dolgikh D.A., Kirpichnikov M.P. Characterization of a cold-active lipase from psychrobacter cryohalolentis k5t and its deletion mutants. *Biohimiya*. 2013;78(4):501-512. (In Russian). EDN: QBLFAB.
46. Rusakova D.A., Sidorenko M.L.1, Kim A.V. Characteristics of Psychrotolerant bacteria isolated from clay organogenic deposits of mramorny cave (Primorsky territory). *Mikrobiologiya*. 2024;93(1):79-90. (In Russian). DOI: 10.31857/S0026365624010086. EDN: EOPWGG.
47. Nwagu T.N., Aoyagi H., Okolo B., Moneke A., Yoshida S. Citraconylation and maleylation on the catalytic and thermodynamic properties of raw starch saccharifying amylase from *Aspergillus carbonarius*. *Heliyon*. 2020;6(7):e04351. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04351.
48. Kizhakedathil M.P.J., Devi C.S. Acid stable α -amylase from *Pseudomonas balearica* VITPS19 – production, purification and characterization. *Biotechnology Reports*. 2021;30:e00603. DOI: 10.1016/j.btre.2021.e00603.
49. Frantz S.C., Paludo L.C., Stutz H., Spier M.R. Production of amylases from *Coprinus comatus* under submerged culture using wheat-milling by-products: optimization, kinetic parameters, partial purification and characterization. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019;17:82-92. DOI: 10.1016/j.bcab.2018.11.004.
50. Cakmak U., Tuncay F.O., Kolcuoğlu Y. Cold active α -amylase obtained from *Cladophora hutchinsiae* – purification, biochemical characterization and some potential applications. *Food Bioscience*. 2022;50:102078. DOI: 10.1016/j.fbio.2022.102078.
51. Samanta A., Pradhan S., Jana S.C. Cold active amylase production from *Bacillus cereus* RGJS2023. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 2023;7(11):5172-5177. DOI: 10.26538/tjnpr/v7i11.20.
52. Arabaci N., Arian B. Isolation and characterization of a cold-active, alkaline, detergent stable α -amylase from a novel bacterium *Bacillus subtilis* N8. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 2018;48(5):419-426. DOI: 10.1080/10826068.2018.1452256.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Белова Дарья Дмитриевна,

к.т.н., старший научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский
институт пищевых добавок –
филиал Федерального научного центра
пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный
проспект, 55, Российская Федерация,
✉ antonina-daria@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0630-7658>

Шарова Наталья Юрьевна,

д.т.н., профессор РАН,
заместитель директора по научной работе,
Всероссийский научно-исследовательский
институт пищевых добавок –
филиал Федерального научного центра
пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный
проспект, 55, Российская Федерация,
natalya_sharova1@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4208-9299>

Вклад авторов

Белова Дарья Дмитриевна – разработка
концепции, проведение исследования,
написание черновика рукописи.
Шарова Наталья Юрьевна – научное
руководство, редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 02.12.2024.
Одобрена после рецензирования 17.03.2025.
Принята к публикации 06.11.2025.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Daria D. Belova,

Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher,
All-Russian Research Institute of Food Additives –
a branch of the Federal Scientific Center
for Food Systems named after V.M. Gorbатов,
Russian Academy of Science,
55, Liteiny Ave., Saint Petersburg, 191014,
Russian Federation,
✉ antonina-daria@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0630-7658>

Natalya Yu. Sharova,

Dr. Sci. (Engineering),
Professor of the Russian Academy of Science,
Deputy Director for Research,
All-Russian Research Institute of Food Additives –
a branch of the Federal Scientific Center
for Food Systems named after V.M. Gorbатов,
Russian Academy of Science,
55, Liteiny Ave., Saint Petersburg, 191014,
Russian Federation,
natalya_sharova1@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4208-9299>

Contribution of the authors

Daria D. Belova – conceptualization,
investigation, writing – original draft.
Natalia Yu. Sharova – supervision, editing.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests
regarding the publication of this article.


The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 02.12.2024.
Approved after reviewing 17.03.2025.
Accepted for publication 06.11.2025.



Protective activities of some bioactive components from *Salvia officinalis* extracts and essential oil in acetaminophen-induced model of acute liver and kidney injury in mice

Seyed Ali Sobhanian*, **Abbas Ahmadi****, **Mehrdad Roghani*****,
Parinaz Hassanlo**, **Shima Khamoushi****

*Department of Medicinal Chemistry, TeMS.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

**Department of Chemistry, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran

***Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

Abstract. Drugs and toxic compounds-induced liver and kidney injuries are mostly responsible for hepatic and renal dysfunction. Many treatments have recently been proposed for these injuries, like chemicals and traditional medicines. Thus, looking for new classes of natural and safe compounds is a global demand. The genus *Salvia* from the Lamiaceae family are well-studied and vastly used in traditional medicine. The plant contains a variety of secondary metabolites, like terpenoids, which have shown many pharmacological activities. Based on the various reported pharmacological effectiveness of *Salvia officinalis* L. (sage, l), the protective effects of some extracts and essential oil of this plant by the number of polar and nonpolar organic as well as aqueous solvents on the liver and kidney injury in acetaminophen-induced mice investigated in this research. The results showed that chloroformic and carbon tetrachloride extracts of *Salvia officinalis* had the best effects for protecting against kidney injury, while for liver, chloroformic, ethanolic, and hydroethanolic extracts also had such effects. It can be concluded that extraction of *Salvia officinalis* with polar and nonpolar organic and aqueous solvents could separate various bioactive components which appropriately and remarkably improve some serum markers following acetaminophen-induced liver and kidney damage in mice.

Keywords: liver and kidney injuries, acetaminophen-induced model, traditional medicine, *Salvia officinalis* (sage), polar and nonpolar extracts

Funding. This article was a research project at Islamic Azad University, Karaj branch.

Acknowledgments. The authors are grateful to Mr. Mojtaba Chaichi, freelance ESL/EFL (English as a second language / English as a foreign language) instructor, for the proofreading of the initial draft of this article.

For citation: Sobhanian S.A., Ahmadi A., Roghani M., Hassanlo P., Khamoush Sh. Protective activities of some bioactive components from *Salvia officinalis* extracts and essential oil in acetaminophen-induced model of acute liver and kidney injury in mice. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):476-486. DOI: 10.21285/achb.1002. EDN: UTMYY.

Защитное действие некоторых биоактивных компонентов из экстрактов и эфирного масла шалфея лекарственного при остром поражении печени и почек у мышей, вызванном ацетаминофеном

С.А. Собханян*✉, А. Ахмади**, М. Рогани***,
П. Хассанло**, Ш. Хамуши**

*Исламский университет Азад, филиал в г. Тегеране, Тегеран, Иран

**Исламский университет Азад, филиал в г. Карадже, Карадж, Иран

***Центр нейрофизиологических исследований, Университет Шахед, Тегеран, Иран

Аннотация. Повреждения печени и почек, вызванные лекарственными препаратами и токсичными веществами, являются основной причиной печеночной и почечной дисфункции. В последнее время предложено множество способов лечения такого рода поражений – как с помощью химических препаратов, так и при помощи методов традиционной медицины. В связи с этим поиск новых классов природных и безопасных соединений для данных целей является настоятельной потребностью. Род *Salvia* семейства яснотковых (*Lamiaceae*) хорошо изучен и широко используется в традиционной медицине. Растение содержит множество вторичных метаболитов, таких как терпеноиды, которые обладают разнообразной фармакологической активностью. На основании многочисленных данных о фармакологической эффективности *Salvia officinalis* L. (шалфей лекарственный, I) в данном исследовании изучено защитное действие некоторых экстрактов и эфирного масла этого растения при поражении печени и почек у мышей, подвергшихся воздействию ацетаминофена. Результаты показали, что наилучшее защитное действие при поражении почек оказывают хлороформенный и четыреххлористоуглеродный экстракты шалфея лекарственного, при поражении печени эффективны хлороформенный, спиртовой и водно-спиртовой экстракты шалфея лекарственного. Можно сделать вывод, что экстракция шалфея лекарственного полярными и неполярными органическими и водными растворителями позволяет выделить различные биоактивные компоненты, которые значительно улучшают некоторые сывороточные маркеры повреждения печени и почек, вызванного ацетаминофеном у мышей.

Ключевые слова: повреждения печени и почек, ацетаминофен, традиционная медицина, *Salvia officinalis* (шалфей), полярные и неполярные экстракты

Финансирование: Работа является исследовательским проектом филиала Исламского университета Азад в г. Карадже.

Благодарности: Авторы выражают благодарность г-ну Моджадде Чайчи, внештатному преподавателю английского языка как второго языка / английского как иностранного, за редактирование первоначального варианта данной статьи.

Для цитирования: Собханян С.А., Ахмади А., Рогани М., Хассанло П., Хамуши Ш. Защитное действие некоторых биоактивных компонентов из экстрактов и эфирного масла шалфея лекарственного при остром поражении печени и почек у мышей, вызванном ацетаминофеном // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 476–486. DOI: 10.21285/achb.1002. EDN: UTMСYY.

INTRODUCTION

As vital metabolic organs, the liver and kidneys are vulnerable to oxidative stress, which seriously impacts overall health. In recent years, studies have illustrated that oxidative stress can cause liver damage and kidney fibrosis. Thus, it is crucial to look for safe and natural antioxidants to protect the normal function of tissues and organs like the liver and kidneys [1–3].

In general, toxic compounds cause damage to the liver and kidneys as the target organs. These organs actively

detoxify and handle endogenous and exogenous chemicals [4, 5].

Today, there is much interest in traditional medicines and herbal-based treatments all over the world. Thus, numerous experimental and clinical studies are being practiced on medicinal plants and there is a requirement for updating and integrating the findings [6].

Salvia officinalis (Lamiaceae family, sage, I) is known as a medicinal and aromatic plant for its richness of natural active substances [7]. Because of its antioxidant [8] and

anti-inflammatory [9] properties, sage extracts exhibit lots of beneficial health effects like phytoestrogenic [10], neuroprotective [11], anti-microbial [12], and anticancer [13] activities. More importantly, the plant has been vastly used in the treatment of most gastrointestinal diseases such as diarrhea and dyspepsia [14].

In recent years, lots of studies have been practiced to document the traditional usages of *S. officinalis* and to find novel biological effects of the plant. This research has revealed a range of pharmacological activities such as anti-nociceptive, antimutagenic, anti-dementia, hypoglycemic, and hypolipidemic effects [6].

This plant is an inexhaustible reservoir of chemical compounds like terpenes, alkaloids, carbohydrates, and phenolic compounds [15].

It has protective effects against liver and kidney injuries caused by high-fat diets, which have been common among most people in recent years. Therefore, it seems that using medicinal plants with lipid-lowering effects to improve liver and kidney function is highly requested [16].

In this work, according to the mentioned pharmacological activities of this plant, the therapeutic effects of different polarities' extracts and essential oil of *S. officinalis* with organic and aqueous solvents studied on liver and kidney damages caused by acetaminophen and the results were compared to the control and other groups in mice.

MATERIAL AND METHODS

Ethanol, carbon tetrachloride, chloroform as well as other chemicals were obtained from Merck (Darmstadt, Germany) as well as Sigma-Aldrich chemical companies (USA).

Gas chromatographic analysis was conducted on an Agilent 7890N chromatograph paired with a mass-spectrometer 5975C, MODE EI. A capillary column, HP-5MS (30 m × 0.25 mm i.d.; the film thickness 0.25 μm) was applied. Its column operating conditions were as follows: 60 °C for 2 min and then 7 °C/min to 280 °C. The carrier gas was helium at the rate of 3 ml/min. Samples (1 μl) of diluted essential oils were manually injected.

The parts of extracts were identified through their retention time, retention indices which are relevant to C₆-C₃₅ n-alkanes computer matching with the Wiley / National Institute of Standards and Technology library, and also by comparing their mass spectra with the genuine samples

or with available data in the literature. The proportion of composition of the identified compounds was evaluated from the gas chromatography peak area with no correction factor and calculated relatively.

Leaves of *S. officinalis* are obtained from the local market in Tehran and authenticated in the herbarium laboratory of the agriculture department of our university (Voucher Numbers: 5997). This part of the sage was protected from sunlight. Then air-dried in the shade, powdered well, then extracted by maceration with the mentioned solvents with various polarities (70% ethanol-water, 96% ethanol-water, chloroform, carbon tetrachloride and aqueous) separately for 72 hours (100 g of the powdered plant macerated in 500 ml solvent). The mixtures were filtered and concentrated to the yield extracts applied for gas chromatography – mass spectrometry (GC – MS) analysis and protective effects investigation on acetaminophen-induced liver and kidney damages in mice.

Male NMRI mice (n = 56) weighing 19 to 24 g (Pasteur's Institute in Tehran, Iran) were kept in an air-conditioned animal houseroom at 22±2 °C and provided with a standard diet and tap water. The procedures were in compliance with National Institutes of Health guidelines for the care and use of research animals.

Mice were divided into controls, acetaminophen, acetaminophen + chloroform, acetaminophen + carbon tetrachloride, acetaminophen + hydroalcoholic 70%, acetaminophen + hydroalcoholic 96% as well as acetaminophen + essential oil groups. These extracts (200 mg/kg) are dissolved in the cold physiologic saline and fed daily by gavage to mice one week before acetaminophen injection (300 mg/kg, i.p.) for liver and kidney toxicity.

Liver and kidney homogenates were prepared based on a published report [17].

The homogenate protein content was determined according to a published report¹. Then, liver & kidney serum markers including alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), glutathione (GSH), catalase (CAT), malondialdehyde (MDA), blood urea nitrogen (BUN), and creatinine were analyzed by standardized procedures using commercial kits (Pars Azmoon Company, Tehran, Iran, and Kia Zist, Hamedan, Iran), following the instrument manufacturer's protocol.

All the data were illustrated as means ±SEM. Statistical analysis was conducted with the aid of Graph Pad Prism

Quantitative analysis of some phytochemicals in hydroethanolic 96%, hydroethanolic 70%, chloroform, carbon tetrachloride extracts, and essential oil of *Salvia officinalis* identified by gas chromatography – mass spectrometry, %

Составы водно-спиртового 96%-го и 70%-го, хлороформенного, четыреххлористого экстрактов и эфирного масла шалфея лекарственного, идентифицированные методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии, %

Chemical family	Hydroethanolic 96%	Hydroethanolic 70%	Chloroform	Carbon tetrachloride	Essential oil
Monoterpenes & sesquiterpens	26.71	20.85	42.93	40.73	66.78
Alcohols	14.54	–	14.11	20.67	5.94
Alkaloids	4.45	–	3.54	3.34	–
Vitamins	9.78	–	5.81	7.40	–
Phenols	–	4.32	–	–	–
Imidazoles	–	9.37	–	–	–
Others	44.52	65.46	33.61	27.86	27.28

¹Becker J.M., Caldwell G.A., Zachgo E.A. Biotechnology: a laboratory course. San Diego: Academic Press, 1996. 283 p.

Software version 8.0 and one-way analysis of variance (ANOVA), followed by a coupled Tukey post-hoc statistical test. The Kolmogorov-Smirnov test was used for verification of normal distribution. A statistical p -value under 0.05 was considered significant.

RESULTS AND DISCUSSION

The desired titled extracts and essential oil were made from the maceration of *Salvia officinalis* L (sage, l) in the stated organic and aqueous solvents. GC-MS results for each extract and essential oil were summarized in Table.

As it was shown, in *S. officinalis* extracts, monoterpenes and sesquiterpens, alcohols, alkaloids, vitamins and phenols with many pharmacological activities [18–25] were more abundant compared with other compounds extracted by solvents.

Mortality (death rate), morbidity (known as any abnormal condition or behavior), irritability (a condition of aggressiveness or raised response to handling), and other relevant abnormal states were witnessed in the experimental animals. However, the motor coordination index (measured by Rota-rod apparatus, Harvard, UK) did not indicate any significant differences among the treated animals.

Figure 1 shows the results of serum BUN in different groups. As it can be seen, in the acetaminophen group, a clear and significant increase in BUN was obtained compared with the control group ($p < 0.001$). A similar significant rise in BUN was obtained in acetaminophen groups treated with 96% ethanol, carbon tetrachloride, chloroform extracts, and essential oil compared with the control group. On the other hand, a significant decrease in BUN was obtained in the acetaminophen groups treated with 70% ethanol ($p < 0.01$), 96% ethanol ($p < 0.01$), and chloroform ($p < 0.05$) extracts compared with the acetaminophen group. Also, the reduction of BUN in the two acetaminophen groups treated with carbon tetrachloride extract, or essential oil was not significant compared with the acetaminophen group.

Figure 2 shows the results of serum creatinine levels in various groups. As can be seen, in the acetaminophen group, a statistically significant increase in serum creatinine was obtained compared with the control group ($p < 0.01$). A similar significant rise in creatinine was obtained in the acetaminophen group treated with carbon tetrachloride extract compared with the control group ($p < 0.05$). On the other hand, a significant decrease in creatinine was obtained in the acetaminophen groups treated with 70% ethanol ($p < 0.01$), 96% ethanol ($p < 0.05$), and chloroform ($p < 0.05$) extracts compared with the acetaminophen group. Additionally, in the two acetaminophen groups treated with carbon tetrachloride extract and essential oil, the decrease in serum creatinine level was not significant compared with the acetaminophen group.

Figure 3 shows the results related to the tissue level of MDA as an index of lipid peroxidation in kidney tissue in different groups. As can be seen, in the acetaminophen group, a strong and significant increase in MDA was observed compared with the control group ($p < 0.001$). A similar significant rise in MDA was obtained in acetaminophen groups treated with essential oil or extracts to a lesser extent. Also, there was a significant fall in MDA in the acetaminophen groups treated with 70% ethanol

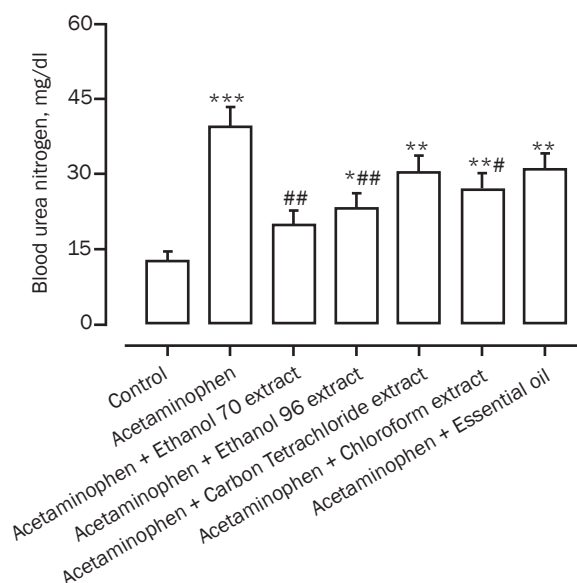


Fig. 1. Serum blood urea nitrogen level in various groups: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ (compared with the control group); # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ (compared with the acetaminophen group)

Рис. 1. Уровень азота мочевины сыворотки крови в различных группах: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (по сравнению с контрольной группой); # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ (по сравнению с группой, принимавшей ацетаминофен)

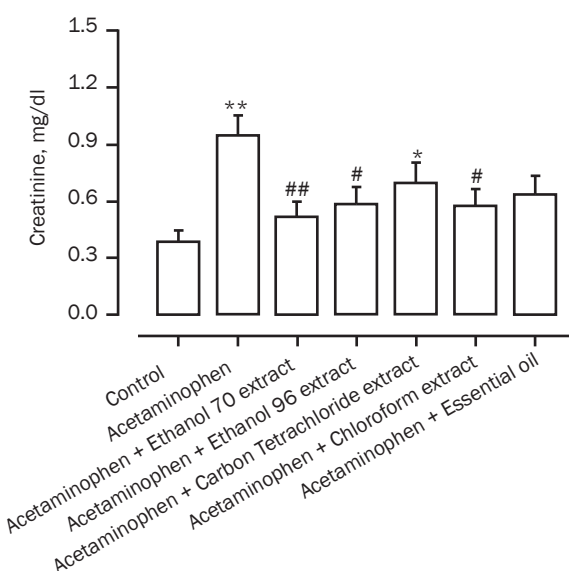


Fig. 2. Serum creatinine level in various groups: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ (compared with the control group); # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ (compared with the acetaminophen group)

Рис. 2. Уровень креатинина сыворотки крови в различных группах: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (по сравнению с контрольной группой); # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ (по сравнению с группой, принимавшей ацетаминофен)

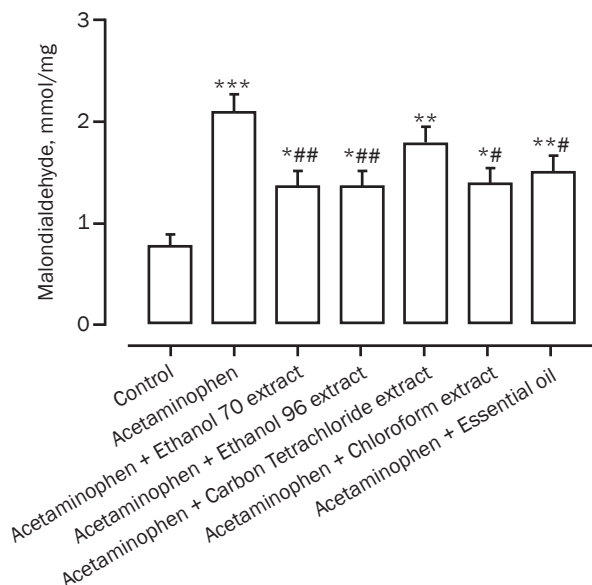


Fig. 3. Renal malondialdehyde levels in various groups:
 * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$
 (compared with the control group); # – $p < 0.05$,
 ## – $p < 0.01$ (compared with the acetaminophen group)

Рис. 3. Уровень малонового диальдегида в почках в различных группах: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (по сравнению с контрольной группой); # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ (по сравнению с группой, принимавшей ацетаминофен)

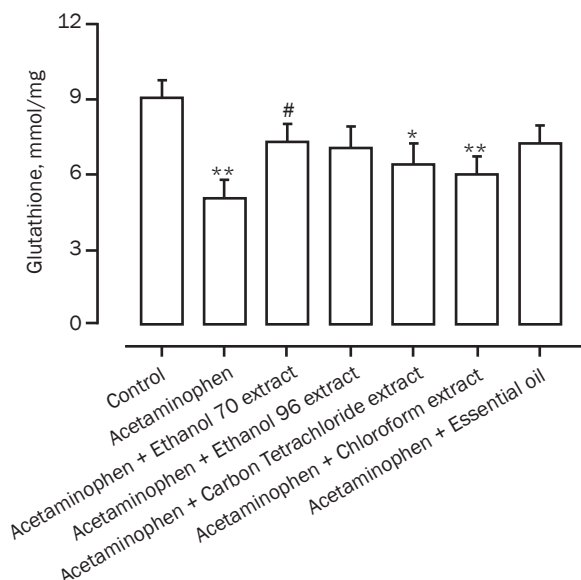


Fig. 4. Renal glutathione levels in different groups:
 * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$
 (compared with the control group); # – $p < 0.05$,
 ## – $p < 0.01$ (compared with the acetaminophen group)

Рис. 4. Уровень глутатиона в почках в различных группах: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (по сравнению с контрольной группой); # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ (по сравнению с группой, принимавшей ацетаминофен)

($p < 0.01$), 96% ethanol ($p < 0.01$), chloroform ($p < 0.05$), and essential oil ($p < 0.05$) extracts compared with the acetaminophen group.

Figure 4 shows the results of GSH in various groups. By measuring the renal level of GSH in different groups, it was found that this parameter shows a significant fall in the acetaminophen group compared with the control group ($p < 0.01$). A similar significant decrease of GSH was obtained in two acetaminophen groups treated with carbon tetrachloride ($p < 0.05$) and chloroform ($p < 0.01$) extracts compared with the control group. Such a significant reduction was not obtained in other treated acetaminophen groups. Also, a significant fall in the renal level of GSH was observed only in the acetaminophen group treated with 70% ethanol extract ($p < 0.05$).

Figure 5 shows the results related to the kidney level of CAT enzyme in different groups. By measuring the level of CAT enzyme activity in the kidney, it was found that in the acetaminophen group, there was a significant decrease in this parameter compared with the control group ($p < 0.01$). This significant decrease in CAT enzyme activity was obtained in two acetaminophen groups treated with carbon tetrachloride extract, or essential oil compared to the control group ($p < 0.01$). Such a significant fall in CAT enzyme activity was not observed in other groups compared with the control. Also, a significant increase in the renal activity of CAT enzyme was observed in the acetaminophen groups treated with 70% ethanol ($p < 0.05$), 96% ethanol ($p < 0.05$), and chloroform ($p < 0.05$) extracts compared with the acetaminophen group. Such a statistically significant rise was not observed in the activity of CAT enzyme in other treated groups.

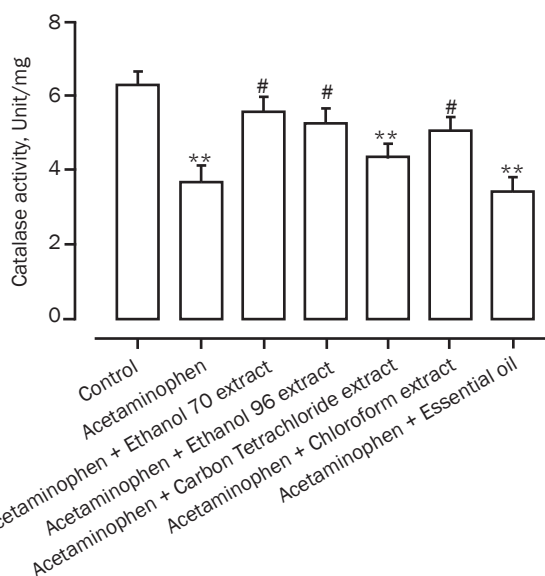


Fig. 5. Renal catalase enzyme activity in various groups:
 * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$
 (compared with the control group); # – $p < 0.05$,
 ## – $p < 0.01$ (compared with the acetaminophen group)

Рис. 5. Активность почечной каталазы в различных группах: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (по сравнению с контрольной группой); # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ (по сравнению с группой, принимавшей ацетаминофен)

Figure 6 shows the results of ALT enzyme activity in serum in different groups. As can be seen, in the acetaminophen group, there was a strong and significant rise ($p < 0.001$) compared with the control group. The same increase was obtained to a lesser extent in the acetaminophen groups treated with 70% ethanol, 96% ethanol, carbon tetrachloride, chloroform extracts, and essential oil compared with the control group. Also, in the three acetaminophen groups treated with 70% ethanol ($p < 0.01$), 96% ethanol ($p < 0.05$), and chloroform ($p < 0.05$) extracts, a significant fall in ALT activity was obtained compared with the acetaminophen group. Although the same reduction was present in the groups treated with carbon tetrachloride extract and essential oil, this reduction was not statistically significant compared with the acetaminophen group.

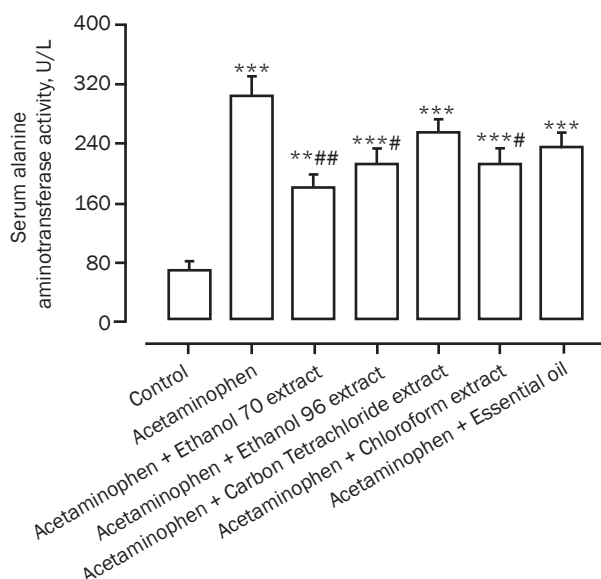


Fig. 6. Serum alanine aminotransferase activity in various groups: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ (compared with the control group); # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ (compared with the acetaminophen group)

Рис. 6. Активность сывороточной аланинаминотрансферазы в различных группах: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (по сравнению с контрольной группой); # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ (по сравнению с группой, принимавшей ацетаминофен)

Figure 7 shows the results of AST activity in serum in different groups. As it can be seen, in the acetaminophen group, a significant increase in the activity of the enzyme was obtained compared with the control group ($p < 0.001$). The same significant rise was obtained to a lesser extent in the acetaminophen groups treated with 70% ethanol, 96% ethanol, carbon tetrachloride, chloroform extracts, and essential oil compared with the control group. On the other hand, in the acetaminophen groups treated with 70% ethanol ($p < 0.01$), 96% ethanol ($p < 0.01$), carbon tetrachloride ($p < 0.05$), and chloroform ($p < 0.01$) extracts, there was a significant fall in the activity of this enzyme compared with the acetaminophen group. Also, in the acetaminophen group treated with essential oil, although a fall in enzyme activity was observed compared with the acetaminophen group, this decrease was not statistically significant.

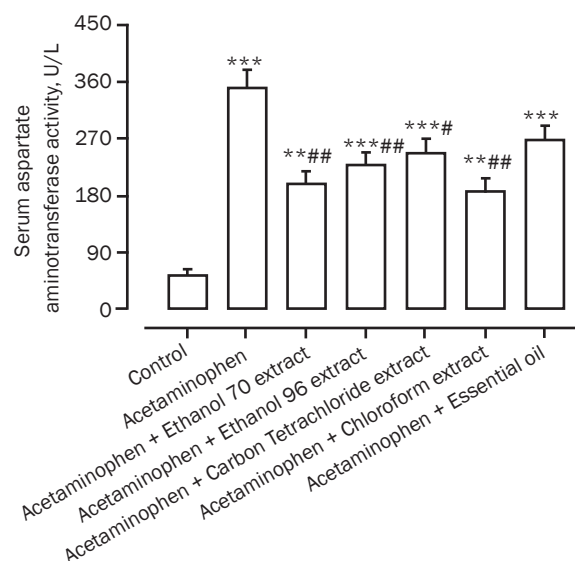


Fig. 7. Serum aspartate aminotransferase activity in various groups: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ (compared with the control group); # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ (compared with the acetaminophen group)

Рис. 7. Активность сывороточной аспаратаминотрансферазы в различных группах: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (по сравнению с контрольной группой); # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ (по сравнению с группой, принимавшей ацетаминофен)

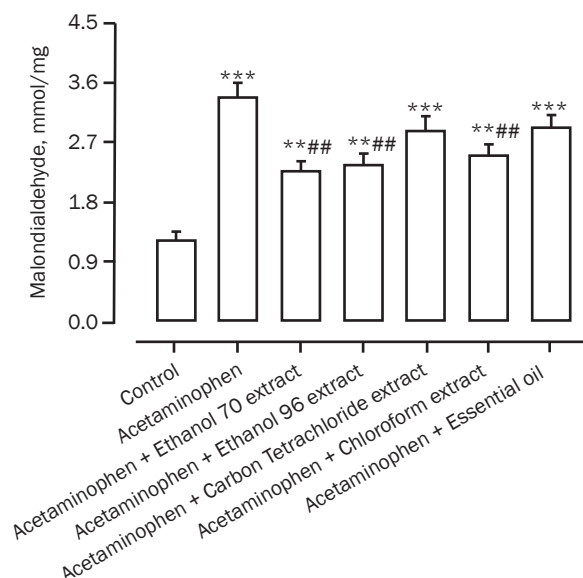


Fig. 8. Liver malondialdehyde levels in various groups: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ (compared with the control group); # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ (compared with the acetaminophen group)

Рис. 8. Уровень малонового диальдегида в печени в различных группах: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (по сравнению с контрольной группой); # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ (по сравнению с группой, принимавшей ацетаминофен)

Figure 8 shows the level of MDA in liver tissue as an index of lipid peroxidation and oxidative stress in different groups. As it is shown in the acetaminophen group, there is a strong and significant rise in MDA compared with the control group ($p < 0.001$). This significant increase was observed in the acetaminophen groups treated with 70% ethanol, 96% ethanol, carbon tetrachloride, chloroform, and essential oil extracts compared with the control group. Also, in the acetaminophen groups treated with 70% ethanol ($p < 0.01$), 96% ethanol ($p < 0.01$), and chloroform ($p < 0.01$) extracts, a statistically significant fall in MDA was obtained compared with the acetaminophen group. In addition, the reduction of MDA in two acetaminophen groups treated with carbon tetrachloride extract ($p < 0.05$) as well as essential oil ($p < 0.05$) was not significant.

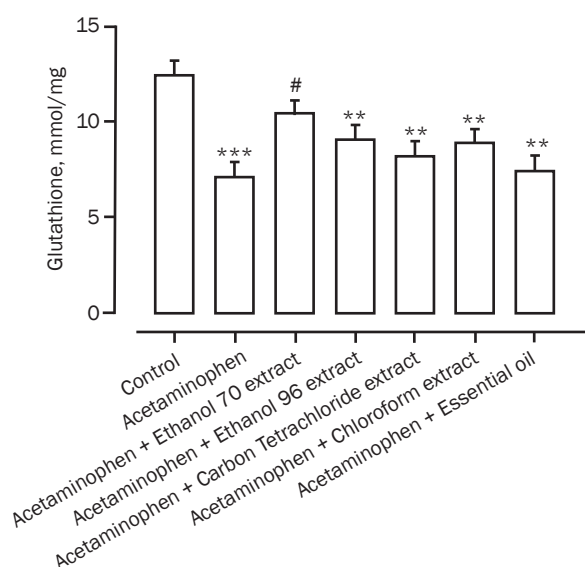


Fig. 9. Liver glutathione levels in various groups: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ (compared with the control group); # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ (compared with the acetaminophen group)

Рис. 9. Уровень глутатиона в печени в различных группах: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (по сравнению с контрольной группой); # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ (по сравнению с группой, принимавшей ацетаминофен)

Figure 9 shows the results of the amount of GSH in liver tissue homogenate in different groups. As can be seen, in the acetaminophen group, a strong and significant fall of this parameter was obtained compared with the control group ($p < 0.001$). Also, such a significant decrease was observed in acetaminophen groups treated with 96% ethanol ($p < 0.01$), carbon tetrachloride ($p < 0.01$), chloroform ($p < 0.01$) extracts, and essential oil ($p < 0.01$) as compared with the control group. On the other hand, a significant increase in the liver level of GSH was obtained only in the acetaminophen group treated with 70% ethanol extract compared with the acetaminophen group ($p < 0.05$), and such a significant rise was not obtained in other treated acetaminophen groups.

Figure 10 shows the results of CAT enzyme activity in liver tissue homogenate in different groups. As can be seen,

in the acetaminophen group, a significant decrease in the activity of the enzyme was obtained compared with the control group ($p < 0.01$). The same significant decrease in CAT enzyme activity was observed in acetaminophen groups treated with carbon tetrachloride ($p < 0.01$), chloroform ($p < 0.05$) extracts, and essential oil ($p < 0.01$) compared with the control group. On the other hand, a significant increase in CAT enzyme activity was obtained only in the two acetaminophen groups treated with 70% ($p < 0.05$) and 96% ethanol extracts ($p < 0.05$) compared with the acetaminophen group, and this increase in enzyme activity in other treated acetaminophen groups was not statistically significant.

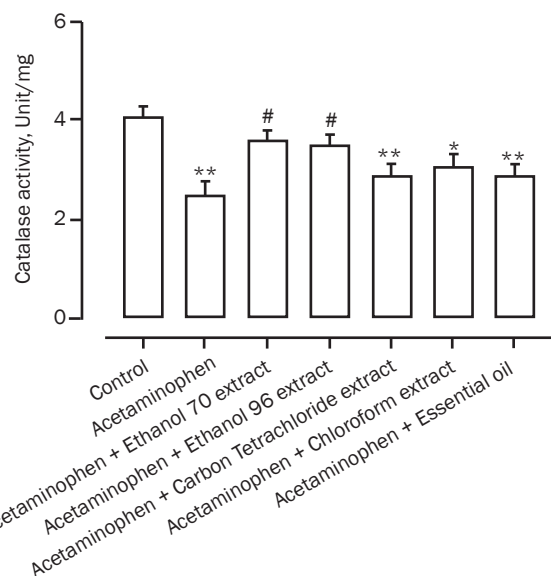


Fig. 10. Catalase enzyme activity in liver tissue homogenate in various groups: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ (compared with the control group); # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ (compared with the acetaminophen group)

Рис. 10. Активность каталазы в печени в различных группах: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (по сравнению с контрольной группой); # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ (по сравнению с группой, принимавшей ацетаминофен)

Kidney is the most vital part of the body which malfunctions and leads to serious illness and even death. Two main and important functions of the kidney include the elimination of toxins and waste materials, as well as the control of water levels, mineral and chemical substances in the body, and electrolytes such as sodium and potassium [26].

The level of kidney function is determined by measuring blood urea and creatinine because these two substances are naturally excreted from the kidneys. Therefore, an increase in blood urea and creatinine indicates a decrease in kidney function, which can be very harmful. In acute kidney injury, early diagnosis is essential for successful treatment [27].

Old biomarkers for diagnosing kidney damage are non-specific and can be detected only after at least 24 hours after the onset of kidney damage. Therefore, the need for new biomarkers that are non-invasive, quick and easy,

and have high sensitivity and diagnostic specificity is very much felt [28].

According to the outcomes of GC-MS data (see Table), different extracts and essential oil of sage are rich in monoterpene compounds, which have been mentioned in several articles for their antioxidant and oxidative stress-reducing properties [29]. By comparing the results for different extracts, it was found that carbon tetrachloride and chloroform solvents showed better performance in extracting monoterpene compounds compared with 70 and 96% of ethanol solvents. Also, sage essential oil has the highest extraction rate of these compounds compared with other solvents.

Also, the results of pharmacology tests showed that carbon tetrachloride and chloroform extracts performed better than hydroalcoholic extract and essential oil for the treatment of kidney damage caused by acetaminophen in laboratory mice.

The liver is also known as another important organ due to its vital role in the body. The use of medicinal plants in the treatment of liver diseases is of particular importance [30]. Liver damage caused by drugs is one of the main causes of death in the world and is a serious concern. Acetaminophen is known as a widely used drug that is safe in therapeutic doses, but in high doses, it causes disruption of mitochondrial function and causes liver necrosis [1].

The toxic metabolite *N*-acetyl-*P*-benzoquinone imine, which is created through cytochrome P450, reduces GSH reserves in the liver, and the secondary toxic metabolite binds to protein and causes liver necrosis and can lead to oxidative stress and mitochondrial damage. To evaluate liver damage, blood tests and measurement of liver biomarkers are the priority for identifying and monitoring liver damage. ALT and AST enzyme activities are analyzed as indicators

of liver cell damage and ALP enzyme activity is analyzed to evaluate cholestatic damage [31, 32]. Therefore, in the current study, important biomarkers in the evaluation of liver damage were analyzed.

In the present study, liver enzymes in the blood of laboratory mice increased after receiving a toxic dose of acetaminophen. Also, the level of MDA, which is an index of lipid peroxidation and indicates oxidative stress in the body, increased with acetaminophen poisoning in the blood. The amount of CAT enzyme is also one of the first and most important antioxidant enzymes that plays a role in the direct reduction of active oxygen metabolites and indicates liver disease. An increase in nitrogen and reactive oxygen species is caused by excessive consumption of acetaminophen and causes oxidative activity and, as a result, cell necrosis in the liver tissue [33].

With the administration of sage leaves extracts, liver markers have decreased. The results of pharmacology tests illustrated that extracts of 70% ethanol, 96% ethanol, chloroform, and essential oil had the greatest protective effects in the model of acute liver damage induced by acetaminophen in laboratory mice because it is rich in biological compounds which have therapeutic activities in liver diseases.

CONCLUSIONS

Since the solvent plays an important role in the extraction and separation of active medicinal substances in plants, in this research, the extraction procedure was performed by different solvents in terms of polarity. It can be concluded that chloroformic and carbon tetrachloride extracts of *S. officinalis* had the best effects for protecting against kidney injury, while for liver injury, chloroformic, ethanolic, and hydroethanolic extracts had the best. Although the underlying mechanism remains unclear.

REFERENCES

1. Qin J., Ma Y., Wang C., Li H., Zou Z., Zhang Y., et al. Effects of carnosine combined with *Lactobacillus* on the antioxidant capacity of liver and kidney in normal or stressed mice. *Food Bioscience*. 2024;59:103904. DOI: 10.1016/j.fbio.2024.103904.
2. Zheng X., Li S., Wang K., Wang Z., Li J., Yang Q., et al. Comparing the pharmacological effects of the prepared folium of *Epimedium brevicornu* Maxim. and *Epimedium sagittatum* Maxim. on kidney-Yang deficiency syndrome and liver injury complications. *Fitoterapia*. 2024;176:106006. DOI: 10.1016/j.fitote.2024.106006.
3. Li D.-D., Li W.-J., Kong S.-Z., Li S.-D., Guo J.-Q., Guo M.-H., et al. Protective effects of collagen polypeptide from tilapia skin against injuries to the liver and kidneys of mice induced by D-galactose. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019;117:109204. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109204.
4. Jaffri J.M., Mohamed S., Ahmad I.N., Mustapha N.M., Manap Y.A., Rohimi N. Effects of catechin-rich oil palm leaf extract on normal and hypertensive rats' kidney and liver. *Food Chemistry*. 2011;128(2):433-441. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.03.050.
5. Lafhal K., Sabir E., Elkhiat A., Hammoud M., Makbal R., Ezoubeiri A., et al. *Rosa damascena* Mill attenuated the liver and kidneys injuries in copper-overloaded mice. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2021;132(2):S61. DOI: 10.1016/j.ymgme.2020.12.137.
6. Ghorbani A., Esmaeilzadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2017;7(4):433-440. DOI: 10.1016/j.jtcme.2016.12.014.
7. Walker J.B., Sytsma K.J., Treutlein J., Wink M. *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*. 2004;91(7):1115-1125. DOI: 10.3732/ajb.91.7.1115.
8. Rasmy N.M., Hassan A.A., Foda M.I., El-Moghazy M.M. Assessment of the antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) extracts on the shelf life of mayonnaise. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. 2012;7(1):28-40.
9. Fawzi M., Kadhemi Z., Farhan S. Anti-inflammatory effect of sage (*Salvia officinalis*) extracts on oral health. *Iraqi Dental Journal*. 2017;39(1):1-6. DOI: 10.26477/ijdv.39i1.111.
10. Monsefi M., Abedian M., Azarbahram Z., Ashraf M.J. *Salvia officinalis* induces alveolar bud growing in adult female rat mammary glands. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 2015;5(6):560-567. DOI: 10.22038/ajp.2015.4638.
11. Akhondzadeh S., Noroozian M., Mohammadi M., Oshadnia S., Jamshidi A.H., Khani M. *Salvia officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double-blind, randomized and placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 2003;28:53-59. DOI: 10.1046/j.1365-2710.2003.00463.x.

- 12.** Stanojević D., Čomić L., Stefanovic O., Solujić-Sukdolac S. *In vitro* synergistic antibacterial activity of *Salvia officinalis* L. and some preservatives. *Archives of Biological Sciences*. 2010;62(1):175-183. DOI: 10.2298/ABS1001167S.
- 13.** Jedinák A., Mučková M., Košťálová D., Maliar T., Mašterová I. Antiprotease and antimetastatic activity of ursolic acid isolated from *Salvia officinalis*. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2014;61(11-12):777-782. DOI: 10.1515/znc-2006-11-1203.
- 14.** Jedidi S., Rtibi K., Selmi S., Aloui F., Selmi H., Wannes D., et al. Phytochemical/antioxidant properties and individual/synergistic actions of *Salvia officinalis* L. aqueous extract and loperamide on gastrointestinal altering motor function. *Journal of Medicinal Food*. 2019;22(12):1235-1245. DOI: 10.1089/jmf.2019.0051.
- 15.** Jedidi S., Aloui F., Rtibi K., Sammari H., Selmi H., Rejeb A., et al. Individual and synergistic protective properties of *Salvia officinalis* decoction extract and sulfasalazine against ethanol-induced gastric and small bowel injuries. *RSC Advances*. 2020;10(59):35998-36013. DOI: 10.1039/D0RA03265D.
- 16.** Koubaa-Ghorbel F., Chaâbane M., Turki M., Makni-Ayadi F., El Feki A. The protective effects of *Salvia officinalis* essential oil compared to simvastatin against hyperlipidemia, liver, and kidney injuries in mice submitted to a high-fat diet. *Journal of Food Biochemistry*. 2020;44(4):e13160. DOI: 10.1111/jfbc.13160.
- 17.** Amraoui W., Adjabi N., Bououza F., Boumendjel M., Taibi F., Boumendjel A., et al. Modulatory role of selenium and vitamin E, natural antioxidants, against bisphenol A-induced oxidative stress in Wistar albinos rats. *Toxicological Research*. 2018;34:231-239. DOI: 10.5487/tr.2018.34.3.231.
- 18.** Chandorkar N., Tambe S., Amin P., Madankar C. A systematic and comprehensive review on current understanding of the pharmacological actions, molecular mechanisms, and clinical implications of the genus *Eucalyptus*. *Phytomedicine Plus*. 2021;1(4):100089. DOI: 10.1016/j.phyplu.2021.100089.
- 19.** Zámbořině Németh É., Nguyen H.T. Thujone, a widely debated volatile compound: what do we know about it? *Phytochemistry Reviews*. 2020;19:405-423. DOI: 10.1007/s11101-020-09671-y.
- 20.** Chebbac K., Moussaoui A.E.L., Bourhia M., Salamatullah A.M., Alzahrani A., Guemmouh R. Chemical analysis and antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from *Artemisia negrei* L. against drug-resistant microbes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021;5902851. DOI: 10.1155/2021/5902851.
- 21.** Dew S.E., Wardlaw S.A., Ong D.E. Effects of pharmacological retinoids on several vitamin A-metabolizing enzymes. *Cancer Research*. 1993;53(13):2965-2969.
- 22.** Trevizan L.N.F., do Nascimento K.F., Santos J.A., Liete Kassuya C.A., Lima Cardoso C.A., do Carmo Vieira M., et al. Anti-inflammatory, antioxidant, and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of viridiflorol: the major constituent of *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Radlk. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016;192:510-515. DOI: 10.1016/j.jep.2016.08.053.
- 23.** Du Q., Xin H., Peng C. Pharmacology and phytochemistry of the *Nitraria* genus (review). *Molecular Medicine Reports*. 2015;11(1):11-20. DOI: 10.3892/mmr.2014.2677.
- 24.** Jeong J.B., Hong S.C., Jeong H.J., Koo J.S. Anti-inflammatory effect of 2-methoxy-4-vinylphenol via the suppression of NF-κB and MAPK activation, and acetylation of histone H3. *Archives of Pharmacol Research*. 2011;34:2109-2116. DOI: 10.1007/s12272-011-1214-9.
- 25.** Verma A., Joshi S., Singh D. Imidazole: having versatile biological activities. *Journal of Chemistry*. 2013;2013:329412. DOI: 10.1155/2013/329412.
- 26.** Morovvati H., Armand N. Investigate the effect of alcoholic extract of bulbs of narcissus (*Narcissus tazetta* L.) on indexes of renal function. *Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences*. 2020;24(1):56-62. (In Arabic).
- 27.** Hou G., Surhio M.M., Ye H., Gao X., Ye Z., Li J., et al. Protective effects of a Lachnum polysaccharide against liver and kidney injury induced by lead exposure in mice. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;124:716-723. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.133.
- 28.** Mohamadi Yarijani Z., Najafi H. Kidney injury in COVID-19 patients, drug development and their renal complications: review study. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021;142:111966. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111966.
- 29.** Sheng M.-Y., Peng D.-W., Peng H.-M., Zhang Y.-L., Xiao L., Zhang M.-R., et al. Effective substances and molecular mechanisms guided by network pharmacology: an example study of *Scrophulariae Radix* treatment of hyperthyroidism and thyroid hormone-induced liver and kidney injuries. *Journal of Ethnopharmacology*. 2024;326:117965. DOI: 10.1016/j.jep.2024.117965.
- 30.** Hao R., Ge J., Ren Y., Song X., Jiang Y., Sun-Waterhouse D., et al. Caffeic acid phenethyl ester mitigates cadmium-induced hepatotoxicity in mice: Role of miR-182-5p/TLR4 axis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021;207:111578. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111578.
- 31.** Aithal G.P., Watkins P.B., Andrade R.J., Larrey D., Molokhia M., Takikawa H., et al. Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2011;89(6):806-815. DOI: 10.1038/clpt.2011.58.
- 32.** Saito C., Zwingmann C., Jaeschke H. Novel mechanisms of protection against acetaminophen hepatotoxicity in mice by glutathione and *N*-acetylcysteine. *Hepatology*. 2010;51(1):246-254. DOI: 10.1002/hep.23267.
- 33.** He X., Peng X., Zhang S., Yang T., Huo J., Zhang Y. Hepatoprotective effect of diammonium glycyrrhizinate and neuroprotective effect of piperazine ferulate on AmB-induced liver and kidney injury by suppressing apoptosis *in vitro* and *in vivo*. *Toxicon*. 2024;246:107795. DOI: 10.1016/j.toxicon.2024.107795.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Seyed Ali Sobhanian,

Dr. Sci. (Pharmacy), Associate Professor,
Department of Medicinal Chemistry, TeMS.C.,
Islamic Azad University,
Zargandeh, Dr. Shariati St., Tehran,
1949635881, Iran,
✉ s.alisobhanian@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0004-5348-080X>

Abbas Ahmadi,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Department of Chemistry, Ka.C.,
Islamic Azad University,
Amir al-Momenin Complex, Esteghlal Blvd., Karaj,
3149968111, Iran,
abbasahmadi3957@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4813-2876>

Mehrdad Roghani,

Dr. Sci. (Physiology), Professor,
Neurophysiology Research Center,
Shahed University,
1471, North Kargar Ave., Tehran,
3319118651, Iran,
mehjour@yahoo.com
<https://orcid.org/0000-0002-9209-8484>

Parinaz Hassanlo,

M. Sc., Assistant,
Department of Chemistry, Ka.C.,
Islamic Azad University,
Amir al-Momenin Complex, Esteghlal Blvd., Karaj,
3149968111, Iran,
Hassanloparinaz@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0004-9648-1482>

Shima Khamoushi,

M. Sc., Assistant,
Department of Chemistry, Ka.C.,
Islamic Azad University,
Amir al-Momenin Complex, Esteghlal Blvd., Karaj,
3149968111, Iran,
shima.khamoushi@tutamail.com
<https://orcid.org/0009-0005-5877-6906>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Собханян Сайед Али,

д.фарм.н., доцент,
Исламский университет Азад,
филиал медицинских наук в г. Тегеране,
1936893813, г. Тегеран, ул. доктора Шариати,
Зарганде, Иран,
✉ s.alisobhanian@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0004-5348-080X>

Ахмади Аббас,

д.х.н., профессор,
Исламский университет Азад,
филиал в г. Карадже, химический факультет,
3149968111, г. Карадж, Бульвар Эстеглаль,
Комплекс Амир аль-Моменин, Иран,
abbasahmadi3957@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4813-2876>

Рогани Мехрдад,

д.м.н., профессор,
Центр нейрофизиологических исследований,
Университет Шахед,
3319118651, г. Тегеран, пр. Северный
Каргар, 1471, Иран,
mehjour@yahoo.com
<https://orcid.org/0000-0002-9209-8484>

Хассанло Париназ,

магистр, ассистент,
Исламский университет Азад,
филиал в г. Карадже, химический факультет,
3149968111, г. Карадж, Бульвар Эстеглаль,
Комплекс Амир аль-Моменин, Иран,
Hassanloparinaz@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0004-9648-1482>

Хамуши Шима,

магистр, ассистент,
Исламский университет Азад,
филиал в г. Карадже, химический факультет,
3149968111, г. Карадж, Бульвар Эстеглаль,
Комплекс Амир аль-Моменин, Иран,
shima.khamoushi@tutamail.com
<https://orcid.org/0009-0005-5877-6906>

Contribution of the authors

Seyed Ali Sobhanian – conceptualization, methodology, investigation, project administration, supervision, validation, visualization, writing – original draft, editing.
Abbas Ahmadi – conceptualization, methodology, investigation, supervision, validation, visualization, writing – original draft, editing.
Mehrdad Roghani – conceptualization, methodology, formal analysis, investigation, software, supervision, validation, visualization, writing – original draft, editing.
Parinaz Hassanlo – data curation, formal analysis, investigation, resources, software.
Shima Khamoushi – data curation, formal analysis, investigation, resources, software.

Вклад авторов

С.А. Собханян – разработка концепции, разработка методологии, проведение исследования, административное руководство исследовательским проектом, научное руководство, валидация результатов, визуализация, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
А. Ахмади – разработка концепции, разработка методологии, проведение исследования, научное руководство, валидация результатов, визуализация, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
М. Рогани – разработка концепции, разработка методологии, формальный анализ, проведение исследования, разработка программного обеспечения, научное руководство, валидация результатов, визуализация, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
П. Хассанло – курирование данных, формальный анализ, проведение исследования, предоставление ресурсов, разработка программного обеспечения.
Ш. Хамуши – курирование данных, формальный анализ, проведение исследования, предоставление ресурсов, разработка программного обеспечения.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Information about the article

*The article was submitted 07.06.2025.
Approved after reviewing 05.09.2025.
Accepted for publication 22.10.2025.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 07.06.2025.
Одобрена после рецензирования 05.09.2025.
Принята к публикации 22.10.2025.*



Влияние ультразвуковой обработки бересты на выход бетулина при экстракции из *Betula*

Х. Сюй, Ю.Г. Базарнова, А.А. Балабаев✉

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Аннотация. Бетулин представляет собой природное пентациклическое тритерпеноидное соединение, обладающее широким спектром биологической активности. Промышленное использование бетулина в качестве фармацевтической субстанции требует решения нескольких ключевых задач – интенсификации процесса извлечения из растительного сырья и увеличения его биодоступности. Целью данной работы являлось исследование влияния предварительной ультразвуковой обработки измельченной бересты на эффективность последующей экстракции и характеристики целевого продукта. Результаты эксперимента показывают, что оптимизация мощности ультразвукового воздействия в диапазоне 250–300 Вт приводит к повышению выхода экстрактивных вещества до 37,0%, а после проведения этапа очистки от примесей выход кристаллического целевого продукта (бетулина) увеличивается на 14,9% по сравнению с контрольным образцом (без ультразвуковой обработки фитомассы), что в относительных величинах составляет превышение на 43%. Комплексный анализ чистоты полученного соединения (тонкослойная хроматография, инфракрасная спектроскопия, температура плавления 257–259 °С) подтвердил высокую эффективность предложенной методики очистки от сопутствующих примесей и сохранение структурной целостности целевого вещества. Таким образом, применение технологии жидкостной экстракции с ультразвуковой гомогенизацией фитомассы бересты позволяет увеличить выход целевого продукта с высокой степенью чистоты, а также сократить расход сырья и экстрагента. Указанные преимущества вносят существенный вклад в ресурсосбережение и обосновывают высокую технологическую и экономическую целесообразность масштабирования данного процесса.

Ключевые слова: бетулин, фитомасса бересты, ультразвуковая гомогенизация, жидкостная экстракция, перекристаллизация

Для цитирования: Сюй Х., Базарнова Ю.Г., Балабаев А.А. Влияние ультразвуковой обработки бересты на выход бетулина при экстракции из *Betula* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 487–494. DOI: 10.21285/achb.1013. EDN: HIAWFL.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Effect of ultrasonic treatment of birch bark on betulin yield in extraction from *Betula*

Huawei Xu, Julia G. Bazarnova, Alexey A. Balabaev✉

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Betulin is a natural pentacyclic triterpenoid compound exhibiting a wide range of biological activity. The industrial use of betulin as a pharmaceutical substance requires addressing several key issues, including intensification of extraction from plant raw materials and improvement of its bioavailability. The present study was aimed at examining the effect of preliminary ultrasonic treatment of crushed birch bark on the efficiency of subsequent extraction and the characteristics of the target product. The conducted experiment shows that

power optimization of ultrasonic treatment within the range of 250–300 W increases the yield of extractive substances to 37.0%; after the purification stage, the yield of the crystalline product (betulin) increases by 14.9% compared to the control sample (without ultrasonic treatment of phytomass), which in relative terms amounts to an excess of 43%. A comprehensive purity analysis of the obtained compound (thin-layer chromatography; infrared spectroscopy; melting temperatures of 257–259 °C) confirmed the high efficiency of the proposed purification method for removing related impurities and preserving the structural integrity of the target substance. Thus, the use of solvent extraction combined with the ultrasonic homogenization of birch bark phytomass increases the yield of the target high-purity product, as well as reducing the consumption of raw materials and extraction solvents. These advantages contribute significantly to efficient use of resources, which suggests that it is technologically and economically feasible to scale up this process.

Keywords: betulin, birch bark phytomass, ultrasonic homogenization, solvent extraction, recrystallization

For citation: Xu H., Bazarnova Ju.G., Balabaev A.A. Effect of ultrasonic treatment of birch bark on betulin yield in extraction from *Betula*. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):487-494. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1013. EDN: HIAWFL.

ВВЕДЕНИЕ

Бетулин ($C_{30}H_{50}O_2$) принадлежит к классу пентациклических тритерпеноидных соединений, его получают из наружного слоя коры (бересты) растений вида *Betula*, в которой содержание данного вещества может достигать 20–30% (рис. 1).

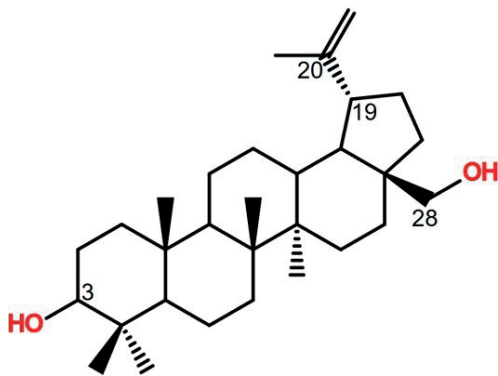


Рис. 1. Структура бетулина

Fig. 1. Structure of betulin

Изопропиловaя группа при C-19 углеродном атоме молекулы бетулина является ключевой для проявления молекулой биологической активности, эффективность которой может быть оптимизирована путем химической модификации.

In silico прогноз спектра биологической активности бетулина и бетулиновой кислоты подтвердил высокую вероятность противоопухолевой активности ($P_a > 70\%$) [1]. Проявление противоопухолевой активности бетулина определяется заместителями главным образом при C-3 и C-28 углеродных атомах лупанового скелета [2]. Результаты исследований, описанные в работе [3], подтвердили, что бетулин обладает широким спектром биологической активности, в том числе вызывает остановку цикла роста опухолевых клеток (фаза G1/S) и ингибирует пути синтеза белка, воздействуя на циклинзависимые киназы, способствует апоптозу и снижает окислительное повреждение и хроническое воспаление за счет ингибирования свободных радикалов. Производные бетулина, такие как бетулинимид, усиливают антиоксидантную активность молекулы за счет удлинения алкильной цепи, а их ингибирующая селективность по отношению к

клеткам рака молочной железы MCF-7 по сравнению с бетулином увеличивается в два раза [4].

При регуляции метаболических заболеваний бетулин ингибирует путь SREBP (англ.: sterol regulatory element-binding protein – фактор транскрипции, регулирующий процессы физиологического и патологического липидного метаболизма), снижает экспрессию генов синтеза холестерина и тем самым уменьшает инсулинорезистентность, индуцированную высокожировой диетой [5]. В модели диабета у крыс, индуцированной стрептозотоцином, бетулин дозозависимым образом (например, 50 мг/кг) способствует регенерации β -клеток поджелудочной железы и повышает секреторную способность инсулина, усиливая функцию поджелудочной железы, одновременно ингибируя фосфорилирование транскрипционного фактора NF- κ B, активируя путь HO-1/Nrf-2 и значительно улучшая клеточный антиоксидантный потенциал [6]. Авторы работы [7] сообщают, что бетулин и бетулиновая кислота могут действовать как агонисты ядерного рецептора PPAR- γ , увеличивать стимулированное инсулином поглощение глюкозы и усиливать фосфорилирование 5'АМФ-активируемой протеинкиназы в адипоцитах 3T3-L1.

С точки зрения противовоспалительного и антибактериального действия бетулином можно эффективно лечить артрит, острое повреждение печени и мастит, так как он ингибирует митохондриальную продукцию активных форм кислорода, вызванную липополисахаридом, активацию инфламмосомы NLRP3 и секрецию IL-1 β , блокирует ядерную транслокацию NF- κ B и облегчает нейровоспаление [8]. Авторы работ [9, 10] сообщают, что бетулиновая кислота ингибирует высвобождение опосредованных NF- κ B провоспалительных факторов (TNF- α , IL-6) путем снижения регуляции lncRNA MF12-AS1, облегчая воспалительное повреждение хондроцитов.

Минимальная ингибирующая концентрация бетулина для подавления роста *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* составляет 0,5 мг/мл, а механизм ингибирования включает разрушение целостности клеточных мембран бактерий [11].

Ученые из Китайской академии сельскохозяйственных наук обнаружили, что модуль PdaWRKY4-PdaCYP716A1 *Prunus persica* может специфически индуцировать синтез бетулина, оказывающего летальное действие на персиковую тлю (*Myzus persicae*) с уровнем летальности 92% [12], не причиняя вреда полезным насекомым. Бетулин применяется для модификации целлюлозных

пен с целью придания гидрофобности, огнестойкости и антимикробных свойств [13].

Область применения бетулина не ограничивается фармацевтикой и сельским хозяйством. Авторами исследований [14, 15] описан опыт использования бетулина, выделенного из *Betula pendula* Roth, в качестве многофункционального ингредиента в составе жиросодержащих продуктов. Результаты исследований, выполненные под руководством М.Н. Школьниковой [16], свидетельствуют, что бетулин является эффективным природным консервантом и антиоксидантом, что особенно актуально для стабилизации жиросодержащих продуктов без использования синтетических добавок.

В 2022 году объем рынка фармацевтических препаратов бетулина составил 150 млн долл. США, доля противоопухолевых препаратов в которых равнялась 40%.

Проблемы расширения сферы применения бетулина связаны с его низкой гидрофильностью (растворимость бетулина в воде при 37 °C составляет от 1 до 100 мкг/л) и необходимостью переработки коры и древесины после отделения бересты. Для решения этих проблем необходимо совершенствование технологий экстракции и повышение биодоступности бетулина путем очистки, химической модификации или создания нанолипосом [17]. Химическая модификация бетулина путем введения различных функциональных групп, таких как карбоксильные, гидроксильные, аминогруппы и т.д., способствует увеличению его растворимости [17]. Совместный проект Северо-Восточного лесного университета (г. Харбин, Китай) и Российской академии наук направлен на разработку комплекса циклопентадиенил иридий-бетулина, который позволил увеличить противоопухолевую активность препарата до $IC_{50} = 1,38$ мкМ [18], а его производные выявили эффективность против вируса ВИЧ-1 [19].

Целью настоящей работы являлось изучение влияния ультразвуковой обработки фитомассы бересты на эффективность извлечения бетулина и его характеристики.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Предварительная обработка сырья включала промывку бересты дистиллированной водой, высушивание

при 105 °C до содержания влаги менее 5%, измельчение с помощью дробилки и просеивание через сита для удаления частиц размером более 1 мм.

Полученную фитомассу подвергали обработке на ультразвуковом гомогенизаторе SCIENTZ-IIID (ООО «Вилитек», Россия) при частоте 40 кГц. Данный метод способствует дезинтеграции клеточной стенки, повышению ее проницаемости и обеспечивает более эффективное высвобождение бетулина из внутриклеточных структур [20]. Для этого фитомассу и растворитель изопропанол (х.ч.) смешивали в соотношении 1:30, полученную суспензию обрабатывали в течение 10 мин, варьируя мощность ультразвука от 100 до 300 Вт.

Полученный гомогенат помещали в экстракционную установку и осуществляли экстракцию при температуре 80 ± 2 °C в течение 1,5 ч. После завершения процесса шрот отделяли от экстракта на воронке Бюхнера и удаляли растворитель с использованием роторного испарителя LabTech EV311VAC (Ningbo Shunli, Ltd., Китай) при температуре 70 ± 2 °C и давлении 1×10^{-2} бар.

Полученный сухой экстракт бетулина перерастворяли в изопропанол в соотношении 1:40, добавляли 0,1 М гидроксид калия до достижения pH раствора 8–9, нагревали до 80 ± 2 °C и выдерживали 30 мин, затем охлаждали до 4 ± 2 °C и снова выдерживали в тех же условиях в течение 24 ч, после чего отделяли выпавшие кристаллы на воронке Бюхнера, высушивали при температуре 80 ± 2 °C и взвешивали.

Схема получения бетулина представлена на рис. 2. Температуру плавления сухого экстракта бетулина и продукта, полученного после его перекристаллизации, определяли на приборе ПТП-М (АО «ВНИИМС», Россия) [21]. Степень чистоты экстракта и кристаллов бетулина анализировали методом тонкослойной хроматографии на пластинах Sorbfil, используя в качестве подвижной фазы смесь толуола, этилацетата и ледяной уксусной кислоты (в соотношении 8,0:1,5:0,5) [22]. Растворимость сухого экстракта и кристаллов бетулина определяли при комнатной температуре. Спектральные характеристики сухого экстракта и кристаллов бетулина изучали на приборе ФСМ 2201 (ООО «Завод Эталон», Россия) в диапазоне волновых чисел 400–4000 см^{-1} [23].

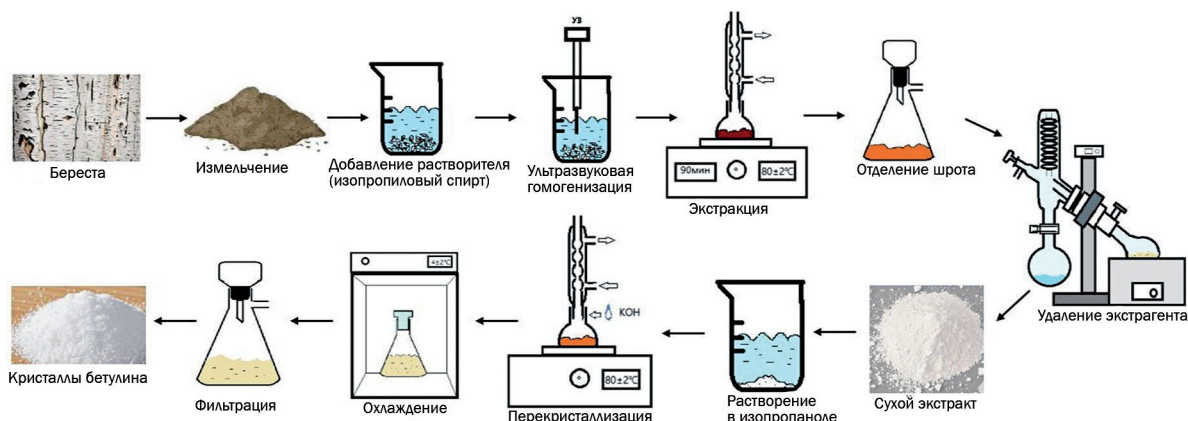


Рис. 2. Схема получения бетулина

Fig. 2. Scheme of obtaining betulin

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследования влияния мощности ультразвуковой обработки на выход полученных продуктов приведены на рис. 3.



Рис. 3. Влияние мощности ультразвуковой обработки на выход сухого экстракта и кристаллов бетулина

Fig. 3. Effect of ultrasound processing power on the yield of dry extract and betulin crystals

Полученные результаты свидетельствуют о том, что с увеличением мощности ультразвука выход сухого экстракта и кристаллов бетулина увеличивается. При увеличении мощности ультразвука до 250–300 Вт выход экстракта достигал 37%, а бетулина – 14,9% от массы сырья. Однако увеличение мощности ультразвука до 300 Вт приводит к сильному разогреву смеси, что может вызвать деструктивные изменения экстрагируемых веществ.

Физико-химические характеристики сухого экстракта и кристаллов бетулина приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Показатели температуры плавления и коэффициента удерживания сухого экстракта и кристаллов бетулина

Table 1. Melting point and retention coefficient of dry extract and betulin crystals

Характеристика	Сухой экстракт	Бетулин
Температура плавления, °C	235–254	257–259
Коэффициент удерживания	0,63*	–
	0,58	0,58

Примечание. * 0,63 – сопутствующие примеси в экстракте (бетулиновая кислота и ее структурные аналоги или продукты деградации).

Таблица 2. Растворимость сухого экстракта и кристаллов бетулина, мг/мл (22±1 °C)

Table 2. Solubility parameters of dry extract and betulin crystals, mg/ml (22±1 °C)

Растворитель	Сухой экстракт	Бетулин
Диметилсульфоксид	5,600	3,650
Ацетон	6,560	3,700
Этилацетат	2,270	0,940
Этанол	2,580	1,370
Вода	0,004	более 0,001

Широкий диапазон температуры плавления полученного экстракта свидетельствует о наличии множества примесей. Температура плавления кристаллов бетулина составила 257–259 °C, что соответствует температуре плавления бетулина [21] и указывает на высокую степень чистоты кристаллов.

Результаты, полученные методом препаративной тонкослойной хроматографии экстракта, выявили две хорошо разделенные зоны, что доказывает наличие по крайней мере двух химических компонентов. Напротив, для кристаллов бетулина выявлена только одна четкая зона, что подтверждает отсутствие примесей.

В результате изучения растворимости полученных продуктов выявлено, что кристаллический бетулин имеет более низкую растворимость в воде и органических растворителях по сравнению с экстрактом. Данный факт соответствует литературным данным [24].

На рис. 4 представлены инфракрасные спектры экстракта бетулина и кристаллов бетулина.

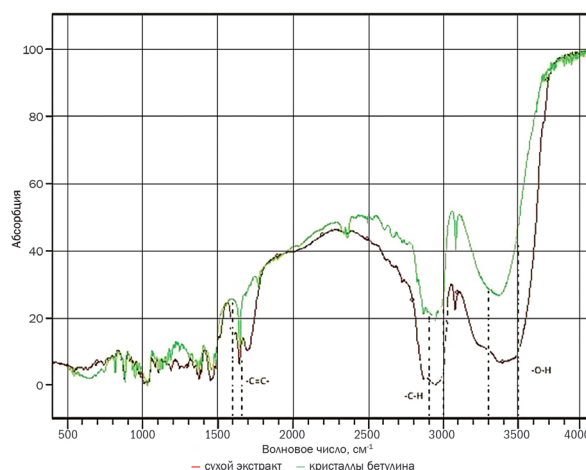


Рис. 4. Инфракрасные спектры полученного сухого экстракта и кристаллов бетулина

Fig. 4. Infrared spectra of the obtained dry extract and betulin crystals

На спектральных профилях экстракта и кристаллов бетулина в диапазоне 3300–3500 см⁻¹ наблюдаются выраженные полосы поглощения, относящиеся к валентным колебаниям связи -O-H, что соответствует структуре молекулы бетулина, который представляет собой пентациклический тритерпеновый спирт.

Кроме того, регистрировались интенсивные полосы поглощения при 2900–3000 см⁻¹, характеризующие валентные колебания метиленовой (-CH₂-) и метильной (-CH₃) групп, которые подтверждают наличие алкильных структур. Дополнительно регистрируется максимум поглощения умеренной интенсивности при 1600–1650 см⁻¹, что соответствует валентным колебаниям изолированной двойной связи между атомами углерода изопренильной группы (>C=CH₂) в молекулярной структуре бетулина.

В спектре экстракта отмечен выраженный максимум интенсивности полос поглощения при 1700–1750 см⁻¹, который указывает на присутствие валентных колебаний карбонильной группы (C=O). Это может быть связано с присутствием продуктов окисления, например производных карбоновых кислот (бетулиновая кислота) или остаточных карбонилсодержащих растворителей, что согласуется с характеристиками спектра примесей сухих экстрактов в литературе [20]. При этом в спектре кристаллов бетулина данный максимум интенсивности полос поглощения отсутствует.

Таким образом, полученные характеристики экстракта и кристаллов бетулина свидетельствуют, что процесс

ультразвуковой гомогенизации фитомассы позволяет повысить экстрактивный выход бетулина. Однократная перекристаллизация эффективно удаляет основные примеси, что повышает степень чистоты продукта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бетулин – природное пентациклическое тритерпеноидное соединение с широким спектром биологической активности. Его применение для производства фармацевтических субстанций связано с проблемами повышения эффективности извлечения из растительного сырья и увеличения биодоступности.

В этой работе изучено влияние мощности ультразвуковой обработки фитомассы бересты (от 100 до 300 Вт) на эффективность извлечения бетулина методом жидкостной экстракции. Эксперимент показал, что с увеличением мощности ультразвука выход целевого продукта увеличивается – видимо, за счет фрагментации клеточной стенки. В то же время при повышении мощности ультразвука до 250–300 Вт выход экстракта достигает 37,0%, а после удаления примесей выход кристаллов бетулина увеличивается на 14,9%, что на 43% выше, чем в контрольном образце (без ультразвуковой обработки фитомассы). Установлено, что повышение мощности ультразвука до 300 Вт приводит к перегреву смеси, что способствует образованию окрашенных продуктов окисления.

Анализ чистоты экстракта и кристаллов бетулина подтвердил, что температура плавления перекристаллизованного продукта составила 257–259 °С, что соответствует литературным данным. Анализ бетулина методом тонкослойной хроматографии выявил наличие одного компонента, а инфракрасный спектр кристаллов бетулина – все характеристические полосы поглощения: широкую полосу связи O–H (3340 см^{-1}), интенсивные валентные колебания алкильных связей (2920 см^{-1} и 2850 см^{-1}), а также связи C=C (1640 см^{-1}). При этом отсутствие выраженной интенсивности сигнала колебаний карбонильной группы C=O ($1700\text{--}1750\text{ см}^{-1}$) доказывает эффективное удаление окисленных примесей в процессе перекристаллизации бетулина из экстракта.

Таким образом, применение технологии жидкостной экстракции с ультразвуковой гомогенизацией фитомассы бересты при выбранной мощности ультразвука 250 Вт позволяет увеличить выход бетулина на 43% и упростить процедуру очистки продукта. Данный подход позволяет обеспечить ресурсосбережение при масштабировании процесса.

В перспективе также планируется разработка способов адресной доставки бетулина для улучшения его биодоступности и расширения возможности его применения для получения фармацевтических препаратов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Falamas A., Pinzaru S.C., Dehelean C., Peev C., Soica C. Betulin and its natural resource as potential anticancer drug candidate seen by FT-Raman and FT-IR spectroscopy // *Journal of Raman Spectroscopy*. 2011. Vol. 42, no. 1. P. 97–107. DOI: 10.1002/jrs.2658.
2. Воробьева О.А., Малыгина Д.С., Грубова Е.В., Мельникова Н.Б. Производные бетулина. Биологическая активность и повышение растворимости // *Химия растительного сырья*. 2019. N 4. С. 407–430. DOI: 10.14258/jcprm.2019045419. EDN: JWQQIC.
3. Ahmadu A.A., Delehouzé C., Haruna A., Mustapha L., Lawal B.A., Udobre A., et al. Betulin, a newly characterized compound in acacia auriculiformis bark, is a multi-target protein kinase inhibitor // *Molecules*. 2021. Vol. 26, no. 15. P. 4599. DOI: 10.3390/molecules26154599.
5. Tang J.-J., Li J.-G., Qi W., Qiu W.-W., Li P.-S., Li B.-L., et al. Inhibition of SREBP by betulin improves hyperlipidemia and insulin resistance // *Cell Metabolism*. 2011. Vol. 13, no. 1. P. 44–56. DOI: 10.1016/j.cmet.2010.12.004.
6. Adepoju F.O., Sokolova K.V., Gette I.F., Danilova I.G., Tsurkan M.V., Mondragon A.C., et al. Protective effect of betulin on Streptozotocin–Nicotinamide-Induced diabetes in female rats // *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. Vol. 25, no. 4. P. 2166. DOI: 10.3390/ijms25042166.
7. Ko B.-S., Kang S., Moon B.R., Ryuk J.A., Park S. A 70% ethanol extract of mistletoe rich in betulin, betulinic acid, and oleanolic acid potentiated β -cell function and mass and enhanced hepatic insulin sensitivity // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016. Vol. 2016. P. 1–13. DOI: 10.1155/2016/7836823.
8. Fu Z.H., Jiang Y., Liu J., Lin Z.H., Jin Y., Du S., et al. Inhibitory effect of betulin on lipopolysaccharide-induced microglial inflammatory response // *Chinese Journal of Immunology*. 2021. Vol. 37, no. 2. P. 128–133. DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20210019.
9. Zhang L., Ma Z., Wang R., Zhu M. Synthesis and characterization of methacrylate- functionalized betulin derivatives as antibacterial comonomer for dental restorative resins // *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2021. Vol. 7, no. 7. P. 3132–3140. DOI: 10.1021/acsbmaterials.1c00563.
10. Tuli H.S., Sak K., Gupta D.S., Kaur G., Aggarwal D., Parashar N.C., et al. Anti-inflammatory and anticancer properties of birch bark-derived betulin: recent developments // *Plants*. 2021. Vol. 10, no. 12. P. 2663. DOI: 10.3390/plants10122663.
11. Tao Y.W., Zhou H.D., Yu J. Protective effect of betulinic acid on osteoarthritis chondrocyte damage by regulating LncRNA MF12-AS1 // *Chinese Pharmacist*. 2022. Vol. 25, no. 1. P. 49–54. DOI: 10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2022.01.008.
12. Takibayeva A.T., Zhumabayeva G.K., Bakibaev A.A., Demets O.V., Lyapunova M.V., Mamaeva E.A., et al. Methods of analysis and identification of betulin and its derivatives // *Molecules*. 2023. Vol. 28, no. 16. P. 5946. DOI: 10.3390/molecules28165946.
13. Niu X., Zhu H., Mhatre S., Bi R., Ye Y., Rojas O.J. Betulin enables multifunctional cellulose-based insulative foams with low environmental impacts // *ACS Nano*. 2024. Vol. 18, no. 31. P. 20247–20257. DOI: 10.1021/acsnano.4c04011.
14. Аверьянова Е.В., Школьников М.Н., Чугунова О.В. Исследование антиоксидантных свойств тритерпеноидов в составе жиросодержащих продуктов // *Техника и технология пищевых производств*. 2022. Т. 52. N 2. С. 233–243. EDN: OZYTYK. DOI: 10.21603/2074-9414-2022-2-2358.
15. Аверьянова Е.В., Школьников М.Н. Повышение эффективности бетулинсодержащих пищевых ингредиентов из бересты березы повислой (*Betula Pendula*)

Roth.) в составе пищевых систем // Химия растительного сырья. 2022. N 4. С. 333–341. DOI: 10.14258/jcprm.20220411171. EDN: GGNJYT.

16. Школьников М.Н., Павлов И.Н., Аверьянова Е.В., Рожнов Е.Д., Чугунова О.В. Технологические аспекты переработки бересты в компонент пищевых систем для населения Арктики и Крайнего Севера // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2024. Т. 14. N 3. С. 371–382. DOI: 10.21285/achb.929. EDN: OWECVD.

17. Wang D.W., Meng T.C., Li X. Study on the screening of betulin nanoemulsion prescriptions and optimization of preparation process // Tianjin Traditional Chinese Medicine. 2025. Vol. 42, no. 4. P. 486–495.

18. Lv M., Zheng Y., Wu J., Shen Z., Guo B., Hu G., et al. Evoking ferroptosis by synergistic enhancement of a cyclopentadienyl iridium-betulin immune agonist // Angewandte Chemie International Edition. 2023. Vol. 62, no. 48. P. e202312897. DOI: 10.1002/anie.202312897.

19. Adepoju F.O., Duru K.C., Li E., Kovaleva E.G., Tsurkan M.V. Pharmacological potential of betulin as a multitarget compound // Biomolecules. 2023. Vol. 13, no. 7. P. 1105. DOI: 10.3390/biom13071105.

20. Patent no. 200580026510.3, People's Republic of China. Method and apparatus for comprehensive utilization of microalgae with ultrasonic cell wall disruption /

X. Wang, L. Huang, Y. Li, G. Li. Publ. 18.06.2008.

21. Логинов А.Г., Филиппова К.П., Клинов В.В. Повышение точности проведения эксперимента на приборе ПТП // Дни науки – 2017: тезисы докл. конф. (г. Самара, 3–7 апреля 2017 г.). Самара: Изд-во СамГТУ, 2017. С. 172–173. EDN: ZWVTJX.

22. Robert S.M.J., Aeri V. Development and validation of a high-performance thin-layer chromatography method for simultaneous estimation of α -Amyrin, Betulin and β -Sitosterin in *Leptadenia reticulata* and *Marsdenia tenacissima* // Separation Science Plus. 2024. Vol. 7, no. 2. P. 2300092. DOI: 10.1002/sscp.202300092.

23. Сюй Х., Базарнова Ю.Г. PASS Online-прогнозирование фармакологических эффектов производных бетулина // Биотех – 2024: тезисы докл. Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (г. Санкт-Петербург, 16–19 апреля 2024 г.). СПб.: Политех-Пресс, 2024. С. 23.

24. Кузнецова С.А., Скворцова Г.П., Мальяр Ю.Н., Скурыдина Е.С., Веселова О.Ф. Выделение бетулина из бересты березы и изучение его физико-химических и фармакологических свойств // Химия растительного сырья. 2013. N 2. С. 93–100. EDN: RCYKPV.

REFERENCES

1. Falamas A., Pinzaru S.C., Dehelean C., Peev C., Soica C. Betulin and its natural resource as potential anticancer drug candidate seen by FT-Raman and FT-IR spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*. 2011;42(1):97-107. DOI: 10.1002/jrs.2658.

2. Vorobyeva O.A., Malygina D.S., Grubova E.V., Melnikova N.B. Betulin derivatives. biological activity and solubility improvement. *Chemistry of plant raw material*. 2019;4:407-430. (In Russian). DOI: 10.14258/jcprm.2019045419. EDN: JWQQIC.

3. Ahmadu A.A., Delehouzé C., Haruna A., Mustapha L., Lawal B.A., Udobre A., et al. Betulin, a newly characterized compound in acacia auriculiformis bark, is a multi-target protein kinase inhibitor. *Molecules*. 2021;26(15):4599. DOI: 10.3390/molecules26154599.

4. Iftime M.-M., Ailiesei G.L., Shova S., Miron C., Tanaka H., Hori M., et al. New betulin imine derivatives with antioxidant and selective antitumor activity. *New Journal of Chemistry*. 2023;47(35):16551-16563. DOI: D3NJ02738D.

5. Tang J.-J., Li J.-G., Qi W., Qiu W.-W., Li P.-S., Li B.-L., et al. Inhibition of SREBP by betulin improves hyperlipidemia and insulin resistance. *Cell Metabolism*. 2011;13(1):44-56. DOI: 10.1016/j.cmet.2010.12.004.

6. Adepoju F.O., Sokolova K.V., Gette I.F., Danilova I.G., Tsurkan M.V., Mondragon A.C., et al. Protective effect of betulin on Streptozotocin–Nicotinamide-Induced diabetes in female rats. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(4):2166. DOI: 10.3390/ijms25042166.

7. Ko B.-S., Kang S., Moon B.R., Ryuk J.A., Park S. A 70% ethanol extract of mistletoe rich in betulin, betulinic acid, and oleanolic acid potentiated β -cell function and mass and enhanced hepatic insulin sensitivity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016;2016:1-13. DOI: 10.1155/2016/7836823.

8. Fu Z.H., Jiang Y., Liu J., Lin Z.H., Jin Y., Du S., et al. Inhibitory effect of betulin on lipopolysaccharide-induced microglial inflammatory response. *Chinese Journal of Immunology*. 2021;37(2):128-133. (In Chinese). DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20210019.

9. Zhang L., Ma Z., Wang R., Zhu M. Synthesis and characterization of methacrylate-functionalized betulin derivatives as antibacterial comonomer for dental restorative resins. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2021;7(7):3132-3140. DOI: 10.1021/acsbmaterials.1c00563.

10. Tuli H.S., Sak K., Gupta D.S., Kaur G., Aggarwal D., Parashar N.C., et al. Anti-inflammatory and anticancer properties of birch bark-derived betulin: recent developments. *Plants*. 2021;10(12):2663. DOI: 10.3390/plants10122663.

11. Tao Y.W., Zhou H.D., Yu J. Protective effect of betulinic acid on osteoarthritis chondrocyte damage by regulating lncRNA MF12-AS1. *Chinese Pharmacist*. 2022;25(1):49-54. (In Chinese). DOI: 10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2022.01.008.

12. Takibayeva A.T., Zhumabayeva G.K., Bakibaev A.A., Demets O.V., Lyapunova M.V., Mamaeva E.A., et al. Methods of analysis and identification of betulin and its derivatives. *Molecules*. 2023;28(16):5946. DOI: 10.3390/molecules28165946.

13. Niu X., Zhu H., Mhatre S., Bi R., Ye Y., Rojas O.J. Betulin enables multifunctional cellulose-based insulative foams with low environmental impacts. *ACS Nano*. 2024;18(31):20247-20257. DOI: 10.1021/acsnano.4c04011.

14. Averyanova E.V., Shkolnikova M.N., Chugunova O.V. Antioxidant properties of triterpenoids in fat-containing products. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(2):233-243. (In Russian). EDN: OZYTYK. DOI: 10.21603/2074-9414-2022-2-2358.

15. Averyanova E.V., Shkolnikova M.N. Improving the efficiency of betulin-containing food ingredients from silver birch (*Betula pendula* Roth.) in food systems. *Chemistry of plant raw materials*. 2022;4:333-341. (In Russian). DOI: 10.14258/jcprm.20220411171. EDN: GGNJYT.

16. Shkolnikova M.N., Pavlov I.N., Averyanova E.V., Rozhnov E.D., Chugunova O.V. Technological aspects of birch bark processing into a component of food systems for the population of the Arctic and the Far North. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(3):371-382. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.929. EDN: OWECVD.

17. Wang D.W., Meng T.C., Li X. Study on the screening of betulin nanoemulsion prescriptions and optimization of preparation process. *Tianjin Traditional Chinese Medicine*. 2025;42(4):486-495. (In Chinese).

18. Lv M., Zheng Y., Wu J., Shen Z., Guo B., Hu G., et al. Evoking ferroptosis by synergistic enhancement of a cyclopentadienyl iridium-betulin immune agonist. *Angewandte Chemie International Edition*. 2023;62(48):e202312897. DOI: 10.1002/anie.202312897.

19. Adepoju F.O., Duru K.C., Li E., Kovaleva E.G., Tsurkan M.V. Pharmacological potential of betulin as a multitarget compound. *Biomolecules*. 2023;13(7):1105. DOI: 10.3390/biom13071105.

20. Wang X., Huang L., Li Y., Li G. *Method and apparatus for comprehensive utilization of microalgae with ultrasonic cell wall disruption*. Patent CN, no. 200580026510.3; 2008. (In Chinese).

21. Loginov A.G., Filippova K.P., Klintsov V.V. Improving the accuracy of the experiment on the PTP device. *Dni nauki – 2017: tezisy dokl. konf. = Days of Science – 2017: abstracts of the conference reports*. 3–7 April 2017, Samara. Samara: Samara State Technical University; 2017, p. 172-173. (In Russian). EDN: ZWVTJX.

22. Robert S.M.J., Aeri V. Development and validation of a high- performance thin-layer chromatography method for simultaneous estimation of α -Amyrin, Betulin and β -Sitosterin in *Leptadenia reticulata* and *Marsdenia tenacissima*. *Separation Science Plus*. 2024;7(2):2300092. DOI: 10.1002/sscp.202300092.

23. Xu H., Bazarnova J.G. PASS Online-prediction of pharmacological effects of betulin derivatives. In: *BiOTekh – 2024: tezisy dokl. Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem = BioTech – 2024: Proc. Int. Sci. Pract. Conf.* 16–19 April 2024, Saint Petersburg. Saint Petersburg: Politekh-Press; 2024, p. 23. (In Russian).

24. Kuznetsova S.A., Skvortsova G.P., Maliar Iu.N., Skurydina E.S., Veselova O.F. Extraction betulin from birch bark and study of its physicochemical and pharmacological properties. *Chemistry of Plant Raw Material*. 2013;(2):93-100. (In Russian). EDN: RCYKPV.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Сюй Хуавэй,

аспирант,
Высшая школа биотехнологий
и пищевых производств,
Санкт-Петербургский политехнический
университет Петра Великого,
195251, г. Санкт-Петербург, внутригородское
муниципальное образование муниципальный
округ Академический, ул. Политехническая, 29б,
Российская Федерация,
xuhuawei666@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7732-253X>

Базарнова Юлия Генриховна,

д.т.н., профессор, директор Высшей школы
биотехнологий и пищевых производств,
Санкт-Петербургский политехнический
университет Петра Великого,
195251, г. Санкт-Петербург, внутригородское
муниципальное образование муниципальный
округ Академический, ул. Политехническая, 29б,
Российская Федерация,
jbazarnova@spbstu.ru
[https:// orcid.org/0000-0001-9275-7913](https://orcid.org/0000-0001-9275-7913)

Балабаев Алексей Александрович,

ассистент,
Высшая школа биотехнологий
и пищевых производств,
Санкт-Петербургский политехнический
университет Петра Великого,
195251, г. Санкт-Петербург, внутригородское
муниципальное образование муниципальный
округ Академический, ул. Политехническая, 29б,
Российская Федерация,
balabaev-alexey97@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0005-0673-8449>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Huawei Xu,

Postgraduate Student,
Graduate School of Biotechnology
and Food Science,
Peter the Great St. Petersburg
Polytechnic University,
12b, Politekhnikeskaya St., Akademicheskii
municipal district, St. Petersburg, 195251,
Russian Federation,
xuhuawei666@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7732-253X>

Julia G. Bazarnova,

Dr. Sci. (Engineering), Director of Graduate School of
Biotechnology and Food Science,
Peter the Great St. Petersburg
Polytechnic University,
12b, Politekhnikeskaya St., Akademicheskii
municipal district, St. Petersburg, 195251,
Russian Federation,
jbazarnova@spbstu.ru
[https:// orcid.org/0000-0001-9275-7913](https://orcid.org/0000-0001-9275-7913)

Alexey A. Balabaev,

Assistant Teacher,
Graduate School of Biotechnology
and Food Science,
Peter the Great St. Petersburg
Polytechnic University,
12b, Politekhnikeskaya St., Akademicheskii
municipal district, St. Petersburg, 195251,
Russian Federation,
balabaev-alexey97@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0005-0673-8449>

Вклад авторов

Х. Сюй – разработка методологии, проведение исследования, валидация результатов, визуализация, написание черновика рукописи.
Ю.Г. Базарнова – разработка концепции, предоставление ресурсов, административное руководство исследовательским проектом, научное руководство.
А.А. Балабаев – проведение исследования, формальный анализ, редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 11.07.2025.
Одобрена после рецензирования 19.09.2025.
Принята к публикации 26.11.2025.

Contribution of the authors

Huawei Xu – methodology, investigation, validation, visualization, writing – original draft.
Julia G. Bazarnova – conceptualization, resources, project administration, supervision.
Alexey A. Balabaev – investigation, formal analysis, editing.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 11.07.2025.
Approved after reviewing 19.09.2025.
Accepted for publication 26.11.2025.

Научная статья
УДК 544.478
EDN: ZEGLVF
DOI: 10.21285/achb.1006



Использование микроорганизмов для извлечения металлов из водных объектов и создание на их основе катализаторов

О.А. Каманина✉, П.В. Рыбочкин, В.Н. Соромотин

Тульский государственный университет, Тула, Россия

Аннотация. Целью проведенного исследования являлась иллюстрация принципиальной возможности сорбции и удаления наночастиц палладия из водной среды с помощью клеток микроорганизмов *Paracoccus yeei* VKM B-3302. Важной особенностью исследования являлся анализ распределения наночастиц палладия по размерам в зависимости от способа хранения клеток микроорганизмов *Paracoccus yeei* VKM B-3302 после их выращивания. Установлено, что при использовании нативных (не подвергавшихся заморозке) микробных клеток средний диаметр образующихся наночастиц палладия составлял $3,99 \pm 0,03$ нм, в то время как для микроорганизмов, замороженных при температурах минус 4 и минус 20 °С, фиксировалось увеличение среднего диаметра наночастиц до $4,3 \pm 0,1$ и $4,5 \pm 0,6$ нм соответственно. Эти наблюдения подчеркивают важную роль жизнеспособности микробных клеток *Paracoccus yeei* VKM B-3302 в процессах формирования и стабилизации палладиевых наночастиц, а также в определении их размерных характеристик. Созданные биогибридные материалы проявляют выраженную каталитическую активность и могут эффективно использоваться в реакциях кросс-сочетания Мизороки – Хека, что подтверждает их высокую функциональную значимость. Предполагается, что удержание и стабилизация палладиевых наночастиц обеспечиваются комплексом химических взаимодействий, включающих амидные связи белков, карбоксильные и аминокислотные группы аминокислот, а также гликозидные связи полисахаридов, липидов и пептидогликана, входящих в состав клеточной оболочки. Эти компоненты создают многофункциональную матрицу, способствующую надежной фиксации и активности наночастиц.

Ключевые слова: катализаторы, бактерии, наночастицы металлов, биосинтез

Благодарности. Авторы выражают благодарность академику В.П. Ананикову за всестороннюю помощь в исследованиях, а также отдел структурных исследований Института органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН (г. Москва, Россия) за исследование образцов методом электронной микроскопии.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-73-10013, <https://rscf.ru/project/24-73-10013/>.

Для цитирования: Каманина О.А., Рыбочкин П.В., Соромотин В.Н. Использование микроорганизмов для извлечения металлов из водных объектов и создание на их основе катализаторов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 495–502. DOI: 10.21285/achb.1006. EDN:ZEGLVF.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Use of microorganisms to recover metals from water bodies and create catalysts on their basis

Olga A. Kamanina✉, Pavel V. Rybochkin, Vitaly N. Soromotin

Tula State University, Tula, Russia

Abstract. The study aimed to demonstrate the sorption ability of *Paracoccus yeei* VKM B-3302 cells to remove palladium nanoparticles from aqueous media. An important feature of this study was the size distribution analysis

of palladium nanoparticles depending on the method used to store *Paracoccus yeei* VKM B-3302 cells after culture. The average diameter of palladium nanoparticles formed with the use of native (non-frozen) microbial cells was found to be equal to 3.99 ± 0.03 nm, whereas in the case of microorganisms frozen at temperatures of minus 4 °C and minus 20 °C, it increased to 4.3 ± 0.1 and 4.5 ± 0.6 nm, respectively. These observations highlight the important role of the viability of *Paracoccus yeei* VKM B-3302 cells in the formation and stabilization of palladium nanoparticles, as well as in the determination of their size characteristics. The produced biohybrid materials exhibit pronounced catalytic activity and can be effectively used in Mizoroki – Heck cross-coupling reactions, which confirms their high functional significance. It is assumed that the retention and stabilization of palladium nanoparticles are ensured by a complex of chemical interactions, including amide bonds in proteins and carboxyl and amino groups of amino acids, as well as glycosidic bonds in polysaccharides, lipids, and peptidoglycan, which are part of the cell envelope. These components create a multifunctional matrix that enables reliable fixation and activity of nanoparticles.

Keywords: catalysts, bacteria, metal nanoparticles, biosynthesis

Acknowledgements. The authors are grateful to Academician V.P. Ananikov for all-round assistance in research. Electron microscopy characterization was performed in the Department of Structural Studies of N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry (Moscow, Russia).

Funding. The Russian Science Foundation supported this research, grant no. 24-73-10013 <https://rscf.ru/en/project/24-73-10013/>.

For citation: Kamanina O.A., Rybochkin P.V., Soromotin V.N. Use of microorganisms to recover metals from water bodies and create catalysts on their basis. Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2025;15(4): 495-502. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1006. EDN: ZEGLVF.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях растущей экологической озабоченности и необходимости поиска эффективных методов очистки сточных вод применение микроорганизмов для аккумуляирования наночастиц металлов становится перспективным направлением исследований [1–4]. Этот подход не только обеспечивает эффективную очистку сточных вод от наночастиц металлов, но и открывает новые возможности для их дальнейшего использования. Микроорганизмы обладают способностью поглощать и накапливать различные вещества, включая наночастицы металлов [1, 3, 5–7]. Этот процесс может быть усилен путем оптимизации условий культивирования микроорганизмов, таких как температура, pH, концентрация питательных веществ и присутствие металлов. С одной стороны, микроорганизмы способны поглощать большое количество наночастиц металлов, и это позволяет эффективно очищать сточные воды без применения химических реагентов, что важно для экологии, с другой стороны, поглощенные микроорганизмами наночастицы металлов могут быть отделены и использованы в различных областях, например, в сельском хозяйстве и промышленности. Таким образом, в качестве преимуществ применения микроорганизмов для аккумуляирования наночастиц металлов из сточных вод можно отметить эффективность очистки, экологическую безопасность и возможность дальнейшего использования. Метод использования микроорганизмов для аккумуляирования наночастиц металлов из сточных вод является перспективным направлением исследований. Дальнейшие исследования в этой области могут привести к разработке новых эффективных методов очистки сточных вод и созданию новых материалов с улучшенными свойствами.

Ранее нашим научным коллективом было показано [6, 7], что возможно формирование наночастиц палладия при использовании клеток микроорганизмов *Paracoccus yeei* VKM B-3302, выделенных из сточных вод предприятий Тульской области. При этом

отмечено [7], что клетки микроорганизмов должны быть жизнеспособными: повреждение цитоплазматической мембраны ведет к неэффективному формированию наночастиц и их укрупнению по сравнению с использованием нативных микроорганизмов.

То же время, несмотря на перспективность метода, могут существовать некоторые ограничения по хранению микроорганизмов после наработки для достижения максимальной эффективности получения наноразмерных форм палладия. В связи с этим в данном исследовании оценили возможность применения клеток микроорганизмов для удаления наночастиц палладия из водной среды, а также влияние условий хранения биомассы на размер наночастиц и каталитические свойства полученных биогибридных материалов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Культивирование бактерий *Paracoccus yeei* VKM B-3302. Культивирование бактерий *P. yeei* VKM B-3302 осуществляли на питательной среде Lysogeny broth (LB) следующего состава, г/л: пептон – 10; NaCl – 10; дрожжевой экстракт – 5. Культуру бактерий выращивали в колбах Эрленмейера объемом 750 см³ (объем питательной среды – 200 см³) при 28 °C и перемешивании на шейкере-инкубаторе Bios BSI-2 (Bios, Китай) с частотой вращения 180 об/мин. Через 36 ч культивирования клетки собирали центрифугированием (8000 об/мин, 10 мин, центрифуга MWP-351R (MPW Med. Instruments, Польша)) в предварительно взвешенные микропробирки типа «Эппендорф». Сливали надосадочную жидкость. Биомассу клеток либо использовали сразу, либо хранили при температуре минус 4 и минус 20 °C.

Сорбция металла из модельного раствора. Биомассу клеток помещали в модельный раствор, содержащий соль палладия в соотношении массы палладия к массе клеток, равном 5:95 (рис. 1), для получения с учетом последующей потери массы клетками при сушке катализатора 5 масс.% палладия. Сосуд закрывали резиновой пробкой и перемешивали в течение 10 мин

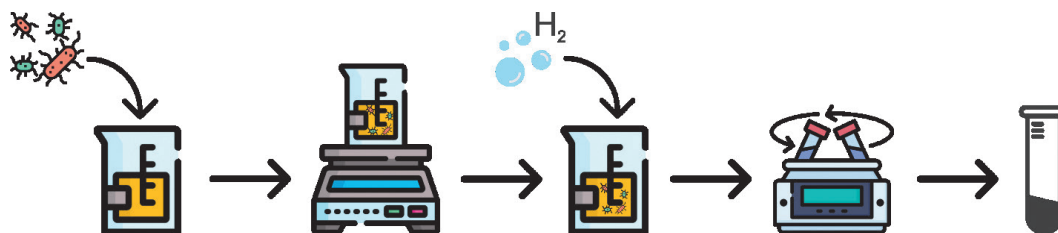


Рис. 1. Модельный процесс сорбции палладия на клетках микроорганизмов и получение катализатора Pd / *Paracoccus yeei*
Fig. 1. Model process of palladium sorption on microbial cells and preparation of Pd / *Paracoccus yeei* catalyst

(180 об/мин; 28 °C). Далее, используя генератор водорода ГВ-12 (НПФ «Мета-Хром», Россия), подавали через смесь водород (0,53 мл/мин) в течение 2 мин. Биомассу клеток с наночастицами палладия собирали центрифугированием (12000 об/мин, 10 мин, центрифуга ВКС-ТН16D (Biobase, Китай)) в микропробирки типа «Эппендорф». Надосадочную жидкость сливали, осадок катализатора Pd / *P. yeei* оставляли на сушку при комнатной температуре на 48 ч.

Приготовление срезов. Образец фиксировали в 2%-м растворе глутарового альдегида в 0,05 М какодилатном буфере (pH 7,2) в течение 1 ч при 4 °C. После образец трижды промывали 0,05 М какодилатным буфером (pH 7,2). Далее формировали агаровые блоки с образцами катализатора: агар использовали как среду, которая ограничивает подвижность микроорганизмов и позволяет создать условия для исследования. Для этого смешивали образец с раствором 2%-го агара (50 °C) и наносили на покровное стекло до застывания. Обезвоженный образец в агаровых блоках покрывали эпоксидной смолой Epon 812 и резали с помощью ультрамикротомы Reichert-Jung Ultracut E (Reichert-Jung, Германия). Срезы помещали на медные решетки для просвечивающей электронной микроскопии.

Просвечивающая электронная микроскопия срезов Pd / *Paracoccus yeei* и обработка полученных изображений. Срезы изучали на просвечивающем электронном микроскопе Hitachi HT7700 (Hitachi, Япония). Изображения получали в режиме ярко-полевой просвечивающей электронной микроскопии при ускоряющем напряжении 100 кВ. Распределение наночастиц по размерам определяли с помощью программы ImageJ PRO и облачного сервиса DLgram для анализа микроскопических изображений [8].

Обнаружение наночастиц проводили с помощью библиотеки OpenCV [9] в два этапа: получение карты примерного расположения наночастиц и последующий поиск контуров наночастиц с фильтрацией по размеру. Для первого этапа были применены следующие операции:

1. Адаптивное пороговое выделение с использованием гауссова адаптивного метода для расчета

порогового значения. Размер блока был равен 41, а константа *C* равнялась 7 для изображений с увеличением 100000 и более и 12 для изображений с увеличением 20000 или 50000. Этот метод бинаризации был выбран из-за лучших результатов для изображений с переменной освещенностью и высокой контрастностью.

2. Морфологические преобразования: расширение с ядром (5, 5) и эрозия с ядром (3, 3) для уменьшения шума в бинаризованном изображении.

3. Медианный фильтр размытия с ядром (5, 5) для дополнительного сглаживания изображения.

Бинаризация изображений с разным увеличением была реализована разными способами. Если изображение имело увеличение 100000 раз и более, то метод применяли ко всему изображению. В противном случае при увеличении 20000 или 50000 раз процедуру проводили для каждого из 8 участков изображения, предварительно увеличенного в 3 раза с помощью бикубической интерполяции.

Вторым шагом была реализация поиска контуров. Для каждого контура находили выпуклый корпус, и если площадь контура составляла менее 70% от его площади, то соответствующий контур заменялся выпуклым корпусом.

Затем для каждого контура находили минимальный объемлющий круг, диаметр в нанометрах и координаты центра. Эта информация использовалась для фильтрации контуров по линейному размеру. Результатом данного этапа являются два массива: массив контуров и массив наночастиц, содержащий данные о расположении и размере наночастиц.

Было проведено обнаружение наночастиц на клетках и в окружающем растворе. Для этого была проведена сегментация клеток с помощью алгоритма Cellpose3 [9] (модель cyto3). Затем полученные маски сегментации использовались для определения наночастиц на клетках и свободных наночастиц: центр наночастицы проверялся на принадлежность к области с клетками.

Модельные реакции Мизороки – Хека и Сузуки – Мияуры. Модельной реакцией выбрана реакция Мизороки – Хека – арилирование стирола

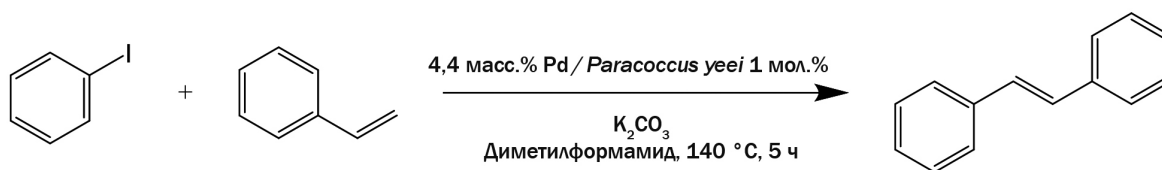


Рис. 2. Условия реакции Мизороки – Хека

Fig. 2. Conditions of Mizoroki – Heck reaction

йодбензолом в диметилформамиде, в качестве основания использовали карбонат калия (рис. 2).

Навески веществ помещали в пробирки: карбонат калия – 0,6 ммоль (1,2 экв.); Pd / *P. yevei* – 0,005 ммоль (1 мол.%). Добавляли в качестве растворителя 5 см³ диметилформамида. Добавляли жидкие реагенты: йодбензол – 0,5 ммоль (1 экв.), стирол – 0,6 ммоль (1,2 экв.). Выходы *транс*-стильбена определяли с помощью газовой хроматографии.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для оценки эффективной сорбции и восстановления до наночастиц палладия использовали клетки микроорганизмов, которые были выращены на богатой питательной среде без хранения и при хранении при минус 4 и минус 20 °С. Было высказано предположение, что незначительное разрушение цитоплазматической мембраны при заморозке, с одной стороны, может способствовать лучшему проникновению палладия, но, с другой стороны, оказывает значительное негативное влияние на жизнеспособность клеток, существенно снижая ее. Кроме того, процесс заморозки – разморозки является значительным стрессом для клеток микроорганизмов. Некоторые внутриклеточные белки плохо переносят подобные воздействия, что дополнительно снижает метаболическую активность внутри клеток.

В связи с этим для сорбции наночастиц палладия клетками микроорганизмов из водной среды были использованы бактерии *P. yevei* сразу после культивирования и двух видов заморозки после минус 4 и минус 20 °С. Сорбцию металла проводили в соответствии с приведенным выше описанием. Методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой показано,

что сорбция палладия при использовании бактерии *P. yevei* составляет 4,4 масс.%, что важно учитывать при дальнейшем использовании получившегося биогибридного материала Pd / *P. yevei* в химических реакциях.

Изучение срезов биогибридного материала Pd / *Paracoccus yevei*. Ультратонкие срезы биогибридного материала Pd / *P. yevei*, приготовленного из микроорганизмов, свежесвыращенных и выдержанных при минус 4 и минус 20 °С, изучали при помощи просвечивающей электронной микроскопии (рис. 3). Обработку микрофотографий провели с помощью нейросетей [8], что позволило оценить размер наночастиц палладия и построить их распределение по размерам.

На полученных при помощи просвечивающей электронной микроскопии изображениях клетки бактерий *P. yevei* представляют собой объекты серого цвета (при малой толщине среза – светло-серого) с формой неправильного круга диаметром около 0,5–1,0 мкм. Наночастицы палладия имеют вид серых или черных включений, обладающих сферической формой. Отмечается увеличение размера наночастиц Pd для биогибридного материала Pd / *P. yevei*, приготовленного из свежесвыращенных клеток и после выдерживания при минус 20 °С. Использование бактерий без заморозки дает узкое распределение наночастиц палладия по размерам со средним диаметром $3,99 \pm 0,01$ нм (см. рис. 3, d), при этом на замороженных микроорганизмах наблюдается расширение размера наночастиц палладия (см. рис. 3, e, f) со средним размером при минус 4 и минус 20 °С $4,3 \pm 0,1$ и $4,5 \pm 0,6$ нм соответственно.

Pd / Paracoccus yevei в реакциях Мизороки – Хека. Учитывая размеры наночастиц палладия и их распределение по бактерии, биогибридный материал

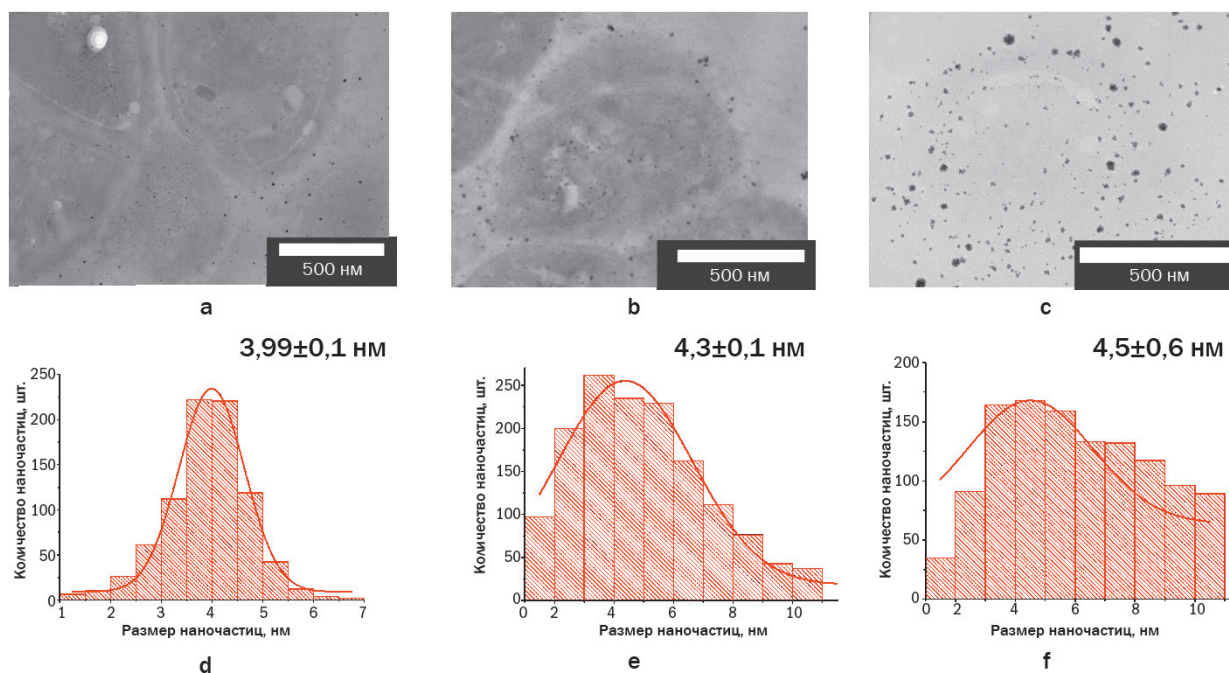


Рис. 3. Полученные при помощи просвечивающей электронной микроскопии изображения наночастиц палладия и их распределение по размерам в биогибридном материале Pd / *Paracoccus yevei*, приготовленном из клеток бактерий: а–d – без заморозки; b–e – после заморозки при минус 4 °С; c–f – после заморозки при минус 20 °С

Fig. 3. Scanning electron microscopy images and size distributions of palladium nanoparticles in Pd / *Paracoccus yevei* biogibridged material prepared from bacterial cells: a–d – without freezing; b–e – after freezing at -4 °C; c–f – after freezing at -20 °C

Pd / *P. yeii* можно назвать катализатором, а оценку его каталитической активности провести на модельных реакциях кросс-сочетания Мизороки – Хека (см. рис. 2).

Выход продукта реакции при использовании клеток без заморозки составил 97%, в случае катализаторов, приготовленных из замороженных клеток при минус 4 и минус 20 °С, составил 91 и 67% соответственно (рис. 4). Такое снижение активности катализатора Pd / *P. yeii* можно объяснить увеличением среднего размера формируемых бактериями наночастиц палладия [10, 11], что хорошо видно из рис. 3. Следовательно, целостность мембраны и внутренних структур клетки необходима для эффективного формирования и стабилизации наночастиц палладия, что, в свою очередь, оказывает существенное влияние на активность катализатора в реакции кросс-сочетания.

Рамановский анализ и анализ, выполненный методом инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье. Бактериальные клетки содержат множество биомолекул, включая белки, нуклеиновые кислоты, углеводы и липиды, которые присутствуют на поверхности клетки и в цитоплазме. Данные биомолекулы могут связываться с металлическими наночастицами и выступать в роли агентов, которые препятствуют их агрегации. Это особенно важно для катализа, в частности, для реакций кросс-сочетания [12–14] и гидрирования [15–17]. Для определения биологических компонентов, участвующих в стабилизации наночастиц палладия, использовали спектры комбинационного рассеяния, а также инфракрасную спектроскопию с преобразованием Фурье (FTIR) катализатора Pd / *P. yeii* (бактерии без заморозки) и свободных от палладия клеток *P. yeii* (рис. 5).

На рамановском спектре ацетата палладия (см. рис. 5, а) пики в районе 270 и 430 см⁻¹ характеризует связь Pd-O, пик 630 см⁻¹ отвечает за связи в ацетате.

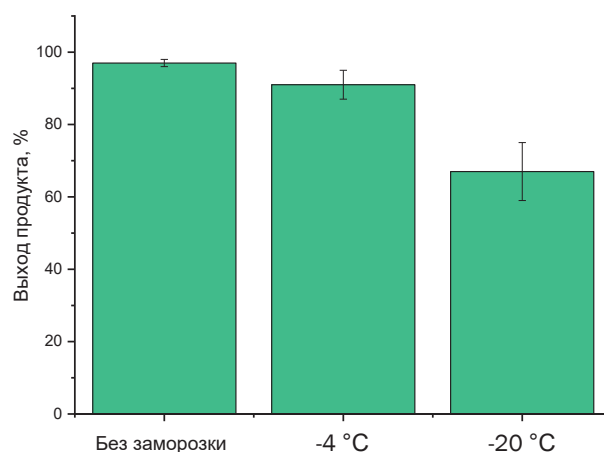


Рис. 4. Выход продукта реакции транс-стильбена Мизороки – Хека с катализаторами Pd / *Paracoccus yeii*, приготовленного с использованием микроорганизмов при разных условиях хранения

Fig. 4. Yield of the product of the reaction of *trans*-stilbene Mizoroki – Heck with Pd / *Paracoccus yeii* catalysts, which was prepared using microorganisms under different storage conditions

Спектр бактерий *P. yeii* (см. рис. 5, а) – это типичный спектр живой клетки, где присутствуют пики цитохромов (747, 1127, 1305, 1586 см⁻¹), липидов и белков (2940, 1665, 1450 см⁻¹), нуклеиновых кислот (780 см⁻¹), а также пики каротиноидов с высокой интенсивностью: 1004, 1157 и 1530 см⁻¹. Спектр катализатора Pd / *P. yeii* менее интенсивный по сравнению с другими спектрами из-за морфологии образца. На спектре присутствуют пики каротиноидов (1000, 1154 и 1530 см⁻¹) и цитохромов (746, 1586 см⁻¹), однако на этом спектре отсутствуют пики: 890 см⁻¹ – уксусной кислоты, 630 см⁻¹ – ацетата

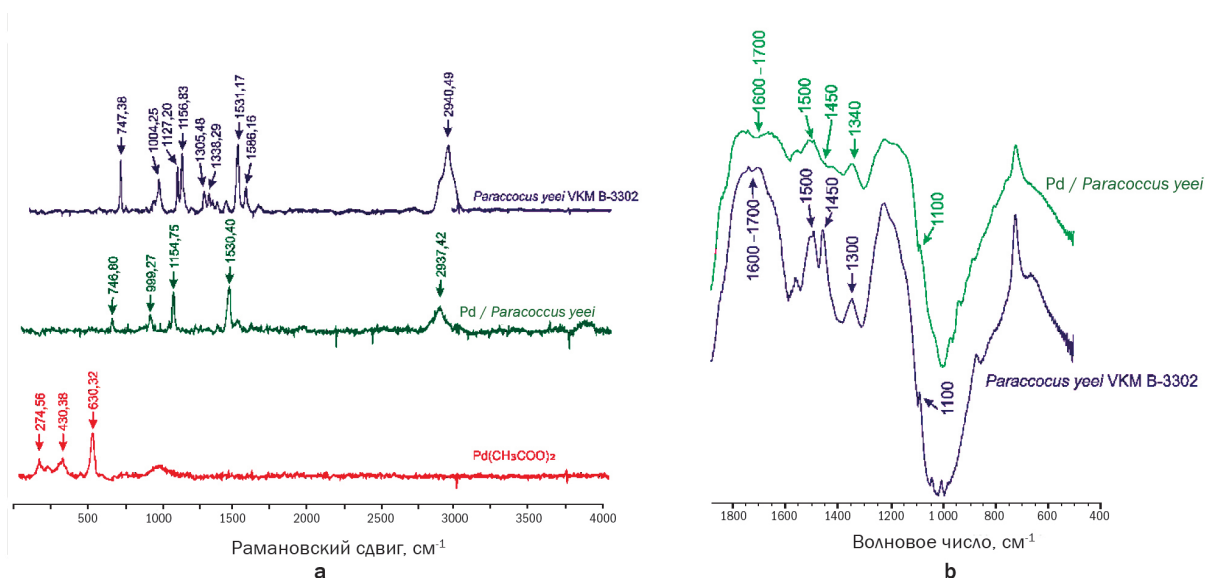


Рис. 5. Спектры комбинационного рассеяния, полученные из бактерий *Paracoccus yeii*, Pd / *Paracoccus yeii* и Pd(CH₃COO)₂ (а) и полученные при помощи инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье с использованием KBr спектры Pd / *Paracoccus yeii* и клеток *Paracoccus yeii* (б) (графики смещены для наглядности)

Fig. 5. Raman spectra obtained from *Paracoccus yeii*, Pd / *Paracoccus yeii* and Pd(CH₃COO)₂ bacteria (а) and FTIR (KBr) spectra of Pd / *Paracoccus yeii* and *Paracoccus yeii* cells (б) (graphs are shifted for clarity)

палладия. Снижение интенсивности спектра катализатора Pd / *P. yevei* в совокупности с исчезновением пика ацетата палладия может говорить о реакции палладия и компонентов клеток. Возможно, поэтому исчезает пик Pd-O (630 см^{-1}) и снижается интенсивность пиков от компонентов клетки: белков, липидов ($2940, 1665, 1450\text{ см}^{-1}$), нуклеиновых кислот (780 см^{-1}). Сравнительный анализ спектров инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье чистой культуры клеток микроорганизмов *P. yevei* ВКМ В-3302 и Pd / *P. yevei* выявил некоторые различия (см. рис. 5, б). Так, наблюдалось ослабление в области 1100 см^{-1} , которая относится к связям C-O-P и P-O-P; в областях 1300 см^{-1} и $1450\text{--}1500\text{ см}^{-1}$, которые относятся к амидным связям в структуре белков C-N и N-H; в области $1600\text{--}1700\text{ см}^{-1}$, которая относится к амидным связям C=O в белках и C=O карбоксильных групп в белках. Кроме того, изменения наблюдались в области 1050 см^{-1} , которая приписывается связям C-O и C-O-C полисахаридов [18]. Данные инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье показывают, что наночастицы палладия взаимодействуют с кислородом или азотом через пептидную связь белков и атом кислорода полисахаридов (гликозидная связь) или атом кислорода карбоксильной группы белковых молекул. Эти биомолекулы играют роль в стабилизации наночастиц палладия, влияют на их морфологию и каталитическую активность в реакциях гидрирования. Считается, что микроорганизмы могут стабилизировать металлические наночастицы с помощью различных компонентов клеток. В работе [19] показана возможность формирования

комплекса палладия с нуклеотидами ДНК. Белки, богатые цистеином и триптофаном, предотвращают агрегацию наночастиц [12]. Также проиллюстрировано, что бактериальные липополисахариды и белки S-слоя формируют наночастицы в матрицу [20]. В данном исследовании показано, что наночастицы палладия могут быть стабилизированы амидными связями белков, карбоксильными группами и аминогруппами радикалов аминокислот, а также гликозидными связями полисахаридов, липидов и пептидогликана.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе продемонстрирована принципиальная возможность использования микроорганизмов для удаления наночастиц металлов из сточных вод. Анализ распределения наночастиц палладия по размерам показал, что использование клеток без заморозки позволяет получить наночастицы палладия со средним диаметром $3,99\pm 0,03\text{ нм}$. При использовании замороженных клеток при температурах минус 4 и минус $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ средний диаметр наночастиц составил $4,3\pm 0,1$ и $4,5\pm 0,6\text{ нм}$ соответственно. Показано, что полученный катализатор на основе клеток микроорганизмов без заморозки возможно использовать в реакциях кросс-сочетания, а наночастицы палладия могут быть стабилизированы амидными связями белков, карбоксильными группами и аминогруппами радикалов аминокислот, а также гликозидными связями полисахаридов, липидов и пептидогликана.

REFERENCES

1. Kapoor R.T., Salvadori M.R., Rafatullah M., Siddiqui M.R., Khan M.A., Alshareef S.A. Exploration of microbial factories for synthesis of nanoparticles – a sustainable approach for bioremediation of environmental contaminants. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:658294. DOI: 10.3389/fmicb.2021.658294.
2. Olawade D.B., Wada O.Z., Fapohunda O., Egbewole B.I., Ajisafe O., Ige A.O. Nanoparticles for microbial control in water: mechanisms, applications, and ecological implications. *Frontiers in Nanotechnology*. 2024;6:1427843. DOI: 10.3389/fnano.2024.1427843.
3. Yamini V., Devi Rajeswari V. Effective bio-mediated nanoparticles for bioremediation of toxic metal ions from wastewater – a review. *Journal of Environmental Nanotechnology*. 2023;12(2):12-33. DOI: 10.13074/jent.2023.06.232467.
4. Nuzzo A., Hosseinkhani B., Boon N., Zanaroli G., Fava F. Impact of bio-palladium nanoparticles (bio-Pd NPs) on the activity and structure of a marine microbial community. *Environmental Pollution*. 2017;220:1068-1078. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.11.036.
5. Kimber R.L., Lewis E.A., Parmeggiani F., Smith K., Bagshaw H., Gianolio D., et al. Biosynthesis and characterization of copper nanoparticles using *Shewanella oneidensis*: application for click chemistry. *Small*. 2018;14(10):1703145. DOI: 10.1002/smll.201703145.
6. Gomez-Bolivar J., Mikheenko I.P., Macaskie L.E., Merroun M.L. Characterization of palladium nanoparticles produced by healthy and microwave-injured cells of *Desulfovibrio desulfuricans* and *Escherichia coli*. *Nanomaterials*. 2019;9(6):857. DOI: 10.3390/nano9060857.
7. Mandeep, Shukla P. Microbial nanotechnology for bioremediation of industrial wastewater. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:590631. DOI: 10.3389/fmicb.2020.590631.
8. Bradski G. The OpenCV library. *Doctor Dobbs Journal*. 2000;25(11).
9. Stringer C., Pachitariu M. Cellpose3: one-click image restoration for improved cellular segmentation. *Nature Methods*. 2025;22(3):592-599. DOI: 10.1038/s41592-025-02595-5.
10. Chatterjee S., Bhattacharya S.K. Size-dependent catalytic activity and fate of palladium nanoparticles in Suzuki – Miyaura coupling reactions. *ACS Omega*. 2018;3(10):12905-12913. DOI: 10.1021/acsomega.8b01598.
11. Adams C.P., Walker K.A., Obare S.O., Docherty K.M. Size-dependent antimicrobial effects of novel palladium nanoparticles. *PLoS One*. 2014;9(1):e85981. DOI: 10.1371/journal.pone.0085981.
12. Deplanche K., Bennett J.A., Mikheenko I.P., Omajali J., Wells A.S., Meadows R.E., et al. Catalytic activity of bio-mass-supported Pd nanoparticles: influence of the biological component in catalytic efficacy and potential application in 'green' synthesis of fine chemicals and pharmaceuticals. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2014;147:651-665. DOI: 10.1016/j.apcatb.2013.09.045.
13. Ariannezhad M., Pourmorteza N., Yousefi A., Esperi M. Catalytic reduction of nitroarenes and Suzuki – Miyaura reactions using Pd complex stabilized on the functionalized polymeric support. *Chemical Physics Letters*. 2022;793:139431. DOI: 10.1016/j.cplett.2022.139431.
14. Li Y., Yue-Su M.S., Zhang H.-Y., Zhang Y., Dong-Han M.S., Han Y.-P., et al. Synthesis of tetracyclic

indolines through palladium-catalyzed asymmetric dearomative reaction of aryl iodides. *ChemistrySelect*. 2021;6(19):4719-4724. DOI: 10.1002/slct.202101238.

15. Egan-Morriss C., Kimber R.L., Powell N.A., Lloyd J.R. Biotechnological synthesis of Pd-based nanoparticle catalysts. *Nanoscale Advances*. 2022;4(3):654-679. DOI: 10.1039/d1na00686j.

16. Law C.K.Y., Bonin L., De Gusseme B., Boon N., Kundu K. Biogenic synthesis of palladium nanoparticles: new production methods and applications. *Nanotechnology Reviews*. 2022;11(1):3104-3124. DOI: 10.1515/ntrev-2022-0482.

17. Macaskie L.E., Collins J., Mikheenko I.P., Gomez-Bolivar J., Merroun M.L., Bennett J.A. Enhanced hydrogenation catalyst synthesized by *Desulfovibrio desulfuricans* exposed

to a radio frequency magnetic field. *Microbial Biotechnology*. 2021;14(5):2041-2058. DOI: 10.1111/1751-7915.13878.

18. Schmitt J., Flemming H.-C. FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 1998;41(1):1-11. DOI: 10.1016/S0964-8305(98)80002-4.

19. Mart M. The effect of the DNA support on Pd/DNA catalyzed organic transformations. *Catalysis Science & Technology*. 2024;14(13):3580-3588. DOI: 10.1039/D4CY00546E.

20. Omajali J.B., Mikheenko I.P., Merroun M.L., Wood J., Macaskie L.E. Characterization of intracellular palladium nanoparticles synthesized by *Desulfovibrio desulfuricans* and *Bacillus benzeovorans*. *Journal of Nanoparticle Research*. 2015;17:264. DOI: 10.1007/s11051-015-3067-5.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Каманина Ольга Александровна,
кандидат химических наук, доцент,
ведущий научный сотрудник,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр. Ленина, 92,
Российская Федерация,
✉ o.a.kamanina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4187-4666>

Рыбочкин Павел Владимирович,
младший научный сотрудник,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр. Ленина, 92,
Российская Федерация,
rybochkin.pavel.vl@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1031-7752>

Соромотин Виталий Николаевич,
кандидат химических наук,
старший научный сотрудник,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр. Ленина, 92,
Российская Федерация,
kilativ90@yandex.com
<https://orcid.org/0000-0002-6236-1966>

Вклад авторов

О.А. Каманина – разработка концепции, получение финансирования, административное руководство исследовательским проектом, научное руководство, визуализация, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
П.В. Рыбочкин – разработка методологии, курирование данных, формальный анализ, проведение исследования, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
В.Н. Соромотин – разработка концепции, разработка методологии, формальный анализ, проведение исследования, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Olga A. Kamanina,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Leading Researcher,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
✉ o.a.kamanina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4187-4666>

Pavel V. Rybochkin,
Junior Researcher,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
rybochkin.pavel.vl@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1031-7752>

Vitaly N. Soromotin,
Cand. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
kilativ90@yandex.com
<https://orcid.org/0000-0002-6236-1966>

Contribution of the authors

Olga A. Kamanina – conceptualization, funding acquisition, project administration, supervision, visualization, writing – original draft, editing.
Pavel V. Rybochkin – methodology, data curation, formal analysis, investigation, writing – original draft, editing.
Vitaly N. Soromotin – conceptualization, methodology, formal analysis, investigation, writing – original draft, editing.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Информация о статье

Поступила в редакцию 31.03.2025
Одобрена после рецензирования 30.05.2025
Принята к публикации 17.11.2025.

Information about the article

The article was submitted 31.03.2025
Approved after reviewing 30.05.2025
Accepted for publication 17.11.2025.



Оценка биологического потенциала водных экстрактов древесных отходов с использованием ультрафиолетовой/видимой спектроскопии и тест-объектов

А.В. Новиков[✉], А.А. Приставка, В.Л. Михайленко, З.А. Ефременко,
Д.А. Ярыгин, Г.В. Юринова, В.П. Саловарова

Иркутский государственный университет, Иркутск, Российская Федерация

Аннотация. Целью проведенного исследования являлось изучение влияния условий водной экстракции древесных опилок на биологическую активность экстрактивных веществ по отношению к тест-объектам разных таксономических и экологических групп: базидиомицету *Pleurotus ostreatus* 0482, бактериям рода *Bacillus*, редису *Raphanus sativus* (L.). Установлено, что полученные растворы подавляют рост и развитие большинства исследуемых тест-объектов пропорционально температуре экстракции (до 40% по отдельным показателям). В то же время эффективность утилизации компонентов древесины *Pleurotus ostreatus* 0482 при твердофазном культивировании возрастает на 25–40% после удаления водорастворимых экстрактивных веществ. Проведено фракционирование экстрактов с последовательным использованием гексана и хлороформа. Для всех органических и водных фаз получены спектры поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях спектра. Сравнение спектральных характеристик выявило максимумы поглощения в диапазоне 200–300 нм. При этом с ростом температуры экстракции увеличивается число пиков, всего идентифицировано восемь максимумов, включая бато- и гипсохромные сдвиги одного и того же соединения. Математическая обработка спектров выявила паттерны, связывающие спектральные характеристики с биологическим действием экстрактов. Анализ максимумов поглощения указывает на присутствие лигнанов как вероятных фитотоксинов, флавоноидов и стильбенов как возможных индукторов ферментативной активности. В результате проведенной работы проанализирована предполагаемая химическая природа биоактивных соединений, а также исследованы возможные механизмы их действия и направления практического использования результатов.

Ключевые слова: древесные отходы, ультрафиолетовая/видимая спектроскопия, биотестирование, *Pleurotus ostreatus*, ферментативная активность

Для цитирования: Новиков А.В., Приставка А.А., Михайленко В.Л., Ефременко З.А., Ярыгин Д.А., Юринова Г.В. [и др.]. Оценка биологического потенциала водных экстрактов древесных отходов с использованием ультрафиолетовой/видимой спектроскопии и тест-объектов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 503–514. DOI: 10.21285/achb.1012. EDN: PGTOYI.

Biological potential assessment of aqueous wood-waste extracts using ultraviolet/visible spectroscopy and test objects

Artem V. Novikov[✉], Alexey A. Pristavka, Valentina L. Mikhailenko, Zinaida A. Efremenko, Dmitriy A. Yarygin, Galina V. Yurina, Valentina P. Salovarova

Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The study aimed to examine the effect of conditions for aqueous extraction from sawdust on the biological activity of extractive substances for test objects from different taxonomic and ecological groups: *Pleurotus ostreatus* 0482 basidiomycete, *Bacillus* bacteria, and radish *Raphanus sativus* (L.). The obtained solutions were found to inhibit the growth and development of most test objects in proportion to the extraction temperature (up to 40% for some indicators). In solid-state fermentation, the biological efficiency of *Pleurotus ostreatus* 0482 increased by 25–40% after removing water-soluble extractives. The extracts were fractionated with successive use of hexane and chloroform. For all organic and aqueous phases, absorption ultraviolet/visible spectra were obtained. A comparison of spectral characteristics revealed absorption maxima within the range of 200–300 nm. With rising extraction temperature, the number of peaks was observed to increase; a total of eight maxima was identified, including batho- and hypsochromic shifts of the same compound. A mathematical processing of the spectra revealed patterns linking spectral characteristics to the biological action of extracts. The conducted absorption maximum analysis indicates the presence of lignans as potential phytotoxins, as well as flavonoids and stilbenes as possible inducers of enzymatic activity. The study analyzed the assumed chemical nature of bioactive compounds, as well as examining possible mechanisms of their action and practical applications of the obtained results.

Keywords: wood waste, ultraviolet/visible spectroscopy, bioassay, *Pleurotus ostreatus*, enzymatic activity

For citation: Novikov A.V., Pristavka A.A., Mikhailenko V.L., Efremenko Z.A., Yarygin D.A., Yurina G.V., et al. Biological potential assessment of aqueous wood-waste extracts using ultraviolet/visible spectroscopy and test objects. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):503-514. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1012. EDN: PGTOYI.

ВВЕДЕНИЕ

Лесной сектор занимает ключевое место в экономике многих стран, включая Россию. Основными потребителями древесины являются лесопромышленные и перерабатывающие предприятия. По данным за 2022 год, мировой объем заготовки древесины составил 3914,5 млн м³ [1]. Сибирский федеральный округ аккумулирует около 40% от общих запасов древесины в России, при этом Иркутская область обладает 11% от общероссийского объема. В 2015 году здесь было заготовлено 50,7 тыс. м³ древесины, что сопровождалось образованием более 14,3 тыс. м³ отходов. В 2018 году объем заготовки в Иркутской области превысил 80 тыс. м³ [2].

Существуют различные способы утилизации отходов лесозаготовки, включая производство бумаги, картона, строительных материалов, древесного угля, биотоплива и других продуктов [3]. Однако переработке подвергаются менее 40% отходов, тогда как оставшаяся масса складывается на открытых участках или остается на местах рубки. Это ведет к серьезным экологическим (деструкция экосистем, загрязнение водоемов, эмиссия парниковых газов, распространение вредителей) и экономическим (утрата полезных земель, расходы на рекультивацию) последствиям [4].

Биотехнологическая переработка лигноцеллюлозных отходов позволяет получать ценные соединения – этанол,

органические кислоты, ферменты, полимеры и др. В то же время эффективность таких процессов ограничена устойчивостью исходного сырья к ферментации [5]. Одним из путей повышения доступности растительных отходов является их предварительная обработка. Несмотря на многочисленные исследования, этот этап по-прежнему остается одним из самых дорогостоящих во всем процессе преобразования лигноцеллюлозного субстрата в продукты. Его стоимость составляет от 11 до 27% от общих затрат [6]. Гидротермическая обработка (экстракция горячей водой) представляет собой экономически выгодную альтернативу, не требующую использования химических реагентов. При этом удаляются низкомолекулярные экстрактивные вещества и гемицеллюлозы, которые тормозят биоконверсию субстрата [7]. Существенным фактором устойчивости лигноцеллюлозных субстратов к разложению является лигнин, физически блокирующий доступ ферментов к углеводам. Биологические методы селективного удаления лигнина с применением базидиомицетов позволяют проводить обработку при мягких условиях без образования побочных продуктов [5]. Более того, такие грибы используются для получения биокомпозиций, востребованных в строительстве, дизайне, создании декоративных элементов и упаковочных средств [8].

Несмотря на достижения в области биодеструкции лигноцеллюлозы с использованием грибов, остается

нерешенным вопрос об эффективности однократной гидротермической обработки как самостоятельного этапа подготовки субстрата. Также недостаточно изучена взаимосвязь между условиями экстракции и составом водорастворимых компонентов, обладающих биологической активностью.

Целью представленного исследования являлось проведение оценки влияния параметров гидротермической экстракции древесных отходов на эффективность их утилизации базидиомицетом *Pleurotus ostreatus* 0482 и выявление биологически значимых спектральных паттернов в водных экстрактах, коррелирующих с их действием.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Общая схема исследования представлена на рис. 1.

В качестве лигноцеллюлозного сырья использовались отходы переработки древесины хвойных пород (смесь опилок сосны и лиственницы), полученные на деревообрабатывающем предприятии г. Иркутска. Их фракционный состав включал частицы размером 0,5–10,0 мм. Соотношение размерных фракций: менее 3 мм – 35%; 3,0–4,5 мм – 45%; от 5 мм и более – 20%. Исходная влажность сырья составляла $10,0 \pm 0,5\%$.

Предобработка субстрата водой осуществлялась при разных температурных режимах в соотношении опилок и дистиллированной воды (W/V), равном 1:10:

- раствор W1: выдерживание в дистиллированной воде при 20 °C в течение 24 ч;
- раствор W2: аналогично W1 с последующим нагреванием на водяной бане при 80 °C в течение 1 ч;
- раствор W3: аналогично W1 с последующей обработкой в автоклаве в течение 1 ч при избыточном давлении 1 атм и 121 °C.

Полученные растворы отфильтровывались через фильтр Шотта (160 мкм) для их последующего использования при культивировании в разных условиях ксилотрофного базидиомицета *P. ostreatus* 0482 из коллекции

кафедры физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики Иркутского государственного университета (г. Иркутск, Россия) (см. рис. 1).

Твердофазное культивирование гриба проводилось на предобработанной лигноцеллюлозе в чашках Петри без внесения дополнительных компонентов питательной среды при 27 °C и влажности субстрата 80% (W/V) в течение 2 месяцев. В качестве контроля использовалась аналогичная смесь опилок без предварительной обработки. Посевной материал вносили в виде суспензии мицелия в соотношении 20 мг биомассы на 100 г субстрата (по АСВ¹). После завершения культивирования определялись биомасса мицелия, содержание внеклеточного белка, активность ферментов лигноцеллюлазного комплекса, остаточное количество лигнина и целлюлозы в ферментированном субстрате. Ферменты экстрагировались 0,001 М Na-ацетатным буферным раствором (рН 4,6) в соотношении 1:30 (W/V). Содержание лигнина определялось гравиметрически после кислотного гидролиза и отделения углеводного компонента [9]; содержание целлюлозы определяли щелочным методом [10].

Глубинное культивирование проводилось в течение 7 суток на питательной среде Чапека – Докса с 0,3%-м раствором глюкозы, приготовленным на основе водных экстрактов W1–W3. В качестве контроля использовали аналогичную среду на основе воды. В ходе культивирования оценивали накопление биомассы, внеклеточного белка и активность ферментов лигноцеллюлазного комплекса в культуральной жидкости. Содержание биомассы измерялось гравиметрически [11], белка – спектрофотометрически [12]. Активность ферментов определялась при рН 4,6 в присутствии 0,05 М Na-ацетатного буфера.

Активность лакказы оценивалась по изменению оптической плотности 10 мМ раствора пирокатехина при 410 нм. Определение активности лигниназы (лигнинпероксидазы) проводилось по начальной скорости окисления 10 мМ раствора вератрового спирта в присутствии перекиси водорода при 310 нм. За единицу

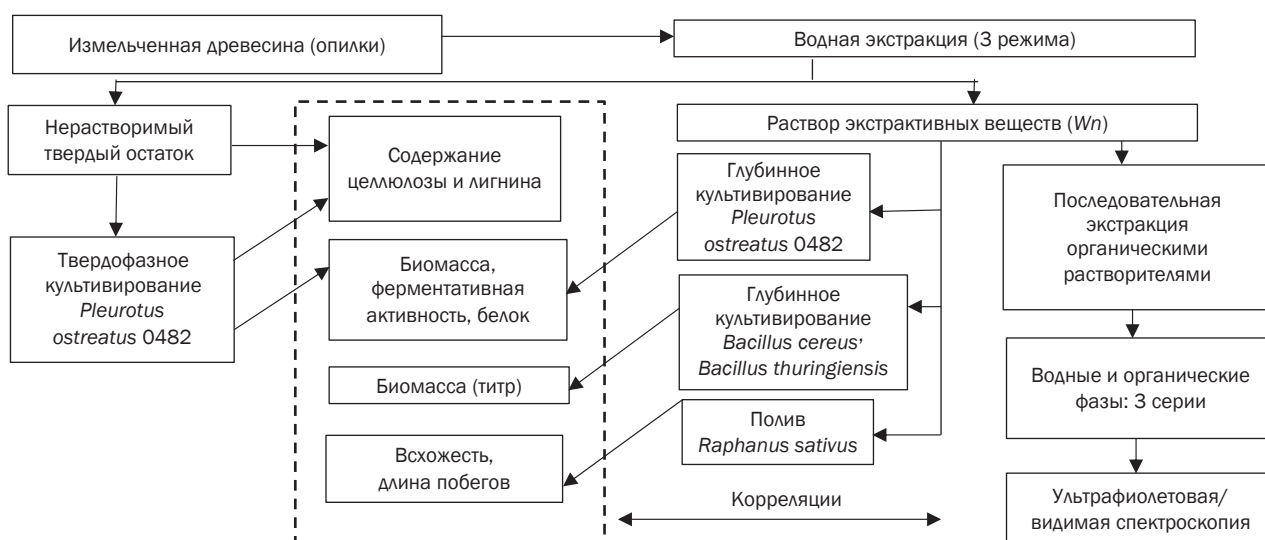


Рис. 1. Общая схема исследования

Fig. 1. General scheme of the study

¹АСВ – абсолютно сухое вещество.

активности (U) лакказ и лигниназы принимали активность фермента, окисляющего 1 мкМ субстрата в минуту [13].

Общая целлюлазная активность определялась по скорости образования восстанавливающих сахаров (в пересчете на глюкозу) из фильтровальной бумаги с использованием динитросалицилового реагента. Ферментативную активность выражали в международных единицах на миллилитр (IU/ml), где 1 IU – количество молей глюкозы, образовавшихся за 1 мин в присутствии известного количества фермента [14].

Биологическая активность водных экстрактов W1–W3 оценивалась по отношению к тест-объектам из различных таксономических групп:

1. Почвенные бактерии двух видов – *Bacillus cereus* 846 и *Bacillus thuringiensis* КС (культуры любезно предоставлены заведующим кафедрой микробиологии Иркутского государственного университета, доцентом О.Ф. Вятчиной) – выращивались глубинным способом на среде LB, содержащей в качестве водной фазы исследуемые растворы (W1–W3). Посевной материал вносился в виде клеточной суспензии (10^8 КОЕ/мл). Культивирование осуществлялось в конических колбах на качалке при 130 об/мин и температуре 30 °С. Интенсивность накопления биомассы оценивалась по изменению оптической плотности культуральной жидкости при 600 нм через сутки культивирования [15].

2. Оценка фитотоксичности проводилась на семенах редиса посевного *Raphanus sativus*, увлажняемых 10 мл экстрактов. Контролем служила дистиллированная вода. Фитотоксичность оценивалась по всхожести (отношение проросших к общему числу семян) и длине проростков [16].

На заключительном этапе исследований растворы W1–W3 фракционировались последовательной экстракцией гексаном и хлороформом с получением следующих фракций: исходный водный раствор (W_n), гексановая фракция ($W_n.H$), водная фракция после гексана ($W_n.H.W$), хлороформная фракция ($W_n.C$), водная после хлороформа ($W_n.C.W$), где n – номер варианта предобработки.

Спектры поглощения регистрировались в диапазоне 200–950 нм в кварцевой кювете ($l = 10$ мм) на спектрофотометре NanoPhotometer P330 (Implen, Германия). В качестве контроля использовались аналогичные фракции, полученные из дистиллированной воды. Анализ пиков проводили методом первой производной [17] с использованием программного приложения OriginPro 2025b. Контроль pH проводился потенциометрически (рН-метр-иономер «Эксперт-001» (ООО «Эконикс-Эксперт», Россия)).

Все измерения выполнялись в 3–8 повторностях. Результаты представлены в виде $M \pm SD$. Для сравнения групп применяли критерий Тьюки (после ANOVA для параметрических данных) и U-критерий Манна – Уитни (для непараметрических данных). Корреляционный анализ (с использованием коэффициента Пирсона и Спирмена) применяли для оценки взаимосвязей между количественными признаками. Многомерный анализ PERMANOVA (с метрикой Брея – Кертиса и 9999 перестановками) применяли для оценки значимости влияния факторов на совокупность биологических показателей. Статистическую значимость принимали при $p < 0,05$. Обработку данных проводили в программе Past v5.2.2.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследований влияния режимов водной предобработки лигноцеллюлозного субстрата на рост и развитие *P. ostreatus* 0482 представлены на рис. 2.

Независимо от способа культивирования, наблюдается закономерное увеличение активности внеклеточных ферментов в ряду контроль $\rightarrow W1 \rightarrow W2 \rightarrow W3$. При глубинном культивировании (см. рис. 2, а) достоверные отличия по активности целлюлаз и лакказ от контроля наблюдаются только у образцов, полученных после высокотемпературной обработки ($W2$ и $W3$). В случае твердофазного культивирования (см. рис. 2, б) предобработка при любом режиме вызывает достоверное повышение активности всех исследуемых ферментов по сравнению с контролем. Однако наибольшая глубина разложения субстрата (см. рис. 2, с) достигается только после высокотемпературной обработки: утилизация целлюлозы увеличивается на 25%, а деградация лигнина – примерно в 1,5 раза по сравнению с контролем. Хотя при жидкостном культивировании накопление биомассы на различных средах не отличалось от контроля, повышение активности ферментов, вероятно, обусловлено индукцией их синтеза водорастворимыми компонентами древесины, количество которых возрастает с температурой предобработки [18]. При твердофазном культивировании интенсивность освоения субстрата мицелием также коррелирует с температурой обработки, что отражается на уровне синтезируемых ферментов (см. рис. 2, д).

Таким образом, сочетание высокотемпературной водной предобработки с последующей ферментацией субстрата базидиомицетом *P. ostreatus* 0482 обеспечивает усиление процессов делигнификации и деструкции лигноцеллюлозы. Полученные данные свидетельствуют, что продукты после такой обработки становятся более доступными для биотрансформации и могут использоваться в биотехнологических процессах.

Поскольку водорастворимые компоненты древесины ингибируют развитие *P. ostreatus* 0482 на нативном субстрате, а на этапе водной предобработки образуются значительные объемы экстрактов, была оценена их биологическая активность в отношении других модельных объектов. Экстракты продемонстрировали выраженную фитотоксичность (рис. 3) и бактериостатическое действие (рис. 4), зависящие от температурного режима предобработки.

Все исследуемые растворы снижали всхожесть семян *R. sativus* по сравнению с контролем, однако между самими растворами статистически значимых различий не выявлено (см. рис. 3, б). Скорость роста побегов достоверно снижалась при обработке «горячими» экстрактами $W2$ и $W3$, тогда как низкотемпературный раствор $W1$ не оказывал значимого влияния на рост *R. sativus* (см. рис. 3, а).

Бактериостатический эффект экстрактов был менее выражен. Значимое ингибирование роста установлено лишь для одного варианта ($W3$) по отношению к бактерии *B. thuringiensis* КС. (см. рис. 4). Более высокая толерантность микроорганизмов может быть обусловлена их экологическими и/или морфологическими особенностями.

Таким образом, влияние экстрактов на тест-объекты явно зависит от температуры водной экстракции: при низких температурах биологическое действие слабо выражено или отсутствует. При увеличении темпе-

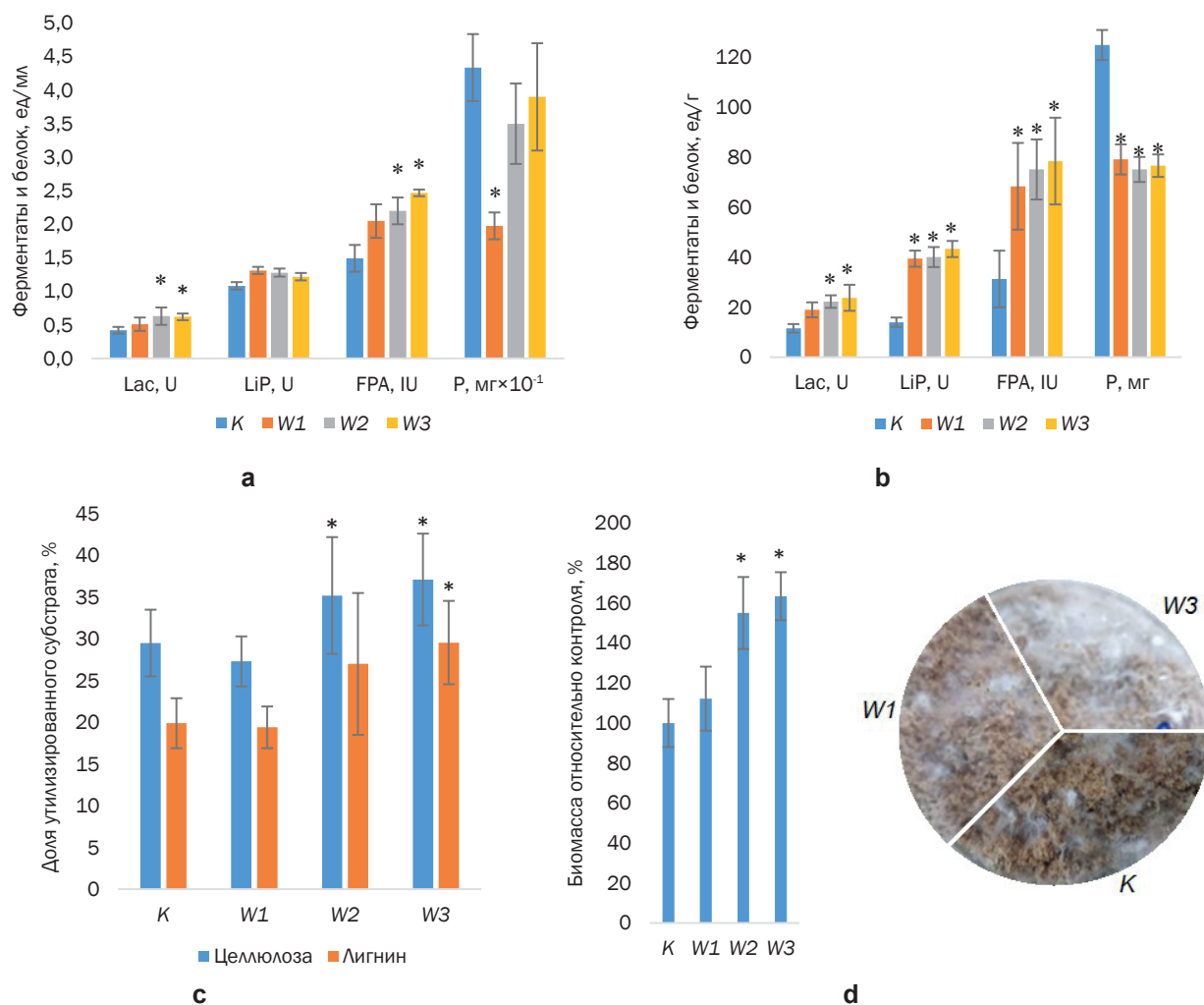


Рис. 2. Влияние условий водной экстракции древесины на активность *Pleurotus ostreatus* 0482 при глубинном и твердофазном культивировании: а – жидкая фаза после глубинного культивирования на среде Чапека – Докса (7-е сутки); б – ферментированный субстрат после твердофазного культивирования (2 месяца); с – доля компонентов древесины, утилизированных базидиомицетом после 2 месяцев твердофазного культивирования; d – накопление биомассы гриба при твердофазном культивировании на 14-е сутки (на фото) и через два месяца (на гистограмме) (K – контрольные среды; Lac – лакказа; LiP – лигнинпероксидаза; FPA – общая целлюлазная активность по фильтровальной бумаге; P – содержание белка; * – отличие от контроля при $p < 0,05$)

Fig. 2. Effect of water extraction conditions of wood on the activity of *Pleurotus ostreatus* 0482 during submerged liquid culture and solid state fermentation: a – liquid phase after submerged cultivation on Czapek – Dox medium (7th day); b – fermented substrate after solid state fermentation (2 months); c – proportion of wood components utilized by the basidiomycete after 2 months of solid state fermentation; d – accumulation of fungus biomass solid state fermentation cultivation on the 14th day (in the photo) and after 2 months (in the histogram) (K – control media; Lac – laccase; LiP – lignin peroxidase; FPA – total cellulase activity on filter paper; P – protein content; * – difference from control at $p < 0.05$)

ратуры (W2, W3) негативное воздействие возрастает, что позволяет предположить накопление биоактивных соединений при высокотемпературной обработке древесины. pH водных экстрактов, полученных в разных условиях, различался в пределах 0,4 ед., поэтому изменение кислотности не может обуславливать наблюдаемое воздействие на тест-объекты.

Жидкая фаза после водной предобработки лигноцеллюлозы сама по себе является продуктом, имеющим биологическую активность [19], и перспективна для биотехнологии. В связи с этим важным является факт установления состава растворенных веществ. Точная идентификация компонентов сложна и не всегда целе-

сообразна, но можно применить простые методы для выявления паттернов, отвечающих за биологическую активность. В качестве таких паттернов и могут выступать экстрактивные вещества древесного сырья. При этом необходимо учитывать, что выход экстрактивных веществ изменяется от способа экстракции и растворителя. Например, разные виды хроматографии или спектроскопии могут привести к различиям в результатах [20]. Тем не менее экстрактивные вещества могут служить критерием сравнения, если они извлечены из одних и тех же источников. При этом можно сравнивать вещества, извлеченные в результате как водной, так и органической экстракции [21].

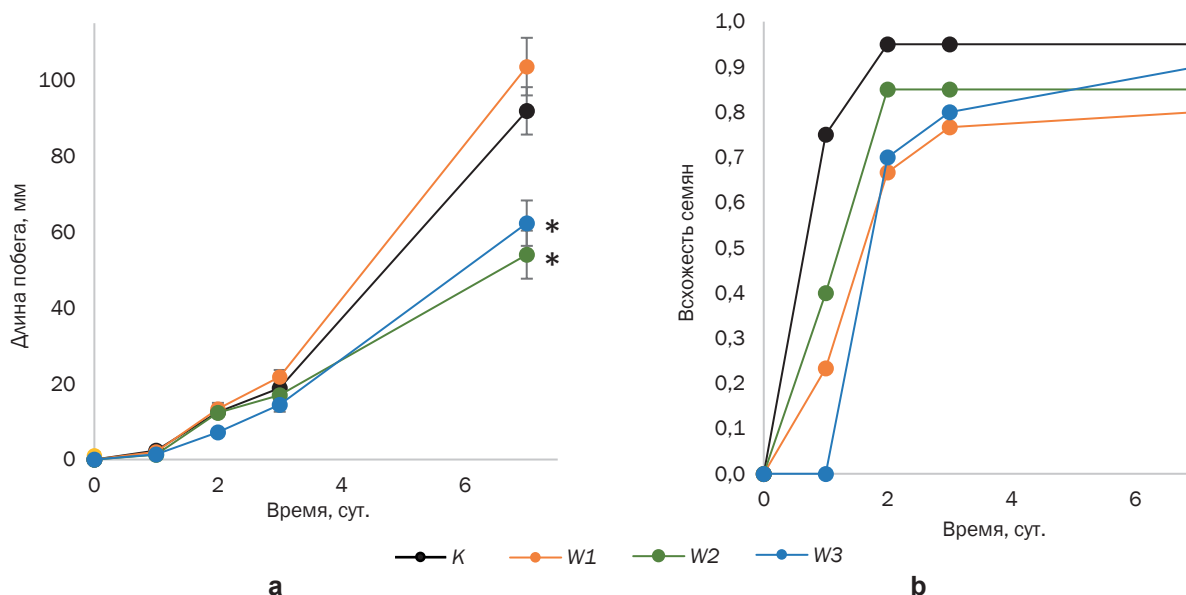


Рис. 3. Влияние водных экстрактов древесины на скорость роста побегов (а) и динамику всхожести семян (б) *Raphanus sativus* (K – контроль с дистиллированной водой; * – отличие от контроля при $p < 0,01$)

Fig. 3. Effect of aqueous wood extracts on the growth rate of sprouts (a) and the dynamics of seed germinability (b) *Raphanus sativus* (K – control group with distilled water; * – difference from control at $p < 0.01$)

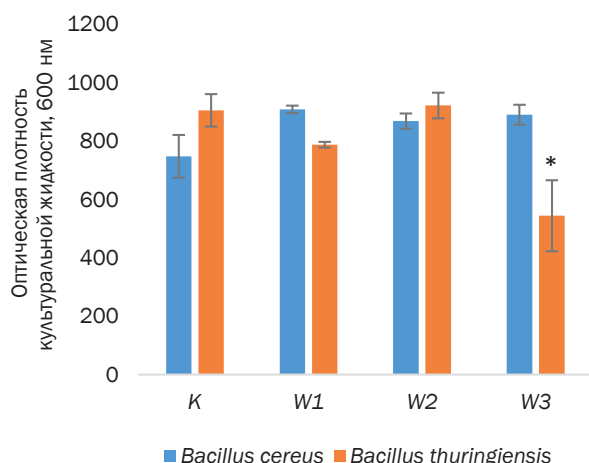


Рис. 4. Накопление биомассы бактериями рода *Bacillus* в жидкой среде LB с древесными экстрактами через сутки культивирования (K – контрольная среда без экстракта)

Fig. 4. Biomass accumulation by bacteria *Bacillus* in liquid LB-medium with wood extracts after 24 hours of cultivation (K – control medium without extract)

С целью выявления комплексных различий между водными экстрактами W1–W3 использовалась спектроскопия в видимой и ультрафиолетовой (УФ) области. Хотя метод не является способом абсолютной идентификации соединений (особенно в сложных смесях), сравнение спектров растворов, полученных в разных условиях, может позволить распознать структуры, указывающие на определенные химические группы и связанные с воздействием экстрактов на биологические объекты [22].

Водные экстракты подвергались фракционированию с использованием гексана и хлороформа с последующей регистрацией УФ/видимых спектров поглощения орга-

нических и водных фаз. Такая обработка позволяет выделить паттерны, связывающие спектральные характеристики с биологической активностью экстрактов. Выбор экстрагентов (вода, $\epsilon = 80,00$; хлороформ, $\epsilon = 4,70$; гексан, $\epsilon = 1,89$) обусловлен различиями в полярности и их прозрачностью в УФ-области. Вследствие того, что рафинат после обработки гексаном не имел максимумов поглощения, его дополнительно подвергали фракционированию хлороформом. Максимумы поглощения в спектрах идентифицировали методом первой производной (таблица).

Сравнение спектральных характеристик выявило следующие особенности:

1. Максимумы поглощения регистрируются в диапазоне 200–300 нм, в области более 400 нм сигналы отсутствуют.

2. С увеличением температуры экстракции число выявляемых пиков возрастает, что указывает на усложнение состава экстрактов. Это может быть связано не только с изменением компонентного состава экстрактивных веществ, но и с вариативностью их конформаций [23].

3. В водных фракциях низкотемпературной экстракции (W1) четкие пики часто отсутствуют.

4. Некоторые максимумы характерны только для определенных растворителей, что свидетельствует о различии в полярности соединений (в том числе разных хромофорных групп). Идентифицируется ограниченное количество максимумов поглощения – всего восемь, причем пики с близкими, но не совпадающими максимумами поглощения ($\Delta D < 5$ нм) принимали за бато-(-гипсо)-хромный сдвиг одного вещества в случае, если эти пики не появлялись одновременно в одном и том же спектре ни в одной серии.

Распределение пиков по сериям указывает на разную полярность соединений с различными максимумами поглощения, наиболее гидрофильные соединения имеют

Координаты максимумов поглощения*, идентифицированных методом первой производной в спектрах поглощения продуктов фракционирования древесных экстрактов (цветом выделены ячейки с пиковыми значениями оптической плотности, цвета и их интенсивность пропорциональны величине оптической плотности)

Coordinates of absorption maxima*, identified by the first derivative method in the absorption spectra of fractionation products of wood extracts (cells with peak values of optical density are highlighted in color, colors and their intensity are proportional to the optical density value)

Фракция	Длина волны, соответствующая идентифицированным максимумам поглощения, нм							
	209±0,82	230±1,83	277±3,20	224±1,13	219±1,76	246±4,24	291±3,90	238,5±1,70
W1	1,621	0,990	0,460	1,100	1,227	0,566	0,351	0,773
W2	2,500	2,466	1,225	2,313	2,500	1,531	0,972	2,000
W3	0,284	0,060	0,279	0,302	0,489	0,840	0,592	0,358
W1.H	2,960	1,652	0,508	1,880	2,142	1,174	0,404	1,398
W2.H	0,000	0,000	0,456	1,152	2,500	1,463	0,868	1,182
W3.H	0,000	3,882	3,786	2,238	3,006	8,670	4,542	10,218
W1.C	0,000	2,500	1,577	1,761	0,407	1,332	0,751	5,700
W2.C	0,000	0,565	1,505	0,692	0,111	3,500	1,307	7,000
W3.C	0,000	0,506	0,528	0,690	5,000	1,040	0,800	2,138
W1.C.W	1,071	0,442	0,207	0,524	0,609	0,213	0,148	0,318
W2.C.W	4,230	9,285	4,860	5,520	1,080	2,985	2,325	7,125
W3.C.W	10,000	2,520	1,592	2,216	2,176	1,758	1,332	2,362

Примечание. * $OD = f(\lambda_{max})$.

максимумы при 209 нм. Вещества с максимумами 230 и 277 нм менее полярны, обнаруживаются как в водных, так и в хлороформных фракциях. Наиболее неполярное соединение (238 нм) выявляется только в органических растворителях.

Площади пиков в спектрах фракций не аддитивны относительно исходных водных экстрактов (W1–W3): сумма площадей после последовательной экстракции на порядок превышает площадь пика в исходном растворе. Это указывает на отсутствие линейной пропорциональности между концентрацией в исходном растворе и оптической плотностью фракций. Аналогичный эффект наблюдается для модельной смеси углеводов и полифенола. Вероятно, при разделении веществ с разной полярностью их оптическая активность значительно изменяется как сама по себе, так и под влиянием растворителя (например, при изобестическом равновесии [24]).

Корреляционный анализ ($p < 0,05$) показал, что оптическая плотность на длинах волн 224, 230, 277, 246 и 291 нм систематически связана с биологическими эффектами:

- 224, 230 и 277 нм – отрицательная корреляция со всхожестью и ростом растений редиса;
- 219, 246, 291 нм – отрицательная корреляция с ростом *B. thuringiensis*;
- 246 и 291 нм – положительная корреляция с ферментативной активностью *P. ostreatus* 0482, особенно лакказной и целлюлазной.

Результаты анализа координат максимумов поглощения (см. таблицу) и сопоставления их с литературными данными позволяют предположить наличие в экстрактах следующих классов соединений:

– лигнаны и их гликозиды (максимумы при ~230 и ~277 нм) – вероятные фитотоксины [25, 26];

– флавоноиды, стильбены и их производные (максимумы при ~246 и ~291 нм) – возможные индукторы ферментативной активности грибов.

Интерпретация пиков 246 и 291 нм сложнее, чем для лигнанов (230 нм). Их оптические свойства соответствуют стильбенам [27] или флавоноидам (флавонолам/флаванонам). Однако ожидаемый для флавоноидов пик ~310 нм не наблюдался. Обнаружение этих соединений в неполярных фазах после высокотемпературной экстракции может свидетельствовать об их окислительной трансформации и изменении свойств². Предположение о наличии флавоноидов частично подтверждается индукцией лакказной активности гриба (известный эффект флавоноидов [28]) и спектральными данными по модельной смеси (пик ~290 нм у дигидрокверцетина). Отсутствие в его спектре поглощения более длинноволнового пика согласуется с современными данными [29].

Таким образом, выявленные спектральные маркеры достоверно коррелируют с биологической активностью экстрактов. Эти маркеры могут быть использованы для: 1) оценки экотоксичности лигноцеллюлозных отходов; 2) оптимизации предобработки сырья для биотехнологий с дереворазрушающими грибами/бактериями. Предложенная схема анализа применима для выявления маркеров в сырье другого происхождения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Древесные отходы содержат водорастворимые экстрактивные вещества, оказывающие негативное влияние на организмы, относящиеся к разным таксономическим

²Handbook of chemistry and physics / ed. R.C. Weast. Boca Raton: CRC Press, 1979. 499 p.

и экологическим группам (бактерии, базидиомицеты и высшие растения), причем степень воздействия пропорциональна времени и температуре экстракции. Это может иметь отрицательные экологические последствия, особенно на территориях, где накапливаются отходы лесозаготовки и деревопереработки. Учитывая сложность химического состава растительного сырья, зависящего от видовых особенностей, условий произрастания и способов переработки, актуальным является выявление доступных и показательных количественных критериев, позволяющих оценить возможный экологический ущерб от размещения древесных отходов в биоценозах.

Сравнительный анализ показал, что, хотя УФ/видимые спектры растворов и не позволяют однозначно прогнозировать биологическую активность, использование органических экстрагентов усиливает спектральные

сигналы, отражающие различия в химическом составе и биологической активности. Выявленные паттерны взаимосвязи спектральных характеристик и биологической активности могут служить индикаторами потенциального воздействия древесных отходов на окружающую среду, а также использоваться для скрининга биологически активных компонентов с перспективой их дальнейшего изучения.

По всей видимости, предложенный подход, объединяющий экстракцию, спектроскопический анализ и биотестирование, может обладать универсальностью. Это позволяет предположить его потенциальную применимость для широкого спектра научных и прикладных задач, связанных с биотрансформацией и оценкой экологической значимости других видов лигноцеллюлозных отходов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Капустина Л.М., Агабабаев М.С., Акберов К.Ч., Агабабаева Н.М. Анализ современного состояния и тенденций развития мирового рынка древесины // Естественно-гуманитарные исследования. 2024. N 4. С. 141–145. EDN: KYOQCS.
2. Макаренко Е.Л. Оценка образования отходов лесозаготовки и деревообработки в центральной экологической зоне байкальской природной территории // Успехи современного естествознания. 2020. N 5. С. 63–69. DOI: 10.17513/use.37393. EDN: FUHUXG.
3. Parobek J., Paluš H. Wood-based waste management – important resources for construction of the built environment // Creating a roadmap towards circularity in the built environment / L. Bragança, M. Cvetkovska, R. Askar, V. Ungureanu (eds). Cham: Springer, 2023. P. 213–223. DOI: 10.1007/978-3-031-45980-1_18.
4. Udali A., Chung W., Talbot B., Grigolato S. Managing harvesting residues: a systematic review of management treatments around the world // International Journal of Forest Research. 2025. Vol. 98, no. 2. P. 117–135. DOI: 10.1093/forestry/cpae041.
5. De Medeiros T.D.M., Dufossé L., Bicas J.L. Lignocellulosic substrates as starting materials for the production of bioactive biopigments // Food Chemistry: X. 2022. Vol. 13. P. 100223. DOI: 10.1016/j.fochx.2022.100223.
6. Chen J., Ma X., Liang M., Guo Z., Cai Y., Zhu C., et al. Physical-chemical-biological pretreatment for biomass degradation and industrial applications: a review // Waste. 2024. Vol. 2, no. 4. P. 451–473. DOI: 10.3390/waste2040024.
7. Гладышева Е.К. Предварительная гидротермическая обработка и паровой взрыв целлюлозосодержащего сырья для последующей биотехнологической трансформации: обзор // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2024. T. 14. N 2. С. 184–194. DOI: 10.21285/achb.919. EDN: IDUAXB.
8. Camilleri E., Narayan S., Lingam D., Blundell R. Mycelium-based composites: an updated comprehensive overview // Biotechnology Advances. 2025. Vol. 79. P. 108517. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2025.108517.
9. Абдуазимов Б.Б., Биковенс О.Э., Нейберте Б.Я., Халилов Р.М. Химический состав гидролизных лигнинов рисовой лузги, древесных опилок, шелухи семян хлопчатника гидролизных заводов Узбекистана и оптимальные условия получения водорастворимого нитролигнина // Химия растительного сырья. 2024. N 2. С. 76–88. DOI: 10.14258/jcprm.20240213170. EDN: SKUXVC.
10. Зайцева Л.А., Волкова А.В., Миневич И.Э. Получение целлюлозного продукта из конопляной лузги // Ползуновский вестник. 2023. N 2. С. 174–183. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.02.023. EDN: WCTYHR.
11. Yu K., van den Hoogen J., Wang Z., Averill C., Routh D., Smith G R., et al. The biogeography of relative abundance of soil fungi versus bacteria in surface topsoil // Earth System Science Data. 2022. Vol. 14. P. 4339–4350. DOI: 10.5194/essd-14-4339-2022.
12. De Souza C.C., Guimarães J.M., dos Santos Pereira S., Mariúba L.A.M. The multifunctionality of expression systems in *Bacillus subtilis*: emerging devices for the production of recombinant proteins // Experimental Biology and Medicine. 2021. Vol. 246. P. 2443–2453. DOI: 10.1177/15353702211030189.
13. Lzaod S., Sharma S., Das S., Dutta T. Harnessing recombinant *Bacillus licheniformis* CotA laccase for electrochemical detection of catechol // Journal of Biotechnology. 2025. Vol. 403. P. 30–39. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2025.03.017.
14. Закалюкина Ю.В., Зайцев А.Р., Бирюков М.В. Оценка целлюлозоразрушающей активности актинобактерий, ассоциированных с муравьями // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. 2021. T. 76. N 1. С. 24–32. EDN: MSZJFF.
15. Ahmad M.M., Azoddein A.M., Olalere O.A., Isa S. A predictive batch culture growth and biosynthesis for *Bacillus cereus* (ATCC 14579) using response surface methodology // Journal of Environmental Bioremediation and Toxicology. 2022. Vol. 5, no. 2. P. 40–45. DOI: 10.54987/jebat.v5i2.765.
16. Deng H., Zhang Y., Liu K., Mao Q., Agathokleous E. Allelopathic effects of *Eucalyptus* extract and wood vinegar on germination and sprouting of rapeseed (*Brassica rapa* L.) // Environmental Science and Pollution Research. 2024. Vol. 31. P. 4280–4289. DOI: 10.1007/s11356-023-31481-w.
17. Cerdà V., Phansi P., Ferreira S.L. From mono- to multicomponent methods in UV-VIS spectrophotometric and fluorimetric quantitative analysis – a review // Trends in Analytical Chemistry. 2022. Vol. 157. P. 116772. DOI: 10.1016/j.trac.2022.116772.
18. Novy V., Nielsen F., Cullen D., Sabat G., Houtman C.J., Hunt C.G. The characteristics of insoluble softwood substrates affect fungal morphology, secretome composition, and hydrolytic efficiency of enzymes produced by *Tricho-*

derma reesei // *Biotechnology for Biofuels*. 2021. Vol. 14. P. 105. DOI: 10.1186/s13068-021-01955-5.

19. Van Boerdonk S., Saake P., Wanke A., Neumann U., Zuccaro A. β -Glucan-binding proteins are key modulators of immunity and symbiosis in mutualistic plant-microbe interactions // *Current Opinion in Plant Biology*. 2024. Vol. 81. P. 102610. DOI: 10.1016/j.pbi.2024.102610.

20. Verkasalo E., Roitto M., Möttönen V., Tanner J., Kumar A., Kilpeläinen P., et al. Extractives of tree biomass of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) for biorefining in four climatic regions in Finland – lipophilic compounds, stilbenes, and lignans // *Forests*. 2022. Vol. 13, no. 5. P. 779. DOI: 10.3390/f13050779.

21. Didion Y.P., Tjalsma T.G., Su Z., Malankowska M., Pinelo M. What is next? The greener future of solid liquid extraction of biobased compounds: novel techniques and solvents overpower traditional ones // *Separation and Purification Technology*. 2023. Vol. 320. P. 124147. DOI: 10.1016/j.seppur.2023.124147.

22. Craig A.P., Franca A.S., Irudayaraj J. Pattern recognition applied to spectroscopy: conventional methods and future directions // *Pattern recognition: practices, perspectives and challenges* / ed. D.B. Vincent. Nova Science Publishers, 2013. P. 1–45.

23. Шагина Н.А., Азимова Ф.Ш., Мустафаева А.Т. Спектрофотометрическое исследование растительного экстракта зверобоя // *Научно-методический электронный журнал «Концепт»*. 2015. N T13. С. 1301–1305. EDN: TWCIMB.

24. Roy S.K., Raha S.K., Dey S.K., Chakrabarty S.L. Induction and catabolite repression of beta-glucosidase

synthesis in *Myceliophthora thermophila* D-14 (= ATCC 48104) // *Applied and Environmental Microbiology*. 1988. Vol. 54, no. 8. P. 2152–2153. DOI: 10.1128/aem.54.8.2152-2153.1988.

25. Ražná K., Nôžková J., Vargaová A., Harenčár L., Bjelková M. Biological functions of lignans in plants // *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*. 2021. Vol. 67, no. 4. P. 155–165. DOI: 10.2478/agri-2021-0014.

26. Patyra A., Kołtun-Jasion M., Jakubiak O., Kiss A.K. Extraction techniques and analytical methods for isolation and characterization of lignans // *Plants*. 2022. Vol. 11, no. 17. P. 2323. DOI: 10.3390/plants11172323.

27. Сокурено М.С., Соловьева Н.Л., Бессонов В.В., Мазо В.К. Полифенольные соединения класса стильбеноидов: классификация, представители, содержание в растительном сырье, особенности структуры, использование в пищевой промышленности и фармации // *Вопросы питания*. 2019. Т. 88. N 1. С. 17–25. DOI: 10.24411/0042-8833-2019-10002. EDN: VVQQDU.

28. Rafi M., Nurcahyo B., Wahyuni W.T., Arif Z., Septaningsih D.A., Putri S.P., et al. Feasibility of UV-Vis spectral fingerprinting combined with chemometrics for rapid detection of *Phyllanthus niruri* adulteration with *Leucaena leucocephala* // *Sains Malaysiana*. 2021. Vol. 50, no. 4. P. 991–1006. DOI: 10.17576/JSM-2021-5004-10.

29. Guo N., Zhu Y.-W., Jiang Y.-W., Li H.-K., Liu Z.-M., Wang W., et al. Improvement of flavonoid aglycone and biological activity of mulberry leaves by solid-state fermentation // *Industrial Crops and Products*. 2020. Vol. 148. P. 112287. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112287.

REFERENCES

1. Kapustina L.M., Agababayev M.S., Akberov K.Ch., Agababayeva N.M. Analysis of the current state and development trends of the global wood market. *Natural-Humanitarian Studies*. 2024;4:141-145. (In Russian). EDN: KYOQCS.

2. Makarenko E.L. Assessment of forestry and wood-working waste formation in central ecological area of the Baikal natural territories. *Advances in current natural sciences*. 2020;5:63-69. (In Russian). DOI: 10.17513/use.37393. EDN: FUHUXG.

3. Parobek J., Paluš H. Wood-based waste management – important resources for construction of the built environment. In: Bragança L., Cvetkovska M., Askar R., Ungureanu V. (eds). *Creating a roadmap towards circularity in the built environment*. Cham: Springer; 2023, p. 213-223. DOI: 10.1007/978-3-031-45980-1_18.

4. Udali A., Chung W., Talbot B., Grigolato S. Managing harvesting residues: a systematic review of management treatments around the world. *International Journal of Forest Research*. 2025;98(2):117-135. DOI: 10.1093/forestry/cpae041.

5. De Medeiros T.D.M., Dufossé L., Bicas J.L. Ligno-cellulosic substrates as starting materials for the production of bioactive biopigments. *Food Chemistry: X*. 2022;13:100223. DOI: 10.1016/j.fochx.2022.100223.

6. Chen J., Ma X., Liang M., Guo Z., Cai Y., Zhu C., et al. Physical-chemical-biological pretreatment for biomass degradation and industrial applications: a review. *Waste*. 2024;2(4):451-473. DOI: 10.3390/waste2040024.

7. Gladysheva E.K. Preliminary hydrothermal treatment and steam explosion of cellulosic feedstock for the subsequent biotechnological transformation: A review. *Pro-*

ceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2024;14(2):184-194. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.919. EDN: IDUAXB.

8. Camilleri E., Narayan S., Lingam D., Blundell R. Mycelium-based composites: an updated comprehensive overview. *Biotechnology Advances*. 2025;79:108517. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2025.108517.

9. Abduazimov B.B., Bikovens O.E., Neiberte B.Ya., Khalilov R.M. Chemical composition of hydrolytic lignins of rice husks, wood sawdust, cotton seed husks of hydrolysis plants uzbekistan and optimal conditions for obtaining water-soluble nitrocellulose. *Chemistry of plant raw material*. 2024;2:76-88. (In Russian). DOI: 10.14258/jcprm.20240213170. EDN: CKUXVC.

10. Zaitseva L.A., Volkova A.V., Minevich I.E. Extraction of cellulose fibers from hemp husk. *Polzunovskiy vestnik*. 2023;2:174-183. (In Russian). DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.02.023. EDN: WCTYHR.

11. Yu K., van den Hoogen J., Wang Z., Averill C., Routh D., Smith G R., et al. The biogeography of relative abundance of soil fungi versus bacteria in surface topsoil. *Earth System Science Data*. 2022;14:4339-4350. DOI: 10.5194/essd-14-4339-2022.

12. De Souza C.C., Guimarães J.M., dos Santos Pereira S., Mariúba L.A.M. The multifunctionality of expression systems in *Bacillus subtilis*: emerging devices for the production of recombinant proteins. *Experimental Biology and Medicine*. 2021;246:2443-2453. DOI: 10.1177/15353702211030189.

13. Lzaod S., Sharma S., Das S., Dutta T. Harnessing recombinant *Bacillus licheniformis* CotA laccase for electro-

chemical detection of catechol. *Journal of Biotechnology*. 2025;403:30-39. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2025.03.017.

14. Zakalyukina Y.V., Zaytsev A.R., Biryukov M.V. Study of cellulose-destroying activity of actinobacteria associated with ants. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16: Biologiya*. 2021;76(1):24-32. (In Russian). EDN: MSZJFF.

15. Ahmad M.M., Azoddein A.M., Olalere O.A., Isa S. A predictive batch culture growth and biosynthesis for *Bacillus cereus* (ATCC 14579) using response surface methodology // *Journal of Environmental Bioremediation and Toxicology*. 2022;5(2):40-45. DOI: 10.54987/jebat.v5i2.765.

16. Deng H., Zhang Y., Liu K., Mao Q., Agathokleous E. Allelopathic effects of *Eucalyptus* extract and wood vinegar on germination and sprouting of rapeseed (*Brassica rapa* L.). *Environmental Science and Pollution Research*. 2024;31:4280-4289. DOI: 10.1007/s11356-023-31481-w.

17. Cerdà V., Phansi P., Ferreira S.L. From mono- to multicomponent methods in UV-VIS spectrophotometric and fluorimetric quantitative analysis – a review. *Trends in Analytical Chemistry*. 2022;157:116772. DOI: 10.1016/j.trac.2022.116772.

18. Novy V., Nielsen F., Cullen D., Sabat G., Houtman C.J., Hunt C.G. The characteristics of insoluble softwood substrates affect fungal morphology, secretome composition, and hydrolytic efficiency of enzymes produced by *Trichoderma reesei*. *Biotechnology for Biofuels*. 2021;14:105. DOI: 10.1186/s13068-021-01955-5.

19. Van Boerdonk S., Saake P., Wanke A., Neumann U., Zuccaro A. β -Glucan-binding proteins are key modulators of immunity and symbiosis in mutualistic plant-microbe interactions. *Current Opinion in Plant Biology*. 2024;81:102610. DOI: 10.1016/j.pbi.2024.102610.

20. Verkasalo E., Roitto M., Möttönen V., Tanner J., Kumar A., Kilpeläinen P., et al. Extractives of tree biomass of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) for biorefining in four climatic regions in Finland – lipophilic compounds, stilbenes, and lignans. *Forests*. 2022;13(5):779. DOI: 10.3390/f13050779.

21. Didion Y.P., Tjalsma T.G., Su Z., Malankowska M., Pinelo M. What is next? The greener future of solid liquid extraction of biobased compounds: novel techniques and solvents overpower traditional ones. *Separation and Purification Technology*. 2023;320:124147. DOI: 10.1016/j.seppur.2023.124147.

22. Craig A.P., Franca A.S., Irudayaraj J. Pattern recognition applied to spectroscopy: conventional methods and future directions. In: D.B. Vincent (ed.). *Pattern recognition: practices, perspectives and challenges*. Nova Science Publishers; 2013, p. 1-45.

23. Shagina N.A., Azimova F.S., Mustafayeva A.T. Spectrophotometric study of St. John's wort plant extract. *Scientific and Methodological Electronic Journal "Koncept"*. 2015;13:1301-1305. (In Russian). EDN: TWCIMB.

24. Roy S.K., Raha S.K., Dey S.K., Chakrabarty S.L. Induction and catabolite repression of beta-glucosidase synthesis in *Myceliophthora thermophila* D-14 (= ATCC 48104). *Applied and Environmental Microbiology*. 1988;54(8):2152-2153. DOI: 10.1128/aem.54.8.2152-2153.1988.

25. Ražná K., Nôžková J., Vargaová A., Harenčár L., Bjelková M. Biological functions of lignans in plants. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*. 2021;67(4):155-165. DOI: 10.2478/agri-2021-0014.

26. Patyra A., Kołtun-Jasion M., Jakubiak O., Kiss A.K. Extraction techniques and analytical methods for isolation and characterization of lignans. *Plants*. 2022;11(17):2323. DOI: 10.3390/plants11172323.

27. Sokurenko M.S., Solovieva N.L., Bessonov V.V., Mazo V.K. Polyphenolic compounds of the stilbenoid class: classification, representatives, content in plant raw materials, structural features, use in the food industry and pharmacy. *Problems of Nutrition*. 2019;88(1):17-25. (In Russian). DOI: 10.24411/0042-8833-2019-10002. EDN: VVQQDU.

28. Rafi M., Nurcahyo B., Wahyuni W.T., Arif Z., Septaningsih D.A., Putri S.P., et al. Feasibility of UV-Vis spectral fingerprinting combined with chemometrics for rapid detection of *Phyllanthus niruri* adulteration with *Leucaena leucocephala*. *Sains Malaysiana*. 2021;50(4):991-1006. DOI: 10.17576/JSM-2021-5004-10.

29. Guo N., Zhu Y.-W., Jiang Y.-W., Li H.-K., Liu Z.-M., Wang W., et al. Improvement of flavonoid aglycone and biological activity of mulberry leaves by solid-state fermentation. *Industrial Crops and Products*. 2020;148:112287. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112287.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Новиков Артём Владимирович,

аспирант,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
✉ artem.ru88@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0004-4729-9019>

Приставка Алексей Александрович,

к.б.н., доцент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
pristavk@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-0724-8565>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Artem V. Novikov,

Postgraduate Student,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
✉ artem.ru88@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0004-4729-9019>

Alexey A. Pristavka,

Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
pristavk@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-0724-8565>

Михайленко Валентина Львовна,

к.х.н., доцент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
mival63@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2278-2990>

Ефременко Зинаида Александровна,

аспирант,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
makar.efremenko@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0003-7310-4847>

Ярыгин Дмитрий Андреевич,

магистрант,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
mr.dmitry.yarygin@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0004-4933-7445>

Юринова Галина Валерьевна,

к.б.н., доцент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
yurinova@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2266-6068>

Саловарова Валентина Петровна,

д.б.н., профессор, заведующий кафедрой,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
vsalovarova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3693-9058>

Valentina L. Mikhailenko,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
mival63@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2278-2990>

Zinaida A. Efremenko,

Postgraduate Student,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
makar.efremenko@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0003-7310-4847>

Dmitriy A. Yarygin,

Master's Student,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
mr.dmitry.yarygin@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0004-4933-7445>

Galina V. Yurina,

Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
yurinova@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2266-6068>

Valentina P. Salovarova,

Dr. Sci. (Biology), Professor,
Head of the Department,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
vsalovarova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3693-9058>

Вклад авторов

А.В. Новиков – проведение исследования, визуализация.
А.А. Приставка – разработка концепции, научное руководство, курирование данных, визуализация.
В.Л. Михайленко – разработка концепции, научное руководство, курирование данных, предоставление ресурсов, проведение исследования, написание черновика рукописи.
З.А. Ефременко – проведение исследования.
Д.А. Ярыгин – проведение исследования, визуализация.
Г.В. Юринова – разработка концепции, предоставление ресурсов, курирование данных, проведение исследования.
В.П. Саловарова – административное руководство исследовательским проектом, научное руководство, редактирование рукописи.

Contribution of the authors

Artem V. Novikov – investigation, visualization.
Alexey A. Pristavka – conceptualization, supervision, data curation, visualization.
Valentina L. Mikhailenko – conceptualization, supervision, data curation, resources, investigation, writing – original draft.
Zinaida A. Efremenko – investigation.
Dmitriy A. Yarygin – investigation, visualization.
Galina V. Yurina – conceptualization, resources, data curation, investigation.
Valentina P. Salovarova – project administration, supervision, editing.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 29.08.2025.
Одобрена после рецензирования 08.10.2025.
Принята к публикации 26.11.2025.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 29.08.2025.
Approved after reviewing 08.10.2025.
Accepted for publication 26.11.2025.



Использование бактериальной целлюлозы в процессе получения энзиматически активной биомассы дрожжей *Debaryomyces hansenii* – биокатализатора энантиоселективного восстановления ацетофенона в S-1-фенилэтанол

Н.И. Петухова, С.А. Колобова✉, В.В. Зорин

Уфимский государственный нефтяной технический университет, Уфа, Российская Федерация

Аннотация. Работа посвящена исследованию возможности применения биокомпозита на основе бактериальной целлюлозы и дрожжей *Debaryomyces hansenii* в энантиоселективном биокатализе для получения энантиомерно чистых вторичных спиртов. В результате тестирования трех штаммов дрожжей *Debaryomyces hansenii* выявлен штамм Д-43-1, биомасса которого в присутствии экзогенного восстановителя (изопропанола) энантиоселективно восстанавливает ацетофенон в S-1-фенилэтанол высокой энантиомерной чистоты (не менее 99%). Иммобилизацией клеток *Debaryomyces hansenii* Д-43-1 на гель-пленке бактериальной целлюлозы получен биокомпозит для исследования эффективности его использования в качестве биокатализатора для восстановления ацетофенона или иммобилизованного инокулята для получения биомассы дрожжей с карбонилредуктазной активностью. Установлено, что использование биокомпозита как биокатализатора невозможно: продукт восстановления ацетофенона не обнаруживается в реакционной смеси. В то же время применение биокомпозита в качестве иммобилизованного инокулята позволяет интенсифицировать процесс получения энзиматически активной биомассы дрожжей, пригодной для энантиоселективного восстановления ацетофенона в энантиомерно чистый S-1-фенилэтанол. Выход биомассы, достигнутый с использованием иммобилизованного инокулята в первом цикле ферментации, был в 3 раза больше по сравнению с планктонным инокулятом. В четырех повторных ферментациях в течение 15-часового культивирования стабильно достигается выход биомассы около 13 г/л, который почти в 2 раза превышает уровень, достигнутый за тот же промежуток времени при использовании планктонного посевного материала. Показано, что биомасса, полученная с использованием биокомпозита, может быть использована многократно. При концентрации биомассы 40 г/л (по сухому весу) выход продукта стабильно достигает 86–88% в течение четырех циклов трансформации и только в пятом цикле снижается до 65%.

Ключевые слова: бактериальная целлюлоза, *Debaryomyces hansenii*, иммобилизация клеток, энантиоселективный биокатализ, ацетофенон, S-1-фенилэтанол

Для цитирования: Петухова Н.И., Колобова С.А., Зорин В.В. Использование бактериальной целлюлозы в процессе получения энзиматически активной биомассы дрожжей *Debaryomyces hansenii* – биокатализатора энантиоселективного восстановления ацетофенона в S-1-фенилэтанол // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 515–527. DOI: 10.21285/achb.1005. EDN: GXAQAR.

Use of bacterial cellulose to produce enzymatically active biomass of *Debaryomyces hansenii* yeast – a biocatalyst for the enantioselective reduction of acetophenone to S-1-phenylethanol

Nadezhda I. Petukhova, Svetlana A. Kolobova✉, Vladimir V. Zorin

Ufa State Petroleum Technological University, Ufa, Russian Federation

Abstract. The study investigates the potential use of a biocomposite composed of bacterial cellulose and *Debaryomyces hansenii* yeast in enantioselective biocatalysis to produce enantiopure secondary alcohols. As a result of testing three strains of *Debaryomyces hansenii* yeast, it was determined that in the presence of an exogenous reducing agent (isopropanol), the biomass of strain D-43-1 reduces acetophenone enantioselectively to highly enantiopure S-1-phenylethanol (at least 99%). Cell immobilization of the *Debaryomyces hansenii* strain D-43-1 on a bacterial cellulose gel film yielded a biocomposite for the study of its effectiveness as a biocatalyst for acetophenone reduction or as an immobilized inoculum for the production of yeast biomass with carbonyl reductase activity. The use of biocomposite as a biocatalyst was found to be impossible: the product of acetophenone reduction was not detected in the reaction mixture. When used as an immobilized inoculum, biocomposite intensifies the production of enzymatically active yeast biomass suitable for the enantioselective reduction of acetophenone to enantiopure S-1-phenylethanol. The biomass yield achieved in the first fermentation cycle using the immobilized inoculant is three times higher than that produced using the planktonic inoculum. Four repeated fermentations during a 15-hour cell culture consistently achieve a biomass yield of approximately 13 g/L, which is almost twice the level achieved over the same period of time using planktonic inoculum. Biomass obtained using the biocomposite was shown to be reusable. At a biomass dry weight concentration of 40 g/L, the product yield consistently reaches 86–88% during the four transformation cycles, decreasing to 65% only in the fifth cycle.

Keywords: bacterial cellulose, *Debaryomyces hansenii*, cell immobilization, enantioselective biocatalysis, acetophenone, S-1-phenylethanol

For citation: Petukhova N.I., Kolobova S.A., Zorin V.V. Use of bacterial cellulose to produce enzymatically active biomass of *Debaryomyces hansenii* yeast – a biocatalyst for the enantioselective reduction of acetophenone to S-1-phenylethanol. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):515-527. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1005. EDN: GXAQAR.

ВВЕДЕНИЕ

Бактериальная целлюлоза представляет собой природный полимер, пригодный для создания функциональных композиционных материалов, находящих свое применение в медицине, электронике и электротехнике, текстильной, бумажной и пищевой промышленности [1–5]. Биополимер синтезируется рядом грамотрицательных и грамположительных бактерий, среди которых наиболее эффективными продуцентами являются представители родов *Komagataeibacter* и *Novacetimonas* [2, 3]. При культивировании этих микроорганизмов в статических условиях целлюлоза образуется на границе раздела вода – воздух в виде гель-пленки [6].

Благодаря своей уникальной трехмерной структуре, высокой прочности, влагоудерживающей способности, а также совместимости с живыми организмами гель-пленка бактериальной целлюлозы в настоящее время рассматривается как перспективный носитель для иммобилизации микроорганизмов, позволяющий получать биокomпозитные материалы с заданными практически важными функциями [7, 8]. В частности, на основе гель-пленки бактериальной целлюлозы и клеток микроорга-

низмов могут быть созданы повязки с антимикробными свойствами для лечения ран [9], упаковки для пищевых продуктов [10], системы доставки пробиотиков [11], компоненты биоэлектрокаталитических устройств (биосенсоров, микробных топливных ячеек [12, 13], сорбенты для адсорбции тяжелых металлов [14], биокатализаторы для трансформации органических соединений [15, 16].

Показано, что биокomпозиты бактериальной целлюлозы с микроорганизмами позволяют интенсифицировать биотехнологические процессы, в том числе биodeградацию экотоксикантов [17, 18], полимеризацию фенольных соединений [15], получение этанола [19], лимонной кислоты [20], лизина [1], атаксантина [21].

Ранее нами был разработан биокomпозит бактериальной целлюлозы с галорезистентными дрожжами *Debaryomyces hansenii* Д-43-1, способными деградировать фенол [17]. Установлено, что в присутствии такого биокomпозита процесс деградации фенола протекает при более высоких концентрациях токсиканта и за более короткий промежуток времени по сравнению с планктонной дрожжевой культурой [17, 22]. Вместе с тем известно, что дрожжи вида *D. hansenii* имеют

большой потенциал биотехнологического и коммерческого применения [23–27]. Они широко используются в пищевой промышленности для производства молочных и мясных продуктов [24, 26]. На их основе разработаны биосенсоры [25], создаются генно-инженерные продуценты рекомбинантных белков и пептидов [27]. Биомасса дрожжей, полученная культивированием микроорганизмов на промышленных отходах, может служить источником кормового белка и липидов [24, 26]. Кроме того, дрожжи *D. hansenii* способны продуцировать практически важные ферменты, полиолы, флавоноиды, рибофлавин, вещества, контролирующие развитие патогенных микроорганизмов и др. [23, 24, 26, 27]. Все это делает актуальным поиск новых областей применения биокомпозиатов бактериальной целлюлозы с дрожжами *D. hansenii*.

Одной из перспективных областей применения дрожжей *D. hansenii* является энантиоселективный биокатализ. Обнаружено, что клетки ряда штаммов *D. hansenii* могут быть использованы в качестве энантиоселективных биокатализаторов для асимметрического восстановления прохиральных карбонилсодержащих соединений в энантиомерно чистые вторичные спирты [28–30], необходимые для синтеза хиральных биологически активных веществ, имеющих промышленное значение для фармацевтики и агрохимии [31, 32]. В том числе показано, что энантиоселективным восстановлением ацетофенона с помощью дрожжей *D. hansenii* может быть получен S-1-фенилэтанол – предшественник ряда фармакозначимых соединений [33, 34].

Целью настоящей работы являлось исследование возможности применения биокомпозиата на основе бактериальной целлюлозы и дрожжей *D. hansenii* для интенсификации процесса получения энантиомерно чистого S-1-фенилэтанола.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объектов исследования использовались дрожжевые штаммы *D. hansenii* Y-1889 и Y-1554, полученные из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов, а также дрожжи *D. hansenii* Д-43-1 и бактерии *Komagataeibacter sucrofermentans* НЦ-12 из коллекции культур микроорганизмов кафедры биохимии и технологии микробиологических производств Уфимского государственного технического университета (г. Уфа, Россия). Идентификация штамма *K. sucrofermentans* НЦ-12 осуществлена на основе анализа последовательности 16S рНК в Биоресурсном центре Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов Государственного научно-исследовательского института генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (г. Москва, Россия). Штамм *D. hansenii* Д-43-1 идентифицирован на основании морфологических и физиолого-биохимических характеристик в соответствии с определителем дрожжей Курцмана [35].

Для исследования способности клеток дрожжей осуществлять восстановление ацетофенона получали биомассу микроорганизмов культивированием при 25 ± 1 °С на агаризованной питательной среде следующего состава, г/л: глюкоза – 10,0; дрожжевой автолизат – 5,0;

NaCl – 0,5; $MgSO_4$ – 0,4; $(NH_4)_2SO_4$ – 3,0; KH_2PO_4 – 1,0; K_2HPO_4 – 0,1; агар микробиологический – 15,0. Биомассу дрожжей собирали с поверхности среды, суспендировали в 0,05 М фосфатном буфере (рН 7), осаждали центрифугированием при 10000 об/мин в течение 3 мин и использовали в качестве биокатализатора.

Восстановление ацетофенона с помощью клеток дрожжей проводили при 30 ± 1 °С в 0,05 М фосфатном буфере (рН 7), содержащем 5% изопропанола (в качестве экзогенного восстановителя), 5 г/л ацетофенона (в качестве субстрата). Биомассу вносили в реакционную смесь в концентрации 20 или 40 г/л (АСВ¹) в зависимости от цели эксперимента. При изучении влияния субстрата и экзогенного восстановителя на восстановление ацетофенона с помощью штамма *D. hansenii* Д-43-1 концентрацию кетона в буфере варьировали от 0 до 15 г/л, а содержание изопропанола изменяли от 0 до 30%.

Для текущего контроля концентрации ацетофенона и S-1-фенилэтанола пробы реакционной смеси центрифугировали при 10000 об/мин в течение 3 мин, дважды экстрагировали этилацетатом и осушали безводным сульфатом магния. Концентрацию субстрата и продукта в экстрактах определяли на хроматографе Chromatec-Crystal 5000.2 (ЗАО «СКБ Хроматек», Россия) с пламенно-ионизационным детектором на хиральной капиллярной колонке Supelco BetaDEX 110 (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм). Режим анализа: температура испарителя – 220 °С, температура детектора – 220 °С, температура колонки – 60–220 °С, скорость нагрева – 5 °С/мин, давление газа-носителя – 100 кПа, расход водорода – 25 мл/мин, расход воздуха – 250 мл/мин, газ-носитель – гелий. В качестве стандартных образцов использовали рацемическую смесь 1-фенилэтанола и S-(-)-1-фенилэтанол (Sigma-Aldrich, США).

Для выделения продукта реакции с целью анализа методами ядерного магнитного резонанса (ЯМР) реакционную массу центрифугировали при 10000 об/мин в течение 10 мин. Продукт трансформации, содержащийся в супернатанте, высаливали с помощью хлорида натрия и трехкратно экстрагировали равным объемом диэтилового эфира. Экстракт осушали безводным сульфатом магния, концентрировали на ротационном испарителе RV10 digital (IKA, Германия) и фракционировали на хроматографической колонке с силикагелем Merk 60 (0,063–0,200 мм) с использованием в качестве элюента смеси гексана и этилацетата (8:1). Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре BrukerAM-300 (Bruker, Германия) в растворах $CDCl_3$ (рабочая частота 500,13 МГц для 1H и 126,76 МГц для ^{13}C). За внутренний стандарт принимали значение сигналов хлороформа: в ЯМР 1H – примесь протонов в дейтерированном растворителе (δ 7,27 м.д.), в ЯМР ^{13}C – средний сигнал $CDCl_3$ (δ 77,00 м.д.). Спектральные характеристики S-1-фенилэтанола совпадают с литературными данными [36].

При исследовании роста дрожжей *D. hansenii* Д-43-1 на агаризованной питательной среде оценивали выход биомассы (в расчете на одну чашку Петри) и ее карбогидратную активность через 1, 2, 3 и 4 суток культивирования. Для оценки выхода биомассу, собранную с одной чашки Петри, суспендировали 5 мл 0,05 М

¹АСВ – абсолютно сухое вещество.

фосфатного буфера (pH 7), после чего осаждали центрифугированием при 10000 об/мин в течение 3 мин. Количество собранной сырой биомассы оценивали гравиметрически. Карбонилредуктазную активность биомассы определяли по начальной скорости накопления S-1-фенилэтанола в процессе восстановления ацетофенона в оптимальных условиях (0,05 М фосфатный буфер (pH 7), 10% изопропанола, 5 г/л субстрата и 40 г/л биомассы (АСВ), 30 ± 1 °C, 1 ч).

Гель-пленки бактериальной целлюлозы получали в процессе культивирования уксуснокислых бактерий *K. sucrofermentans* НЦ-12 [37] в статических условиях при 30 °C в колбах на 250 мл, содержащих 100 мл среды Хестрина – Шрамма [38] с 1% этанола, в течение 12 суток. По окончании культивирования гель-пленки полимера извлекали из культуральной жидкости, промывали дистиллированной водой и помещали в 0,5 М раствор NaOH для разрушения клеток продуцента. Разрушение клеток осуществляли при температуре 80 °C в течение 30 мин. Затем полимерные пленки промывали дистиллированной водой до достижения нейтрального Ph и использовали для иммобилизации дрожжей.

Иммобилизацию клеток дрожжей *D. hansenii* Д-43-1 на гель-пленках целлюлозы осуществляли адсорбционно-инкубационным методом. Для адсорбции клеток образцы пленок массой около 34 г помещали в колбы объемом 250 мл, содержащие 20 мл суспензии дрожжей в жидкой питательной среде, и перемешивали при 180 об/мин в течение 3 ч. Затем избыток среды декантировали и промывали пленки 50 мл стерильной воды (перемешивание при 180 об/мин в течение 15 мин). После декантирования воды пленки инкубировали в статических условиях течение 3 суток при 30 °C.

Содержание биомассы дрожжей в биокомпозитах оценивали по концентрации клеточной массы в ферментативных гидролизатах, полученных путем гидролиза пленок целлюлолитическим препаратом Целлолюкс F. Концентрацию биомассы в гидролизатах определяли турбометрически при длине волны 540 нм на фотоэлектродетекторе КФК-2 (ПО «Загорский оптико-механический завод», Россия).

Культивирование дрожжей *D. hansenii* Д-43-1 в жидкой питательной среде с использованием биокомпозита как иммобилизованного инокулята осуществляли в колбах на 250 мл, в которые вносили образцы гель-пленок композита (около 34 г) и 30 мл питательной среды. В качестве контроля использовали среду того же объема, засеянную планктонным инокулятом до конечной концентрации биомассы 1 г/л (АСВ). Культивирование проводили при 25 ± 1 °C, 220 об/мин. По окончании ферментации культуральную жидкость декантировали. Для повторной ферментации биокомпозит заливали свежей порцией питательной среды. Рост дрожжей в жидких культурах оценивали турбометрически при длине волны 540 нм на фотоэлектродетекторе КФК-2.

Восстановление ацетофенона с помощью клеточной массы *D. hansenii* Д-43-1, полученной в процессах ферментации с использованием иммобилизованного инокулята, выделенной из культуральной жидкости, осуществляли в 0,05 М фосфатном буфере (pH 7), содержащем 10% изопропанола, 5 г/л субстрата и 40 г/л биомассы (АСВ), при 30 ± 1 °C в течение 1 ч. В экспериментах по исследованию возможности повторного использования

биокатализатора биомассу после окончания первого цикла трансформации отделяли от жидкой фракции реакционной смеси центрифугированием при 10000 об/мин в течение 5 мин. Для проведения последующего цикла трансформации биомассу суспендировали в свежем буфере, содержащем 5 г/л ацетофенона и 10% изопропанола.

Для восстановления ацетофенона с помощью образцов культуральной жидкости в них вносили ацетофенон и изопропанол в концентрации 5 г/л и 10% соответственно. Реакцию проводили при 30 ± 1 °C. Выход S-1-фенилэтанола в реакции с культуральной жидкостью оценивали через 2 ч трансформации.

Трансформацию ацетофенона в присутствии биокомпозита как иммобилизованного биокатализатора проводили при 30 ± 1 °C при перемешивании на шейкере (180 об/мин) в течение 2 ч. Образцы биокомпозита массой 5 г вносили в 10 мл 0,05 М фосфатного буфера (Ph 7), содержащего 5 г/л субстрата и 10% этанола. В экспериментах по поиску условий трансформации концентрацию субстрата и изопропанола увеличивали до 15 г/л и 30% соответственно.

Все эксперименты проводили в трех повторностях. Полученные данные обрабатывали с использованием компьютерной программы Microsoft Excel.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Получение биомассы дрожжей и исследование способности восстанавливать ацетофенон. Асимметрическое восстановление прохиральных карбонилсодержащих соединений с помощью клеток микроорганизмов широко применяется в энантиоселективном биокатализе для получения энантиомерно чистых вторичных спиртов [32, 39, 40]. Восстановление катализируется внутриклеточными алкогольдегидрогеназами/карбонилредуктазами, использующими в качестве восстановителя NADH или NADPH [41, 42]. При использовании клеточных биокатализаторов процесс осуществляют в присутствии экзогенного восстановителя (глюкозы, изопропанола, этанола и др.), который используется для регенерации восстановленной формы коферментов [41].

На первом этапе исследования с целью поиска перспективного энантиоселективного клеточного биокатализатора с карбонилредуктазной активностью исследовали способность трех штаммов *D. hansenii*, представленных в таблице, восстанавливать ацетофенон. Для трансформации использовали биомассу, полученную культивированием дрожжей на агаризованной питательной среде в течение 3 суток. В качестве экзогенного восстановителя использовали изопропанол, который может не только регенерировать кофермент, но также увеличивать растворимость гидрофобных субстратов в воде и повышать энантиоселективность клеточного биокатализатора – как полагают, за счет подавления активности сопутствующих ферментов, восстанавливающих субстрат с образованием антипода целевого энантиомера спирта [36, 42].

В результате исследования было обнаружено, что клетки двух штаммов дрожжей *D. hansenii* (Д-43-1 и ВКПМ Y-1889) восстанавливают ацетофенон в 0,05 М фосфатном буфере (pH 7), содержащем 5 г/л субстрата и 10% изопропанола, в S-1-фенилэтанол с высокой энантиомерной чистотой (не менее 99% энантиомерного избытка), тогда как третий штамм (*D. hansenii* ВКПМ Y-1554) не работает в исследуемых условиях (см. таблицу, рис. 1).

Выход и энантиомерный избыток продукта
 восстановления ацетофенона

Yield and enantiomeric excess of the acetophenone
 reduction product

Штамм	Биомасса (АСВ), г/л	Время, ч	S-1-Фенилэтанол	
			выход, %	энантиомерный избыток, %
<i>Debaryomyces hansenii</i> ВКПМ Y-1889	40	1	35	99,6
		2	50	99,4
		4	57	99,7
<i>Debaryomyces hansenii</i> ВКПМ Y-1554	40	2	0	–
		4	0	–
<i>Debaryomyces hansenii</i> Δ-43-1	20	1	76	99,6
		2	86	99,9
		4	88	99,9
	40	1	83	99,9
		2	88	99,9
		4	89	99,9

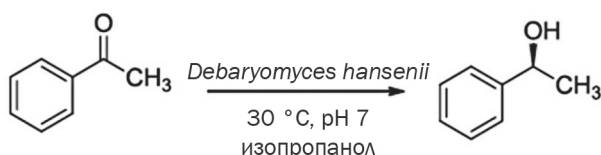


Рис. 1. Восстановление ацетофенона в S-1-фенилэтанол с помощью клеток дрожжей *Debaryomyces hansenii* Δ-43-1 и ВКПМ Y-1889 в присутствии изопропанола

Fig. 1. Reduction of acetophenone to S-1-phenylethanol using yeast cells *Debaryomyces hansenii* Δ-43-1 and VKPM Y-1889 in the presence of isopropanol

Наиболее высокий выход S-1-фенилэтанола (более 80%) был получен при использовании штамма *D. hansenii* Δ-43-1. Причем для достижения этого результата потребовалось вдвое меньшее количества биомассы и более короткий промежуток времени по сравнению с использованием штамма *D. hansenii* ВКПМ Y-1889 (см. таблицу), в связи с чем штамм *D. hansenii* Δ-43-1 был выбран как перспективный для дальнейшего исследования.

Следует отметить, что в литературе имеется сообщение об одном штамме *D. hansenii* NCIM Y00468, который также проявлял карбонилредуктазную активность в присутствии изопропанола [43]. С помощью лиофилизированных и регидратированных клеток этого микроорганизма восстановление ацетофенона и его аналогов протекает энантиоселективно с образованием спиртов S-конфигурации. При восстановлении ацетофенона также, как и в случае использования *D. hansenii* Δ-43-1, удается получить S-1-фенилэтанол с энантиомерным избытком 99%, но с меньшим выходом (63%) и при более низкой концентрации субстрата.

При исследовании условий восстановления ацетофенона с помощью клеток штамма *D. hansenii* Δ-43-1 (20 г/л АСВ) было установлено, что оптимальной концентрацией субстрата является 5 г/л (рис. 2). В отсутствие изопропанола выход продукта через 2 ч составил не более 12% (см. рис. 2, б), что подтверждает участие изопропанола как экзогенного восстановителя в исследуемом процессе. Наибольший выход продукта был достигнут в области концентрации 5–10% изопропанола (см. рис. 2, б). Исследование энантиомерного состава продуктов восстановления показало, что независимо от концентрации субстрата или экзогенного восстановителя образуется S-1-фенилэтанол высокой энантиомерной чистоты (см. рис. 2).

Установлено, что при культивировании дрожжей на агаризованной питательной среде наибольшая карбо-

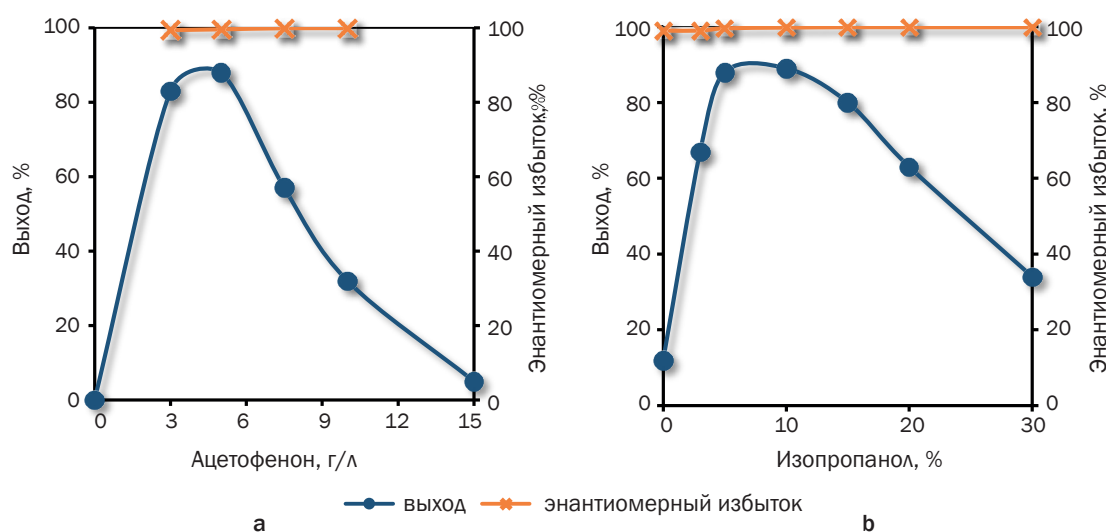


Рис. 2. Зависимость выхода и энантиомерного избытка S-1-фенилэтанола от начальной концентрации субстрата (а) и экзогенного восстановителя (б) в процессе восстановления ацетофенона в присутствии биомассы дрожжей *Debaryomyces hansenii* Δ-43-1

Fig. 2. Yield and enantiomeric excess of S-1-phenylethanol versus the initial concentration of substrate (a) and exogenous reducing agent (b) in the process of acetophenone reduction in the presence of yeast biomass *Debaryomyces hansenii* Δ-43-1

нилредуктазная активность биомассы *D. hansenii* Д-43-1 достигается через 72 ч, что соответствует началу стационарной фазы роста культуры (рис. 3). Дальнейшее увеличение продолжительности культивирования до 96 ч приводит к снижению активности биомассы почти на 30%.

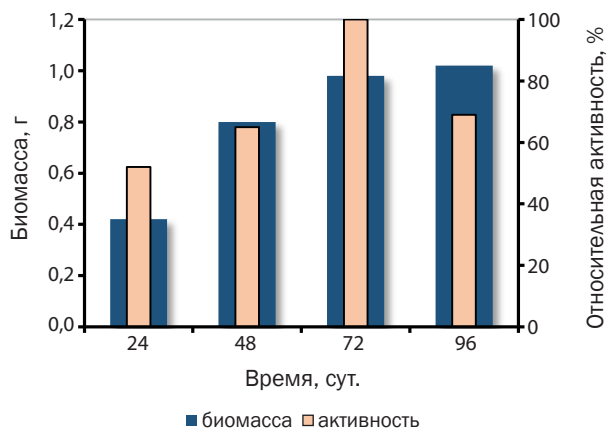


Рис. 3. Выход и карбонилредуктазная активность биомассы *Debaryomyces hansenii* Д-43-1 в зависимости от продолжительности роста на агаризованной питательной среде

Fig. 3. Yield and carbonyl reductase activity of *Debaryomyces hansenii* D-43-1 biomass depending on the duration of growth on an agarized nutrient medium

Получение биокомпозита и исследование возможности его использования в качестве биокатализатора для восстановления ацетофенона. На втором этапе работы клетки *D. hansenii* Д-43-1 были иммобилизованы на гелевых пленках бактериальной целлюлозы. Гель-пленки получали с помощью бактериального штамма *K. sucrofermentans* НЦ-12 [37], способного продуцировать целлюлозу при культивировании на среде Хестрина – Шрамма [38], содержащей 1% этанола. В результате культивирования бактерий в статических условиях были получены гель-пленки со средней массой 34 г, в которых содержание целлюлозы (АСВ) составило около 1,5%. Иммобилизацию дрожжей осуществляли адсорбционно-инкубационным методом. При этом инкубирование клеток дрожжей, адсорбированных в течение 3 ч на носителе, пропитанном питательными компонентами, осуществляли в течение 72 ч по аналогии с культивированием микроорганизмов на агаризованной среде (см. рис. 3). В результате иммобилизации были получены образцы биокомпозитов, содержащие около 70 мг биомассы дрожжей (АСВ) в 1 г сырого полимера.

Далее образцы полученного биокомпозита были разрезаны на фрагменты и использованы для исследования возможности их применения в качестве биокатализатора для восстановления ацетофенона. Биокатализатор массой 5 г вносили в буфер объемом 10 мл, содержащий оптимальные концентрации субстрата и восстановителя. Однако образование продукта восстановления ацетофенона в этих условиях не было обнаружено. Варьирование концентрациями субстрата (от 7 до 15 г/л), экзогенного восстановителя (от 15 до 30%), а также двукратное увеличение содержания биокомпозита тоже не привели к успеху.

Инкубирование биокомпозита в жидкой питательной среде. Согласно современным представлениям, иммобилизованные клетки микроорганизмов находятся в особом состоянии, отличном от стационарной фазы роста свободных клеток [44]. Более того, отмечается, что в результате иммобилизации клеток может происходить изменение ферментативной активности, появление новых функциональных белков и метаболитов, например, у иммобилизованных клеток ряда дрожжей было отмечено увеличение концентрации ферментов, участвующих в анаэробных процессах, гликолизе [44]. Можно ожидать, что клетки *D. hansenii* Д-43-1, иммобилизованные на бактериальной целлюлозе, также могут биохимически отличаться от клеток стационарной фазы роста, выращенных на поверхности агаризованной среды, в том числе отсутствием карбонилредуктазной активности.

С целью изменения биохимических характеристик клеток, иммобилизованных на целлюлозе, образцы биокомпозита были помещены в свежую питательную среду и инкубированы при 25 ± 2 °C и 220 об/мин в течение 32 ч. В процессе культивирования образцы биокомпозита периодически отбирали и тестировали на способность осуществлять восстановление ацетофенона. Однако ни один из образцов не проявил карбонилредуктазную активность (рис. 4).

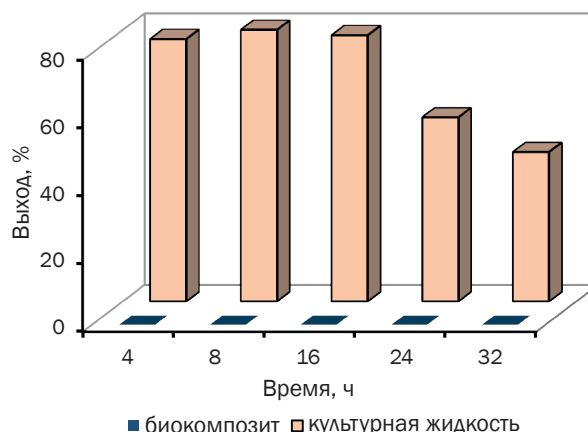


Рис. 4. Выход S-1-фенилэтанола при использовании в качестве биокатализатора образцов культуральной жидкости и биокомпозита, полученных при различной продолжительности ферментации

Fig. 4. Yield of S-1-phenylethanol when culture liquid and biocomposite samples obtained with different fermentation duration used as a biocatalyst

Вместе с тем было обнаружено, что в процессе культивирования дрожжевые клетки могут выходить из гель-пленки целлюлозы в питательную среду и проявлять в ней карбонилредуктазную активность. Добавление ацетофенона и изопропанола (в концентрации 5 г/л и 10% соответственно) к 1 мл культуральной жидкости и последующее инкубирование при 30 °C позволило обнаружить накопление S-1-фенилэтанола в реакционной смеси. Наибольший выход продукта (около 80%) был получен с помощью образцов культуральной жидкости, отобранных через 8 и 16 ч ферментации (см. рис. 4). Дальнейшее увеличение продолжительности культивирования сопровождалось снижением восстановительных свойств культуральной жидкости. Выход продукта

S-1-фенилэтанола, полученного с помощью образца культуральной жидкости, взятого через 32 ч ферментации, не превышал 44%.

Установлено, что в процессе культивирования биоконцентрация концентрации биомассы в культуральной жидкости увеличивается до 21 г/л (АСВ) (рис. 5). Такое существенное увеличение невозможно объяснить только лишь десорбцией дрожжевых клеток из гелевой пленки целлюлозы. Очевидно, вышедшие из биоконцентрации клетки способны к активному росту в жидкой питательной среде, что позволяет рассматривать биоконцентрацию как иммобилизованный инокулят для получения свободных клеток штамма *D. hansenii* Д-43-1.

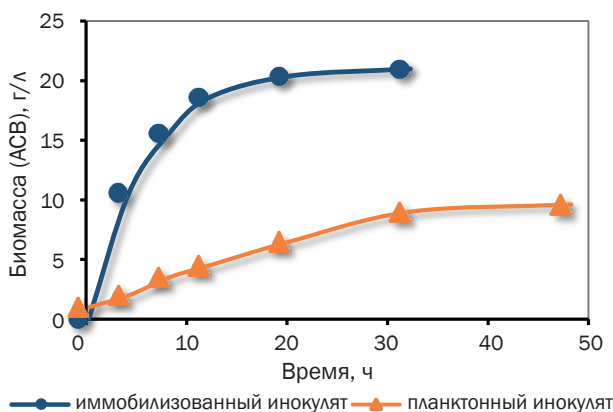


Рис. 5. Накопление биомассы *Debaryomyces hansenii* Д-43-1 при использовании иммобилизованного и планктонного инокулята

Fig. 5. Accumulation of *Debaryomyces hansenii* D-43-1 biomass using an immobilized and planktonic inoculum

В работе [45] показано, что иммобилизованный инокулят, созданный путем иммобилизации в криогеле поливинилового спирта клеток *Chlorella vulgaris*, позволяет интенсифицировать процесс получения биомассы свободных клеток при культивировании микроводорослей в миксотрофных условиях. Увеличение исходной концентрации иммобилизованных клеток, вводимых в среду вместе с носителем, приводит к значительному повышению скорости накопления потомственных свободных клеток в среде. При использовании иммобилизованного инокулята в оптимальной концентрации этот показатель был почти в 4 раза выше, чем при применении в качестве посевного материала незакрепленных клеток (10% от объема среды).

Сравнение роста дрожжей *D. hansenii* Д-43-1 при культивировании в присутствии биоконцентрации с контрольной ферментацией, в которой в качестве посевного материала использовалась суспензия свободных клеток в концентрации 1 г/л (АСВ), показало, что в случае иммобилизованного инокулята накапливается в 3 раза больше биомассы, нежели в контроле с планктонным инокулятом (см. рис. 5).

Обнаружено, что иммобилизованный инокулят можно применять для получения биомассы многократно (рис. 6). В повторных ферментациях в течение 15-часового культивирования стабильно достигается высокий выход биомассы (около 13 г/л), который почти в 2 раза превышает уровень, достигнутый за тот же промежуток времени при использовании планктонного посевного материала (см. рис. 5 и 6).

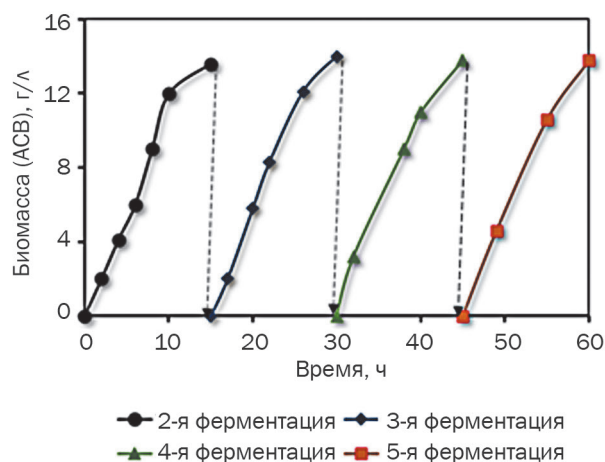


Рис. 6. Рост дрожжей *Debaryomyces hansenii* Д-43-1 в повторных ферментациях с использованием иммобилизованного инокулята (пунктирными стрелками отмечено время замены культуральной жидкости в реакторе свежей средой)

Fig. 6. Growth of yeast *Debaryomyces hansenii* D-43-1 in repeated fermentations using an immobilized inoculum (the dotted arrows indicate the time of replacement of the culture liquid in the reactor with a fresh medium)

Исследование способности планктонной биомассы, полученной с помощью иммобилизованного инокулята, восстанавливать ацетофенон. Для оценки пригодности биомассы свободных клеток дрожжей, полученных в результате культивирования иммобилизованного инокулята, для восстановления ацетофенона в S-1-фенилэтанола была осуществлена 15-часовая ферментация, обеспечивающая высокую карбонилредуктазную активность культуральной жидкости (см. рис. 4). Затем отмытая от среды биомасса была испытана на способность восстанавливать ацетофенон в оптимальных условиях.

В результате исследования было установлено, что полученная биомасса является эффективным энантио-селективным биокатализатором и позволяет получать S-1-фенилэтанола высокой энантиомерной чистоты (99,9% энантиомерного избытка) с выходом 88% (рис. 7, цикл 1).

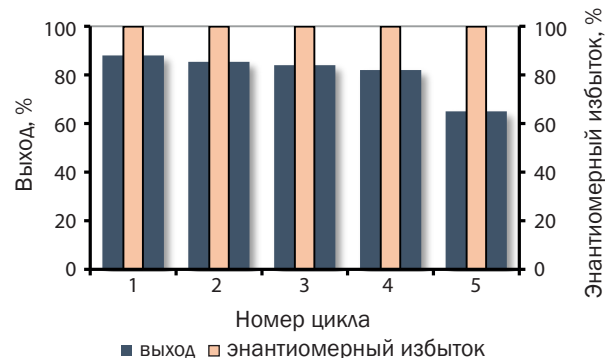


Рис. 7. Выход и энантиомерная чистота S-1-фенилэтанола при многократном использовании в качестве биокатализатора биомассы дрожжей, полученной с помощью иммобилизованного инокулята

Fig. 7. Yield and enantiomeric purity of S-1-phenylethanol with repeated use of yeast biomass obtained using an immobilized inoculum as a biocatalyst

Биокатализатор в концентрации 40 г/л (АСВ) может использоваться повторно для восстановления ацетофенона в энантиомерно чистый S-1-фенилэтанол в течение четырех циклов трансформации без существенного снижения выхода продукта (см. рис. 7). Однако в пятом цикле выход продукта снижается до 65%, что ограничивает возможность дальнейшего эффективного использования биокатализатора.

При исследовании биокаталитических свойств образцов биомассы, выделенных из культуральных жидкостей повторных ферментаций, обнаружено, что все они проявляют карбонилредуктазную активность и позволяют получать S-1-фенилэтанол высокой энантиомерной чистоты (не менее 99 % энантиомерного избытка) практически с таким же выходом, как после первой ферментации (рис. 8).

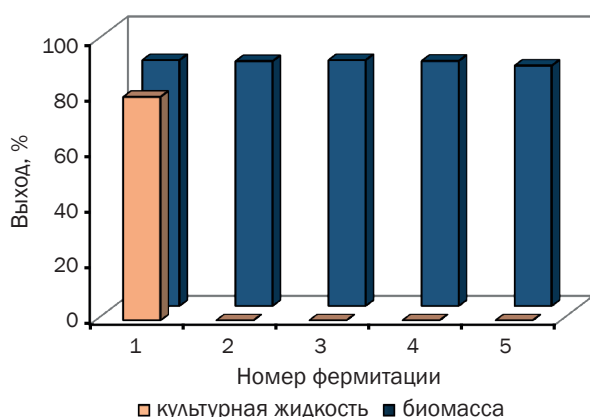


Рис. 8. Выход S-1-фенилэтанола в процессе восстановления ацетофенона с помощью образцов культуральной жидкости и биомассы, полученных при многократном использовании иммобилизованного инокулята

Fig. 8. Yield of S-1-phenylethanol in the process of acetophenone reduction using culture fluid and biomass samples obtained by repeated use of an immobilized inoculum

Вместе с тем было обнаружено, что, если биомассу не выделять из ростовой среды и использовать в качестве биокатализатора саму культуральную жидкость, не всегда можно осуществить восстановление ацетофенона. Только в случае образца культуральной жидкости из первой ферментации образуется S-1-фенилэтанол с высоким выходом 81% (см. рис. 8). При использовании образцов культуральной жидкости, полученных в повторных фер-

ментациях, реакция восстановления ацетофенона не протекала, несмотря на присутствие в них дрожжевых клеток с карбонилредуктазной активностью. Это указывает на наличие в культуральных жидкостях, полученных во второй и последующих ферментациях, ингибиторов карбонилредуктазной активности клеток. Возможно, что накоплением таких ингибиторов в гель-пленке целлюлозы в процессе иммобилизации дрожжей объясняется отсутствие карбонилредуктазной активности у биокомпозиата. Можно также полагать, что ингибиторы, образующиеся в пленке, выделяются из нее в культуральную жидкость во время ферментации и подавляют активность свободных клеток. В таком случае предотвращение их образования или удаление *in situ* может привести к появлению карбонилредуктазной активности у биокомпозиата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, продемонстрирована перспективность применения бактериальной целлюлозы на стадии подготовки клеточного биокатализатора для интенсификации процессов получения энантиомерно чистых спиртов асимметрическим восстановлением прохиральных карбонилсодержащих предшественников.

На примере дрожжей *D. hansenii* Д-43-1, клетки которых способны энантиоселективно восстанавливать ацетофенон в S-1-фенилэтанол в присутствии изопропанола, показано, что бактериальная целлюлоза может быть использована в качестве матрицы для получения иммобилизованного инокулята. Применение такого инокулята позволяет накапливать энзиматически активную биомассу микроорганизмов с карбонилредуктазной активностью более эффективно, чем при использовании планктонного посевного материала. Иммобилизованный инокулят может быть использован многократно, что открывает перспективу для дальнейшей разработки способа получения энзиматически активной биомассы *D. hansenii* Д-43-1 в непрерывном режиме.

Биомасса свободных клеток, полученная с применением иммобилизованного инокулята, после выделения из культуральной жидкости способна восстанавливать ацетофенон в энантиомерно чистый S-1-фенилэтанол (не менее 99% энантиомерного избытка) с выходом 88%. На примере биомассы, полученной после первой ферментации, показано, что она может быть использована повторно в течение четырех циклов без существенного снижения выхода продукта. Только в пятом цикле выход продукта снижается до 65%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Choi S.M., Rao K.M., Zo S.M., Shin E.J., Han S.S. Bacterial cellulose and its applications // *Polymers*. 2022. Vol. 14, no. 6. P. 1080. DOI: 10.3390/polym14061080.
2. Navya P.V., Gayathri V., Samanta D., Sampath S. Bacterial cellulose: a promising biopolymer with interesting properties and applications // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022. Vol. 220. P. 435–461. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.08.056.
3. Revin V.V., Liyaskina E.V., Parchaykina M.V., Kuzmenko T.P., Kurgaeva I.V., Revin V.D., et al. Bacterial cellulose-based polymer nanocomposites: a review // *Polymers*. 2022. Vol. 14, no. 21. P. 4670. DOI: 10.3390/polym14214670.
4. Рогова Е.А., Алашкевич Ю.Д., Кожухов В.А.,

Лапин И.Р., Киселев Е.Г. Состояние и перспективы совершенствования способов получения и использования бактериальной целлюлозы (обзор) // *Химия растительного сырья*. 2022. N 4. С. 27–46. DOI: 10.14258/jcprm.20220411373. EDN: ABGQJV.

5. Lu Y., Mehling M., Huan S., Bai L., Rojas O.J. Biofabrication with microbial cellulose: from bioadaptive designs to living materials // *Chemical Society Reviews*. 2024. Vol. 53, no. 14. P. 7363–7391. DOI: 10.1039/d3cs00641g.

6. Hornung M., Ludwig M., Gerrard A.M., Schmauder H.-P. Optimizing the production of bacterial cellulose in surface culture: evaluation of substrate mass transfer influences on the bioreaction (part 1) // *Engineering in Life Sci-*

- ences. 2006. Vol. 6, no. 6. P. 537–545. DOI: 10.1002/elsc.200620162.
- 7.** Zywicka A., Banach A., Junka A.F., Drozd R., Fijałkowski K. Bacterial cellulose as a support for yeast immobilization – correlation between carrier properties and process efficiency // *Journal of Biotechnology*. 2019. Vol. 291. P. 1–6. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2018.12.010.
- 8.** Gilbert C., Tang T.-C., Ott W., Dorr B.A., Shaw W.M., Sun G.L., et al. Living materials with programmable functionalities grown from engineered microbial co-cultures // *Nature Materials*. 2021. Vol. 20. P. 691–700. DOI: 10.1038/s41563-020-00857-5.
- 9.** Savitskaya I.S., Shokatayeva D.H., Kistaubayeva A.S., Ignatova L.V., Digel I.E. Antimicrobial and wound healing properties of a bacterial cellulose based material containing *B. subtilis* cells // *Heliyon*. 2019. Vol. 5, no. 10. P. e02592. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02592.
- 10.** Atta O.M., Manan S., Ahmed A.A.Q., Awa M.F., Ul-Islam M., Subhan F., et al. Development and characterization of yeast-incorporated antimicrobial cellulose biofilms for edible food packaging application // *Polymers*. 2021. Vol. 13, no. 14. P. 2310. DOI: 10.3390/polym13142310.
- 11.** Fijałkowski K., Peitler D., Rakoczy R., Żywicka A. Survival of probiotic lactic acid bacteria immobilized in different forms of bacterial cellulose in simulated gastric juices and bile salt solution // *LWT – Food Science and Technology*. 2016. Vol. 68. P. 322–328. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.12.038.
- 12.** Zhao C., Wang G., Sun M., Cai Z., Yin Z., Cai Y. Bacterial cellulose immobilized *S. cerevisiae* as microbial sensor for rapid BOD detection // *Fibers and Polymers*. 2021. Vol. 22. P. 1208–1217. DOI: 10.1007/s12221-021-0650-5.
- 13.** Тарасов С.Е., Плеханова Ю.В., Китова А.Е., Быков А.Г., Мачулин А.В., Колесов В.В. [и др.]. Бактериальная целлюлоза как матрица для микроорганизмов в биоэлектродокаталитических системах // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2022. Т. 58. N 4. С. 388–399. DOI: 10.31857/S0555109922040158. EDN: GQREUZ.
- 14.** Xiao J., Chen Y., Xue M., Ding R., Kang Y., Tremblay P.-L., et al. Fast-growing cyanobacteria bio-embedded into bacterial cellulose for toxic metal bioremediation // *Carbohydrate Polymers*. 2022. Vol. 295. P. 119881. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.119881.
- 15.** Колобова С.А., Скорняков А.Н., Петухова Н.И., Алексеева В.Э., Халимова Л.Х., Зорин В.В. Окисление пирокатехина с помощью биокомпозита на основе спорообразующих бактерий и бактериальной целлюлозы // *Башкирский химический журнал*. 2023. Т. 30. N 4. С. 48–55. DOI: 10.17122/bcj-2023-4-48-55. EDN: CZIHIA.
- 16.** Lee S.H., Ahn G., Shin W.-R., Choi J.-W., Kim Y.-H., Ahn J.-Y. Synergistic outcomes of *Chlorella*-bacterial cellulose based hydrogel as an ethylene scavenger // *Carbohydrate Polymers*. 2023. Vol. 321. P. 121256. DOI: 10.1016/j.carbpol.2023.121256.
- 17.** Колобова С.А., Назмутдинов Д.З., Петухова Н.И., Халимова Л.Х. Бактериальная целлюлоза – перспективный носитель для иммобилизации микроорганизмов – деструкторов фенола // *Башкирский химический журнал*. 2019. Т. 26. N 1. С. 105–111. DOI: 10.17122/bcj-2019-1-105-111. EDN: ZIDSVI.
- 18.** Žur J., Piński A., Michalska J., Hupert-Kocurek K., Nowak A., Wojcieszynska D., et al. A whole-cell immobilization system on bacterial cellulose for the paracetamol-degrading *Pseudomonas moorei* KB4 strain // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2020. Vol. 149. P. 104919. DOI: 10.1016/j.ibiod.2020.104919.
- 19.** Yao W., Wu X., Zhu J., Sun B., Zhang Y.Y., Miller C. Bacterial cellulose membrane – a new support carrier for yeast immobilization for ethanol fermentation // *Process Biochemistry*. 2011. Vol. 46, no 10. P. 2054–2058. DOI: 10.1016/j.procbio.2011.07.006.
- 20.** Zywicka A., Junka A., Ciecholewska-Juško D., Migdał P., Czajkowska J., Fijałkowski K. Significant enhancement of citric acid production by *Yarrowia lipolytica* immobilized in bacterial cellulose-based carrier // *Journal of Biotechnology*. 2020. Vol. 321. P. 13–22. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2020.06.014.
- 21.** Wei J., Zhang X., Ai S., Huang Y., Yang X., Mei Y., et al. The effective astaxanthin productivities of immobilized *Haematococcus pluvialis* with bacterial cellulose // *Bioresource Technology*. 2022. Vol. 344. P. 126317. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.126317.
- 22.** Назмутдинов Д.З., Порошина Н.Н., Петухова Н.И. *Debaryomyces hansenii* Д-43-1 – новый галотолерантный деструктор фенола // *Башкирский химический журнал*. 2018. Т. 25. N 2. С. 57–63. DOI: 10.17122/bcj-2018-2-57-63. EDN: LYBVTN.
- 23.** Prista C., Michán C., Miranda I.M., Ramos J. The halotolerant *Debaryomyces hansenii*, the Cinderella of non-conventional yeasts // *Yeast*. 2016. Vol. 33, no. 10. P. 523–533. DOI: 10.1002/yea.3177.
- 24.** Yaguchi A., Rives D., Blenner M. New kids on the block: emerging oleaginous yeast of biotechnological importance // *AIMS Microbiology*. 2017. Vol. 3, no 2. P. 227–247. DOI: 10.3934/microbiol.2017.2.227.
- 25.** Пономарева О.Н., Афонина Е.Л., Каманина О.А., Лаврова Д.Г., Арляпов В.А., Алферов В.А. [и др.]. Дрожжи *Debaryomyces hansenii* в органосиликатной оболочке как основа гетерогенного биокатализатора // *Биотехнология*. 2017. Т. 33. N 4. С. 44–53. DOI: 10.21519/0234-2758-2017-33-4-44-53. EDN: ZEULVX.
- 26.** Donzella S., Capusoni C., Pellegrino L., Compagno C. Bioprocesses with reduced ecological footprint by marine *Debaryomyces hansenii* strain for potential applications in circular economy // *Journal of Fungi*. 2021. Vol. 7, no 12. P. 1028. DOI: 10.3390/jof7121028.
- 27.** Estrada M., Navarrete C., Moller S., Procentese A., Martínez J.L. Utilization of salt-rich byproducts from the dairy industry as feedstock for recombinant protein production by *Debaryomyces hansenii* // *Microbial Biotechnology*. 2023. Vol. 16, no 2. P. 404–417. DOI: 10.1111/1751-7915.14179.
- 28.** Borowiecki P., Włoczewska M., Ochal Z. Asymmetric reduction of 1-(benzoazol-2-ylsulfanyl)propan-2-ones using whole cells of *Mortierella isabellina*, *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum* and *Zygosaccharomyces rouxii* // *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 2014. Vol. 109. P. 9–16. DOI: 10.1016/j.molcatb.2014.07.015.
- 29.** Şahin E. *Debaryomyces hansenii* as a new biocatalyst in the asymmetric reduction of substituted acetophenones // *Biocatalysis and Biotransformation*. 2017. Vol. 35, no. 5. P. 363–371. DOI: 10.1080/10242422.2017.1348500.
- 30.** Chlipała P., Janeczko T., Mazur M. Bioreduction of 4'-hydroxychalcone in deep eutectic solvents: optimization and efficacy with various yeast strains // *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. Vol. 25, no. 13. P. 7152. DOI: 10.3390/ijms25137152.
- 31.** Petukhova N.I., Zorin V.V., Sakaeva A.R., Myty-

agina A.V., Nurieva E.R., Vydrina V.A., et al. Enantioselective bioreduction of 5-hexen-2-one in directional synthesis of insect pheromones // Russian Journal of Applied Chemistry. 2022. Vol. 95. P. 442–450. DOI: <https://doi.org/10.1134/s1070427222030156>.

32. Simić S., Zukić E., Schmermund L., Faber K., Winkler C.K., Kroutil W. Shortening synthetic routes to small molecule active pharmaceutical ingredients employing biocatalytic methods // Chemical Reviews. 2022. Vol. 122, no. 1. P. 1052–1126. DOI: [10.1021/acs.chemrev.1c00574](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00574).

33. Vieira G., de Freitas Araujo D., Lemos T., de Mattos M., de Oliveira M., Melo V., et al. *Candida tropicalis* CE017: a new Brazilian enzymatic source for the bioreduction of aromatic prochiral ketones // Journal of the Brazilian Chemical Society. 2010. Vol. 21, no. 8. P. 1509–1516. DOI: [10.1590/S0103-50532010000800015](https://doi.org/10.1590/S0103-50532010000800015).

34. Шейко Е.А., Медникова Е.Э., Воробьева Т.Е., Чанышева А.Р. Исследование условий энантиоселективного биовосстановления ацетофенона в (S)-(-)-1-фенилэтанол // Башкирский химический журнал. 2018. Т. 25. N 1. С. 55–58. DOI: [10.17122/bcj-2018-1-55-58](https://doi.org/10.17122/bcj-2018-1-55-58). EDN: QOIUPB.

35. The yeasts: a taxonomic study / eds C.P. Kurtzman, J.W. Fell, T. Boekhout. Amsterdam: Elsevier, 2011. 2354 p.

36. Шакиров А.Н., Петухова Н.И., Зорин В.В. Энантиоселективное восстановление карбонилсодержащих соединений с помощью дрожжей *Pichia fermentans* 87-9 // Башкирский химический журнал. 2013. Т. 20. N 4. С. 59–63. EDN: RVLKIH.

37. Петухова Н.И., Колобова С.А., Назмутдинова Р.Р., Зорин В.В. Синтез целлюлозы изолятами уксуснокислых бактерий из «чайного гриба» // Башкирский химический журнал. 2016. Т. 23. N 1. С. 7–13. EDN: VSPLVX.

38. Hestrin S., Schramm M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose // Biochemical Journal. 1954. Vol. 58, no. 2. P. 345–352. DOI: [10.1042/bj0580345](https://doi.org/10.1042/bj0580345).

39. Patel R.N. Synthesis of chiral pharmaceutical intermediates by biocatalysis // Coordination Chemistry Reviews. 2008. Vol. 252, no. 5–7. P. 659–701. DOI: [10.1016/j.ccr.2007.10.031](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.10.031).

40. Goldberg K., Schroer K., Lütz S., Liese A. Biocatalytic ketone reduction – a powerful tool for the production of chiral alcohols – Part II: Whole-cell reductions // Applied Microbiology and Biotechnology. 2007. Vol. 76. P. 249–255. DOI: [10.1007/s00253-007-1005-x](https://doi.org/10.1007/s00253-007-1005-x).

41. Kratzer R., Woodley J.M., Nidetzky B. Rules for biocatalyst and reaction engineering to implement effective, NAD(P)H-dependent, whole cell bioreductions // Biotechnology Advances. 2015. Vol. 33, no. 8. P. 1641–1652. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2015.08.006](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.006).

42. Митягина А.В., Рахманов Т.Р., Петухова Н.И., Зорин В.В. Энантиоселективное восстановление карбонилсодержащих соединений с помощью клеток *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ac-1161 // Башкирский химический журнал. 2022. Т. 29. N 1. С. 29–36. DOI: [10.17122/bcj202212936](https://doi.org/10.17122/bcj202212936). EDN: JIQGSM.

43. Erdélyi B., Szabó A., Seres G., Birincsik L., Ivanics J., Szatzker G., et al. Stereoselective production of (S)-1-aryl- and 1-arylethanol by freshly harvested and lyophilized yeast cells // Tetrahedron: Asymmetry. 2006. Vol. 17, no 2. P. 268–274. DOI: [10.1016/j.tetasy.2005.12.025](https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2005.12.025).

44. Андрушина В.А., Балабанова Т.В., Беклемишев А.Б. Варфоломеев С.Д., Водякова М.А., Демаков В.А. [и др.]. Имобилизованные клетки: биокатализаторы и процессы. М.: Издательский центр РИОР, 2018. 500 с. EDN: YOSKMP.

45. Никольская А.Б., Холстов А.В., Лягин И.В., Мамедова Ф., Ефременко Е.Н., Варфоломеев С.Д. Имобилизованные клетки *Chlorella vulgaris* для решения задач альтернативной энергетики и экологии // Альтернативная энергетика и экология. 2012. N 4. С. 95–100. EDN: PAVVTN.

REFERENCES

1. Choi S.M., Rao K.M., Zo S.M., Shin E.J., Han S.S. Bacterial cellulose and its applications. *Polymers*. 2022;14(6):1080. DOI: [10.3390/polym14061080](https://doi.org/10.3390/polym14061080).

2. Navya P.V., Gayathri V., Samanta D., Sampath S. Bacterial cellulose: a promising biopolymer with interesting properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022;220:435–461. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2022.08.056](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.056).

3. Revin V.V., Liyaskina E.V., Parchaykina M.V., Kuzmenko T.P., Kurgaeva I.V., Revin V.D., et al. Bacterial cellulose-based polymer nanocomposites: a review. *Polymers*. 2022;14(21):4670. DOI: [10.3390/polym14214670](https://doi.org/10.3390/polym14214670).

4. Rogova E.A., Alashkevich Yu.D., Kozhukhov V.A., Lapin I.R., Kiselyov E.G. The state and prospects of improving the methods of obtaining and using bacterial cellulose (review). *Chemistry of plant raw materials*. 2022;4:27–46. (In Russian). DOI: [10.14258/jcprm.20220411373](https://doi.org/10.14258/jcprm.20220411373). EDN: ABGQJV.

5. Lu Y., Mehling M., Huan S., Bai L., Rojas O.J. Biofabrication with microbial cellulose: from bioadaptive designs to living materials. *Chemical Society Reviews*. 2024;53(14):7363–7391. DOI: [10.1039/d3cs00641g](https://doi.org/10.1039/d3cs00641g).

6. Hornung M., Ludwig M., Gerrard A.M., Schmauder H.-P. Optimizing the production of bacterial cellulose in surface culture: evaluation of substrate mass transfer influences

on the bioreaction (part 1). *Engineering in Life Sciences*. 2006;6(6):537–545. DOI: [10.1002/elsc.200620162](https://doi.org/10.1002/elsc.200620162).

7. Zywicka A., Banach A., Junka A.F., Drozd R., Fijałkowski K. Bacterial cellulose as a support for yeast immobilization – correlation between carrier properties and process efficiency. *Journal of Biotechnology*. 2019;291:1–6. DOI: [10.1016/j.jbiotec.2018.12.010](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.12.010).

8. Gilbert C., Tang T.-C., Ott W., Dorr B.A., Shaw W.M., Sun G.L., et al. Living materials with programmable functionalities grown from engineered microbial co-cultures. *Nature Materials*. 2021;20:691–700. DOI: [10.1038/s41563-020-00857-5](https://doi.org/10.1038/s41563-020-00857-5).

9. Savitskaya I.S., Shokatayeva D.H., Kistaubayeva A.S., Ignatova L.V., Digel I.E. Antimicrobial and wound healing properties of a bacterial cellulose based material containing *B. subtilis* cells. *Heliyon*. 2019;5(10):e02592. DOI: [10.1016/j.heliyon.2019.e02592](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02592).

10. Atta O.M., Manan S., Ahmed A.A.Q., Awa M.F., Ul-Islam M., Subhan F., et al. Development and characterization of yeast-incorporated antimicrobial cellulose biofilms for edible food packaging application. *Polymers*. 2021;13(14):2310. DOI: [10.3390/polym13142310](https://doi.org/10.3390/polym13142310).

11. Fijałkowski K., Peitler D., Rakoczy R., Żywicka A. Survival of probiotic lactic acid bacteria immobilized

- in different forms of bacterial cellulose in simulated gastric juices and bile salt solution. *LWT – Food Science and Technology*. 2016;68:322-328. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.12.038.
- 12.** Zhao C., Wang G., Sun M., Cai Z., Yin Z., Cai Y. Bacterial cellulose immobilized *S. cerevisiae* as microbial sensor for rapid BOD detection. *Fibers and Polymers*. 2021;22:1208-1217. DOI: 10.1007/s12221-021-0650-5.
- 13.** Tarasov S.E., Plekhanova Yu.V., Kitova A.E., Bykov A.G., Machulin A.V., Kolesov V.V., et al. Bacterial cellulose as a matrix for microorganisms in bioelectrocatalytic systems. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2022;58(4):388-399. (In Russian). DOI: 10.31857/S0555109922040158. EDN: GQREUZ.
- 14.** Xiao J., Chen Y., Xue M., Ding R., Kang Y., Tremblay P.-L., et al. Fast-growing cyanobacteria bio-embedded into bacterial cellulose for toxic metal bioremediation. *Carbohydrate Polymers*. 2022;295:119881. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.119881.
- 15.** Kolobova S.A., Skorniakov A.N., Petukhova N.I., Alekseeva V.E., Khalimova L.Kh., Zorin V.V. Catechol oxidation by the biocomposite based on bacterial cellulose and spore-forming bacteria. *Bashkirian Chemical Journal*. 2023;30(4):48-55. (In Russian). DOI: 10.17122/bcj-2023-4-48-55. EDN: CZIHIA.
- 16.** Lee S.H., Ahn G., Shin W.-R., Choi J.-W., Kim Y.-H., Ahn J.-Y. Synergistic outcomes of *Chlorella*-bacterial cellulose based hydrogel as an ethylene scavenger. *Carbohydrate Polymers*. 2023;321:121256. DOI: 10.1016/j.carbpol.2023.121256.
- 17.** Kolobova S.A., Nazmutdinov D.Z., Petukhova N.I., Khalimova L.Kh. Bacterial cellulose – promising carrier for immobilization of phenol-destructing microorganisms. *Bashkirian Chemical Journal*. 2019;26(1):105-111. (In Russian). DOI: 10.17122/bcj-2019-1-105-111. EDN: ZIDSVI.
- 18.** Żur J., Piński A., Michalska J., Hupert-Kocurek K., Nowak A., Wojcieszńska D., et al. A whole-cell immobilization system on bacterial cellulose for the paracetamol-degrading *Pseudomonas moorei* KB4 strain. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2020;149:104919. DOI: 10.1016/j.ibiod.2020.104919.
- 19.** Yao W., Wu X., Zhu J., Sun B., Zhang Y.Y., Miller C. Bacterial cellulose membrane – a new support carrier for yeast immobilization for ethanol fermentation. *Process Biochemistry*. 2011;46(10):2054-2058. DOI: 10.1016/j.procbio.2011.07.006.
- 20.** Zywicka A., Junka A., Ciecholewska-Juśko D., Migdał P., Czajkowska J., Fijałkowski K. Significant enhancement of citric acid production by *Yarrowia lipolytica* immobilized in bacterial cellulose-based carrier. *Journal of Biotechnology*. 2020;321:13-22. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2020.06.014.
- 21.** Wei J., Zhang X., Ai S., Huang Y., Yang X., Mei Y., et al. The effective astaxanthin productivities of immobilized *Haematococcus pluvialis* with bacterial cellulose. *Bioresource Technology*. 2022;344:126317. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.126317.
- 22.** Nazmutdinov D.Z., Poroshina N.N., Petukhova N.I. *Debaryomyces hansenii* d-43-1 - new halotolerant phenol destructor. *Bashkirian Chemical Journal*. 2018;25(2):57-63. (In Russian). DOI: 10.17122/bcj-2018-2-57-63. EDN: LYBVTN.
- 23.** Prista C., Michán C., Miranda I.M., Ramos J. The halotolerant *Debaryomyces hansenii*, the Cinderella of non-conventional yeasts. *Yeast*. 2016;33(10):523-533. DOI: 10.1002/yea.3177.
- 24.** Yaguchi A., Rives D., Blenner M. New kids on the block: emerging oleaginous yeast of biotechnological importance. *AIMS Microbiology*. 2017;3(2):227-247. DOI: 10.3934/microbiol.2017.2.227.
- 25.** Ponamareva O.N., Afonina E.L., Kamanina O.A., Lavrova D.G., Arliapov V.A., Alferov V.A., et al. Yeast *Debaryomyces hansenii* in ormosil shells as a heterogeneous biocatalyst. *Biotechnologiya*. 2017;33(4):44-53. (In Russian). DOI: 10.21519/0234-2758-2017-33-4-44-53. EDN: ZEULVX.
- 26.** Donzella S., Capusoni C., Pellegrino L., Compagno C. Bioprocesses with reduced ecological footprint by marine *Debaryomyces hansenii* strain for potential applications in circular economy. *Journal of Fungi*. 2021;7(12):1028. DOI: 10.3390/jof7121028.
- 27.** Estrada M., Navarrete C., Moller S., Procentese A., Martínez J.L. Utilization of salt-rich byproducts from the dairy industry as feedstock for recombinant protein production by *Debaryomyces hansenii*. *Microbial Biotechnology*. 2023;16(2):404-417. DOI: 10.1111/1751-7915.14179.
- 28.** Borowiecki P., Włoczewska M., Ochal Z. Asymmetric reduction of 1-(benzoazol-2-ylsulfanyl)propan-2-ones using whole cells of *Mortierella isabellina*, *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum* and *Zygosaccharomyces rouxii*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 2014;109:9-16. DOI: 10.1016/j.molcatb.2014.07.015.
- 29.** Şahin E. *Debaryomyces hansenii* as a new biocatalyst in the asymmetric reduction of substituted acetophenones. *Biocatalysis and Biotransformation*. 2017;35(5):363-371. DOI: 10.1080/10242422.2017.1348500.
- 30.** Chlipała P., Janeczko T., Mazur M. Bioreduction of 4'-hydroxychalcone in deep eutectic solvents: optimization and efficacy with various yeast strains. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(13):7152. DOI: 10.3390/ijms25137152.
- 31.** Petukhova N.I., Zorin V.V., Sakaeva A.R., Mytyagina A.V., Nurieva E.R., Vydrina V.A., et al. Enantioselective bioreduction of 5-hexen-2-one in directional synthesis of insect pheromones. *Russian Journal of Applied Chemistry*. 2022;95:442-450. DOI: <https://doi.org/10.1134/s1070427222030156>.
- 32.** Simić S., Zukić E., Schmermund L., Faber K., Winkler C.K., Kroutil W. Shortening synthetic routes to small molecule active pharmaceutical ingredients employing biocatalytic methods. *Chemical Reviews*. 2022;122(1):1052-1126. DOI: 10.1021/acs.chemrev.1c00574.
- 33.** Vieira G., de Freitas Araujo D., Lemos T., de Mattos M., de Oliveira M., Melo V., et al. *Candida tropicalis* CE017: a new Brazilian enzymatic source for the bioreduction of aromatic prochiral ketones. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2010;21(8):1509-1516. DOI: 10.1590/S0103-50532010000800015.
- 34.** Sheiko E.A., Mednikova E.E., Vorobyeva T.E., Chanysheva A.R. Investigation of enantioselective bioreduction conditions of acetophenone to (S)-(-)-1-phenylethanol. *Bashkirian Chemical Journal*. 2018;25(1):55-58. (In Russian). DOI: 10.17122/bcj-2018-1-55-58. EDN: QOIUPB.
- 35.** Kurtzman C.P., Fell J.W., Boekhout T. *The yeasts: a taxonomic study*. Amsterdam: Elsevier; 2011, 2354 p.
- 36.** Shakirov A.N., Petukhova N.I., Zorin V.V. Enantioselective reduction of carbonyl compounds by yeasts *Pichia fermentans* 87-9. *Bashkirian Chemical Journal*. 2013;20(4):59-63. (In Russian). EDN: RVLKIH.

37. Petukhova N.I., Kolobova S.A., Nazmutdinova R.R., Zorin V.V. Cellulose synthesis by acetic acid bacteria isolates from mushroom tea. *Bashkirian Chemical Journal*. 2016;23(1):7-13. (In Russian). EDN: VSPLVX.

38. Hestrin S., Schramm M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochemical Journal*. 1954;58(2):345-352. DOI: 10.1042/bj0580345.

39. Patel R.N. Synthesis of chiral pharmaceutical intermediates by biocatalysis. *Coordination Chemistry Reviews*. 2008;252(5-7):659-701. DOI: 10.1016/j.ccr.2007.10.031.

40. Goldberg K., Schroer K., Lütz S., Liese A. Biocatalytic ketone reduction – a powerful tool for the production of chiral alcohols – Part II: Whole-cell reductions. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2007;76:249-255. DOI: 10.1007/s00253-007-1005-x.

41. Kratzer R., Woodley J.M., Nidetzky B. Rules for biocatalyst and reaction engineering to implement effective, NAD(P)H-dependent, whole cell bioreductions. *Biotechnology Advances*. 2015;33(8):1641-1652. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.08.006.

42. Mityagina A.V., Rakhmanov T.R., Petukhova N.I., Zorin V.V. Enantioselective reduction of carbonyl compounds by whole cells of *Rhodococcus erythropolis* VKM AC-1161. *Bashkirian Chemical Journal*. 2022;29(1):29-36. (In Russian). DOI: 10.17122/bcj202212936. EDN: JIQGSM.

43. Erdélyi Bal., Szabó A., Seres G., Birincsik L., Ivanics J., Szatzker G., et al. Stereoselective production of (S)-1-aryl- and 1-arylethanol by freshly harvested and lyophilized yeast cells. *Tetrahedron: Asymmetry*. 2006;17(2):268-274. DOI: 10.1016/j.tetasy.2005.12.025.

44. Andryushina V.A., Balabanova T.V., Beklemishev A.B. Varfolomeev S.D., Vodyakova M.A., Demakov V.A., et al. *Immobilized cells: biocatalysts and processes*. Moscow: Izdatel'skii tsentr RIOR; 2018, 500 p. (In Russian). EDN: YOSKMP.

45. Nikolskaya A.B., Holstov A.V., Lyagin I.V., Mamedova F., Efremenko E.N., Varfolomeev S.D. Immobilized *Chlorella vulgaris* cells in solution of alternative energy and ecology tasks. *Alternative Energy and Ecology*. 2012;4:95-100. (In Russian). EDN: PAVVTN.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Петухова Надежда Ивановна,

к.б.н., доцент,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450062, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
biocatnp@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9167-9316>

Колобова Светлана Андреевна,

преподаватель,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450062, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
✉ Kulemza92@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0004-5160-2631>

Зорин Владимир Викторович,

д.х.н., профессор,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450062, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
zorinbiochemtech@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9167-9316>

Вклад авторов

Н.И. Петухова – разработка концепции,
разработка методологии, написание
черновика рукописи.
С.А. Колобова – разработка методологии,
проведение исследования.
В.В. Зорин – валидация результатов,
редактирование рукописи.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nadezhda I. Petukhova,

Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450062,
Russian Federation,
biocatnp@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9167-9316>

Svetlana A. Kolobova,

Teacher,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov, St., Ufa, 450062,
Russian Federation,
✉ Kulemza92@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0004-5160-2631>

Vladimir V. Zorin,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov, St., Ufa, 450062,
Russian Federation,
zorinbiochemtech@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9167-9316>

Contribution of the authors

Nadezhda I. Petukhova – conceptualization,
methodology, writing – original draft.
Svetlana A. Kolobova – methodology,
investigation.
Vladimir V. Zorin – validation, editing.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests
regarding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 04.09.2024.
Одобрена после рецензирования 29.10.2024.
Принята к публикации 13.11.2025.

Information about the article

The article was submitted 04.09.2024.
Approved after reviewing 29.10.2024.
Accepted for publication 13.11.2025.



Изучение влияния пищевой добавки на основе трюфелевых грибов на гематологические и физиологические показатели лабораторных крыс

**Т.Н. Вавилина[✉], Е.В. Малыгина, А.Ю. Бельшенко, Н.А. Имидоева,
В.М. Жиленков, М.М. Моргунова, М.Е. Дмитриева, В.Н. Шелковникова,
А.А. Баталова, Д.В. Аксёнов-Грибанов**

Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

Аннотация. Трюфелевые грибы (*Tuber* sp.) являются одними из самых редких и ценных грибов, обладающих высокой пищевой ценностью и биотехнологическим потенциалом. Мицелий трюфелевых грибов и их плодовые тела богаты белком и могут выступать источником биологически активных соединений. Целью исследования являлась оценка влияния пищевой добавки на основе плодовых тел трюфелей на физиологические и гематологические показатели лабораторных крыс. Для проведения эксперимента отобрано 18 взрослых особей мужского пола крыс линии Wistar, предварительно разделенных на три группы. Контрольная группа получала стандартный корм, а две экспериментальные группы дополнительно к злаковому корму получали порошок из плодовых тел трюфеля или вареное куриное мясо в количестве 20% от суточного рациона. Обе экспериментальные группы подвергались умеренным физическим нагрузкам с помощью метода вынужденного плавания. Так, в ходе эксперимента оценивали изменения в массе тела, силе хвата и гематологических показателях лабораторных животных. Для крыс, получавших продукт на основе порошка плодовых тел черного трюфеля, отмечена положительная динамика физиологических и гематологических параметров. Таким образом, полученные материалы свидетельствуют о потенциале трюфелей как функционального компонента питания, способствующего улучшению физической выносливости и метаболических процессов. Результаты исследования открывают перспективы для разработки биологически активных добавок и пищевых продуктов питания на основе трюфелевых грибов.

Ключевые слова: Трюфель, *Tuber* sp., крысы, белок, гематологические показатели

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-76-10036.

Для цитирования: Вавилина Т.Н., Малыгина Е.В., Бельшенко А.Ю., Имидоева Н.А., Жиленков В.М., Моргунова М.М. [и др.]. Изучение влияния пищевой добавки на основе трюфелевых грибов на гематологические и физиологические показатели лабораторных крыс // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 528–534. DOI: 10.21285/achb.1011. EDN: PERORC.

Effect of a truffle-based food supplement on hematological and physiological parameters in laboratory rats

Tatyana N. Vavilina✉, Ekaterina V. Malygina, Aleksandr Yu. Belyshenko,
Natalia A. Imidoeva, Vladimir M. Zhilenkov, Maria M. Morgunova, Maria E. Dmitrieva,
Victoria N. Shelkovnikova, Anna A. Batalova, Denis V. Axenov-Gribanov

Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. Truffles (*Tuber* sp.) are among the rarest and most valuable fungi with high nutritional value and biotechnological potential. Truffle mycelium and fruiting bodies are rich in protein and can serve as a source of biologically active compounds. The present study was aimed at assessing the effect of a food supplement based on truffle fruiting bodies on the physiological and hematological parameters of laboratory rats. For the experiment, eighteen adult male Wistar rats were selected and divided into three groups. The control group received standard feed, while the two experimental groups received powdered truffle fruiting bodies or boiled chicken meat (20% of their daily ration) in addition to the cereal feed. Both experimental groups were subjected to moderate physical exertion via forced swimming. The experiment assessed changes in the body weight, grip strength, and hematological parameters of laboratory animals. The rats receiving a product based on powdered black truffle fruiting bodies showed positive changes in physiological and hematological parameters. Thus, the obtained results indicate the potential of truffles to serve as a functional dietary component that improves physical endurance and metabolic processes. The findings offer prospects for the development of dietary supplements and food products on the basis of truffles.

Keywords: truffle, *Tuber* sp., rats, protein, hematological parameters

Funding. The Russian Science Foundation (project no. 22-76-10036) financially supported the work.

For citation: Vavilina T.N., Malygina E.V., Belyshenko A.Yu., Imidoeva N.A., Zhilenkov V.M., Morgunova M.M., et al. Effect of a truffle-based food supplement on hematological and physiological parameters in laboratory rats. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):528-534. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1011. EDN: PERORC.

ВВЕДЕНИЕ

Альтернативные источники белка привлекают большое внимание со стороны как науки, так и пищевой промышленности. Одним из наиболее перспективных является грибной белок, благодаря присутствию всех незаменимых аминокислот, кроме того, грибная биомасса обладает высокой питательной ценностью и набором микроэлементов. Среди различных источников грибного белка трюфели (*Tuber* sp.) представляют особый интерес, поскольку они содержат до 23% белка (от сухого веса [1]. По содержанию белка трюфели сопоставимы с другими видами грибов, а порой и превосходят их. Например, шиитакэ и вешенка содержат около 20% белка, а шампиньоны – около 30% белка от сухого веса [2]. Трюфели богаты белками с высоким содержанием незаменимых аминокислот, таких как цистеин, метионин и лизин, которые играют важную роль в метаболизме и поддержании здоровья [3, 4]. Помимо этого, трюфели содержат клетчатку, которая способствует улучшению пищеварения и поддержанию нормальной функции желудочно-кишечного тракта [4, 5]. Трюфели являются источником полезных жиров, в их составе преобладают ненасыщенные жирные кислоты, такие как олеиновая и линолевая, которые составляют более 60% в составе общих липидов [6]. В зависимости от вида трюфеля доля полиненасыщенных жирных кислот может достигать до

79,3%, при этом содержание жиров в трюфелях относительно низкое – около 4–9% от сухого веса, что делает их диетическим продуктом [7, 8].

Помимо вышеперечисленных характеристик трюфель содержит в своем составе биологически активные соединения, такие как флавоноиды, фенольные соединения, терпеноиды, стерины, полисахариды и другие метаболиты, благодаря которым он обладает выраженной антиоксидантной активностью [1, 8, 9]. Антиоксиданты, в том числе содержащиеся в составе трюфеля, помогают бороться со свободными радикалами, предотвращая окислительный стресс, что может снижать риск развития заболеваний, связанных с окислительным повреждением клеток, таких как сердечно-сосудистые заболевания и нейродегенеративные расстройства [9]. Кроме того, плодовые тела трюфеля являются источником витаминов группы В (В1, В2, В3, В5, В6), витамина С, а также β-глюканов, обладающих иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами [10]. Также в составе черного трюфеля присутствует эргостерол, который под действием ультрафиолетового излучения превращается в эргокальциферол (витамин D2), способствующий поддержанию минеральной плотности костей и снижению риска остеопороза [11, 12]. Трюфели содержат значительное количество макро- (калий и фосфор) и микроэлементов (железо, медь, цинк и марганец),

которые способствуют укреплению костей, улучшению кровообращения, поддержанию иммунной системы и регуляции обмена веществ [1, 13]. Исследования также подтверждают наличие антибиотической [14], противоопухолевой [15], противовоспалительной активности у экстрактов трюфелевых грибов [1], что делает их перспективным объектом для использования в фармацевтической промышленности.

Несмотря на значительный прогресс в изучении химического состава и биологических активностей черного трюфеля, многие механизмы его действия остаются недостаточно изученными. В связи с этим дальнейшие исследования направлены на углубленное изучение его физиологического воздействия. Перспективным направлением является моделирование влияния трюфелей на организм млекопитающих с использованием лабораторных животных, например крыс. Такие исследования позволят более детально охарактеризовать биологическую активность трюфелей и оценить их потенциальную пользу для здоровья человека.

Целью представленного исследования являлась оценка влияния пищевой добавки, содержащей трюфелевые грибы, на некоторые гематологические и физиологические показатели лабораторных крыс.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для эксперимента было отобрано 18 взрослых крыс линии *Wistar*, разделенных на три экспериментальные группы. Крыс содержали в контролируемых условиях при постоянной температуре 21–23 °C и влажности 55–60% с 12-часовым циклом день – ночь и свободным доступом к стандартному злаковому корму и чистой питьевой воде. В качестве контроля исследовались животные, получавшие стандартный злаковый корм и не подвергавшиеся физическим нагрузкам. Первая тестовая группа лабораторных крыс получала злаковый корм и продукт на основе черного трюфеля в размере 20% от дневного рациона. Вторая тестовая группа животных получала злаковый корм и вареное куриное мясо в размере 20% от дневного рациона. Обе экспериментальные группы проходили тренировки методом вынужденного плавания. Протокол тренировок включал плавательные упражнения, которые проводились 5 дней в неделю в течение 4 недель в стеклянном резервуаре объемом 0,1 м³ при температуре воды 25 °C [16, 17]. В начале эксперимента животных адаптировали к воде. Начальная высота водного столба составляла 5 см, время плавания – 5 мин. Каждую неделю уровень воды повышали на 5 см. Максимальная глубина резервуара в ходе тренировок составила 30 см. Время плавания также постепенно увеличивали с 5 до 30 мин в день.

В течение 4 недель эксперимента проводили контроль массы тела и регулярные измерения пиковой силы хвата крыс с помощью хватательного теста. Сутью данного теста является оценка силы хвата, которую грызун создает с помощью мышц-сгибателей передних конечностей [18]. Замеры пиковой силы хвата проводили с помощью зафиксированного портативного динамометра Shahe AMF (Shahe, Китай) на максимальную силу нажима 20 Н. Для проведения теста крысу осторожно приподнимали за хвост и давали ухватиться за сетку, прикрепленную к стержню динамометра. Показатели регистрировали после того, как крыса переставала

тянуть и отпускала сетку.

Также за время эксперимента у всех животных, принимавших в нем участие, 3 раза отбирали кровь из хвостовой вены [19], а затем проводили ее исследование с использованием автоматического гематологического анализатора Mindray BC-5000 Vet (Mindray, Китай). В рамках эксперимента измеряли такие параметры, как: концентрация гемоглобина, средняя концентрация гемоглобина в эритроците, уровень эритроцитов, а также содержание лейкоцитов и эозинофилов.

Все эксперименты с участием лабораторных животных были спланированы и проведены согласно правилам этического комитета Иркутского государственного университета. Статистическую обработку данных выполняли в программах Microsoft Office Excel и Past 4 с помощью критерия Фридмана (для внутригруппового сравнения) и Краскела – Уоллиса (для межгруппового сравнения) при уровне значимости $\alpha = 0,05$. После выявления значимых различий проводили попарные сравнения: для независимых выборок использовали критерий Манна – Уитни, для зависимых – критерий Вилкоксона.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Материалы исследования показали, что крысы, употреблявшие грибной белок, имели статистически значимые более высокие показатели силы хвата в сравнении

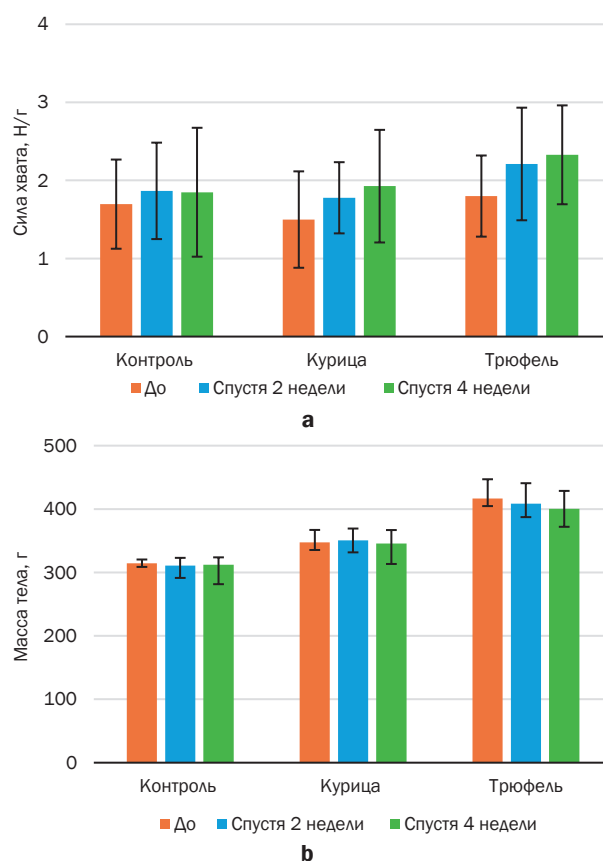


Рис. 1. Диаграмма относительной силы хвата с пересчетом на массу тела (а) и массы тела лабораторных животных (б), участвовавших в эксперименте

Fig. 1. Diagram of relative grip strength converted to body weight (a) and body weight of laboratory animals (b) participating in the experiment

с другими экспериментальными группами ($p \leq 0,05$). К 4-й неделе средняя пиковая сила хвата увеличилась: до $2,3 \pm 0,6$ Н/г в группе с использованием трюфеля; до $1,9 \pm 0,5$ Н/г в группе с применением куриного мяса; до $1,8 \pm 0,5$ Н/г в контрольной группе (рис. 1, а).

Вместе с тем показано, что животные, употребляющие грибной белок, эффективнее снижали массу тела, чем группа крыс, употребляющих курицу в качестве источника белка. Так, в группе, употреблявшей трюфель, к 4-й неделе зафиксировано снижение массы тела на 3,8%, в то время как в группе, получавшей курицу, данный показатель составил лишь 0,5% (рис. 1, б). Различие подтверждено статистически ($p \leq 0,05$).

Межгрупповой анализ, выполненный с использованием критерия Краскела – Уоллиса, выявил достоверные различия в содержании гемоглобина между тремя экспериментальными группами ($p \leq 0,05$). В группе с использованием трюфеля концентрация гемоглобина возросла с отметки $174,5 \pm 5,3$ до $188,1 \pm 5,4$ г/л к концу эксперимента, в то время как в группе, получавшей куриное мясо – с $167,3 \pm 8,2$ до $178,6 \pm 6,0$ г/л (рис. 2, а). В контрольной группе гемоглобин изменялся незначительно. Дополнительный анализ с использованием

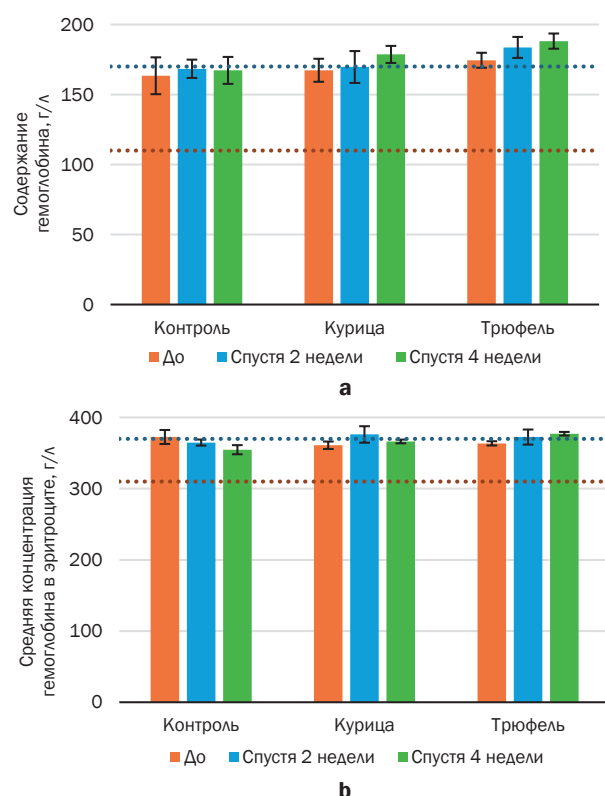


Рис. 2. Гистограмма содержания гемоглобина (а) и средней концентрации гемоглобина в эритроците (б) в крови лабораторных крыс в трех экспериментальных группах (пунктирной линией обозначены границы нормы: для содержания гемоглобина – 110–170 г/л; для средней концентрации гемоглобина в эритроците – 310–370 г/л)

Fig. 2. Histogram of hemoglobin content (a) and mean hemoglobin concentration in erythrocyte (b) in the blood of laboratory rats in three experimental groups (dotted line indicates normal limits: hemoglobin content – 110–170 g/L; mean hemoglobin concentration in erythrocyte – 310–370 g/L)

U-критерия Манна – Уитни показал достоверные различия по концентрации гемоглобина между всеми группами ($p \leq 0,05$). Также внутригрупповой анализ (критерий Фридмана) выявил значимое увеличение средней концентрации гемоглобина в эритроците ($p \leq 0,05$) в группе, потреблявшей продукт на основе трюфеля, с $363,6 \pm 3$ до $377,1 \pm 2,6$ г/л (рис. 2, б).

Одной из причин увеличения уровней гемоглобина и среднего содержания гемоглобина у животных, питав-

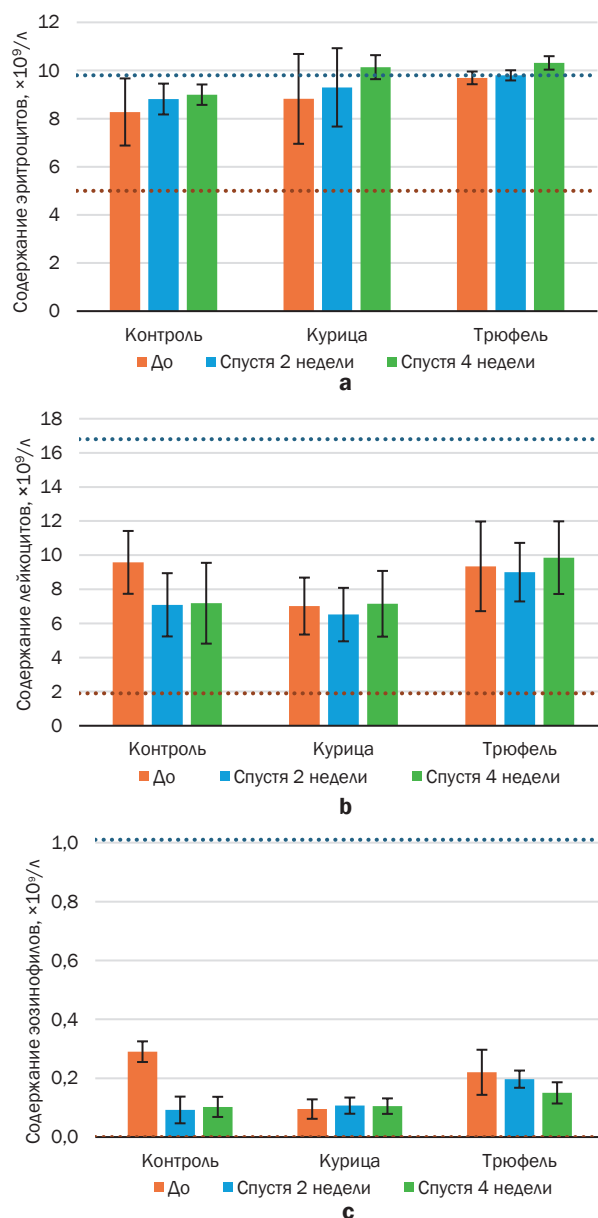


Рис. 3. Гистограмма содержания эритроцитов (а), лейкоцитов (б) и эозинофилов (с) в крови лабораторных крыс в трех экспериментальных группах (пунктирной линией обозначены границы нормы: для эритроцитов – $(5,0-9,8) \times 10^9/\text{л}$; для лейкоцитов – $(1,9-16,8) \times 10^9/\text{л}$; для эозинофилов – $(0,00-1,01) \times 10^9/\text{л}$)

Fig. 3. Histogram of erythrocyte (a), leukocyte (b) and eosinophil (c) content in the blood of laboratory rats in three experimental groups (the dotted line indicates the limits of normal: erythrocyte – $(5.0-9.8) \times 10^9/\text{L}$; leukocyte – $(1.9-16.8) \times 10^9/\text{L}$; eosinophil – $(0.00-1.01) \times 10^9/\text{L}$)

шихся трюфельными грибами, может быть высокое содержание железа в трюфелях (52,3 мг на 100 г) [13]. Железо является одним из ключевых компонентов гемоглобина – белка, ответственного за транспорт кислорода в крови по всему организму. Кроме того, железо входит в состав миоглобина – белка, который запасает кислород в мышцах, обеспечивая их работу во время физической активности. Железо также участвует в энергетическом метаболизме, являясь частью ферментов дыхательной цепи, которые производят энергию (аденозинтрифосфат) в митохондриях [20]. Трюфели, богатые железом, могут служить ценным источником данного микроэлемента. Это может объяснить более высокие показатели концентрации гемоглобина и средней концентрации гемоглобина в эритроците у крыс, получавших продукт из порошка трюфелей в рационе. Кроме того, трюфели содержат различные биологически активные вещества, которые могут способствовать стимуляции кроветворения и улучшению метаболических процессов.

Остальные гематологические показатели, такие как количество эритроцитов, лейкоцитов и эозинофилов, оставались в пределах физиологической нормы на протяжении всего исследования (рис. 3). Это свидетельствует о том, что употребление белка из черного трюфеля не вызывает значительных изменений в составе крови и не провоцирует аллергических реакций. Таким образом, результаты указывают на хорошую переносимость и

отсутствие токсического или аллергенного воздействия при длительном употреблении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование подтвердило положительные эффекты от употребления пищевой добавки на основе порошка из черных трюфелей. Полученные в ходе эксперимента данные указывают на его положительное влияние на мышечный тонус и процессы кислородного обмена. Группа животных, употребляющая в пищу данную добавку, показала увеличение силы хвата, а также снижение массы тела по сравнению с контрольной группой. Кроме того, в данной группе наблюдали повышение уровня гемоглобина и средней концентрации гемоглобина в эритроцитах, что может свидетельствовать о благоприятном влиянии трюфеля на процессы кроветворения и кислородного обмена. Анализ таких гематологических показателей, как общее число лейкоцитов и эозинофилов, подтвердил отсутствие аллергических и токсических реакций, что говорит о безопасности данного продукта. Высокая пищевая ценность черного трюфеля, обусловленная богатым аминокислотным составом, наличием антиоксидантов и биологически активных соединений, делает его перспективным компонентом для производства функционального питания и разработки биологически активных добавок.

REFERENCES

1. Üstün N.Ş., Bulam S., Pekşen A. Biochemical properties, biological activities and usage of truffles. In: *International Congress on Engineering and Life Science: Proceedings of the conference*. 26–29 April 2018, Kastamonu. Kastamonu, 2018, p. 772–778.
2. Assemie A., Abaya G. The effect of edible mushroom on health and their biochemistry. *International Journal of Microbiology*. 2022;8744788. DOI: 10.1155/2022/8744788.
3. Hadi I.A. The nutritional value and specific properties of some truffle and red meat products. *Plant Archives*. 2020;20(2):779-782. DOI:10.13140/RG.2.2.18009.65124.
4. Chauhan O.P., Vijay V., Pandey A.K., Semwal A.D. Biochemical and health properties of truffles. *Defence Life Science Journal*. 2021;6(3):251-258. DOI: 10.14429/dlsj.6.15659.
5. Laganà V.R., Lombardi F., Di Gregorio D., Nicolosi A. Consumption preferences for truffles and truffle-based products: an application of the PLS-SEM model. *Sustainability*. 2024;16(12):5002. DOI: 10.3390/su16125002.
6. Lee H., Nam K., Zahra Z., Farooqui M.Q.U. Potentials of truffles in nutritional and medicinal applications: a review. *Fungal Biology and Biotechnology*. 2020;7:9. DOI: 10.1186/s40694-020-00097-x.
7. Shah N.N., Hokkanen S., Pastinen O., Eljamil A., Shamekh S. A study on the fatty acid composition of lipids in truffles selected from Europe and Africa. *3 Biotech*. 2020;10:415. DOI: 10.1007/s13205-020-02414-y.
8. Tejedor-Calvo E., Amara K., Reis F.S., Barros L., Martins A., Calheta R.C., et al. Chemical composition and evaluation of antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of *Tuber* and *Terfezia* truffles. *Food Research International*. 2021;140:110071. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.110071.
9. Dahham S.S., Al-Rawi S.S., Ibrahim A.H., Majid A.S.A., Majid A.M.S.A. Antioxidant, anticancer, apoptosis properties and chemical composition of black truffle *Terfezia clavaryi*. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2018;25(8):1524-1534. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.01.031.
10. Jeong H.-G., Im S.-B., Kim K.-J., Jin S.-W., Koh Y.-W., Ha N.-I., et al. Useful components of *Tuber melanosporum*, *Tuber aestivum*, and *Tuber magnatum* used as truffles. *Journal of Mushrooms*. 2022;20(4):227-234. (In Korean). DOI: 10.14480/JM.2022.20.4.227.
11. Özderin S., Ali H., Kivrak, İ. Nutrient elements contained in *Tuber aestivum* (summer truffle) mushroom. *Mantar Dergisi*. 2024;15:118-127. DOI: 10.30708/mantar.1582227.
12. Pludowski P., Holick M.F., Pilz S., Wagner C.L., Hollis B.W., Grant W.B., et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality – a review of recent evidence. *Autoimmunity Reviews*. 2013;12(10):976-989. DOI: 10.1016/j.autrev.2013.02.004.
13. Segneanu A., Sfirloaga P., David I., Balcu I., Grozescu I. Characterisation of truffles using electrochemical and analytical methods. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2012;7:199-205.
14. Elkhateeb W., Daba G., Somasekhar T., Gundu N.R. The precious truffles: bioactive compounds as a source of various biological activities. *Environmental Science Activities*. 2024;3(2):40-50. DOI: 10.5281/zenodo.12625345.
15. Marathe S.J., Hamzi W., Bashein A.M., Deska J., Seppänen-Laakso T., Singhal R.S., et al. Anti-angiogenic and anti-inflammatory activity of the summer truffle (*Tuber aestivum* Vittad.) extracts and a correlation with the chemical constituents identified therein. *Food Research International*. 2020;137:109699. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109699.
16. Lino-de-Oliveira C., De Lima T.C.M., de Pádua Carobrez A. Structure of the rat behaviour in the forced swimming

test. *Behavioural Brain Research*. 2005;158(2):243-250. DOI: 10.1016/j.bbr.2004.09.004.

17. Lee Y., Kim J.-H., Hong Y., Lee S.-R., Chang K.-T., Hong Y. Prophylactic effects of swimming exercise on autophagy-induced muscle atrophy in diabetic rats. *Laboratory Animal Research*. 2012;28(3):171-179. DOI: 10.5625/lar.2012.28.3.171.

18. Meyers E.C., Granja R., Solorzano B.R., Romero-Ortega M., Kilgard M.P., Rennaker R.L., et al. Median and ulnar nerve injuries reduce volitional forelimb strength in

rats. *Muscle & Nerve*. 2017;56(6):1149-1154. DOI: 10.1002/mus.25590.

19. Lee G., Goosens K.A. Sampling blood from the lateral tail vein of the rat. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*. 2015;99:e52766. DOI: 10.3791/52766.

20. Abbaspour N., Hurrell R., Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*. 2014;19(2):164-174.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Вавилина Татьяна Николаевна,

лаборант-исследователь,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
✉ t.vavilina03@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0001-9725-9523>

Малыгина Екатерина Владимировна,

старший научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
cat.malygina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2673-0226>

Бельшенко Александр Юрьевич,

научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
al.belyshenko@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8812-2250>

Имидоева Наталья Александровна,

младший научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
nat.imidoeva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6327-5517>

Жиленков Владимир Михайлович,

лаборант-исследователь,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
vladimirzhilenkov.O@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0006-0908-1419>

Моргунова Мария Михайловна,

старший научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
marymikhmorg@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-7939-1432>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Tatyana N. Vavilina,

Laboratory Assistant-Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
✉ t.vavilina03@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0001-9725-9523>

Ekaterina V. Malygina,

Senior Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
cat.malygina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2673-0226>

Aleksandr Yu. Belyshenko,

Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
al.belyshenko@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8812-2250>

Natalia A. Imidoeva,

Junior Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
nat.imidoeva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6327-5517>

Vladimir M. Zhilenkov,

Laboratory Assistant-Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
vladimirzhilenkov.O@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0006-0908-1419>

Maria M. Morgunova,

Senior Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
marymikhmorg@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-7939-1432>

Дмитриева Мария Егоровна,
старший научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1,
Российская Федерация,
marree.dmitrieva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9229-1954>

Шелковникова Виктория Николаевна,
инженер-исследователь,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
shelkovnikova551@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4411-7521>

Баталова Анна Александровна,
студент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
ann.batalovaa@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0007-1343-4544>

Аксёнов-Грибанов Денис Викторович,
к.б.н., доцент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
denis.axengri@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2020-6084>

Вклад авторов

Т.Н. Вавилина – проведение исследования, валидация результатов, визуализация, написание черновика рукописи.
Е.В. Малыгина – курирование данных.
А.Ю. Бelyshenko – проведение исследования.
Н.А. Имидоева – формальный анализ.
В.М. Жиленков – проведение исследования.
М.М. Моргунова – формальный анализ.
М.Е. Дмитриева – формальный анализ.
В.Н. Шелковникова – формальный анализ.
А.А. Баталова – формальный анализ.
Д.В. Аксёнов-Грибанов – научное руководство, предоставление ресурсов, редактирование текста статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 03.04.2025.
Одобрена после рецензирования 17.06.2025.
Принята к публикации 26.11.2025.

Maria E. Dmitrieva,
Senior Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
marree.dmitrieva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9229-1954>

Victoria N. Shelkovnikova,
Engineer,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
shelkovnikova551@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4411-7521>

Anna A. Batalova,
Student,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
ann.batalovaa@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0007-1343-4544>

Denis V. Axenov-Gribanov,
Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
denis.axengri@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2020-6084>

Contribution of the authors

Tatyana N. Vavilina – investigation, validation, visualization, writing – original draft.
Ekaterina V. Malygina – data curation.
Aleksandr Yu. Belyshenko – investigation.
Natalia A. Imidoeva – formal analysis.
Vladimir M. Zhilenkov – investigation.
Maria M. Morgunova – formal analysis.
Maria E. Dmitrieva – formal analysis.
Victoria N. Shelkovnikova – formal analysis.
Anna A. Batalova – formal analysis.
Denis V. Axenov-Gribanov – supervision, resources, editing.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 03.04.2025.
Approved after reviewing 17.06.2025.
Accepted for publication 26.11.2025.



Влияние физико-химических факторов среды на устойчивость бактериальных биопленок на основе микробных сообществ активного ила

А.А. Хасанова✉, А.С. Сироткин, Е.В. Перушкина

Казанский национальный исследовательский технологический университет,
Казань, Российская Федерация

Аннотация. Целью исследования являлось проведение оценки устойчивости бактериальных биопленок культур *Alcaligenes faecalis* 2, *Achromobacter pulmonis*, *Paenibacillus odorifer* и *Bacillus subtilis* при стрессирующем воздействии физико-химических факторов среды в процессе периодического культивирования. В качестве основных параметров были выбраны температура (10 и 50 °C) и pH среды (5,0 и 10,0), содержание поверхностно-активных веществ (додецилсульфат натрия) в концентрациях 5, 10 и 50 мг/дм³. Установлено, что в области низких температурных значений (10 °C) увеличивается массивность биопленки микроорганизмов *Alcaligenes faecalis* 2, *Achromobacter pulmonis* ПНОС и *Bacillus subtilis*. Отмечено, что бактериальная биопленка *Alcaligenes faecalis* 2 проявляет устойчивость и метаболическую активность в кислых условиях среды. При повышении значений pH среды до 10,0 происходит увеличение количества биопленки микроорганизмов *Bacillus subtilis*. При воздействии раствора додецилсульфата натрия в интервале от 5 до 10 мг/дм³ наблюдается процесс формирования бактериальной биопленки *Alcaligenes faecalis* 2, *Bacillus subtilis*, *Achromobacter pulmonis* ПНОС и *Paenibacillus odorifer*. Ответной реакцией на воздействие додецилсульфата натрия в области высоких концентраций (10 и 50 мг/дм³) является сохранение количества биомассы и массивности биопленки для штамма микроорганизмов *Achromobacter pulmonis* ПНОС. Таким образом, показана стрессоустойчивость рассмотренных культур под воздействием отрицательных внешних факторов среды, что может способствовать устойчивости микробных культур к различным видам поллютантов в технологиях очистки загрязненных сред.

Ключевые слова: бактериальная биопленка, массивность биопленки, метаболическая активность, экзополисахариды, биопленкообразующая способность

Для цитирования: Хасанова А.А., Сироткин А.С., Перушкина Е.В. Влияние физико-химических факторов среды на устойчивость бактериальных биопленок на основе микробных сообществ активного ила // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 535–547. DOI: 10.21285/achb.1010. EDN: AFVEBZ.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Resistance of bacterial biofilms comprising activated sludge microbial communities to physicochemical external factors

Aigul A. Khasanova✉, Aleksandr S. Sirotkin, Elena V. Perushkina

Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation

Abstract. The study was aimed at evaluating the resistance of *Alcaligenes faecalis* 2, *Achromobacter pulmonis*, *Paenibacillus odorifer*, and *Bacillus subtilis* biofilms to negative physicochemical external factors during batch culture. The

main analyzed parameters included temperature (10 and 50 °C) and pH level (5.0 and 10.0), as well as surfactant (sodium dodecyl sulfate) concentrations of 5, 10, and 50 mg/dm³. At low temperatures (10 °C), the size of *Alcaligenes faecalis* 2, *Achromobacter pulmonis* PNOS, and *Bacillus subtilis* biofilms was found to increase. The *Alcaligenes faecalis* 2 biofilm was noted to exhibit resistance and metabolic activity under acidic conditions. A pH rise to 10.0 resulted in a higher amount of *Bacillus subtilis* biofilm. When exposed to sodium dodecyl sulfate solution (5 to 10 mg/dm³), *Alcaligenes faecalis* 2, *Bacillus subtilis*, *Achromobacter pulmonis* PNOS, and *Paenibacillus odorifer* biofilms were observed to form. In response to the exposure to high sodium dodecyl sulfate concentrations (10 and 50 mg/dm³), the biomass and size of *Achromobacter pulmonis* PNOS biofilm remained unchanged. Thus, the considered cultures were shown to be stress-resistant to negative external factors, which may contribute to the resistance of microbial cultures to various types of pollutants in treatment technologies.

Keywords: bacterial biofilm, biofilm size, metabolic activity, exopolysaccharides, biofilm-forming ability

For citation: Khasanova A.A., Sirotkin A.S., Perushkina E.V. Resistance of bacterial biofilms comprising activated sludge microbial communities to physicochemical external factors. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):535-547. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1010. EDN: AFVEBZ.

ВВЕДЕНИЕ

В естественной среде обитания биопленка представляет собой динамически изменяющееся микробное сообщество, формирующееся в результате симбиотических взаимоотношений отдельных групп микроорганизмов. Популяция микробных клеток в биопленке варьирует от 10⁸ до 10¹¹ на 1 г сырой биомассы [1]. Процесс формирования биопленок включает в себя несколько этапов: адгезия клеток к поверхности, образование микроколоний, синтез экзополисахаридного матрикса, дисперсия биопленки и последующее высвобождение планктонных клеток для возобновления цикла биопленкообразования. Явление «чувство кворума» (QS-система), описанное в ряде исследований, обуславливает развитие и дисперсию биопленок. С другой стороны, отмечена значительная роль в процессе формирования биопленок TCS-системы, представляющей собой клеточную сигнализацию, которая обеспечивает адаптивную реакцию микроорганизмов как к изменениям внутри клеток, так и к абиотическим факторам среды [2]. Согласно недавним исследованиям, также обнаружена функциональная связь между процессами пост-трансляционной модификации белков (фосфорилирование по ключевым аминокислотам Ser-Thr-Tyr) и Lys-ацетилированием в образовании биопленок [3]. Формирование и развитие бактериальной биопленки во многом связано с защитной реакцией микробного сообщества на стрессовые факторы окружающей среды (изменения температуры, активной реакции среды, состава и доступности субстрата, содержания анти-микробных веществ, межвидового взаимодействия в микробном сообществе, типа поверхности и др.).

Так, было проанализировано влияние pH среды (в диапазоне от 5,5 до 8,5) на образование биопленок у микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и *Vibrio cholerae* [4, 5]. При повышении pH среды наблюдается увеличение биопленкообразующей способности у всех протестированных видов и штаммов бактерий. Усиленное образование биопленки наблюдается для бактерий *Escherichia coli* при pH 2,5, что связано с активацией белка *uscR*, ответственного за устойчивость ко многим стрессовым воздействиям [6].

В других исследованиях оценивалось влияние температурного режима на степень образования биопленки у штамма бактерий *Stenotrophomonas maltophilia* [7]. Активное формирование биопленок у исследуемых бактериальных культур осуществляется при темпе-

ратуре 32 °C. Изучено температурное воздействие на бактерии *Pseudomonas aeruginosa* (при 23 и 37 °C соответственно). В интервале низких температурных значений наблюдается увеличение биопленкообразующей активности и отмечаются различия в экспрессии генов у микроорганизмов [8].

Условия культивирования и физиологическое состояние клеточных популяций также оказывают влияние на биоокисление загрязняющих веществ. Поверхностно-активные вещества (ПАВ) относятся к числу соединений, отрицательно воздействующих на бактериальную биопленку [9]. Однако существуют исследования, доказывающие противоположный эффект влияния ПАВ на микроорганизмы. Доказано, что при воздействии низких концентраций анионного ПАВ (додецилсульфата натрия) на бактерии рода *Pseudomonas* наблюдается увеличение процесса биопленкообразования исследуемым микробным сообществом. Увеличивается степень микробной колонизации и формирование биопленки на гидрофобном носителе при воздействии синтетических ПАВ (Novanik 0633A) на бактерии *Rhodococcus erythropolis* [10].

Развитие бактериальной биопленки зависит от доступности растворенного кислорода. Доступность растворенного кислорода повлияла на структуру биопленки факультативно анаэробной культуры *Escherichia coli*: в аэробных условиях в биопленке преобладали грибовидные микроколонии, в бескислородной среде биопленка имела тонкую неоднородную структуру [11]. Стоит отметить, что в аэробных условиях бактерии *Pseudomonas aeruginosa* формируют более массивные и трехмерные биопленки, но за счет быстрого потребления кислорода образуются анаэробные зоны, в которых бактерии утрачивают свою активность [12].

Во многих исследованиях представлены результаты влияния количества и доступности органического субстрата на биопленкообразующую способность микроорганизмов. Отмечено, что при культивировании бактерий рода *Escherichia* на питательной среде с добавлением глюкозы увеличивается скорость образования биопленок. Однако содержание в среде глюкозы оказывает ингибирующее воздействие на формирование биопленки микроорганизмами *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* и *Salmonella enterica* [13, 14].

Бактериальные биопленки рассматриваются как один из ключевых инструментов экологической биотехнологии в процессах биоремедиации загрязненных экосистем,

в частности в очистке сточных вод микроорганизмами активного ила. Это связано с тем, что биопленка состоит из множества структурных компонентов, способствующих иммобилизации и солюбилизации ряда соединений из водной среды. Микробная биопленка активного ила, характеризующаяся наличием аэробных и анаэробных микрозон, обеспечивает возможность одновременного протекания процессов нитрификации, денитрификации и фосфатаккумуляции [15]. Биопленочные или гибридные конфигурации (MBBR, IFAS, гранулы активного ила) способствуют уменьшению генерации избыточного ила, снижению гидравлического времени удерживания осадка и повышению стабильности процессов при переменных нагрузках [16–18].

В процессах эксплуатации на очистных сооружениях активный ил регулярно подвергается воздействию стрессоров – колебаний гидравлической и органической нагрузки, изменением концентрации кислорода, pH, температуры, токсичных соединений (тяжелые металлы, антимикробные вещества и др.) [19–21]. Несмотря на значительное количество исследований, посвященных роли биопленочных сообществ в процессах биологической очистки сточных вод, ряд аспектов, касающихся функционирования биопленки в условиях изменения внешней среды, остается недостаточно изученным. Для реализации технологии очистки сточных вод от азота в мембранном аэрируемом биореакторе в условиях холодного климата было изучено влияние температуры (8 и 30 °C соответственно) на процесс нитрификации. При температуре 8 °C достигнута высокая скорость нитрификации ($3,08 \text{ г N} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$) [22]. Проводятся исследования по влиянию pH среды на развитие фосфатаккумуляирующих микроорганизмов в составе биопленок и эффективности дефосфатации в секвенционном реакторе с биопленкой. Установлено, что доля представителей фосфатаккумуляирующих микроорганизмов *Candidatus Accumulibacter* в биопленке составляет 33–60%, тогда как в суспендированном активном иле – 8–33%. При значениях pH среды от 7,5 до 8,0 эффективность фосфатаккумуляции достигает в среднем 90% [23].

Таким образом, особый интерес представляет изучение воздействия параметров среды культивирования в условиях стресса на процесс биопленкообразования. Глубокое понимание механизмов воздействия внешних факторов на формирование биопленок микробных консорциумов обеспечит дальнейшую оптимизацию технологии биоремедиации экосистем от загрязняющих веществ.

В связи с вышесказанным целью проведенного исследования являлась оценка биопленкообразования активного ила бактериальными культурами и культурами, обладающими нитрилгидролизующей активностью, в ответ на воздействие стрессирующих факторов среды в процессе периодического культивирования.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты исследования и условия культивирования. В ранее описанной работе [24] были проанализированы и выбраны перспективные бактериальные монокультуры, обладающие высокой активностью к формированию микробных биопленок. В связи с этим в качестве объектов исследований выступили бактерии микробных сообществ, участвующих в очистке коммунально-бытовых

и промышленных сточных вод: *Alcaligenes faecalis* 2 [25], *Achromobacter pulmonis* ПНОС [26], *Paenibacillus odorifer* и *Bacillus subtilis*, выделенные из биоценоза активного ила. Для рассматриваемых бактериальных культур оптимальные значения температуры для роста находятся в диапазоне от 30 до 37 °C, pH – в интервале от 6,5 до 7,5 [27–30]. Экспериментальные исследования проводили с суспензией суточной бактериальной культуры, выращенной на среде LB при периодическом культивировании при температуре 30 °C со скоростью перемешивания 120 об/мин [31].

Анализ устойчивости бактериальных биопленок к внешним факторам окружающей среды. Для оценки устойчивости бактериальных биопленок под влиянием внешних факторов среды были выбраны следующие параметры: температура (10 и 50 °C), pH среды (5,0 и 10,0) и содержание ПАВ (додецилсульфата натрия) в концентрации 5, 10 и 50 мг/дм³.

Экспериментальное исследование биопленкообразования монокультурами и воздействие температурного режима (10 и 50 °C) на устойчивость полученной биопленки состояло из нескольких этапов, а именно:

1. В 96-луночные полистирольные планшеты («Мед-полимер», Россия), вносили 150 мкл питательной среды LB и инокулят микроорганизмов в количестве 10 мкл. Культивирование проводили в термостате в течение 72 ч при 30 °C.

2. По истечении 3 суток культивирования из лунок планшета осуществляли удаление культуральной жидкости декантацией и дважды отмывали биопленку от остатков питательной среды 200 мкл стерильным калий-фосфатным буфером.

3. Затем в опытные лунки планшета с микробной биопленкой добавляли стерильную свежую питательную среду LB и термостатировали при 10 и 50 °C в течение 24 ч.

4. Для оценки устойчивости биопленок при неблагоприятном температурном воздействии (10 и 50 °C) дальнейшее культивирование проводили в оптимальных условиях при 30 °C в течение 48 ч.

5. В качестве контрольного образца использовали биопленку бактериальной монокультуры, выращенную в лунках планшета с соблюдением вышеупомянутых стадий при 30 °C без изменения температурного режима.

Для оценки влияния активной реакции среды на развитие биопленки осуществлялось культивирование бактериальной биопленки в щелочной (pH 10,0±0,2) и кислой (pH 5,0±0,2) питательной среде LB. Стерильными растворами гидроксида натрия и соляной кислоты доводили pH среды до необходимых значений. Экспериментальное исследование на данном этапе состояло в осуществлении следующих процедур:

1. Первоначально проводили планшетное культивирование трехсуточной микробной биопленки в подкисленной (pH 5,0±0,2) и щелочной (pH 10,0±0,2) среде LB в течение 24 ч при 30 °C.

2. Далее осуществляли удаление культуральной жидкости и двукратное промывание лунок планшета стерильным калий-фосфатным буфером.

3. Проводили периодическое культивирование микробной биопленки с добавлением свежей питательной среды LB объемом 150 мкл с нейтральным значением pH среды 7,0±0,2 при 30 °C в течение 48 ч. В контрольных лунках планшета осуществляли куль-

вирование микроорганизмов в аналогичных условиях на питательной среде LB с рН среды $7,0 \pm 0,2$.

С целью оценки воздействия еще одного фактора внешней среды – ПАВ – на устойчивость микробной биопленки осуществляли добавление раствора додецилсульфата натрия в питательную среду с конечной концентрацией додецилсульфата натрия 5, 10 и 50 мг/дм³ по следующему алгоритму:

1. В опытные лунки планшета с 3-суточной микробной биопленкой добавляли 150 мкл стерильной питательной среды LB, содержащей додецилсульфат натрия. Инкубирование биопленок проводили в термостате в течение 24 ч при 30 °С.

3. Далее удаляли культуральную жидкость и обрабатывали лунки планшета стерильным калий-фосфатным буфером.

3. С целью анализа ответной реакции бактериальной биопленки на стрессовый фактор – содержание ПАВ – проводили периодическое культивирование микроорганизмов в стерильной питательной среде LB при отсутствии раствора додецилсульфата натрия в течение 48 ч при 30 °С.

4. В контрольных планшетах культивирование биопленок осуществляли с соблюдением предыдущих стадий без добавления в питательную среду LB раствора додецилсульфата натрия.

Материалы и методы исследования. В процессе периодического культивирования анализировали рост микроорганизмов путем измерения оптической плотности культуральной жидкости на микропланшетном ридере Tecan Infinite M1000 Pro (Tecan, Швейцария) при длине волны 540 нм. Массивность биопленки как количественный показатель массы биопленки определяли окрашиванием образцов биопленки 0,1%-м раствором кристаллического фиолетового, дальнейшим экстрагированием красителя 96%-м этанолом и измерением оптической плотности экстрактов на микропланшетном ридере при длине волны 540 нм [32]. Для определения экзополисахаридов в составе биопленки осуществляли окрашивание образцов биопленки с помощью специфического красителя конго красного (конечная концентрация красителя – 40 мкг/мл). Далее экстрагировали краситель 96%-м этанолом и измеряли оптическую плотность экстрактов на микропланшетном ридере при длине волны 490 нм [33]. Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленок оценивали путем

окрашивания клеток с помощью красителя PrestoBlue HS Viability Reagent. Флуоресценцию клеток определяли на планшетном ридере при длине волны возбуждения/эмиссии 560/590 нм [34].

Обработка результатов экспериментов проводилась с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2019 с оценкой достоверности по критерию Стьюдента – Фишера. Использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента. Различия считали достоверным при уровне значимости $p < 0,05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На начальном этапе исследований оценивались биомасса и микробная биопленка после 72-часового периодического культивирования в планшете (табл. 1).

Установлено, что начальное содержание микроорганизмов в опытных лунках планшета составляло от 0,02 до 0,13 опт.ед. В результате культивирования микроорганизмов в течение 72 ч наибольшие значения оптической плотности бактериальной суспензии наблюдаются для культур бактерий *Alcaligenes faecalis* 2 и *Achromobacter pulmonis* ПНОС. При этом следует отметить, что способность к образованию биопленки и, как следствие, массивность биопленки у культуры *Achromobacter pulmonis* ПНОС ниже в среднем на 33–44%, чем у культур *Bacillus subtilis* и *Paenibacillus odorifer*.

Температура оказывает значительное влияние на распространение и развитие микробных биопленок в экосистеме. Изменение температурного режима воздействует на скорость диффузии растворенного кислорода и метаболическую активность микробных клеток [35]. На следующем этапе проводился анализ воздействия температуры в области низких и высоких значений (10 и 50 °С) на устойчивость бактериальных биопленок (табл. 2).

Влияние температурного фактора на устойчивость бактериальных биопленок изучено при предварительном стрессировании культур *Alcaligenes faecalis* 2, *Achromobacter pulmonis* ПНОС, *Bacillus subtilis* и *Paenibacillus odorifer* температурой 10 и 50 °С в течение 24 ч.

В результате термостатирования исследуемых культур микроорганизмов при 10 °С значение оптической плотности бактериальной суспензии варьирует от 0,8 до 1,1 опт.ед. и не имеет существенного отличия от контрольных образцов без температурного стресса

Таблица 1. Результаты измерения оптической плотности бактериальной суспензии и массивности бактериальных биопленок

Table 1. Optical density of the bacterial suspension and the massiveness of bacterial biofilms

Показатель	Исследуемые бактериальные культуры			
	<i>Alcaligenes faecalis</i> 2	<i>Achromobacter pulmonis</i> ПНОС	<i>Paenibacillus odorifer</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Начальная оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	$0,03 \pm 0,0015$	$0,05 \pm 0,0025$	$0,13 \pm 0,0065$	$0,02 \pm 0,0010$
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм (через 72 ч)	$0,95 \pm 0,0600$	$0,67 \pm 0,1400$	$0,18 \pm 0,0600$	$0,20 \pm 0,0600$
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	$0,47 \pm 0,0600$	$0,08 \pm 0,0500$	$0,18 \pm 0,0600$	$0,12 \pm 0,0800$

Таблица 2. Анализ влияния температуры среды на массивность биопленок, метаболическую активность, биомассу и количество экзополисахаридов микроорганизмов

Table 2. Environmental temperature effect on the massiveness of biofilms, metabolic activity, biomass, and the amount of exopolysaccharides of microorganisms

Показатель	Температурный режим, °C		
	10	30	50
<i>Alcaligenes faecalis</i> 2			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	1,02±0,15	1,14±0,28	0,70±0,22
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	0,73±0,10	0,52±0,10	0,002±0,051
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,022±0,0010	0,0072±0,00003	-
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	840,00±42,00	286,56±14,32	58,30±2,91
<i>Achromobacter pulmonis</i> ПНОС			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	1,10±0,23	1,30±0,08	1,01±0,23
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	0,71±0,19	0,40±0,32	0,11±0,07
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,004±0,0002	0,0019±0,00009	-
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	920,39±46,01	1193,89±59,69	81,00±4,05
<i>Paenibacillus odorifer</i>			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	0,87±0,29	1,13±0,09	0,40±0,15
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	0,72±0,10	0,77±0,09	0,39±0,13
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,022±0,0011	0,023±0,0011	0,0018±0,00009
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	642,02±32,10	773,72±38,68	202,50±10,12
<i>Bacillus subtilis</i>			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	0,90±0,06	1,04±0,21	0,41±0,09
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	0,75±0,10	0,60±0,03	0,33±0,11
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,028±0,0014	0,025±0,0012	0,0017±0,00008
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	768,25±38,41	991,28±49,56	254,41±12,72

(см. табл. 2, температуру 30 °C). В области высоких температурных значений для микроорганизмов *Alcaligenes faecalis* 2, *Bacillus subtilis* и *Paenibacillus odorifer* наблюдается уменьшение значения оптической плотности бактериальной суспензии в среднем на 38, 65 и 60% по сравнению с количеством клеток в контрольных лунках планшета.

Далее следует отметить, что периодическое культивирование микроорганизмов при температуре 10 °C оказало влияние на устойчивость исследованных биопленок. В результате предварительного стрессирования клеток в течение 24 ч массивность биопленки бактериальных культур *Alcaligenes faecalis* 2, *Achromobacter pulmonis* ПНОС, *Bacillus subtilis* увеличивается в среднем на 29, 43 и 20% соответственно по сравнению с контрольными образцами. Одновременно отмечено, что изменения массивности биопленки культуры *Paenibacillus odorifer* в ответ на снижение температуры до 10 °C не наблюдается. Содержание биопленки в опытной системе и в контрольных образцах изменяется в среднем от 0,70 до 0,77 опт.ед.

Термостатирование микроорганизмов при 50 °C в течение суток привело к дальнейшему снижению массивности биопленки *Paenibacillus odorifer* и *Bacillus subtilis* в среднем на 49 и 45% в сравнении с оптимальным температурным режимом (30 °C). Несмотря на высокие значения оптической плотности бактериальной суспензии *Alcaligenes faecalis* 2 и *Achromobacter pulmonis* ПНОС, стрессирующий фактор оказал ингибирующее воздействие на формирование микробной биопленки.

Данные, полученные при количественной оценке содержания экзополисахаридов, коррелируют с результатами измерения массивности биопленки бактериальных культур.

В условиях предварительного стрессирования микроорганизмов *Alcaligenes faecalis* 2 в составе биопленки при 10 °C наблюдается увеличение метаболической активности в среднем на 65,8% по сравнению с контрольными образцами микробной биопленки. Несмотря на устойчивость биопленки бактериальной культуры *Achromobacter pulmonis* ПНОС к низкой температуре, наблюдается снижение метаболической активности

в среднем на 23% по сравнению с контрольными образцами. Высокой метаболической активностью обладают штаммы микроорганизмов *Paenibacillus odorifer* и *Bacillus subtilis* при их периодическом культивировании в отсутствие стрессующего температурного фактора.

Известно, что при повышении температуры ускоряются метаболические процессы в микробных клетках, что в дальнейшем приводит к увеличению скорости роста микроорганизмов [35]. Исследован процесс формирования бактериальных биопленок в ответ на изменение температурного режима среды (28 и 37 °C), а также показано, что многие штаммы бактерий рода *Paenibacillus* проявляют устойчивость к низким температурам (в среднем 6 °C) [36]. Клетки *Bacillus subtilis* способны использовать различные механизмы для сохранения устойчивости к неблагоприятным факторам окружающей среды: подвижность, образование экзополисахаридного матрикса и общую реакцию на стресс [37]. Изменение структуры жирных кислот в

липидах мембран является ответной реакцией микроорганизмов, позволяющей адаптироваться к низким температурным значениям среды (с 37 до 15 °C) [38]. С помощью метода двумерного гель-электрофореза установлено, что одной из главных причин устойчивости микроорганизмов рода *Bacillus* является синтез двух классов специфических белков: белков, индуцируемых при действии низких значений температур (CIPs – termed cold-induced proteins), и белков, образующихся после завершения стадии акклиматизации к температурным условиям среды (CAPs – cold acclimatization proteins) [39].

Иммобилизованные клетки микроорганизмов обладают различными механизмами, отвечающими на воздействие стрессовых факторов, например, изменение активной реакции среды. На следующем этапе исследований оценивалось влияние pH среды при постоянной температуре 30 °C на устойчивость бактериальных биопленок (табл. 3).

Результаты анализа культивирования микроорганизмов в условиях кислой среды (pH 5,0) в течение 24 ч

Таблица 3. Оценка воздействия pH среды на массивность биопленки, метаболическую активность, биомассу и количество экзополисахаридов микроорганизмов

Table 3. Evaluation of medium pH effect on the massiveness of the biofilm, metabolic activity, biomass, and the number of exopolysaccharides of microorganisms

Показатель	pH среды		
	5,0	7,0	10,0
<i>Alcaligenes faecalis</i> 2			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	0,85±0,19	0,88±0,12	1,00±0,09
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	1,09±0,11	0,81±0,11	0,82±0,07
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,06±0,003	0,01±0,0008	0,02±0,001
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	343,52±17,17	263,20±13,16	277,43±13,87
<i>Achromobacter pulmonis</i> ПНОС			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	0,77±0,42	0,94±0,36	1,15±0,39
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	0,73±0,14	0,72±0,08	0,68±0,11
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,023±0,001	0,022±0,001	0,013±0,0006
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	196,42±9,82	253,98±12,69	347,00±17,35
<i>Paenibacillus odorifer</i>			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	0,88±0,25	0,99±0,18	1,03±0,31
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	1,24±0,14	1,26±0,09	1,20±0,09
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,13±0,006	0,17±0,008	0,10±0,005
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	197,01±9,85	187,24±9,36	255,75±12,78
<i>Bacillus subtilis</i>			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	0,83±0,16	1,01±0,19	1,06±0,27
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	1,28±0,13	1,34±0,10	1,42±0,12
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,14±0,007	0,20±0,01	0,21±0,01
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	256,62±12,83	357,54±17,87	278,23±13,91

показали, что значения оптической плотности бактериальной суспензии для штаммов *Alcaligenes faecalis* 2 и *Paenibacillus odorifer* не имеют существенных отличий при их выращивании в нейтральной среде (оптическая плотность варьирует в среднем от 0,8 до 0,9 опт.ед.). Максимальное количество клеток *Achromobacter pulmonis* ПНОС и *Bacillus subtilis* образуется при их стрессировании в щелочных условиях среды (рН 10,0) (диапазон изменения оптической плотности бактериальной суспензии составляет в среднем от 1,0 до 1,2 опт.ед.).

Далее отметим, что массивность биопленки микроорганизмов *Alcaligenes faecalis* 2 увеличивается в условиях кислой среды в среднем на 35% по сравнению с контрольными образцами (рН 7,0). Количество биопленки оказалось максимальным при стрессировании бактериальной культуры *Bacillus subtilis* в щелочной среде (рН 10,0). Установлено, что микроорганизмы *Achromobacter pulmonis* ПНОС и *Paenibacillus odorifer* проявляют адаптационные свойства и сохраняют способность к образованию биопленки как в щелочных, так и в кислых условиях среды. В обоих случаях масса сформированной микробной биопленки соответствовала массе биопленки для контрольного образца (рН 7,0). Данные, полученные при количественной оценке содержания экзополисахаридов, коррелируют с результатами измерения массивности биопленки бактериальных культур.

Наибольшая активность микроорганизмов *Alcaligenes faecalis* 2 наблюдается при культивировании клеток в кислых условиях среды, что коррелирует со значениями массивности биопленки. Повышение рН среды до 10,0 привело к увеличению метаболической активности микроорганизмов *Achromobacter pulmonis* ПНОС и *Paenibacillus odorifer* в среднем на 27 и 26% по сравнению с контрольными образцами (рН 7,0). Стрессирование микробных клеток *Bacillus subtilis* оказало ингибирующее воздействие на метаболическую активность клеток по сравнению с результатами, полученными в процессе инкубирования микроорганизмов в благоприятных условиях среды.

Кислотность среды влияет на механизмы протонного насоса и проницаемость клеточной мембраны. Воздействие рН среды как стрессирующего фактора приводит к процессу активации защитного механизма и увеличению образования бактериальной биопленки. Доказано, что изменение рН влияет на соотношение белков и полисахаридов в матриксе биопленки. Описана высокая чувствительность биопленки микроорганизмов *Alcaligenes faecalis* к щелочным условиям среды – рост бактерий уменьшается при повышении рН среды до 9,0 [40]. Изменение факторов окружающей среды воздействует на способность микробных биопленок к окислению загрязняющих веществ из сточных вод. Биопленкообразующие бактерии рода *Bacillus* проявляют устойчивость к щелочным условиям среды при температуре 30 °С в течение 24 ч. В экстремальных условиях окружающей среды экзополисахаридный матрикс обеспечивает структурную и функциональную стабильность биопленки.

При культивировании микроорганизмов рода *Bacillus* в кислых условиях среды (рН 6,0) синтез ключевых компонентов экзополисахаридов, а также белков и липидов достигает максимальных значений. Подтвердилась аморфная природа экзополисахаридов и изме-

нение функциональных групп ($-\text{CH}_2\text{CHOCH}_3$, $-\text{CH}_3$ и $-\text{CH}_2$) при воздействии на рН среды. Содержание микробной биопленки составило $5,28582 \pm 0,5372$ мкм³/мкм² при толщине $9,982 \pm 1,5288$ мкм [41, 42]. В исследованиях по изучению бактерий рода *Achromobacter* наибольшая степень образования биопленки наблюдается в диапазоне рН среды от 4,0 до 5,5. Для микроорганизмов рода *Achromobacter* идентифицированы гены *FliF*, *FliM* и *FliN*, влияющие на процесс адгезии клеток. В устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды также вносит вклад использование мембраносвязанных белков, участвующих во внутриклеточном переносе ключевых компонентов и ферментов [43].

Содержание анионного ПАВ додецилсульфата натрия в хозяйственно-бытовых сточных водах варьирует от 3 до 20 мг/л. Несмотря на ингибирующее воздействие высокой концентрации додецилсульфата натрия на микробную активность, достигнута высокая степень биологического окисления поллютанта микроорганизмами в составе биопленки (эффективность удаления додецилсульфата натрия в среднем выше 70%) [44]. Микробная биопленка демонстрирует устойчивость к содержанию ПАВ в среде. Ответной реакцией биопленки на первичное воздействие додецилсульфата натрия является способность к восстановлению дыхательной активности микроорганизмов и количества биомассы через 12 и 5 ч соответственно [45].

В связи с этим на следующем этапе исследований проводился анализ влияния додецилсульфата натрия на изменение массивности биопленки и метаболической активности микроорганизмов, выделенных из коммунально-бытовых и промышленных сточных вод (табл. 4).

В процессе периодического культивирования штаммов микроорганизмов *Alcaligenes faecalis* 2, *Achromobacter pulmonis* ПНОС, *Bacillus subtilis* и *Paenibacillus odorifer* на питательной среде, содержащей додецилсульфат натрия (с массовой концентрацией 5, 10 и 50 мг/дм³), значения оптической плотности бактериальной суспензии изменяются в интервале от 0,95 до 1,20 опт.ед.

Микроорганизмы *Alcaligenes faecalis* 2, *Bacillus subtilis* и *Paenibacillus odorifer* сохраняют способность к образованию биопленки при воздействии концентрации додецилсульфата натрия от 5 до 10 мг/дм³. Однако увеличение содержания додецилсульфата натрия до 50 мг/дм³ оказывает ингибирующее воздействие и приводит к снижению массивности биопленки для рассматриваемых бактериальных культур в среднем на 87, 45 и 46% соответственно по сравнению с опытными образцами с минимальным количеством раствора додецилсульфата натрия (до 5 мг/дм³). Одновременно отмечено, что инкубирование микробных клеток *Achromobacter pulmonis* ПНОС в условиях с повышенным содержанием додецилсульфата натрия оказало стимулирующее воздействие на бактериальную культуру и сопровождалось увеличением массы биопленки в среднем на 38% для массовой концентрации додецилсульфата натрия 10 и 50 мг/дм³ по сравнению с пробами с минимальной концентрацией додецилсульфата натрия в среде. Данные, полученные при количественной оценке содержания экзополисахаридов, коррелируют с результатами измерения массивности биопленки бактериальных культур.

Согласно полученным данным, метаболическая активность микроорганизмов *Alcaligenes faecalis* 2,

Таблица 4. Экспериментальный анализ воздействия раствора додецилсульфата натрия на массивность биопленки, метаболическую активность, биомассу и количество экзополисахаридов микроорганизмов

Table 4. Effect of sodium dodecyl sulfate solution on the massiveness of the biofilm, metabolic activity, biomass, and the number of exopolysaccharides of microorganisms

Показатель	Массовая концентрация додецилсульфата натрия, мг/дм ³		
	5	10	50
<i>Alcaligenes faecalis</i> 2			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	1,08±0,05	1,07±0,05	1,11±0,05
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	0,74±0,11	0,68±0,09	0,09±0,06
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,01582±0,0007	0,01065±0,0005	0,00079±0,00003
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	216,72±10,83	180,37±9,01	36,03±1,80
<i>Achromobacter pulmonis</i> ПНОС			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	0,99±0,06	1,01±0,07	1,02±0,05
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	0,32±0,09	0,52±0,09	0,57±0,08
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,0030±0,0001	0,0067±0,0003	0,0079±0,0003
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	51,57±2,57	78,77±3,93	23,58±1,17
<i>Paenibacillus odorifer</i>			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	0,99±0,05	0,94±0,05	0,97±0,05
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	0,73±0,09	0,62±0,11	0,40±0,07
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,0133±0,0006	0,0084±0,0004	0,0037±0,0001
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	307,25±15,36	30,64±1,53	52,38±2,61
<i>Bacillus subtilis</i>			
Оптическая плотность бактериальной суспензии при $\lambda = 540$ нм	0,98±0,05	0,95±0,05	0,97±0,06
Массивность биопленки при $\lambda = 540$ нм	0,73±0,07	0,62±0,10	0,39±0,08
Количество экзополисахаридов в составе биопленки при $\lambda = 490$ нм	0,0132±0,0006	0,0089±0,0004	0,0042±0,0002
Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП ₅₄₀	306,12±15,30	144,4±7,22	8,82±0,44

Bacillus subtilis и *Paenibacillus odorifer* в составе биопленки сохраняется при воздействии додецилсульфата натрия с конечной концентрацией в среде 5 мг/дм³. Отмечено, что бактериальная культура *Achromobacter pulmonis* ПНОС сохраняет устойчивость и метаболическую активность к содержанию раствора токсиканта в системе до 10 мг/дм³.

Что касается исследования влияния ПАВ на микробные биопленки, необходимо отметить следующие данные из предметной литературы. Так, в исследованиях М. Федейлы и др. [46] анализировалась способность к биodeградации анионных ПАВ микробным консорциумом биопленки, состоящим из *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter cloacae* и *Serratia marcescens*. Эффективность удаления додецилсульфата натрия бактериальным консорциумом в аэробных условиях при температуре 30 °С составила в среднем 94%. В аналогичных условиях среды степень биотрансформации додецилсульфата натрия монокультурой *Alcaligenes faecalis* составила в среднем 23%. Также установлено [47], что бактерии родов *Bacillus* и *Paenibacillus* способны использовать додецилсульфат

натрия в качестве углеродного субстрата. Анализ проводили в фосфатно-солевом растворе с добавлением додецилсульфата натрия. Изоляты микроорганизмов были получены на твердой питательной среде с концентрацией раствора додецилсульфата натрия 1000 Мм. Эффективность биохимического окисления додецилсульфата натрия бактериями рода *Bacillus* составило в среднем 51%. Экспериментально доказана эффективная биodeградирующая способность додецилсульфата натрия при массовой концентрации 100 мг/л с помощью микроорганизмов рода *Achromobacter*, иммобилизованных на композитном материале на основе ацетата целлюлозы [45]. Ряд исследований посвящен изучению влияния ПАВ на метаболическую активность микроорганизмов. Повышенное содержание додецилсульфата натрия приводит к увеличению денатурирующей способности вещества, но к снижению активности таких ферментов, как фосфатаза, бета-глюкозидаза и лейцинаминопептидаза (фермент, способствующий гидролизу лейцина и других N-концевых остатков на концах пептидов и белков) в бактериальной биопленке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведения экспериментальных исследований доказано, что при понижении температуры среды до 10 °С осуществляется увеличение массивности биопленки микроорганизмов *Alcaligenes faecalis* 2, *Achromobacter pulmonis* ПНОС и *Bacillus subtilis*. Анализ бактериальной культуры *Paenibacillus odorifer* показал высокую способность к образованию биопленки при их периодическом культивировании при 30 °С в нейтральных условиях среды. Установлено, что бактериальная биопленка *Alcaligenes faecalis* 2 проявляет устойчивость и метаболическую активность в кислых условиях среды. Повышение значений pH среды до 10,0 сопровождается увеличением количества биопленки микроорганизмов *Bacillus subtilis*. При воздействии раствора додецилсульфата натрия в интервале от 5 до 10 мг/дм³ сохраняется способность к биопленкообразованию для культур *Alcaligenes faecalis* 2, *Bacillus subtilis*, *Achromobacter pulmonis* ПНОС и *Paenibacillus odorifer*. Ответной реакцией на воздействие додецилсульфата натрия в области высоких концентраций (10 и 50 мг/дм³) является сохранение биомассы и массивности биопленки для штамма микроорганизмов *Achromobacter pulmonis* ПНОС.

В связи с увеличением содержания токсичных ксенобиотических соединений в окружающей среде вследствие сброса неочищенных сточных вод в водные экосистемы, загрязнения почв и т.п. осуществляется поиск альтернативных способов для увеличения эффективности процесса биоремедиации. Технологии очистки сточных вод с использованием биопленок обеспечивают интенсивное удаление загрязняющих веществ, что способствует эффективному восстановлению природных свойств окружающей среды. Высокая плотность клеток и стрессоустойчивость микроорганизмов в составе биопленки обеспечивают биотрансформацию ряда гидрофобных и токсичных соединений. Биопленка обладает многими конструктивными и сорбционными свойствами: компоненты экзополисахаридов являются потенциальными биоэмульгаторами, полисахариды действуют как защитный барьер клеток, рецепторные белки ответственны за определение плотности биопленки, а структурные белки необходимы для агрегации клеток микроорганизмов. Таким образом, биопленка обеспечивает оптимальную среду для межклеточного взаимодействия и обмена генетическим материалом, коммуникационных сигналов, что в дальнейшем способствует минимизации воздействия ксенобиотических соединений в окружающей среде.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Flemming H.-C., Wingender J., Szewzyk U., Steinberg P., Rice S.A., Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life // *Nature Reviews Microbiology*. 2016. Vol. 14. P. 563–575. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.94.
2. Stoodley P., Sauer K., Davies D.G., Costerton J.W. Biofilms as complex differentiated communities // *Annual Review of Microbiology*. 2002. Vol. 56. P. 187–209. DOI: 10.1146/annurev.micro.56.012302.160705.
3. Zhao X., Zhao F., Wang J., Zhong N. Biofilm formation and control strategies of foodborne pathogens: food safety perspectives // *RSC Advances*. 2017. Vol. 7, no. 58. P. 36670–36683. DOI: 10.1039/C7RA02497E.
4. Ouidir T., Gabriel B., Chabane Y.N. Overview of multi-species biofilms in different ecosystems: wastewater treatment, soil and oral cavity // *Journal of Biotechnology*. 2022. Vol. 350. P. 67–74. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2022.03.014.
5. Çam S., Brinkmeyer R. The effects of temperature, pH, and iron on biofilm formation by clinical versus environmental strains of *Vibrio vulnificus* // *Folia Microbiologica*. 2020. Vol. 65. P. 557–566. DOI: 10.1007/s12223-019-00761-9.
6. Zhang X.-S., García-Contreras R., Wood T.K. YcfR (BhsA) influences *Escherichia coli* biofilm formation through stress response and surface hydrophobicity // *Journal of Bacteriology*. 2007. Vol. 189, no. 8. P. 3051–3062. DOI: 10.1128/jb.01832-06.
7. Di Bonaventura G., Stepanović, S., Picciani C., Pompilio A., Piccolomini R. Effect of environmental factors on biofilm formation by clinical *Stenotrophomonas maltophilia* isolates // *Folia Microbiologica*. 2007. Vol. 52, no. 1. P. 86–90. DOI: 10.1007/BF02932144.
8. Bisht K., Moore J.L., Caprioli R.M., Skaar E.P., Wakeman C.A. Impact of temperature-dependent phage expression on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation // *NPJ Biofilms and Microbiomes*. 2021. Vol. 7. P. 22. DOI: 10.1038/s41522-021-00194-8.
9. Aonofriesei F. Surfactants' interplay with biofilm development in *Staphylococcus* and *Candida* // *Pharmaceutics*. 2024. Vol. 16, no. 5. P. 657. DOI: 10.3390/pharmaceutics16050657.
10. Schreiberová O., Hedbávná P., Čejková A., Jirků V., Masák J. Effect of surfactants on the biofilm of *Rhodococcus erythropolis*, a potent degrader of aromatic pollutants // *New Biotechnology*. 2012. Vol. 30, no. 1. P. 62–68. DOI: 10.1016/j.nbt.2012.04.005.
11. Bjerghæk L.A., Haagensen J.A.J., Reisner A., Molin S., Roslev P. Effect of oxygen and growth medium on in vitro biofilm formation by *Escherichia coli* // *Biofilms*. 2006. Vol. 3, no. 1. P. 1–10. DOI: 10.1017/S1479050507002074.
12. Werner E., Roe F., Bugnicourt A., Franklin M.J., Heydorn A., Molin S., et al. Stratified growth in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms // *Applied and Environmental Microbiology*. 2004. Vol. 70, no. 10. P. 6188–6196. DOI: 10.1128/AEM.70.10.6188-6196.2004.
13. Bühler T., Ballesteros S., Desai M., Brown M.R. Generation of a reproducible nutrient-depleted biofilm of *Escherichia coli* and *Burkholderia cepacia* // *Journal of Applied Microbiology*. 1998. Vol. 85, no. 3. P. 457–462. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1998.853501.x.
14. Alotaibi G.F., Bukhari M.A. Characterization and evaluation of biofilm formation by *Klebsiella pneumoniae* MBB9 isolated from epilithic biofilms of the Porter Brook River, Sheffield // *Edelweiss Journal of Biomedical Research and Review*. 2021. Vol. 3, no. 1. P. 14–24. DOI: 10.33805/2690-2613.120.
15. Wang C., Lin Q., Yao Y., Xu R., Wu X., Meng F. Achieving simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal in pilot-scale flow-through biofilm reactor with low dissolved oxygen concentrations: performance and mechanisms // *Bioresource Technology*. 2022. Vol. 358. P. 127373. DOI: 10.1016/j.biortech.2022.127373.
16. Khudhair D.N., Hosseinzadeh M., Zwain H.M., Siatdousavi S.M., Majdi A., Mojiri A. Upgrading the MBBR process to reduce excess sludge production in activated sludge system treating sewage // *Water*. 2023. Vol. 15, no. 3. P. 408. DOI: 10.3390/w15030408.

17. Silva T.P., Alves L., Paixão S.M. Effect of dibenzothio-
phene and its alkylated derivatives on coupled desulfur-
ization and carotenoid production by *Gordonia alkanivorans*
strain 1B // Journal of Environmental Management. 2020.
Vol. 270. P. 110825. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.110825.
18. Zhou X., Liu H., Fan X., Wang X., Bi X., Cheng L.,
Huang S., et al. Comparative analysis of bacterial information
of biofilms and activated sludge in full-scale MBBR-IFAS
systems // Microorganisms. 2024. Vol. 12, no. 6. P. 1121.
DOI: 10.3390/microorganisms12061121.
19. Alisawi H.A.O. Performance of wastewater treatment
during variable temperature // Applied Water Science.
2020. Vol. 10. P. 89. DOI: 10.1007/s13201-020-1171-x.
20. Maal-Bared R. Operational impacts of heavy metals
on activated sludge systems: the need for improved moni-
toring // Environmental Monitoring and Assessment. 2020.
Vol. 192, no. 9. P. 560. DOI: 10.1007/s10661-020-08529-2.
21. Lu F., Huang L., Qian F., Jiang Q., Khan S., Shen P.
Resistance of anaerobic activated sludge acclimated by
different feeding patterns: response to different stress
shocks // Water Science and Technology. 2022. Vol. 85,
no. 10. P. 3023–3035. DOI: 10.2166/wst.2022.164.
22. Németh A., Ainsworth J., Ravishankar H., Lens P.N.L.,
Heffernan B. Temperature dependence of nitrification in a mem-
brane-aerated biofilm reactor // Frontiers in Microbiology. 2023.
Vol. 14. P. 1114647. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1114647.
23. Li J., Xing X.-H., Wang B.-Z. Characteristics of phos-
phorus removal from wastewater by biofilm sequencing
batch reactor (SBR) // Biochemical Engineering Journal.
2003. Vol. 16. P. 279–285.
24. Демаков В.А., Васильев Д.М., Максимова Ю.Г.,
Павлова Ю.А., Овечкина Г.В., Максимов А.Ю. Бактерии
активного ила из сооружений биологической очистки, транс-
формирующие цианопиридины и амиды пиридинкарбоновых
кислот // Микробиология. 2015. Т. 84. N 3. С. 369–378.
DOI: 10.7868/S0026365615030039. EDN: TQQVBB.
25. Хасанова А.А., Сироткин А.С., Перушкина Е.В.
Изучение способности бактерий активного ила к образо-
ванию биопленок *in vitro* // Известия вузов. Прикладная
химия и биотехнология. 2024. Т. 14. N 2. С. 207–214.
DOI: 10.21285/achb.912. EDN: PCUTZF.
26. Максимова Ю. Г., Сергеева А. А., Овечкина Г. В.,
Максимов А. Ю. Деградация пиридина суспензиями и
биопленками штаммов *Achromobacter pulmonis* PNOS
и *Burkholderia dolosa* BOS, выделенных из активного
ила очистных сооружений // Биотехнология. 2020. Т. 36.
N 2. С. 86–98. DOI: 10.21519/0234-2758-2020-36-2-
86-98. EDN: IYFZFI.
27. Kumar A., Bhunia B., Dasgupta D., Mandal T., Dey A.,
Datta S., et al. Optimization of culture condition for growth
and phenol degradation by *Alcaligenes faecalis* JF339228
using Taguchi methodology // Desalination and Water
Treatment. 2013. Vol. 51, no. 16–18. P. 3153–3163.
DOI: 10.1080/19443994.2012.749021.
28. Vandamme P., Moore E.R.B., Cnockaert M., De
Brandt E., Svensson-Stadler L., Houf K., et al. *Achromo-
bacter animicus* sp. nov., *Achromobacter mucicolens* sp.
nov., *Achromobacter pulmonis* sp. nov. and *Achromobacter
spiritinus* sp. nov., from human clinical samples // Sys-
tematic and Applied Microbiology. 2013. Vol. 36, no. 1.
P. 1–10. DOI: 10.1016/j.syapm.2012.10.003.
29. Deng Z., Chen H., Chen S. Medium optimization for
nitrogen fixer *Paenibacillus* sp. 1-49 // Acta Microbiologica
Sinica. 2016. Vol. 56, no. 9. P. 1415–1425.
30. Suwanmanon K., Hsieh P.-C. Isolating *Bacillus subtilis*
and optimizing its fermentative medium for GABA and nat-
tokinase production // CyTA – Journal of Food. 2013. Vol. 12,
no. 3. P. 282–290. DOI: 10.1080/19476337.2013.848472.
31. Maksimova Yu., Bykova Ya., Maksimov A. Func-
tionalization of multi-walled carbon nanotubes changes
their antibiofilm and probiofilm effects on environmental
bacteria // Microorganisms. 2022. Vol. 10, no. 8. P. 1627.
DOI: 10.3390/microorganisms10081627.
32. Singh P., Srivastava S., Malhotra R., Mathur P. Identi-
fication of *Candida auris* by PCR and assessment of biofilm
formation by crystal violet assay // Indian Journal of Medical
Microbiology. 2023. Vol. 46. P. 100421. DOI: 10.1016/
j.ijmm.2023.100421.
33. Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay D.J.,
Fatma T., Rattan A. Detection of biofilm formation among
the clinical isolates of *Staphylococci*: an evaluation of
three different screening methods // Indian Journal of
Medical Microbiology. 2006. Vol. 24, no. 1. P. 25–29.
DOI: 10.1016/S0255-0857(21)02466-X.
34. Luzak B., Siarkiewicz P., Boncler M. An evaluation of
a new high-sensitivity PrestoBlue assay for measuring cell
viability and drug cytotoxicity using EA.hy926 endothelial
cells // Toxicology in Vitro. 2022. Vol. 83. P. 105407.
DOI: 10.1016/j.tiv.2022.105407.
35. Velkov V.V. New insights into the molecular
mechanisms of evolution: stress increases genetic
diversity // Molecular Biology. 2022. Vol. 36. P. 209–215.
DOI: 10.1023/A:1015365805383.
36. Moreno Switt A.I., Andrus A.D., Ranieri M.L., Orsi R.H.,
Ivy R., den Bakker H.C., et al. Genomic comparison of
sporeforming bacilli isolated from milk // BMC Genomics.
2014. Vol. 15. P. 26. DOI: 10.1186/1471-2164-15-26.
37. Asadishad B., Olsson A.L.J., Dusane D.H., Ghoshal S.,
Tufenkji N. Transport, motility, biofilm forming potential and
survival of *Bacillus subtilis* exposed to cold temperature and
freeze-thaw // Water Research. 2014. Vol. 58. P. 239–247.
DOI: 10.1016/j.watres.2014.03.048.
38. Klein W., Weber M.H.W., Marahiel M.A. Cold shock
response of *Bacillus subtilis*: isoleucine-dependent switch in
the fatty acid branching pattern for membrane adaptation to
low temperatures // Journal of Bacteriology. 1999. Vol. 181,
no. 17. P. 5341–5349. DOI: 10.1128/jb.181.17.5341-5349.1999.
39. Beckering C.L., Steil L., Weber M.H.W., Völker U.,
Marahiel M.A. Genomewide transcriptional analysis of
the cold shock response in *Bacillus subtilis* // Journal
of Bacteriology. 2002. Vol. 184, no. 22. P. 6395–6402.
DOI: 10.1128/jb.184.22.6395-6402.2002.
40. Sriwiriya T., Nuchlek P. Effects of pH on extracellular
polymeric substances compositions of biofilm in Integrated
Fixed Film Activated Sludge process // International Journal
of Environmental Science and Technology. 2022. Vol. 19.
P. 73–84. DOI: 10.1007/s13762-021-03316-z.
41. Tahir U., Nawaz S., Khan U.H., Yasmin A. Assessment
of biodecolorization potentials of biofilm forming bacteria
from two different genera for Mordant Black 11 dye // Bio-
remediation Journal. 2021. Vol. 25, no. 3. P. 252–270.
DOI: 10.1080/10889868.2021.1911920.
42. Rath S., Palit K., Das S. Variable pH and subsequent
change in pCO₂ modulates the biofilm formation, synthesis
of extracellular polymeric substances, and survivability of a
marine bacterium *Bacillus stercoris* GST-03 // Environmental

Research. 2022. Vol. 214. P. 114128. DOI: 10.1016/j.envres.2022.114128.

43. Al-Kahachi R., Al-Asadi S., Ali Z.O., Rampurawala J. Effects of genetic and environmental variables on biofilm development dynamics in *Achromobacter mucicolens* // Iranian Journal of Microbiology. 2023. Vol. 15, no. 3. P. 414–424. DOI: 10.18502/ijm.v15i3.12902.

44. Chakraborty I., Bhowmick G.D., Nath D., Khuman C.N., Dubey B.K., Ghangrekar M.M. Removal of sodium dodecyl sulphate from wastewater and its effect on anodic biofilm and performance of microbial fuel cell // International Biodeterioration & Biodegradation. 2021. Vol. 156. P. 105108. DOI: 10.1016/j.ibiod.2020.105108.

45. Gill S.P., Hunter W.R., Coulson L.E., Banat I.M., Schelker J. Synthetic and biological surfactant effects on

freshwater biofilm community composition and metabolic activity // Applied Microbiology and Biotechnology. 2022. Vol. 106. P. 6847–6859. DOI: 10.1007/s00253-022-12179-4.

46. Fedeila M., Hachaichi-Sadoun Z., Bautista L.F., Simarro R., Nateche F. Biodegradation of anionic surfactants by *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter cloacae* and *Serratia marcescens* strains isolated from industrial wastewater // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2018. Vol. 163. P. 629–635. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.07.123.

47. Sarioglu O.F., Celebioglu A., Tekinay T., Uyar T. Evaluation of contact time and fiber morphology on bacterial immobilization for development of novel surfactant degrading nanofibrous webs // RSC Advances. 2015. Vol. 5, no. 124. P. 102750–102758. DOI: 10.1039/c5ra20739h.

REFERENCES

1. Flemming H.-C., Wingender J., Szewzyk U., Steinberg P., Rice S.A., Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*. 2016;14:563–575. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.94.

2. Stoodley P., Sauer K., Davies D.G., Costerton J.W. Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Review of Microbiology*. 2002;56:187–209. DOI: 10.1146/annurev.micro.56.012302.160705.

3. Zhao X., Zhao F., Wang J., Zhong N. Biofilm formation and control strategies of foodborne pathogens: food safety perspectives. *RSC Advances*. 2017;7(58):36670–36683. DOI: 10.1039/C7RA02497E.

4. Ouidir T., Gabriel B., Chabane Y.N. Overview of multi-species biofilms in different ecosystems: wastewater treatment, soil and oral cavity. *Journal of Biotechnology*. 2022;350:67–74. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2022.03.014.

5. Çam S., Brinkmeyer R. The effects of temperature, pH, and iron on biofilm formation by clinical versus environmental strains of *Vibrio vulnificus*. *Folia Microbiologica*. 2020;65:557–566. DOI: 10.1007/s12223-019-00761-9.

6. Zhang X.-S., García-Contreras R., Wood T.K. Ycfr (BhsA) influences *Escherichia coli* biofilm formation through stress response and surface hydrophobicity. *Journal of Bacteriology*. 2007;189(8):3051–3062. DOI: 10.1128/jb.01832-06.

7. Di Bonaventura G., Stepanović, S., Picciani C., Pompilio A., Piccolomini R. Effect of environmental factors on biofilm formation by clinical *Stenotrophomonas maltophilia* isolates. *Folia Microbiologica*. 2007;52(1):86–90. DOI: 10.1007/BF02932144.

8. Bisht K., Moore J.L., Caprioli R.M., Skaar E.P., Wakeman C.A. Impact of temperature-dependent phage expression on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *NPJ Biofilms and Microbiomes*. 2021;7:22. DOI: 10.1038/s41522-021-00194-8.

9. Aonofriesei F. Surfactants' interplay with biofilm development in *Staphylococcus* and *Candida*. *Pharmaceutics*. 2024;16(5):657. DOI: 10.3390/pharmaceutics16050657.

10. Schreiberová O., Hedbávná P., Čejková A., Jirků V., Masák J. Effect of surfactants on the biofilm of *Rhodococcus erythropolis*, a potent degrader of aromatic pollutants. *New Biotechnology*. 2012;30(1):62–68. DOI: 10.1016/j.nbt.2012.04.005.

11. Bjergbæk L.A., Haagensen J.A.J., Reisner A., Molin S., Roslev P. Effect of oxygen and growth medium on in vitro biofilm formation by *Escherichia coli*. *Biofilms*. 2006;3(1):1–10. DOI: 10.1017/S1479050507002074.

12. Werner E., Roe F., Bugnicourt A., Franklin M.J., Heydorn A., Molin S., et al. Stratified growth in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. 2004;70(10):6188–6196. DOI: 10.1128/AEM.70.10.6188-6196.2004.

13. Bühler T., Ballesteros S., Desai M., Brown M.R. Generation of a reproducible nutrient-depleted biofilm of *Escherichia coli* and *Burkholderia cepacia*. *Journal of Applied Microbiology*. 1998;85(3):457–462. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1998.853501.x.

14. Alotaibi G.F., Bukhari M.A. Characterization and evaluation of biofilm formation by *Klebsiella pneumoniae* MBB9 isolated from epilithic biofilms of the Porter Brook River, Sheffield. *Edelweiss Journal of Biomedical Research and Review*. 2021;3(1):14–24. DOI: 10.33805/2690-2613.120.

15. Wang C., Lin Q., Yao Y., Xu R., Wu X., Meng F. Achieving simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal in pilot-scale flow-through biofilm reactor with low dissolved oxygen concentrations: performance and mechanisms. *Bioresource Technology*. 2022;358:127373. DOI: 10.1016/j.biortech.2022.127373.

16. Khudhair D.N., Hosseinzadeh M., Zwain H.M., Siadatmousavi S.M., Majdi A., Mojiri A. Upgrading the MBBR process to reduce excess sludge production in activated sludge system treating sewage. *Water*. 2023;15(3):408. DOI: 10.3390/w15030408.

17. Silva T.P., Alves L., Paixão S.M. Effect of dibenzothiophene and its alkylated derivatives on coupled desulfurization and carotenoid production by *Gordonia alkanivorans* strain 1B. *Journal of Environmental Management*. 2020;270:110825. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.110825.

18. Zhou X., Liu H., Fan X., Wang X., Bi X., Cheng L., Huang S., et al. Comparative analysis of bacterial information of biofilms and activated sludge in full-scale MBBR-IFAS systems. *Microorganisms*. 2024;12(6):1121. DOI: 10.3390/microorganisms12061121.

19. Alisawi H.A.O. Performance of wastewater treatment during variable temperature. *Applied Water Science*. 2020;10:89. DOI: 10.1007/s13201-020-1171-x.

20. Maal-Bared R. Operational impacts of heavy metals on activated sludge systems: the need for improved monitoring. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2020;192(9):560. DOI: 10.1007/s10661-020-08529-2.

21. Lu F., Huang L., Qian F., Jiang Q., Khan S., Shen P. Resistance of anaerobic activated sludge acclimated by different feeding patterns: response to different stress

shocks. *Water Science and Technology*. 2022;85(10):3023-3035. DOI: 10.2166/wst.2022.164.

22. Németh A., Ainsworth J., Ravishankar H., Lens P.N.L., Heffernan B. Temperature dependence of nitrification in a membrane-aerated biofilm reactor. *Frontiers in Microbiology*. 2023;14:1114647. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1114647.

23. Li J., Xing X.-H., Wang B.-Z. Characteristics of phosphorus removal from wastewater by biofilm sequencing batch reactor (SBR). *Biochemical Engineering Journal*. 2003;16:279-285.

24. Demakov V.A., Vasil'ev D.M., Maksimova Y.G., Pavlova Y.A., Ovechkina G.V., Maksimov A.Y. Activated sludge bacteria transforming cyanopyridines and amides of pyridinecarboxylic acids. *Mikrobiologiya*. 2015;84(3):369-378. (In Russian). DOI: 10.7868/S0026365615030039. EDN: TQQVBB.

25. Khasanova A.A., Sirotkin A.S., Perushkina E.V. Study on the ability of activated sludge bacteria to form biofilms in vitro. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(2):207-214. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.912. EDN: PCUTZF.

26. Maksimova Yu.G., Sergeeva A.A., Ovechkina G.V., Maksimov A.Yu. Pyridine degradation by suspensions and biofilms of *Achromobacter pulmonis* PNOS and *Burkholderia dolosa* BOS strains isolated from activated sludge of sewage treatment plants. *Biotechnologiya*. 2020;36(2):86-98. (In Russian). DOI: 10.21519/0234-2758-2020-36-2-86-98. EDN: IYFZFI.

27. Kumar A., Bhunia B., Dasgupta D., Mandal T., Dey A., Datta S., et al. Optimization of culture condition for growth and phenol degradation by *Alcaligenes faecalis* JF339228 using Taguchi methodology. *Desalination and Water Treatment*. 2013;51(16-18):3153-3163. DOI: 10.1080/19443994.2012.749021.

28. Vandamme P., Moore E.R.B., Cnockaert M., De Brandt E., Svensson-Stadler L., Houf K., et al. *Achromobacter animicus* sp. nov., *Achromobacter mucicolens* sp. nov., *Achromobacter pulmonis* sp. nov. and *Achromobacter spiritinus* sp. nov., from human clinical samples. *Systematic and Applied Microbiology*. 2013;36(1):1-10. DOI: 10.1016/j.syapm.2012.10.003.

29. Deng Z., Chen H., Chen S. Medium optimization for nitrogen fixer *Paenibacillus* sp. 1-49. *Acta Microbiologica Sinica*. 2016;56(9):1415-1425.

30. Suwanmanon K., Hsieh P.-C. Isolating *Bacillus subtilis* and optimizing its fermentative medium for GABA and nattokinase production. *CyTA – Journal of Food*. 2013;12(3):282-290. DOI: 10.1080/19476337.2013.848472.

31. Maksimova Yu., Bykova Ya., Maksimov A. Functionalization of multi-walled carbon nanotubes changes their antibiofilm and probiofilm effects on environmental bacteria. *Microorganisms*. 2022;10(8):1627. DOI: 10.3390/microorganisms10081627.

32. Singh P., Srivastava S., Malhotra R., Mathur P. Identification of *Candida auris* by PCR and assessment of biofilm formation by crystal violet assay. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2023;46:100421. DOI: 10.1016/j.ijmmb.2023.100421.

33. Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay D.J., Fatma T., Rattan A. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of *Staphylococci*: an evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of*

Medical Microbiology. 2006;24(1):25-29. DOI: 10.1016/S0255-0857(21)02466-X.

34. Luzak B., Siarkiewicz P., Boncler M. An evaluation of a new high-sensitivity PrestoBlue assay for measuring cell viability and drug cytotoxicity using EA.hy926 endothelial cells. *Toxicology in Vitro*. 2022;83:105407. DOI: 10.1016/j.tiv.2022.105407.

35. Velkov V.V. New insights into the molecular mechanisms of evolution: stress increases genetic diversity. *Molecular Biology*. 2022;36:209-215. DOI: 10.1023/A:1015365805383.

36. Moreno Switt A.I., Andrus A.D., Ranieri M.L., Orsi R.H., Ivy R., den Bakker H.C., et al. Genomic comparison of sporeforming bacilli isolated from milk. *BMC Genomics*. 2014;15:26. DOI: 10.1186/1471-2164-15-26.

37. Asadishad B., Olsson A.L.J., Dusane D.H., Ghoshal S., Tufenkji N. Transport, motility, biofilm forming potential and survival of *Bacillus subtilis* exposed to cold temperature and freeze-thaw. *Water Research*. 2014;58:239-247. DOI: 10.1016/j.watres.2014.03.048.

38. Klein W., Weber M.H.W., Marahiel M.A. Cold shock response of *Bacillus subtilis*: isoleucine-dependent switch in the fatty acid branching pattern for membrane adaptation to low temperatures. *Journal of Bacteriology*. 1999;181(17):5341-5349. DOI: 10.1128/jb.181.17.5341-5349.1999.

39. Beckering C.L., Steil L., Weber M.H.W., Völker U., Marahiel M.A. Genomewide transcriptional analysis of the cold shock response in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*. 2002;184(22):6395-6402. DOI: 10.1128/jb.184.22.6395-6402.2002.

40. Sriwiriyarat T., Nuchlek P. Effects of pH on extracellular polymeric substances compositions of biofilm in Integrated Fixed Film Activated Sludge process. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2022;19:73-84. DOI: 10.1007/s13762-021-03316-z.

41. Tahir U., Nawaz S., Khan U.H., Yasmin A. Assessment of biodecolorization potentials of biofilm forming bacteria from two different genera for Mordant Black 11 dye. *Bioremediation Journal*. 2021;25(3):252-270. DOI: 10.1080/10889868.2021.1911920.

42. Rath S., Palit K., Das S. Variable pH and subsequent change in pCO₂ modulates the biofilm formation, synthesis of extracellular polymeric substances, and survivability of a marine bacterium *Bacillus stercoris* GST-03. *Environmental Research*. 2022;214:114128. DOI: 10.1016/j.envres.2022.114128.

43. Al-Kahachi R., Al-Asadi S., Ali Z.O., Rampurwala J. Effects of genetic and environmental variables on biofilm development dynamics in *Achromobacter mucicolens*. *Iranian Journal of Microbiology*. 2023;15(3):414-424. DOI: 10.18502/ijm.v15i3.12902.

44. Chakraborty I., Bhowmick G.D., Nath D., Khuman C.N., Dubey B.K., Ghangrekar M.M. Removal of sodium dodecyl sulphate from wastewater and its effect on anodic biofilm and performance of microbial fuel cell. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2021;156:105108. DOI: 10.1016/j.ibiod.2020.105108.

45. Gill S.P., Hunter W.R., Coulson L.E., Banat I.M., Schelker J. Synthetic and biological surfactant effects on freshwater biofilm community composition and metabolic activity. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2022;106:6847-6859. DOI: 10.1007/s00253-022-12179-4.

46. Fedeila M., Hachaichi-Sadouk Z., Bautista L.F., Simarro R., Nateche F. Biodegradation of anionic surfactants by *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter cloacae* and *Serratia marcescens* strains isolated from industrial wastewater. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018;163:629-635. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.07.123.

47. Sarioglu O.F., Celebioglu A., Tekinay T., Uyar T. Evaluation of contact time and fiber morphology on bacterial immobilization for development of novel surfactant degrading nanofibrous webs. *RSC Advances*. 2015;5(124):102750-102758. DOI: 10.1039/c5ra20739h.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Хасанова Айгуль Айратовна,
аспирант,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
✉ hasanovaagyl@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0004-3730-4080>

Сироткин Александр Семенович,
д.т.н., профессор, заведующий кафедрой,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
asirotkin66@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4480-9907>

Перушкина Елена Вячеславовна,
к.т.н., доцент,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
perushkina_elena@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Вклад авторов

А.А. Хасанова – проведение исследования, формальный анализ, валидация результатов, написание черновика рукописи.
А.С. Сироткин – разработка концепции, разработка методологии, валидация результатов, редактирование рукописи.
Е.В. Перушкина – разработка концепции, разработка методологии, валидация результатов, редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 14.03.2025.
Одобрена после рецензирования 20.05.2025.
Принята к публикации 21.11.2025.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Aigul A. Khasanova,
Postgraduate Student,
Kazan National Research
Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
✉ hasanovaagyl@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0004-3730-4080>

Aleksandr S. Sirotkin,
Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Head of the Department,
Kazan National Research
Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
asirotkin66@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4480-9907>

Elena V. Perushkina,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Kazan National Research
Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
perushkina_elena@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Contribution of the authors

Aigul A. Khasanova – investigation, formal analysis, validation, writing – original draft.
Aleksandr S. Sirotkin – conceptualization, methodology, validation, editing.
Elena V. Perushkina – conceptualization, methodology, validation, editing.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 14.03.2025.
Approved after reviewing 20.05.2025.
Accepted for publication 21.11.2025.



Экстракция и характеристика альгината натрия из бурых водорослей *Fucus vesiculosus*

Д.С. Колотова✉, Е.В. Боровинская, В.В. Бордиян, С.Р. Деркач

Мурманский арктический университет, Мурманск, Российская Федерация

Аннотация. Целью работы являлось исследование влияния условий получения альгината натрия из бурых водорослей *Fucus vesiculosus* на выход, молекулярную массу, физико-химические и реологические характеристики полисахарида, а также определение содержания токсичных элементов в полученном продукте для изучения возможности его применения в качестве пищевой добавки. Варьировали время (1 и 5 ч) и температуру (25, 60 и 80 °С) экстракции, а также тип осадителя (C_2H_5OH и HCl). Определение средневязкостной молекулярной массы альгината натрия проводилось методом капиллярной вискозиметрии. Идентификация образцов осуществлялась методом инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье. Содержание токсичных элементов в водорослях и альгинате натрия определялось с использованием метода масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. Реологические свойства водных растворов альгината натрия изучались методом сдвиговой реологии. Аппроксимация реологических кривых проводилась с использованием моделей Кросса и Оствальда – де Вилля. Установлено, что увеличение времени и температуры экстракции приводит к увеличению выхода продукта, молекулярной массы и реологических характеристик, однако при этом ухудшаются органолептические показатели. Образец, полученный при температуре и времени экстракции 25 °С и 1 ч соответственно, пятикратной промывке и замене стадии центрифугирования на фильтрацию, характеризовался наиболее высокими значениями молекулярной массы (592 кДа) и реологических характеристик. При этом по своим свойствам полученный образец превосходил коммерческий. Показано, что альгинат натрия может применяться в качестве пищевой добавки, поскольку содержание токсичных элементов не превышает предельно допустимых концентраций.

Ключевые слова: *Fucus vesiculosus*, бурые водоросли, альгинат натрия, реология, инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье

Благодарности. Исследование выполнено на базе научно-исследовательской лаборатории «Химия и технология морских биоресурсов» Мурманского арктического университета, созданной при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (FENR-2024-0001, соглашение № 075-03-2024-024/1 от 15.02.24).

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 23-73-01233.

Для цитирования: Колотова Д.С., Боровинская Е.В., Бордиян В.В., Деркач С.Р. Экстракция и характеристика альгината натрия из бурых водорослей *Fucus vesiculosus* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 548–558. DOI: 10.21285/achb.1007. EDN: AEHZAR.

Extraction and characterization of sodium alginate from the brown alga *Fucus vesiculosus*

Daria S. Kolotova✉, Ekaterina V. Borovinskaya,
Vlada V. Bordiyan, Svetlana R. Derkach

Murmansk Arctic University, Murmansk, Russian Federation

Abstract. The study aimed to examine the effects of conditions for obtaining sodium alginate from the brown alga *Fucus vesiculosus* on the yield, molecular weight, and physicochemical and rheological properties of the polysaccharide, as well as to determine the levels of toxic elements in the obtained product to assess its potential use as a food additive. The extraction was performed under different time (1 and 5 hours) and temperature (25, 60, and 80 °C) conditions, with the use of different precipitants (C₂H₅OH and HCl). The viscosity-average molecular weight of sodium alginate was determined via capillary viscometry. The identification of samples was performed using Fourier transform infrared spectroscopy. The levels of toxic elements in the alga and sodium alginate were determined through inductively coupled plasma mass spectrometry. The rheological properties of aqueous sodium alginate solutions were studied using a method of shear rheology. The rheological curves were fitted with the Cross and Ostwald – de Waele models. A longer extraction time and a higher extraction temperature were found to increase product yield, molecular weight, and rheological properties, while lowering organoleptic properties. The sample obtained at extraction temperature and time of 25 °C and 1 hour, respectively (with the washing stage repeated five times and the centrifugation stage replaced with filtration), was characterized by the highest values of molecular weight (592 kDa) and rheological properties. Also, in terms of its properties, the obtained sample was superior to the commercial sample. It was shown that since the levels of toxic elements do not exceed the maximum permissible concentrations, sodium alginate can be used as a food additive.

Keywords: *Fucus vesiculosus*, brown algae, sodium alginate, rheology, Fourier transform infrared spectroscopy

Acknowledgment. The study was carried out at the Research Laboratory of Chemistry and Technology of Marine Bioresources (Murmansk Arctic University) established with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (FENR-2024-0001, agreement no. 075-03-2024-024/1 dated 15.02.24).

Funding. The Russian Science Foundation supported this work (project no. 23-73-01233).

For citation: Kolotova D.S., Borovinskaya E.V., Bordiyan V.V., Derkach S.R. Extraction and characterization of sodium alginate from the brown alga *Fucus vesiculosus*. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):548-558. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.10007. EDN: AEHZAR.

ВВЕДЕНИЕ

Альгинат натрия является солью альгиновой кислоты. Она представляет собой линейный сополимер, состоящий из 1–4 связанных остатков β-D-маннуриновой и α-L-гулуриновой кислот, которые случайным образом распределены вдоль углеводных цепей [1]. Данные урановые кислоты образуют однородные блоки гулуриновой или мануриновой кислоты, а также цепи с чередующимися блоками гулуриновой и мануриновой кислоты [2]. Морские бурые водоросли являются единственным промышленным источником альгината натрия, который содержится в клеточных стенках и межклеточном матриксе бурых водорослей [3].

Альгинат натрия является биосовместимым, нетоксичным и биоразлагаемым полимером, а его водные растворы характеризуются высокой вязкостью, благодаря чему он широко применяется в пищевой, косметической, биомедицинской и фармацевтической отраслях промышленности [4]. В частности, в фармацевтике альгинат натрия применяется при создании капсул и микросфер для доставки лекарственных и

терапевтических средств [5–7]. В медицине альгинат применяют для создания гемостатических и противовоспалительных пленок [8]. В косметических средствах он применяется в качестве структурообразователя и эмульгатора для улучшения свойств косметических продуктов [9], а также в качестве основного компонента для создания косметических средств на основе гидрогелей [10].

В пищевой промышленности альгинат применяют в качестве загустителя, эмульгатора, структурообразователя, заменителя жира, стабилизирующего, связывающего и функционального компонента [11]. Одним из важных направлений использования альгината натрия является создание пищевых пленок, поскольку добавление полисахарида значительно улучшает барьерные, механические и термические свойства, тем самым препятствуя микробному заражению продукции и окислительным процессам [12].

Ключевым фактором при определении физико-химических и технологических свойств, а также областей применения альгината натрия является его молекулярная масса,

которая, в свою очередь, зависит от таких факторов, как место и условия произрастания, тип водорослей, период сбора, а также условий получения полисахарида [13]. Процесс получения альгината натрия подробно описан в обзорных работах [11, 13]. Стандартный процесс экстракции альгинатов основан на термической обработке [14]. Повышение температуры обработки может привести к увеличению выхода полисахарида, однако при использовании высоких температур в сочетании с длительным временем экстракции может снижаться вязкость полученного продукта. Как правило, температура экстракции варьируется от комнатной температуры до 50 °C [15]. В работе [16] показано, что наиболее высокий выход альгинатов был получен при 40 °C, однако в работах [17, 18] было показано, что наибольший выход наблюдается при температурах 90–100 °C.

Важную роль играет также время экстракции. В работе [17] было показано, что существует прямая корреляция между временем экстракции и выходом продукта. Максимальный выход был получен за 3 ч. Однако в работе [19] было отмечено, что увеличение времени экстракции и температуры способствует получению альгинатов с меньшими значениями молекулярной массы и вязкости.

Заключительным этапом получения альгинатов является их осаждение и очистка. В работе [20] рассмотрено три способа осаждения альгината натрия: этанолом, соляной кислотой и хлоридом кальция. Осаждение этанолом способствовало увеличению выхода альгината, в то время как соляная кислота и хлорид кальция способствовали снижению молекулярной массы полученных образцов.

Научная литература, посвященная вопросам экстракции альгината натрия из водорослей различного происхождения, содержит разрозненные и порой противоречивые сведения о взаимосвязи условий экстракции и свойств альгината натрия. По этой причине существует необходимость в установлении корреляции между условиями получения альгината натрия, его молекулярной массой и реологическими характеристиками, которые, в свою очередь, определяют его структурные и органолептические свойства, а также потенциал применения в различных отраслях промышленности. Целью данной работы является исследование влияния условий экстракции и осаждения альгината натрия из бурых водорослей *Fucus vesiculosus*, произрастающих на побережье Кольского полуострова, на выход, молекулярно-массовые и реологические характеристики полисахарида. Исследованы показатели безопасности полученного продукта для применения в качестве пищевой добавки.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве сырья для получения альгината натрия использовали бурые водоросли *F. vesiculosus* (фукус пузырчатый) (рис. 1, а), собранные на побережье губы Малая Питкуля (Кандалакшский район, Мурманская область, Россия) (рис. 1, б). Дата сбора – 25 июня 2023 года. Свежесобранные водоросли очищали от песка, моллюсков и прочих примесей, промывали в проточной воде и высушивали на воздухе при температуре 25±2 °C до постоянной массы в течение 3 суток, исключая воздействие солнечного света. Высушенные водоросли измельчали на лабораторной мельнице в порошок и

хранили в герметичной таре при комнатной температуре. Содержание влаги в высушенных водорослях составило 12,4±0,5%, содержание золы – 1,3±0,1%, содержание альгиновой кислоты – 35,4±1,8%.



Рис. 1. Внешний вид бурых водорослей *Fucus vesiculosus* (а) и район сбора (б)

Fig. 1. Appearance of brown algae *Fucus vesiculosus* (а) and collection area (б)

Альгинат натрия получали по методике, описанной в источнике [18], с некоторыми модификациями. Для удаления фенольных соединений и бурого пигмента высушенные и измельченные водоросли обрабатывали раствором формальдегида с концентрацией 2% об. (соотношение водорослей и формальдегида составляет 1:4 по массе) при постоянном перемешивании в течение 24 ч при 25±2 °C. Обработанные водоросли промывали дистиллированной водой 3 раза и центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 3500 об/мин при температуре 25±2 °C для отделения жидкости. Далее проводили обработку водорослей 0,2 М раствором HCl (соотношение водорослей и HCl составляло 1:4 по массе) при постоянном помешивании в течение 2 ч при 25 °C. Обработанные водоросли промывали дистиллированной водой до нейтрального значения pH и центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 3500 об/мин при температуре 25 °C.

Обработанные водоросли смешивали с 2%-м раствором Na₂CO₃ в соотношении 1:4 по массе и проводили экстракцию при различных условиях. Для изучения влияния времени получения альгината натрия проводили экстракцию в течение 1 и 5 ч при температуре 25 °C. Для изучения влияния температуры получения альгината натрия на выход и свойства продукта экстракцию проводили в течение 1 ч при различных температурах: 25, 60 и 80 °C при постоянном перемешивании. По окончании экстракции полученную смесь фильтровали через слой марлевой ткани, осадок от фильтрации направляли на утилизацию. Для полного удаления мелких частиц водорослей полученный раствор центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 3500 об/мин при температуре 25±2 °C.

Далее проводили осаждение альгината натрия из полученного раствора с использованием растворов HCl и NaHCO₃, а также C₂H₅OH:

1. Для осаждения альгината натрия с использованием раствора HCl и NaHCO₃ к фильтрату по каплям добавляли 18%-й раствор HCl до значений pH = 1–3, в результате чего наблюдалось образование неоднородного геля. Полученный гель фильтровали через слой капроновой ткани. К полученному гелю добавляли порошок NaHCO₃ до pH = 7. Полученный раствор сушили в лиофильной сушилке FreeZone (Labconco, США) при температуре минус 50 °C и остаточном давлении 2,4–2,6 Па.

2. Для осаждения альгината натрия с использованием раствора C_2H_5OH к фильтрату добавляли 95%-й раствор C_2H_5OH в соотношении 1:1 при постоянном перемешивании. В результате наблюдалось осаждение альгината натрия в виде тонких волокон. Полученный альгинат натрия отфильтровывали через слой капроновой ткани, после чего сушили в лиофильной сушилке FreeZone (Labconco, США) при температуре минус 50 °C и остаточном давлении 2,4–2,6 Па.

Для сокращения длительности технологического процесса стадию центрифугирования водорослей после обесцвечивания заменили на промывание водорослей дистиллированной водой в количестве 5 раз.

Выход альгината натрия X , %, рассчитывали по формуле

$$X = \frac{m}{M} \times 100\%, \quad (1)$$

в которой m – масса высушенного альгината натрия, г; M – масса высушенных водорослей, г.

Оценку органолептических показателей (цвета и внешнего вида) проводили в соответствии с описанием, приведенным в ГОСТ 33310-2015¹, согласно которому альгинат натрия представляет собой желтовато-белый с сероватым оттенком волокнистый порошок, гранулы или пластинки.

Содержание влаги и золы определяли в соответствии с ГОСТ 33331-2015².

Определение средневязкостной молекулярной массы полученных образцов альгината натрия проводили методом капиллярной вискозиметрии при температуре 20 °C. В качестве растворителя использовали 0,1 М раствор NaCl. Значение молекулярной массы рассчитывали с использованием уравнения Марка – Куна – Хаувинка:

$$[\eta] = K \times M_{\eta}^{\alpha} \quad (2)$$

где $[\eta]$ – характеристическая вязкость; M_{η} – средневязкостная молекулярная масса; K и α – константы, зависящие от природы растворителя и полимера: $K = 2 \times 10^{-5}$, $\alpha = 1$ [21].

Идентификацию образцов альгината натрия проводили методом инфракрасной (ИК) Фурье-спектроскопии. Спектры пропускания регистрировали с использованием ИК-спектрометра с преобразованием Фурье IRTracer-100 (Shimadzu, Япония) в диапазоне частот 4000–800 cm^{-1} с разрешением 4 cm^{-1} (количество сканирований – 250) в таблетках KBr.

Содержание токсичных элементов в водорослях и альгинате натрия определяли с использованием масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой Elan-9000 DRC-e (Perkin Elmer Inc., США).

Реологические свойства водных растворов альгината натрия исследовали с использованием модульного компактного реометра MCR 302 (Anton Paar, Австрия), оснащенного измерительной системой «конус – плоскость». Диаметр конуса составлял 50 мм, угол между основанием конуса и плоскостью – 1°, рабочее расстояние между конусом и плоскостью – 0,1 мм. Растворы альгината

натрия готовили путем растворения навески в дистиллированной воде при постоянном перемешивании с предварительным набуханием в воде в течение 5 ч при 25 ± 2 °C. Концентрация растворов альгината натрия составила 3% масс. Измерения проводили при температуре $23,00 \pm 0,01$ °C в двух режимах деформации: 1) режиме контролируемой скорости сдвига $\dot{\gamma}$ в диапазоне от 0,01 до 100 s^{-1} ; 2) режиме периодических колебаний в области линейной вязкоупругости при постоянном значении амплитуды w 1% в диапазоне значений частоты деформации ω от 0,1 до 100 s^{-1} .

В качестве образца сравнения использовали коммерческий образец альгината натрия из бурых водорослей A2033 (Sigma, Великобритания) со среднемассовой молекулярной массой 507 кДа.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основной задачей в технологии альгината натрия является получение очищенного продукта без цвета и запаха с высокими значениями молекулярной массы и вязкости водных растворов [22]. Для изучения влияния условий экстракции на физико-химические свойства и выход альгината натрия были получены образцы полисахарида при различных значениях времени (1 и 5 ч) и температуры (25, 60 и 80 °C) экстракции, а также типах осадителя (растворы C_2H_5OH и HCl). Условное обозначение образцов приведено в табл. 1.

Таблица 1. Обозначение образцов альгината натрия в зависимости от условий экстракции

Table 1. Designation of sodium alginate samples depending on extraction conditions

Образец	Условия экстракции		
	Время, ч	Температура, °C	Осадитель
SA-1-25Et1	1	25	C_2H_5OH
SA-1-25Et	1	25	C_2H_5OH
SA-5-25Et	5	25	C_2H_5OH
SA-1-60Et	1	60	C_2H_5OH
SA-1-80Et	1	80	C_2H_5OH
SA-1-25Ac	1	25	HCl
SA-5-25Ac	5	25	HCl

Внешний вид полученных образцов альгината натрия приведен на рис. 2. Образцы, полученные при температуре и времени экстракции 25 °C и 1 ч соответственно (осадитель – раствор C_2H_5OH), отвечают требованиям, предъявляемым к пищевым альгинатам, и являются наиболее приближенными по цвету к коммерческому образцу альгината. Увеличение времени с 1 до 5 ч и температуры экстракции от 25 до 80 °C приводит к ухудшению органолептических характеристик альгината натрия и увеличению интенсивности цвета от светло-бежевого до коричневого. Использование в качестве осадителя раствора HCl также способствует ухудшению органолептических показателей.

¹ГОСТ 33310-2015. Добавки пищевые. Загустители пищевых продуктов. Термины и определения. М.: Стандартинформ, 2019. 15 с.

²ГОСТ 33331-2015. Водоросли, травы морские и продукция из них. Методы определения массовой доли воды, золы и посторонних примесей. М.: Стандартинформ, 2019. 14 с.



Рис. 2. Внешний вид образцов альгината натрия после сушки

Fig. 2. Appearance of sodium alginate samples after drying

Исследованы физико-химические свойства полученных образцов альгината натрия (табл. 2). Показано, что при увеличении температуры экстракции от 25 до 80 °С выход и молекулярная масса альгината натрия увеличиваются с 3,7 до 19,7% и со 129 до 212 кДа соответственно. Увеличение времени экстракции от 1 до 5 ч не приводит к росту выхода продукта, однако незначительно увеличивается значение молекулярной массы от 129 до 167 кДа. Содержание золы и влаги в образцах, для осаждения которых применялся этанол, примерно одинаково и составляет около 30%. Использование в качестве осадителя раствора HCl приводит к существенному снижению молекулярной массы образцов и росту минеральной составляющей, что может быть связано с разрушением полимерной цепи под действием кислоты и образованием солей в процессе осаждения.

Получены ИК-спектры для образцов альгината натрия (рис. 3). Они демонстрируют широкую полосу пропускания в диапазоне волновых чисел 3427–3383 см⁻¹,

соответствующую валентным колебаниям гидроксильных групп. Полосы поглощения в области 1614–1618 и 1413–1418 см⁻¹ отвечают валентным колебаниям асимметричных и симметричных карбоксильных групп. Кроме того, наблюдается наличие полос поглощения в области 1300 см⁻¹ (валентные колебания C-O), 1082–1032 см⁻¹ (колебания C-O и CO-C групп в маннуроновой и гулуриновой единицах соответственно) и 816–858 см⁻¹ (колебания C-O групп в α-конфигурации гулуриновой единицы) [23]. Необходимо отметить, что спектры полученных образцов альгината натрия соответствуют спектру коммерческого образца Sigma A2033.

Таким образом было показано, что наибольшие значения выхода продукта и молекулярной массы могут быть получены при температуре экстракции 80 °С (осадитель – раствор C₂H₅OH), однако при этом значительно ухудшаются органолептические свойства, что существенно ограничивает области применения альгината натрия. Наиболее близким по физико-химическим и реологическим свойствам к коммерческому

Таблица 2. Физико-химические свойства образцов альгината натрия

Table 2. Physicochemical properties of sodium alginate samples

Образец	Показатель			
	Выход, %	Влага, %	Зола, %	Средневязкостная молекулярная масса, кДа
SA-1-25Et1	7,5±0,6	14,5±0,5	33,3±0,1	592±9
SA-1-25Et	3,7±0,5	15,8±0,4	29,3±0,1	129±7
SA-5-25Et	3,6±0,7	15,9±0,7	27,1±0,2	167±6
SA-1-60Et	8,5±0,5	13,0±0,5	29,8±0,1	176±8
SA-1-80Et	19,7±0,6	9,3±0,6	30,3±0,1	212±6
SA-1-25Ac	8,0±0,4	16,4±0,4	69,6±0,2	31±9
SA-5-25Ac	3,6±0,5	12,4±0,5	52,2±0,1	57±5

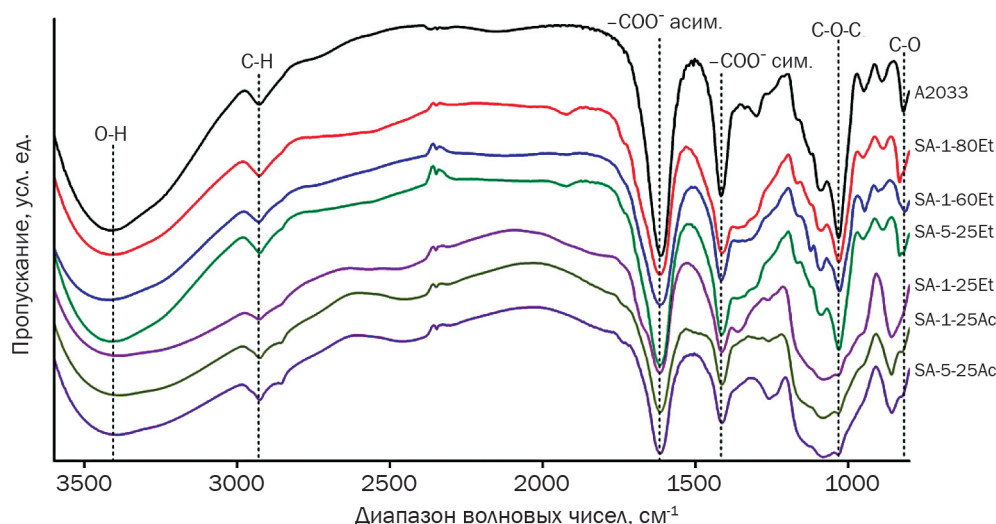


Рис. 3. Инфракрасные спектры образцов альгината натрия

Fig. 3. Infrared spectra of sodium alginate samples

образцу является образец SA-1-25Et, полученный при 25 °С в течение 1 ч.

Также было показано, что увеличение числа промывок с 3 до 5 и замена стадии центрифугирования водорослей на обычную фильтрацию после обработки на этапе обесцвечивания приводят к значительному увеличению молекулярной массы альгината натрия (592 кДа) и к увеличению выхода с 3,7 до 7,5% (см. табл. 2, образец SA-1-25Et1). При этом внешний вид продукта сопоставим с коммерческим образцом (см. рис. 2). Таким образом, данный образец является наиболее перспективным для применения в области пищевых технологий.

Для определения соответствия альгината натрия требованиям безопасности пищевых и комплексных пищевых добавок определено содержание токсичных элементов в водорослях *F. vesiculosus* и образце альгината натрия SA-1-25Et1. Результаты испытаний представлены в табл. 3. Превышение содержания мышьяка в водорослях обусловлено особенностями санитарно-гигиенического состояния Белого моря, а также способностью бурых водорослей аккумулировать металлы вследствие высокого содержания полисахаридов [24]. Однако предварительная обработка сырья, а также многократная промывка и обработка биомассы в процессе экстракции позволяют снизить содержание мышьяка в альгинате натрия до безопасных значений. Содержание тяжелых металлов в образце альгината натрия не превышает предельно допустимых концентраций, установленных техническим регламентом Таможенного союза ТР ТС 029/2012³.

Для качественной оценки полученных образцов альгината натрия были исследованы реологические свойства водных растворов полисахарида с концентрацией 3% масс. Наиболее важными реологическими характеристиками являются текучесть, вязкость и вязкопластичные свойства, поскольку они определяют качество продукции, а также необходимы для определения технологических параметров производства [25].

Таблица 3. Содержание токсичных элементов в сырье и альгинате натрия

Table 3. Content of toxic elements in raw materials and sodium alginate

Элемент	Предельно допустимая концентрация	Содержание элемента, мг/кг	
		в <i>Fucus vesiculosus</i>	в образце SA-1-25Et1
Ртуть	1,0	менее 0,05	0,13
Кадмий	1,0	менее 0,10	менее 0,10
Свинец	5,0	2,58	0,17
Мышьяк	3,0	11,10	0,52

На рис. 4, а представлены зависимости вязкости от скорости сдвига для водных растворов альгината натрия. Вязкость растворов закономерно увеличивается по мере роста значений молекулярной массы (см. табл. 2). При этом наибольшими значениями вязкости характеризуется образец SA-1-25Et1, полученный при температуре 25 °С в течение 1 ч. Судя по форме зависимостей, представленных на рис. 3, а, водные растворы альгината натрия представляют собой неньютоновские жидкости. При этом существует некоторая критическая скорость сдвига, при которой наблюдается существование ньютоновского плато. Для аппроксимации реологических кривых на рис. 4, а использовали модель Кросса (3), параметры аппроксимации приведены в табл. 4:

$$\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{1 + (\alpha \dot{\gamma})^n}, \quad (3)$$

где η – вязкость, Па·с; η_0 – ньютоновская вязкость, Па·с; η_{∞} – предельная вязкость, Па·с; α – характеристическое время, связанное с разрывом связей в структуре жидкости, с; n – индекс течения; $\dot{\gamma}$ – скорость сдвига, с⁻¹.

³Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 029/2012. Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств. Принят 20.07.2012 г. 308 с.

Как видно из табл. 4, значения ньютоновской и предельной вязкостей, а также характеристического времени увеличиваются по мере увеличения температуры и времени экстракции с 25 до 80 °C и с 1 до 5 ч соответственно. Наибольшие значения параметров, рассчитанных по уравнению (3), наблюдаются для образца SA-1-25Et1, который характеризуется более высоким значением молекулярной массы. Для образцов

с низкой вязкостью SA-1-25Ac и SA-5-25Ac, осажденных с использованием раствора HCl, уравнение Кросса не применимо.

На рис. 4, б представлены кривые течения водных растворов альгината натрия. Видно, что напряжение сдвига увеличивается по мере увеличения молекулярной массы альгината натрия за счет увеличения длины молекулярной цепи и внутреннего трения. Кривые течения

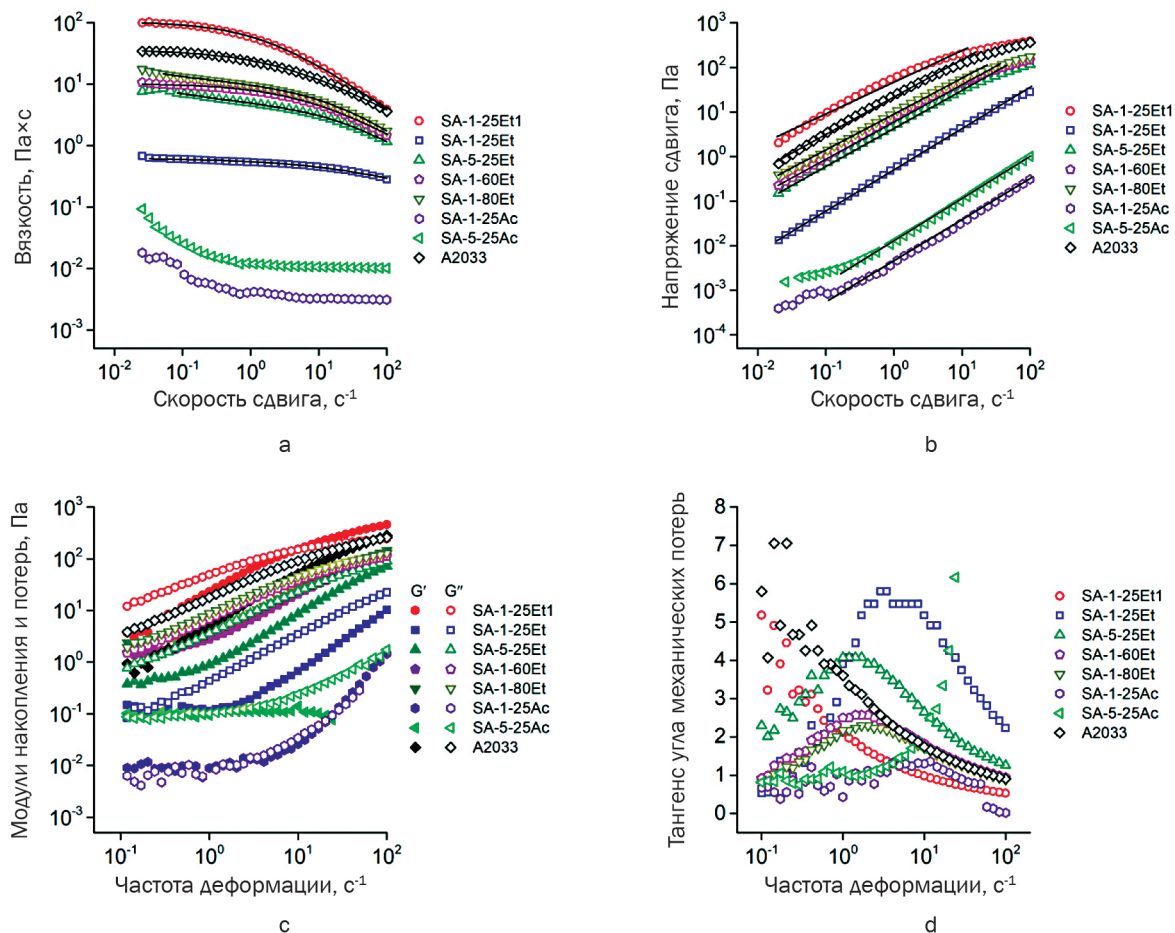


Рис. 4. Зависимости вязкости (а) и напряжения сдвига (б) от скорости сдвига; зависимости модулей накопления и потерь (с) и тангенса угла механических потерь (д) от частоты деформации ($T = 23\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Fig. 4. Dependences of viscosity (a) and shear stress (b) on the shear rate; dependence of the storage moduli and loss module (c) and tangent of the angle of mechanical losses (d) on the deformation frequency ($T = 23\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Таблица 4. Параметры аппроксимации

Table 4. Approximation parameters

Образец	Модель Кросса					Модель Оствальда – де Вилля		
	α , с	n	η_0 , Па·с	η_{∞} , Па·с	R^2	k	n	R^2
SA-1-25Et1	0,68	0,76	103,83	$4,62 \times 10^{-7}$	0,999	59,77	0,79	0,999
SA-1-25Et	0,01	0,44	0,63	$3,34 \times 10^{-8}$	0,993	0,54	0,94	0,999
SA-5-25Et	0,33	0,49	8,16	$1,38 \times 10^{-7}$	0,960	4,87	0,84	0,999
SA-1-60Et	0,15	0,64	10,27	$1,75 \times 10^{-7}$	0,995	7,64	0,86	0,999
SA-1-80Et	0,25	0,60	14,44	$2,06 \times 10^{-7}$	0,990	9,55	0,83	0,999
SA-1-25Ac	–	–	–	–	–	0,01	0,97	0,999
SA-5-25Ac	–	–	–	–	–	0,02	0,98	0,999
A2033	0,33	0,61	36,52	$4,31 \times 10^{-7}$	0,999	23,22	0,82	0,999

Примечание. α – характеристическое время; n – индекс течения; η_0 – ньютоновская вязкость; η_{∞} – предельная вязкость; R^2 – коэффициент детерминации; k – коэффициент консистенции; n – индекс течения.

были аппроксимированы с использованием модели Оствальда – де Вилля (степенной модели) (4), параметры аппроксимации приведены в табл. 4:

$$\sigma = k \times \dot{\gamma}^n, \quad (4)$$

где σ – напряжение сдвига, Па; k – коэффициент консистенции, численно равный вязкости при единичном градиенте скорости, Па·с^{*n*}; $\dot{\gamma}$ – скорость сдвига, с^{–1}; n – индекс течения, который определяет степень выраженности неньютоновского поведения системы.

Водные растворы альгината натрия представляют собой псевдопластичные жидкости, поскольку значение индекса течения $n < 1$. Индекс течения уменьшается с ростом молекулярной массы альгината натрия, в то время как коэффициент консистенции увеличивается. Это связано с тем, что с ростом молекулярной массы полисахарида увеличивается сопротивление цепей трению вследствие образования межмолекулярных зацеплений [26].

На рис. 4, с приведены частотные зависимости динамических модулей (накопления G' и потерь G'') для растворов альгината натрия. Видно, что значения динамических модулей растут по мере увеличения частоты деформации во всем исследуемом диапазоне, при этом значения G'' несколько превосходят значения G' , особенно в области низких частот, что характерно для жидкообразного поведения материалов. Образец SA-1-25Et1 характеризуется максимальными значениями динамических модулей, которые превосходят аналогичные значения коммерческого образца Sigma.

Факт того, что значения тангенса угла динамических механических потерь ($\tan \delta = G''/G'$) для всех исследо-

ванных водных растворов альгината натрия больше или близки к единице, также указывает на преимущественно вязкое поведение растворов (рис. 4, d). Для образцов SA-1-25Et1 и A2033 наблюдается снижение значения $\tan \delta$ во всем диапазоне частот. Для остальных образцов, за исключением SA-5-25Ac, изменение данного показателя проходит через максимум. Такое поведение может быть связано с различиями во внутримолекулярных взаимодействиях, а также во взаимодействии полимера с растворителем при различных условиях сдвига.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе исследовано влияние условий экстракции и осаждения альгината натрия из бурых водорослей *F. vesiculosus* на выход, молекулярно-массовые и реологические характеристики полисахарида. Показано, что образец SA-1-25Et1, полученный при температуре и времени экстракции 25 °C и 1 ч соответственно, пятикратной промывке и замене стадии центрифугирования на фильтрацию, характеризуется наиболее высокими значениями молекулярной массы (592 кДа) и реологических характеристик. При этом по технологическим характеристикам полученный образец превосходит коммерческий. Отмечено также, что альгинат натрия может применяться в качестве пищевой добавки, поскольку содержание токсичных элементов не превышает установленных предельно допустимых концентраций. Таким образом, альгинат натрия SA-1-25Et1 может применяться в пищевой промышленности в качестве структурообразователя, загустителя и стабилизатора.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Abka-Khajouei R., Tounsi L., Shahabi N., Patel A.K., Abdelkafi S., Michaud, P. Structures, properties and applications of alginates // *Marine Drugs*. 2022. Vol. 20, no. 6. P. 364. DOI: 10.3390/md20060364.
2. Makarova A.O., Derkach S.R., Khair T., Kazantseva M.A., Zuev Y.F., Zueva O.S. Ion-induced polysaccharide gelation: peculiarities of alginate egg-box association with different divalent cations // *Polymers*. 2023. Vol. 15, no. 5. P. 1243. DOI: 10.3390/polym15051243.
3. Łabowska M.B., Michalak I., Detyna J. Methods of extraction, physicochemical properties of alginates and their applications in biomedical field – a review // *Open Chemistry*. 2019. Vol. 17, no. 1. P. 738–762. DOI: 10.1515/chem-2019-0077.
4. Cattelan G., Guerrero Gerbolés A., Foresti R., Pramstaller P.P., Rossini A., Miragoli M., et al. Alginate formulations: current developments in the race for hydrogel-based cardiac regeneration // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020. Vol. 8. P. 414. DOI: 10.3389/fbioe.2020.00414.
5. Nezamdoost-Sani N., Khaledabad M.A., Amiri S., Khaneghah A.M. Alginate and derivatives hydrogels in encapsulation of probiotic bacteria: an updated review // *Food Bioscience*. 2023. Vol. 52. P. 102433. DOI: 10.1016/j.fbio.2023.102433.
6. Strobel S.A., Knowles L., Nitin N., Scher H.B., Jeoh T. Comparative technoeconomic process analysis of industrial-scale microencapsulation of bioactives in cross-linked alginate // *Journal of Food Engineering*. 2020. Vol. 266. P. 109695. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2019.109695.
7. Bennacef C., Desobry-Banon S., Probst L., Desobry S. Optimization of core-shell capsules properties (Olive oil/alginate) obtained by dripping coextrusion process // *LWT*. 2022. Vol. 167. P. 113879. DOI: 10.1016/j.lwt.2022.113879.
8. Sharma A., Verma C., Singh P., Mukhopadhyay S., Gupta A., Gupta B. Alginate based biomaterials for hemostatic applications: innovations and developments // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024. Vol. 264. P. 130771. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.130771.
9. Solovieva E.V., Teterina A.Yu., Klein O.I., Komlev V.S., Alekseev A.A., Panteleyev A.A. Sodium alginate-based composites as a collagen substitute for skin bioengineering // *Biomedical Materials*. 2021. Vol. 16. P. 015002. DOI: 10.1088/1748-605X/abb524.
10. Верещагин А.А., Морозова Е.А. Химия и технология наполненных гидрогелей для создания альгинатных косметических масок (обзор) // *Южно-Сибирский научный вестник*. 2020. N 5. С. 12–31. EDN: JSDDDDQ.
11. Bojorges H., López-Rubio A., Martínez-Abad A., Fabras M.J. Overview of alginate extraction processes: impact on alginate molecular structure and techno-functional properties // *Trends in Food Science & Technology*. 2023. Vol. 140. P. 104142. DOI: 10.1016/j.tifs.2023.104142.
12. Nath P.C., Sharma R., Debnath S., Sharma M., Inbaraj B.S., Dikkala P.K., et al. Recent trends in cellulose-based biodegradable polymers for smart food packaging industry // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023. Vol. 253. P. 127524. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127524.

13. Saji S., Hebden A., Goswami P., Du C. A brief review on the development of alginate extraction process and its sustainability // *Sustainability*. 2022. Vol. 14, no. 9. P. 5181. DOI: 10.3390/su14095181.

14. Silva M., Gomes F., Oliveira F., Morais S., Delerue-Matos C. Microwave-assisted alginate extraction from Portuguese *Saccorhiza polyschides* – influence of acid pretreatment // *International Journal of Chemical, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*. 2015. Vol. 9, no. 1. P. 30–33.

15. Chee S.-Y., Wong P.-K., Wong C.-L. Extraction and characterisation of alginate from brown seaweeds (*Fucales*, *Phaeophyceae*) collected from Port Dickson, Peninsular Malaysia // *Journal of Applied Phycology*. 2011. Vol. 23. P. 191–196. DOI: 10.1007/s10811-010-9533-7.

16. Fertah M., Belfkira A., Taourirte M., Brouillette F. Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed // *Arabian Journal of Chemistry*. 2017. Vol. 10. P. S3707–S3714. DOI: 10.1016/j.arabjch.2014.05.003.

17. Mazumder A., Holdt S.L., De Francisci D., Alvarado-Morales M., Mishra H.N., Angelidaki I. Extraction of alginate from *Sargassum muticum*: process optimization and study of its functional activities // *Journal of Applied Phycology*. 2016. Vol. 28. P. 3625–3634. DOI: 10.1007/s10811-016-0872-x.

18. Hernandez-Carmona G., McHugh D.J., López-Gutiérrez F. Pilot plant scale extraction of alginates from *Macrocystis pyrifera*. 2. Studies on extraction conditions and methods of separating the alkaline-insoluble residue // *Journal of Applied Phycology*. 1999. Vol. 11. P. 493–502. DOI: 10.1023/A:1008114709681.

19. Truus K., Vaher M., Taure I. Algal biomass from *Fucus vesiculosus* (*Phaeophyta*): investigation of the mineral and alginate components // *Proceedings of the Estonian*

Academy of Sciences. Chemistry. 2001. Vol. 50, no. 2. P. 95–103. DOI: 10.3176/chem.2001.2.04.

20. Gomez C.G., Perez Lambrecht M.V., Lozano J.E., Rinaudo M., Villar M.A. Influence of the extraction-purification conditions on final properties of alginates obtained from brown algae (*Macrocystis pyrifera*) // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2009. Vol. 44, no. 4. P. 365–371. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2009.02.005.

21. Fourest E., Volesky B. Alginate properties and heavy metal biosorption by marine algae // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 1997. Vol. 67. P. 215–226. DOI: 10.1007/BF02788799.

22. Akbar M., Yaqoob A., Ahmad A., Luque R. Sodium alginate: an overview // *Sodium Alginate-Based Nanomaterials for Wastewater Treatment* / eds A. Ahmad, I. Ahmad, T. Kamal, A.M. Asiri, S. Tabassum. Elsevier, 2023. P. 1–17. DOI: 10.1016/B978-0-12-823551-5.00012-4.

23. Sartori C., Finch D.S., Ralph B., Gilding K. Determination of the cation content of alginate thin films by FTIR spectroscopy // *Polymer*. 1997. Vol. 38, no. 1. P. 43–51. DOI: 10.1016/S0032-3861(96)00458-2.

24. Подкорытова А.В., Вафина Л.Х., Муравьева Е.А., Шарина З.Н. Санитарно-гигиеническая характеристика бурых водорослей Белого и Баренцева морей // *Рыбпром: технологии и оборудование для переработки водных биоресурсов*. 2009. N 4. С. 33–39. EDN: KYGTPZ.

25. Ma J., Lin Y., Chen X., Zhao B., Zhang J. Flow behavior, thixotropy and dynamical viscoelasticity of sodium alginate aqueous solutions // *Food Hydrocolloids*. 2014. Vol. 38. P. 119–128. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.11.016.

26. Malkin A.Ya., Isaev A.I. *Rheology: concepts, methods, and applications*. ChemTec Publishing, 2012. 473 p. DOI: 10.1016/C2011-0-04626-4.

REFERENCES

1. Abka-Khajouei R., Tounsi L., Shahabi N., Patel A.K., Abdelkafi S., Michaud, P. Structures, properties and applications of alginates. *Marine Drugs*. 2022;20(6):364. DOI: 10.3390/md20060364.

2. Makarova A.O., Derkach S.R., Khair T., Kazantseva M.A., Zuev Y.F., Zueva O.S. Ion-induced polysaccharide gelation: peculiarities of alginate egg-box association with different divalent cations. *Polymers*. 2023;15(5):1243. DOI: 10.3390/polym15051243.

3. Łabowska M.B., Michalak I., Detyna J. Methods of extraction, physicochemical properties of alginates and their applications in biomedical field – a review. *Open Chemistry*. 2019;17(1):738–762. DOI: 10.1515/chem-2019-0077.

4. Cattelan G., Guerrero Gerbolés A., Foresti R., Pramstaller P.P., Rossini A., Miragoli M., et al. Alginate formulations: current developments in the race for hydrogel-based cardiac regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020;8:414. DOI: 10.3389/fbioe.2020.00414.

5. Nezamdoost-Sani N., Khaledabad M.A., Amiri S., Khaneghah A.M. Alginate and derivatives hydrogels in encapsulation of probiotic bacteria: an updated review. *Food Bioscience*. 2023;52:102433. DOI: 10.1016/j.fbio.2023.102433.

6. Strobel S.A., Knowles L., Nitin N., Scher H.B., Jeoh T. Comparative techno-economic process analysis of industrial-scale microencapsulation of bioactives in cross-linked alginate. *Journal of Food Engineering*. 2020;266:109695. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2019.109695.

7. Bennacef C., Desobry-Banon S., Probst L., Desobry S. Optimization of core-shell capsules properties (Olive oil/alginate) obtained by dripping coextrusion process. *LWT*. 2022;167:113879. DOI: 10.1016/j.lwt.2022.113879.

8. Sharma A., Verma C., Singh P., Mukhopadhyay S., Gupta A., Gupta B. Alginate based biomaterials for hemostatic applications: innovations and developments. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;264:130771. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.130771.

9. Solovieva E.V., Teterina A.Yu., Klein O.I., Komlev V.S., Alekseev A.A., Panteleyev A.A. Sodium alginate-based composites as a collagen substitute for skin bioengineering. *Biomedical Materials*. 2021;16:015002. DOI: 10.1088/1748-605X/abb524.

10. Vereshchagin A.L., Morozova E.A. Chemical and technological aspects of the production of heterogeneous alginate gels (review). *South-Siberian Scientific Bulletin*. 2020;5:12–31. (In Russian). EDN: JSDDDDQ.

11. Bojorges H., López-Rubio A., Martínez-Abad A., Fabras M.J. Overview of alginate extraction processes: impact on alginate molecular structure and techno-functional properties. *Trends in Food Science & Technology*. 2023;140:104142. DOI: 10.1016/j.tifs.2023.104142.

12. Nath P.C., Sharma R., Debnath S., Sharma M., Inbaraj B.S., Dikkala P.K., et al. Recent trends in cellulose-based biodegradable polymers for smart food packaging industry. *International Journal of Biological*

Macromolecules. 2023;253:127524. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127524.

13. Saji S., Hebden A., Goswami P., Du C. A brief review on the development of alginate extraction process and its sustainability. *Sustainability*. 2022;14(9):5181. DOI: 10.3390/su14095181.

14. Silva M., Gomes F., Oliveira F., Morais S., Delerue-Matos C. Microwave-assisted alginate extraction from Portuguese *Saccorhiza polyschides* – influence of acid pretreatment. *International Journal of Chemical, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*. 2015;9(1):30-33.

15. Chee S.-Y., Wong P.-K., Wong C.-L. Extraction and characterisation of alginate from brown seaweeds (*Fucales*, *Phaeophyceae*) collected from Port Dickson, Peninsular Malaysia. *Journal of Applied Phycology*. 2011;23:191-196. DOI: 10.1007/s10811-010-9533-7.

16. Fertah M., Belfkira A., Taourirte M., Brouillette F. Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed. *Arabian Journal of Chemistry*. 2017;10:S3707-S3714. DOI: 10.1016/j.arabjc.2014.05.003.

17. Mazumder A., Holdt S.L., De Francisci D., Alvarado-Morales M., Mishra H.N., Angelidaki I. Extraction of alginate from *Sargassum muticum*: process optimization and study of its functional activities. *Journal of Applied Phycology*. 2016;28:3625-3634. DOI: 10.1007/s10811-016-0872-x.

18. Hernandez-Carmona G., McHugh D.J., López-Gutiérrez F. Pilot plant scale extraction of alginates from *Macrocystis pyrifera*. 2. Studies on extraction conditions and methods of separating the alkaline-insoluble residue. *Journal of Applied Phycology*. 1999;11:493-502. DOI: 10.1023/A:1008114709681.

19. Truus K., Vaheer M., Taure I. Algal biomass from *Fucus vesiculosus* (*Phaeophyta*): investigation of the mineral

and alginate components. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences. Chemistry*. 2001;50(2):95-103. DOI: 10.3176/chem.2001.2.04.

20. Gomez C.G., Perez Lambrecht M.V., Lozano J.E., Rinaudo M., Villar M.A. Influence of the extraction-purification conditions on final properties of alginates obtained from brown algae (*Macrocystis pyrifera*). *International Journal of Biological Macromolecules*. 2009;44(4):365-371. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2009.02.005.

21. Fourest E., Volesky B. Alginate properties and heavy metal biosorption by marine algae. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 1997;67:215-226. DOI: 10.1007/BF02788799.

22. Akbar M., Yaqoob A., Ahmad A., Luque R. Sodium alginate: an overview. In: Ahmad A., Ahmad I., Kamal T., Asiri A.M., Tabassum S. (eds). *Sodium Alginate-Based Nanomaterials for Wastewater Treatment*. Elsevier; 2023, p. 1-17. DOI: 10.1016/B978-0-12-823551-5.00012-4.

23. Sartori C., Finch D.S., Ralph B., Gilding K. Determination of the cation content of alginate thin films by FTIR spectroscopy. *Polymer*. 1997;38(1):43-51. DOI: 10.1016/S0032-3861(96)00458-2.

24. Podkorytova A.V., Vafina L.Kh., Murav'eva E.A., Sharina Z.N. Sanitary and hygienic characteristics of brown algae of the White and Barents seas. *Rybprom: tekhnologii i oborudovanie dlya pererabotki vodnykh bioresursov*. 2009;4:33-39. (In Russian). EDN: KYGTPZ.

25. Ma J., Lin Y., Chen X., Zhao B., Zhang J. Flow behavior, thixotropy and dynamical viscoelasticity of sodium alginate aqueous solutions. *Food Hydrocolloids*. 2014;38:119-128. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.11.016.

26. Malkin A.Ya., Isaev A.I. *Rheology: concepts, methods, and applications*. ChemTec Publishing; 2012, 473 p. DOI: 10.1016/C2011-0-04626-4.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Колотова Дарья Сергеевна,

к.х.н., ведущий научный сотрудник,
Мурманский арктический университет,
183010, г. Мурманск, ул. Спортивная, 13,
Российская Федерация,
✉ kolotovads@mauniver.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1700-2323>

Боровинская Екатерина Валерьевна,

младший научный сотрудник,
Мурманский арктический университет,
183010, г. Мурманск, ул. Спортивная, 13,
Российская Федерация,
borovinskayaev2@mauniver.ru <https://orcid.org/0009-0005-3982-2372>

Бордиян Влада Вадимовна,

младший научный сотрудник,
Мурманский арктический университет,
183010, г. Мурманск, ул. Спортивная, 13,
Российская Федерация,
bordiyanvv@mauniver.ru
<https://orcid.org/0009-0004-5680-8882>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Daria S. Kolotova,

Cand. Sci. (Chemistry), Leading Researcher,
Murmansk Arctic University,
13, Sportivnaya St., Murmansk, 183010,
Russian Federation,
✉ kolotovads@mauniver.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1700-2323>

Ekaterina V. Borovinskaya,

Junior Researcher,
Murmansk Arctic University,
13, Sportivnaya St., Murmansk, 183010,
Russian Federation,
borovinskayaev2@mauniver.ru <https://orcid.org/0009-0005-3982-2372>

Vlada V. Bordiyan,

Junior Researcher,
Murmansk Arctic University,
13, Sportivnaya St., Murmansk, 183010,
Russian Federation,
bordiyanvv@mauniver.ru
<https://orcid.org/0009-0004-5680-8882>

Деркач Светлана Ростиславовна,
д.х.н., профессор, главный научный сотрудник,
Мурманский арктический университет,
183010, г. Мурманск, ул. Спортивная, 13,
Российская Федерация,
derkachsr@mauniver.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5871-9320>

Вклад авторов

Д.С. Колотова – разработка концепции,
получение финансирования, проведение
исследования, административное руководство
исследовательским проектом, визуализация,
написание черновика рукописи,
редактирование рукописи.
Е.В. Боровинская – проведение исследования.
В.В. Бордиян – проведение исследования.
С.Р. Деркач – формальный анализ,
научное руководство.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 08.05.2024.
Одобрена после рецензирования 21.08.2024.
Принята к публикации 05.11.2025.

Svetlana R. Derkach,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Chief Researcher,
Murmansk Arctic University,
13, Sportivnaya St., Murmansk, 183010,
Russian Federation,
derkachsr@mauniver.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5871-9320>

Contribution of the authors

Daria S. Kolotova – conceptualization,
funding acquisition, investigation,
project administration, visualization,
writing – original draft, editing.
Ekaterina V. Borovinskaya – investigation.
Vlada V. Bordiyan – investigation.
Svetlana R. Derkach – formal analysis,
supervision.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests
regarding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.*

Information about the article

The article was submitted 08.05.2024.
Approved after reviewing 21.08.2024.
Accepted for publication 05.11.2025.



О перспективах применения сверхкритических флюидных технологий в различных отраслях промышленности

М.Н. Дадашев

Российский государственный университет нефти и газа (национальный исследовательский университет) имени И.М. Губкина, Москва, Российская Федерация

Аннотация. Целью работы являлось определение факторов развития различных отраслей российской промышленности, использующих сверхкритические флюидные технологии и способствующих переходу от лабораторных решений к промышленным масштабам. Исследуемые технологии используются в целлюлозно-бумажной, нефтегазовой, строительной, деревообрабатывающей, текстильной, автомобилестроительной, пищевой, химической, сельскохозяйственной, фармацевтической, космической отраслях, а также в медицине и сфере экологии. Рассмотрены особенности применения сверхкритических флюидных технологий в указанных направлениях. Наиболее применяемым растворителем является диоксид углерода по причине его доступности и относительно низких критических параметров. Имеются перспективы промышленного использования сверхкритической воды и других флюидов, однако их использование в промышленных масштабах требует термодинамических условий. Технологическому и промышленному суверенитету отвечают ресурсные возможности нефтегазовой, пищевой и сельскохозяйственной отраслей. Стратегическую важность представляет космическая отрасль, для которой необходимы дальнейшие исследования в сфере применения сверхкритических флюидных технологий. Отдельные отрасли российской промышленности могут способствовать суверенитету при обеспечении промышленного производства оборудования для применения перспективных технологий и расширения перечня различных растворителей в промышленных объемах. Необходимо также внедрение пилотной стадии между лабораторными исследованиями применения сверхкритических флюидных технологий и переходом к промышленному этапу. Ряд отраслей в рамках суверенитета требует увеличения объема сырьевых компонентов сверхкритических флюидных систем. В заключение указанные факторы выделены с точки зрения масштабного развития конкретизированных отраслей промышленности посредством рассматриваемых технологий.

Ключевые слова: сверхкритическая флюидная технология, промышленное предприятие, технологический суверенитет, промышленный суверенитет, диоксид углерода, сверхкритическая вода

Для цитирования: Дадашев М.Н. О перспективах применения сверхкритических флюидных технологий в различных отраслях промышленности // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 559–572. DOI: 10.21285/achb.1001. EDN: DZFYJN.

CHEMICAL TECHNOLOGY

Review article

On the prospects for applying supercritical fluid technologies in various industries

Mirali N. Dadashev

Gubkin Russian State University of Oil and Gas (National University), Moscow, Russian Federation

Abstract. The study aims to identify factors contributing to the development of various Russian industries that use supercritical fluid technologies and facilitate their transition from laboratory to industrial scale. The considered technologies are used in the pulp and paper, oil and gas, construction, woodworking, textile, automotive, food,

chemical, agricultural, pharmaceutical, and space industries, as well as in medicine and ecology. The specifics of applying supercritical fluid technologies in these sectors are considered. Carbon dioxide is the most commonly used solvent due to its availability and relatively low critical parameters. Supercritical water and other fluids have prospects for industrial use; however, their use on an industrial scale requires thermodynamic conditions. Technological and industrial sovereignty is ensured by the resource capabilities of the oil and gas, food, and agricultural industries. Of strategic importance is the space industry, which requires further research into the application of supercritical fluid technologies. Some sectors of the Russian industry can contribute to sovereignty, provided that equipment is produced for applying promising technologies and expanding the range of various solvents on an industrial scale. It is also necessary to introduce a pilot stage between laboratory research into the application of supercritical fluid technologies and the transition to the industrial stage. For several industries, sovereignty requires a greater quantity of raw materials used in supercritical fluid systems. In conclusion, the identified factors are discussed from the perspective of the large-scale development of specific industries through the considered technologies.

Keywords: supercritical fluid technology, industrial enterprise, technological sovereignty, industrial sovereignty, carbon dioxide, supercritical water

For citation: Dadashev M.N. On the prospects for applying supercritical fluid technologies in various industries. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):559-572. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1001. EDN: DZFYJN.

ВВЕДЕНИЕ

Применение сверхкритических флюидных технологий (СКФТ) в различных отраслях промышленности призвано решить ряд производственных задач, начиная с экономии электроэнергии и завершая управлением переработкой и безопасной утилизацией отходов различных перерабатывающих отраслей промышленности. В нефтегазовой отрасли с 2011 года активно обсуждается вопрос о применении СКФТ при очистке тяжелых фракций от смол и асфальтенов. Несмотря на доступность СКФТ как способа очистки и получения серы в нефтегазовой отрасли остается актуальным вопрос разработки и поставки оборудования, объема перерабатываемого сырья и выбора оптимального растворителя.

Установлено, что в сверхкритическое состояние можно перевести большинство газообразных и жидких веществ, единственным условием которых является отсутствие способности к разложению при сверхкритических параметрах. Оптимальными веществами до сих пор считаются вода и ксенон, однако технологическое использование воды при СКФТ затруднительно по причине высокой критической точки кипения. Ксенон как газовое вещество является дорогостоящим. По причине широкой доступности и относительно низких критических параметров в процессах СКФТ используют диоксид углерода, азот, водород и кислород, а также различные соразтворители. Данные вещества не являются исчерпывающими для промышленности, однако их объединяет процесс охлаждения при температуре, соответствующей критической точке, и изменения давления. Ввиду того, что сверхкритические флюиды являются хорошими растворителями (обладают высоким коэффициентом диффузии, высокой плотностью, низкой вязкостью), их распространение нашло широкое применение в нефтехимической, фармацевтической, пищевой промышленности, медицине и в других технических отраслях [1].

Целью настоящего исследования является определение факторов развития различных отраслей российской промышленности, использующих СКФТ и способствующих ускоренному переходу от лабораторных решений к промышленным масштабам. Достижение поставленной цели возможно путем применения таких методов, как обобщение существующих результатов исследований других авторов, конкретизация особенностей химических

процессов, синтез полученных выводов при определении перспектив применения СКФТ в отраслях российской промышленности в контексте технологического и промышленного суверенитета, а также анализ факторов развития отраслей промышленности, использующих СКФТ, при переходе от лабораторных решений к промышленным масштабам.

ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ФЛЮИДНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В РАЗЛИЧНЫХ ОТРАСЛЯХ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Ретроспективно возможности СКФТ в исследованиях рассматривались как отдельные химические процессы без систематизации общих или ключевых свойств, особенностей использования технологии, позволяющей упростить производственный процесс при решении, к примеру, экологических проблем или технических задач пищевой или иной промышленности.

Сверхкритические технологии в целлюлозно-бумажной промышленности. Последние десять лет обсуждается вопрос о применении СКФТ в целлюлозно-бумажной промышленности, сложность решения обозначенной задачи состоит в вынужденной конверсии отходов с использованием сверхкритической воды ($T_k = 374\text{ }^{\circ}\text{C}$ (674 K); $P_{кр} = 22,1\text{ МПа}$). Перспективность технологии для целлюлозно-бумажной промышленности пока доказана лабораторным путем, однако переход к промышленным масштабам применения СКФТ затруднен по причине закупоривания транспортных магистралей и коррозии конструкционных материалов, выступающих неизбежным последствием использования сверхкритической воды [2]. Немаловажной способностью СКФТ является возможность очистки промышленного водного стока крупных российских предприятий. В данном случае растворителем выступает неполярный диоксид углерода, который участвует в бинарных системах: углерод – ацетон, а также углерод – фенол. Экологическая проблема, связанная с очисткой водных стоков на предприятиях, особенно в регионах, в целом решена путем применения СКФТ и кратного снижения давления, особенно при выделении фенола [3].

Некоторые подходы к использованию среды СКФТ потенциально перспективны в процессе создания

мембранных материалов, которые предназначены в целях разделения газов в промышленных условиях. Лабораторно доказано, что введение бромид-бутил-имидазолия ($\text{BIm}+\text{Br}$) в структуру поли(1-триметилсилил-1-пропина) в двухстадийном процессе при условии использования сверхкритического диоксида углерода и трифторметана позволяет модифицировать полимеры, которые отличаются термической стабильностью, качественными пленкообразующими параметрами и усиленной устойчивостью к углеводородам. Тем не менее остается спорным вопрос относительно возможности получения таким способом модифицированных полимеров в промышленных масштабах [4]. Применение СКФТ может изменить целые направления производственных процессов, а перспективы развития данной технологии при помощи испытания новых растворителей и сред не ограничены, что формирует актуальность оценки потенциала СКФТ при укреплении технологического и промышленного суверенитета.

Сверхкритические технологии в нефтегазовой отрасли. При стандартном подходе процесс деасфальтизации тяжелых нефтяных остатков позволяет удалить высокомолекулярные асфальтены. Для деасфальтизации в качестве растворителя зачастую применяется жидкий пропан ($T_k = 60\text{ }^\circ\text{C}$; $P_{кр} = 3,5\text{ МПа}$). Если используется смесь пропана и пропилена ($T_k = 100\text{ }^\circ\text{C}$; $P_{кр} = 11\text{ МПа}$), то устраняется целесообразность полного испарения экстрагента при отделении продуктов. Методом сверхкритической деасфальтизации в нефтегазовой промышленности регулируются проблемы нефтяных остатков, а также выделения никеля и ванадия, которые, как указывалось ранее, имеются в наличии в структуре нефти в качестве порфиринов. Экспериментальным путем в свое время было зафиксировано, что объем содержания указанных порфиринов в тяжелых сортах нефти достигает 1000 г/т, они обнаруживаются в смолисто-асфальтеновой части углеводорода. Учитывая перспективность горячих сланцев, применение СКФТ позволяет интенсивно растворять находящиеся в порах битумоиды, а также уменьшать прочность донорно-акцепторных взаимодействий, образуемых между отдельными фрагментами полимерной матрицы органических веществ. Таким образом, существует перспектива увеличения конверсии органических веществ горючего сланца и получения широкого перечня иных целевых нефтяных и газовых продуктов [5].

В то же время доказано, что извлечение углеводородов, в том числе нефти, при давлении ниже критического затруднительно и неэффективно в интервале температур 303–673 К и проницаемости пласта. Закачка в пласт сверхкритического диоксида углерода обеспечивает динамику коэффициента извлечения нефти более чем на 17% [6]. При сверхкритической экстракции экспериментальным путем обнаружена возможность извлечения целевых компонентов, что положительно сказывается на соотношении экстрагент – нефть. Если использовать в качестве растворителя диоксид углерода в комбинации с пропаном (C_3H_8), то применение СКФТ позволяет регенерировать отработанные моторные масла, относящиеся как вид отходов к III классу опасности [7].

Сверхкритические технологии в строительной отрасли. Применение СКФТ актуально в сфере дорожного стро-

ительства, для которого при помощи экстрагирования каменного угля получают искусственный битум и производные материалы. Такой материал позволяет обеспечить долговечность дорожных покрытий, а также снизить вероятность возникновения дорожных трещин и иных дефектов. В настоящее время получаемый методом СКФТ искусственный битум широко используется при прокладке междугородних трасс, сельских и объездных дорог в городах федерального значения, а также при покрытии внутренних территорий жилых кварталов [8]. Начиная с 2007 года, метод СКФТ используется при возведении зданий и в строительстве трубопроводов для транспортировки газа. При этом возведении зданий в большей степени метод СКФТ основан на сверхкритической импрегнации, позволяющей модифицировать полимерные и нанопористые материалы. Впоследствии указанные полимеры используются при производстве строительных материалов и строительных смесей. Метод СКФТ улучшает характеристики нанопористых полимеров, которые в будущем используются при производстве исходных материалов для покрытий при строительстве инфраструктуры территории [9].

Сверхкритические технологии в деревообрабатывающей промышленности. Эксперимент, произведенный исследователями из разных стран еще в 2004 году путем экстракции диоксида углерода при покрытии деревянных изделий с одновременным удалением пестицидов, подтвердил возможность комбинирования красителей при покрытии без нанесения ущерба деревянным изделиям. Таким образом, промышленные предприятия, которые используют различные красители и их комбинации при покрытии изделий из дерева, получили важные данные о необходимом процентном содержании пигментов, получаемых при экстракции диоксидом углерода при СКФТ и достижении таких эффектов, как получение оптимального комбинированного красителя, обеспечение безопасности для структуры изделия и безопасности использования изделия человеком в повседневной жизни [10]. Потенциал переработки древесины заслуживает отдельного внимания, так как российскими исследователями доказана ценность извлечения основных экстрактивных веществ древесины методом СКФТ, позволяющей получать высококачественное химическое сырье для многих отраслей промышленности. В настоящее время кора деревьев как вид крупнотоннажных отходов провоцирует возникновение экологических проблем, тем не менее указанное растительное сырье содержит кислоты, полифенолы, подлежащие переработке методом СКФТ из соображений экономической доступности [11]. В Российской Федерации на данный момент подобный производственный процесс не осуществляется, хотя препятствующие факторы отсутствуют.

В некоторых случаях процесс покрытия изделий на промышленных предприятиях осуществляется путем электроосаждения. Применение сверхкритических жидкостей в качестве растворителей при электроосаждении на данный момент широко не распространено. Перспективность промышленного использования электроосаждения из сверхкритических жидкостей технически может быть обеспечено при помощи сверхкритического диоксида углерода в сочетании с таким соразвителем, как ацетонитрил ($T_k = 272,4\text{ }^\circ\text{C}$; $P_{кр} = 47,7\text{ МПа}$) и сверхкритический диформетан ($T_k = 78,4\text{ }^\circ\text{C}$; $P_{кр} = 5,8\text{ МПа}$). Современное развитие нанотехнологий

могло бы упростить применение электроосаждения со сверхкритическими жидкостями при условии лабораторного определения групп таких жидкостей, которые по своим свойствам доступны в использовании и процессе электроосаждения [12].

Сверхкритические технологии в текстильной промышленности. Текстильная отрасль наиболее выражена и заметна с точки зрения смены применяемых технологий. На данный момент СКФТ используется различными крупными текстильными заводами для окрашивания тканей и их очистки, если возникает подобная производственная необходимость. Путем импрегнации и при помощи использования диоксида углерода заводы адсорбируют краситель на поверхность тканевых волокон. Такой способ позволяет красителю на молекулярном уровне проникать во все поры и покрывать ткань краской ровным слоем. Положительным моментом применения СКФТ в текстильной промышленности путем импрегнации является минимальное образование отходов, а именно токсичных сточных вод. Несмотря на то что данную технологию используют крупные текстильные заводы во многих странах, ее массовое применение отраслевыми предприятиями в целом пока не обнаружено по причине ограниченных прав соответствующей патентной технологии [13].

Российские исследователи дополнительно отмечают, что использование СКФТ и диоксида углерода в качестве растворителя в текстильной промышленности позволяет модифицировать текстильные материалы и извлекать различные примеси из их волокон. Однако на практике указанные свойства учитываются в текстильной промышленности ряда европейских стран, в которых методом СКФТ окрашивают бабины с пряжей и меняют оттенки красителя. Дополнительно метод СКФТ в рассматриваемой промышленности позволяет в два раза сократить время окрашивания материалов. Как наиболее эффективные при применении СКФТ рекомендовали себя полиэфирные ткани, подлежащие окрашиванию за счет не только различной скорости переноса, но и дифференциального количества красителей. Для того чтобы обеспечить долговечность наносимых красителей, в некоторых случаях в качестве сорастворителей используют ацетон ($T_k = 235\text{ }^{\circ}\text{C}$; $P_{кр} = 47\text{ МПа}$), алифатический спирт или толуол ($T_k = 318,6\text{ }^{\circ}\text{C}$; $P_{кр} = 40,6\text{ МПа}$) [14].

Использование диоксида углерода при СКФТ адаптировано в процессе окрашивания синтетических материалов. Продолжительность применения технологий более кратковременно, нежели при окрашивании полиэфирных материалов. Подобный эффект достигается за счет постепенного изменения давления и температуры. Совершенство применения СКФТ при окрашивании синтетических материалов наглядно подтверждается возможностью прогнозирования объема наносимого красителя за одну минуту времени осуществления процесса окрашивания [15].

Сверхкритические технологии в медицине. Проявление промышленных перспектив СКФТ ожидается в сфере стоматологии, так как рассматриваемая технология позволяет получить ксеногенную костную крошку. Полученный материал впоследствии становится основой для имплантационного материала. Ксеноимплантаты потенциально полезны не только в стоматологии, но и

в челюстно-лицевой хирургии, так как состоят из коллагеновых волокон. Костная крошка представляет собой минеральную часть костной ткани, как правило, из бычьей кости. В настоящее время бычья кость как ксеногенный материал используется в процессе СКФТ путем экстракции ($T_k = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$; $P_{кр} = 250\text{ МПа}$). В дальнейшем ксеногенный материал обрабатывается в растворе перекиси водорода. В результате метод СКФТ позволяет получить имплантационный материал, обладающий высокой биосовместимостью. Если при СКФТ бычья кость измельчается, то имплантационный материал впоследствии получается рассыпчатым, стерилизованным и сухим, что позволяет беспрепятственно применять его в челюстно-лицевой хирургии и травматологии [16]. СКФТ перспективны для стерилизации медицинских изделий. Методом сверхкритической сушки и стерилизации, а также при использовании диоксида углерода и пероксида водорода образуется конденсат, а затем происходит растворение пероксида водорода. Совмещенные процессы предупреждают разрушение пористой структуры изделий. Однако перспективность подобной технологии может проследиваться лишь в условиях высокого давления при температуре $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ [17]. В последнее время изучаются перспективы применения СКФТ в наномедицине по причине содержания в используемых биомакромолекулах природных активных компонентов, обладающих биосовместимостью и высокой таргетностью. Направление биомакромолекулярной медицины в целом отличается активным применением СКФТ при помощи растворителей, отличающихся высоким содержанием белка, нуклеиновых кислот и полисахаридов. Получаемые биомакромолекулы используются в качестве терапевтических агентов, особенно при борьбе с онкологическими заболеваниями [18].

Сверхкритические технологии в сфере автомобилестроения. Существует положительная сторона применения сверхкритического диоксида углерода, которая наблюдается в разработанной еще в 1991 году технологии распыления. Сущность ее состоит в замене летучих растворителей в стандартных покрытиях с определенным содержанием твердых частиц. Технология распыления с использованием сверхкритического диоксида углерода позволяет сократить выбросы летучих органических соединений на 80 % при помощи полимерных систем, особенно в сфере автомобилестроения [19].

Сверхкритические технологии в пищевой промышленности. В настоящее время особо следует отметить, что во многих отраслях пищевой промышленности для придания продукции определенного цвета, вкуса и аромата выпускаемой продукции в основном используются синтетические красители, сахарозаменители, ароматизаторы и другие добавки, которые не имеют биологической и пищевой ценности, однако их производство и применение увеличивают техногенную нагрузку на окружающую среду и наносят непоправимый ущерб здоровью населения. Данная ситуация становится возможной по причине низкой стоимости, доступности и широкого спектра цветов синтетических добавок по сравнению с натуральными. Существует острая необходимость исключения целого ряда синтетических красителей при производстве пищевой, пивобезалкогольной, ликеро-водочной, кондитерской, хлебобулочной, фармацевтической, парфюмерно-кос-

метической и другой продукции, связанной с вредным и опасным воздействием на организм человека. Для обеспечения потребностей пищевой промышленности отечественными натуральными красителями из возобновляемого растительного сырья следует коренное изменение всего технологического процесса их получения, в том числе путем промышленного использования СКФТ [20].

В пищевой промышленности СКФТ используется для различных целей, в том числе при обработке, консервировании продуктов питания и мониторинга их качества. Основным растворителем в процессе применения СКФТ выступает диоксид углерода, который эффективен при микронизации ванили, сушки свеклы, экструзии пищевых продуктов с высоким содержанием белка. Следует отметить, что препятствующим фактором для промышленного применения СКФТ является отсутствие актуальных данных о химических изменениях в продуктах питания [21]. В научном сообществе отмечают, что лабораторные испытания применения СКФТ для целей пищевой промышленности осуществляются лишь в последние два десятилетия. Наиболее заметные результаты прослеживаются в нахождении решения по сохранению продуктов питания, что отвечает существующему спросу на натуральные продукты питания [22].

Многие исследователи убеждены, что диоксид углерода отличается низкой стоимостью, отсутствием токсичности, низкими критическими параметрами, а также негорюч. Данный растворитель имеет относительно низкие критические параметры ($T_{кр} = 31\text{ }^{\circ}\text{C}$; $P_{кр} = 7,38\text{ МПа}$). При этом следует обратить внимание, что относительная безопасность диоксида углерода как растворителя обеспечивается тремя периодами интенсивной сверхкритической экстракции [23]. На примере пищевой промышленности применение экстракции формирует способность растворителей извлекать расширенный спектр как неполярных, так и полярных соединений. Таким образом, экстракция позволяет получить обогащенные флавоноидами и алкалоидами экстракты с максимальным сохранением природного баланса биологически активных веществ. При этом экстракция методом СКФТ в настоящее время считается наиболее безопасной. Дополнительным преимуществом экстракции методом СКФТ является возможность использования ограниченного количества растворителя, что невозможно в процессе применения более традиционных методов [24].

В Иордании СКФТ применяется при проверке сортов кофе на наличие токсичных элементов, в том числе калия, железа цинка, стронция и др. Метод СКФТ позволяет получить достаточно точные данные по степени токсичности тех или иных сортов кофе согласно коэффициенту допустимой с точки зрения безопасной корреляции ($R^2 > 0,95$) [25]. В других странах Ближнего и Среднего Востока распространена технология экстракции кожуры тыквы в целях повышения окислительной стабильности рапсового масла. Подобный подход к СКФТ позволяет более интенсивно поглощать свободные радикалы и восстанавливать действие железа. В результате синергетический эффект усиливает защитную эффективность от окисления рапсового масла в процессе дальнейшего хранения в стандартных условиях [26]. В указанных странах в целом проводятся лабораторные исследования

применения СКФТ с использованием семян масличных культур, обогащенных полифенолами. Использование СКФТ позволяет получать растительные масла в сжатые сроки и при низких затратах. В то же время остается нерешенной проблема прогнозирования и оптимизации параметров температуры, объема используемого диоксида углерода, давления, комбинаций методов в целях обеспечения разновидности получаемой пищевой продукции [27]. В последнее время СКФТ стали активно использовать при обработке продовольственных запасов, извлекаемых из морской среды. Употребляемые в пищу разнообразные организмы мирового океана требуют высококачественной и эффективной обработки для обеспечения микробиологической безопасности. Применение СКФТ на данный момент рассматривается как инновационная технология, однако предприятия разных стран, прибегающих к обозначенной технологии, получают возможность извлечения из океана больших объемов продовольственных ресурсов [28].

Сверхкритические технологии в химической промышленности. По мере развития СКФТ как направления предпринимались неоднократные попытки вычислить математическим путем группы жидкостей, физические свойства и химические параметры которых позволяют унифицировать технологический процесс вне зависимости от направления деятельности промышленных предприятий. Одна из результативных попыток была предпринята в процессе группировки сверхкритических моделей жидкости, их предельные значения обеспечиваются распределением массы жидкости по мере увеличения, начиная с нуля. Тем не менее, несмотря на возможность ограничения текучести, метод моделирования сверхкритических жидкостей как промышленный способ не обсуждается по объективным причинам, одна из которых состоит в необходимости создания и развития промышленных условий, позволяющих обеспечить процесс распределения массы сверхкритической жидкости при помощи специализированного оборудования [29].

Комплексное применение сверхкритического диоксида углерода в совокупности с нано- и микро-технологиями в свое время позволило разработать уникальные устойчивые производственные стратегии для новых лекарственных препаратов. Безопасность использования сверхкритического диоксида углерода состоит в улучшении синтеза или обработке применяемых материалов. В результате образуются трехмерные многофункциональные конструкции. Сверхкритический диоксид углерода выступает в качестве сырья или растворителя, способствующего разработке таких уникальных по своим свойствам материалов, как дендримеры или полимеры на основе оксазолина. Подобные полимерные материалы хорошо растворяются в воде, биоразлагаемы и биосовместимы. Как структурный компонент отличаются антимикробной активностью [30].

Сверхкритические технологии в сфере сельского хозяйства. Применение СКФТ на основе пористого оксида кремния ($T_k = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$; $P_{кр} = 100\text{ МПа}$) позволяет использовать комплексные системы для равномерного дозирования пестицидов в почву. Получение указанных систем возможно при реализации СКФТ и в случае, если в качестве пестицида используется валидомицин, обладающий характеристиками антибиотика и приме-

няемый для борьбы с болезнью риса. В российском сельском хозяйстве валидомицин используется в единичных случаях, так как на территории государства промышленно произрастают другие сельскохозяйственные культуры в условиях иного климата и географических особенностей. Некоторые болезни риса актуальны в странах с тропическим и муссонным климатом и провоцируются поражением грибковыми инфекциями. Путем сверхкритического водного окисления возможно обезвреживание сточных вод на территории агропромышленных комплексов. При условии предварительной кавитационной обработки усиливается эффективность применения СКФТ для последующего обеспечения автотермичного процесса. В сельском хозяйстве автотермичный процесс осуществляется при создании тепловых условий содержания молодняка животных и птицы, а также при разложении органики в анаэробной среде [31]. Использование СКФТ полезно при биоремедиации окружающей среды. Таким образом, в ряде регионов производится очистка геотермальных вод от фенола в открытые водоемы. Данный процесс важен ввиду необходимости устранения твердых отложений в скважинах и трубопроводах, а также получения минерального сырья при дальнейшем использовании в сельском хозяйстве [32].

Сверхкритические технологии в фармацевтической промышленности. В фармацевтической промышленности диоксид углерода как растворитель используется во многом по причине экологической безопасности. Из применяемого растворителя выходит примерно 1% (по массе) получаемого продукта, при этом 50% растворителя восстанавливается в течение производимого химического процесса. Однако экологическая безопасность используемого диоксида углерода в СКФТ относительна, так как углеводородный растворитель в долгосрочной перспективе преобразуется в диоксид углерода и впоследствии становится компонентом углеродного цикла. Распространенность использования диоксида углерода в качестве растворителя постепенно становится предметом дискуссий, как и возможность использования сверхкритической воды, так как многие промышленные растворители не только опасны, но и способны полностью восстанавливаться по своим изначальным свойствам, соответственно, переработка в рамках производственного процесса может стать со временем трудоемкой и экономически нецелесообразной. Тем не менее при отсутствии иных доступных растворителей для промышленных целей диоксид углерода с высокой вероятностью будет использоваться в процессе СКФТ в обозримом будущем [33].

Некоторые исследователи отмечают, что по причине безопасности использования СКФТ такая технология в фармацевтике при разработке лекарственных препаратов устраняет проблемы, связанные с растворимостью в воде составных элементов, входящих в лекарственные препараты. Потребность в исследовании фармацевтических препаратов с улучшенной биодоступностью постоянно растет, в связи с этим применение СКФТ в условиях использования диоксида углерода позволяет получить высококачественные конечные продукты. Изменение параметров процесса, которые впоследствии оказывают влияние на термодинамические и гидродинамические свойства диоксида углерода, позволяет разрабатывать

индивидуальные рецептуры активных ингредиентов различных размеров и морфологий, а значит, влиять на качество лекарственных препаратов [34].

Важным преимуществом применения СКФТ с использованием диоксида углерода является вариативность приготовления рецептуры лекарственных препаратов. Растворимость вещества в диоксиде углерода определяет качество рецептуры при условии внедрения СКФТ методом твердой дисперсии [35]. СКФТ доказала эмпирическим путем свою пригодность для анализа значительного диапазона полярности анализов. При этом процесс контроля качества в фармацевтике остается достаточно консервативным, что иногда замедляет внедрение СКФТ и других перспективных технологий на несколько лет. Переход использования СКФТ при разработке лекарственных средств к промышленным масштабам, как отмечает ряд исследователей, может произойти, если существующий фармацевтический анализ достижения СКФТ будет адаптирован к нормативным требованиям промышленного производства лекарственных препаратов [36].

При всем вышесказанном технология СКФТ используется во всех направлениях фармацевтической промышленности путем соблюдения принципа сверхкритической жидкостной экстракции эмульсий, диспергирования с усилением раствора сверхкритическими жидкостями, сверхкритического антирастворителя и др. На данный момент фармацевтической промышленности в разной степени известны 23 метода использования СКФТ [37]. Заслуживают внимания попытки прогнозирования влияния эксплуатационных параметров на растворимость таких лекарственных средств, как салсалат. При использовании линейных моделей, в том числе опорной векторной регрессии и байесовской ридж-регрессии, были получены результаты моделирования, которые показали оптимальные значения растворимости салсалата в процессе применения СКФТ [38].

При помощи СКФТ можно получить липосомы при условии соблюдения определенных параметров, а именно объема дисперсии, концентрации липидов, давления, скорости перемешивания и температуры. СКФТ способствует получению липосом различного состава в соответствии с прогнозируемыми значениями. Инновационность применения СКФТ в данном случае состоит в одноступенчатом методе производства, в то время как иные традиционные способы получения липосом предполагают дополнительные стадии, в частности экструзию, для гомогенизации размера получаемых липосом [39]. При разработке лекарственных препаратов для борьбы с онкологией актуальным является не только повышение растворимости и биодоступности препаратов, но также снижение дозы употребления человеком и вероятности возникновения побочных эффектов. Методом СКФТ в настоящее время получают наночастицы капецитабина. Процесс получения данного лекарственного препарата производится при различных давлениях и температурах (120, 140, 160 МПа; 308, 318, 328 К). При этом концентрация растворенных веществ находится в диапазоне 15, 45, 75 мг/мл. В результате размер частиц препарата уменьшается и увеличивается растворимость [40]. Однако возможности СКФТ ограничены, так как применение данной технологии предполагает значительные инвестиционные

затраты на фоне отсутствия дополнительных исследовательских данных, позволяющих найти новые пути решения проблем растворимости лекарственных препаратов [41]. Тем не менее перспективы СКФТ в фармацевтике признаются научным сообществом. Китайские исследователи отмечают такие факторы перспективности, как модернизацию контрольно-измерительных приборов, появление новых путей взаимодействия с технологией в процессе проведения экспериментов, а также совместимость стационарной фазы [42].

Сверхкритические технологии в космической отрасли. В космической отрасли СКФТ целесообразны при переработке отходов путем сверхкритического окисления воды и ее рециркуляции. Однако проблема состоит в том, что неорганические компоненты в структуре отходов не растворяются в сверхкритической воде. Таким образом, в условиях микрогравитации требуется изначально отделить твердые частицы, и лишь затем – использовать СКФТ в процессе переработки отходов. Государства, активно развивающие космическую отрасль, не используют СКФТ при переработке образуемых в космосе отходов по причине сложности реализации поэтапного химического процесса [43]. Предложенный метод с использованием сверхкритических жидкостей, особенно воды, на практике возможен лишь в условиях двух режимов производственного процесса: при помощи ограниченной диффузии (окислитель впрыскивается в реактор после того, как достигаются сверхкритические значения температуры и давления для жидкости); путем смешения (используемые реагенты одновременно доводятся до сверхкритических значений температуры и давления).

Указанные режимы и их использование подлежат обсуждению в научном и производственном сообществах на предмет разработки соответствующей экспериментальной установки. До сих пор данные о проверке использования двух режимов производственного процесса со сверхкритическими жидкостями отсутствуют, что позволяет сделать предположение относительно сложности проведения эксперимента в нестандартных гравитационных условиях [44]. Поиск решения использования сверхкритической воды, несмотря на трудность достижения критической точки, может снизить степень опасности от процесса утилизации токсичных органических веществ. Различные эксперименты демонстрируют, что сверхкритическая вода полностью окисляет органические вещества в течение непродолжительного времени в замкнутых системах. Сверхкритическая вода в данном процессе является не единственным растворителем, так как в идентичном процессе могут участвовать: диоксид углерода, диоксид азота, фосфор или сера. Использование сверхкритической воды в промышленных масштабах пока затруднительно по причине отложения солей, коррозии конструкционных материалов и других проявлений гетерогенных процессов, образуемых на стенках реакционного объема [45].

Сверхкритические технологии в сфере экологии. Основное предназначение применения СКФТ в различных отраслях промышленности состоит в возможности решения многих экологических проблем. Рассматриваемая технология либо удаляет токсичные вещества или компоненты, либо снижает их долю в структуре перерабатываемого вещества или группы веществ. СКФТ способствует решению технической и экологи-

ческой проблемы выделения из нефти таких порфиринов, как никель ($T_{кр} = 76,9 \text{ }^{\circ}\text{C}$; $P_{кр} = 0,86 \text{ МПа}$) и ванадий ($T_{кр} = 3400 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $P_{кр} = 10,0\text{--}10,5 \text{ МПа}$). Если путем СКФТ перерабатывается сырье, то оно становится безопасным для последующего использования в промышленности. В некоторых случаях СКФТ позволяет получать экологически безопасные материалы. Разнообразие обеспечения экологической безопасности подтверждает целесообразность развития и распространения СКФТ как одного и перспективных направлений в сфере экологии. Некоторые исследователи справедливо отмечают, что СКФТ обеспечивает чистоту производственного цикла, особенно при повторном использовании промышленных отходов. В частности, разработана методика ускоренного биоразложения полиэтиленовой пленки низкого давления, для чего в качестве среды используется фреон R22 (CHClF_2) ($T_{кр} = -40,8 \text{ }^{\circ}\text{C}$; $P_{кр} = 4,1 \text{ МПа}$). Данный растворитель экологически безопасен и способствует трехкратному ускорению биоразложения. К примеру, отходы оливкового масла могут разлагаться посредством СКФТ с использованием указанного фреона в течение полугода вместо полутора лет. Идентичные исследования с использованием циклической установки с контурной циркуляцией растворителя показали, что вместо фреона R22 (CHClF_2) могут быть использованы иные вещества, которые выдерживают высокую температуру [46].

Одна из проблем состоит в регенерации отработанного катализатора, утилизация которого при стандартных условиях может быть не только вредной, но и экономической не обоснованной. Если использовать при очистке, к примеру, керосина СКФТ с учетом диоксида углерода как растворителя, то регенерация смеси катализаторов в результате становится более безопасной. Российскими научно-производственными предприятиями разработаны решения по безопасному выделению нефтепродуктов из нефтяных шламов. Методом СКФТ в данном случае является экстракция, а в качестве экстрагента определены бутан и пропан. Парные экстрагенты участвуют в экстракции при $T_{кр} = 85\text{--}160 \text{ }^{\circ}\text{C}$; $P_{кр} = 5\text{--}50 \text{ МПа}$ [47].

Обобщая существующие исследования применения СКФТ в различных отраслях промышленности, необходимо отметить, что для большинства разрабатываемых методов использования сверхкритических растворителей необходимо промежуточное звено. На данный момент реализация разрабатываемых методов возможна в основном в лабораторных условиях. Для того чтобы обеспечить промышленные масштабы использования сверхкритических растворителей, необходимо обеспечение пилотной апробации, а впоследствии – создание условий перехода от пилотной апробации к промышленным масштабам [48]. Оценка технологического и промышленного потенциала позволяет сформулировать вывод о том, что в российских условиях промышленное использование СКФТ, направленное на укрепление отраслевого суверенитета, возможно в основном путем обеспечения циркулярного производственного цикла. Ввиду того, что разрабатываемые методы использования сверхкритических растворителей могут быть пригодны в производственной деятельности предприятий смежных промышленных направлений, СКФТ должны стать источником формирования экосистем, что в настоящее время в российских условиях возможно и реализуемо [49].

**О ПЕРСПЕКТИВАХ ПРИМЕНЕНИЯ
СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ФЛЮИДНЫХ
ТЕХНОЛОГИЙ В РАЗЛИЧНЫХ
ОТРАСЛЯХ ПРОМЫШЛЕННОСТИ**

Концепция развития промышленной технологической экосистемы может быть реализована путем синтеза лабораторий научно-исследовательских институтов, научно-производственных предприятий и госкорпораций. Предпосылкой к указанному синтезу служат созданные по инициативе Правительства Российской Федерации реестры отечественной промышленной продукции, за счет которых результаты лабораторных исследований, связанных с испытанием новых сверхкритических растворителей, могут быть поддержаны научно-производственными предприятиями. В результате результаты лабораторных исследований могут быть апробированы и использованы промышленными предприятиями [50]. Положительным компонентом

укрепления отраслевого суверенитета необходимо назвать способность российских разработок в сфере СКФТ стать одной из стратегических наукоемких технологий, оказывающих влияние на функциональное ресурсообеспечение многих промышленных предприятий. Российская наукоемкость в сфере СКФТ может быть аккумулирована результатами лабораторных экспериментов, которые получены к настоящему времени, совершенствована, модернизирована и адаптирована в соответствии с имеющимися ресурсами при получении ряда сверхкритических растворителей, особенно если СКФТ является основным способом технологического процесса отдельных функциональных направлений промышленных предприятий [51]. В целях объективной оценки возможности укрепления технологического и промышленного суверенитета в таблице представлены перспективы применения СКФТ в различных отраслях российской промышленности.

Перспективы применения сверхкритических флюидных технологий в отраслях российской промышленности при достижении технологического и промышленного суверенитета

Prospects for the application of supercritical fluid technologies in Russian industries to achieve the technological and industrial sovereignty

Наименование отрасли	Возможность реализации, оптимизации и адаптации
Нефтегазовая	Имеется возможность применения сверхкритических флюидов при очистке тяжелых фракций, извлечении целевых компонентов, в том числе в процессе выделения порфиринов из нефти. Используется в основном при производстве серы транспортными и добывающими предприятиями, применяющими сверхкритические флюидные технологии
Строительная	Имеющиеся российские технологии позволяют обеспечить процесс создания мембранных материалов в промышленных масштабах. Препятствующим фактором является сырьевой компонент модификации используемых в строительстве полимеров при условии применения сверхкритических флюидных технологий
Деревообрабатывающая	Существующие технологии апробированы лабораторным путем, однако ряд технических сложностей не позволяет перейти к пилотному и промышленному этапам. Кроме того, использование сверхкритических флюидных технологий в отрасли предпочтительно при помощи растворителя сверхкритической воды. На данный момент имеется возможность внедрения пилотных экстракционных систем, однако отсутствуют ресурсы для обеспечения промышленных масштабов. Каждое предприятие отрасли вынуждено обеспечивать производственный процесс путем использования сверхкритических флюидных технологий самостоятельно
Текстильная	Имеются перспективные научные разработки для создания мембранных материалов, используемых при пошиве одежды. Эффективность доказана лабораторным путем. Среди оборудования, производимого на территории Российской Федерации, имеется возможность обеспечить предприятия необходимым объемом компонентов для сверхкритических флюидных систем. Тем не менее, как и в целлюлозно-бумажной отрасли, производственные мощности возможны для текстильных предприятий на автономной основе
Медицина	В отрасли наблюдаются широкие возможности для применения сверхкритических флюидных технологий, в том числе путем синтеза смежных отраслей: сельского хозяйства, фармацевтики и медицины. Препятствующим фактором выступает отсутствие промышленного оборудования, за исключением экстракторов, универсальных реакторов и сверхкритических флюидных хроматографов, используемых в основном для анализа
Автомобильная	Многие технологии с применением сверхкритического диоксида углерода продолжительное время применяются на автомобилестроительных предприятиях. С учетом специфики производственного процесса адаптационный этап, начиная с лабораторного и завершая промышленным обеспечением, осуществляется наиболее благоприятно
Пищевая	Существует возможность адаптации сверхкритических флюидных технологий в пищевой промышленности, особенно при решении экологических задач, связанных с переработкой отходов. Данная отрасль достаточно перспективна, так как на территории государства имеются возможности производства специализированного промышленного сверхкритического флюидного оборудования. В настоящее время имеются положительные лабораторные результаты суперкритической флюидной экструзионной переработки пищевого сырья и существует опыт апробации промышленного производства каротиноидов

Химическая	Наиболее выраженное применение сверхкритических флюидных технологий наблюдается при производстве красителей и их использовании в последующих производственных цепочках. Отрасль обладает необходимыми промышленными ресурсами в части как специализированного оборудования, так и выбора растворителей
Сельское хозяйство	Перспективность разрабатываемых методов применения сверхкритических растворителей идентична таковой для пищевой и строительной отрасли, а также отрасли медицины. В сельском хозяйстве формируется благоприятная ситуация при окислении отходов, извлечении масел и получении натуральных пищевых добавок. Указанные результаты применения сверхкритических флюидных технологий переведены в промышленную стадию
Фармацевтика	Имеются доказанные лабораторным путем перспективные производственные стратегии для получения новых лекарственных препаратов. Многофункциональные конструкции при использовании сверхкритического диоксида углерода обладают дополнительной биологической ценностью, однако указанный растворитель является безопасным лишь при соблюдении некоторых условий применения рассматриваемых технологий
Космическая	По причине сложности применения сверхкритической воды при переработке отходов необходимо совершенствование сверхкритических флюидных технологий в условиях существующих режимов производственного процесса. Для Российской Федерации технологии с использованием сверхкритической воды в отрасли достаточно весомы
Экология	Данное направление является наиболее перспективным для применения сверхкритических флюидных технологий, так как существующие методы и растворители позволяют решить множество экологических проблем, в том числе при ускорении процесса биоразложения пищевых отходов, сокращении выбросов летучих органических соединений и утилизации токсичных органических веществ

Формирование технологического и промышленного суверенитета, в том числе за счет использования СКФТ на промышленных предприятиях, в настоящее время возможно лишь в отдельных отраслях. Наиболее перспективными и устойчивыми отраслями промышленного использования СКФТ являются нефтегазовая, пищевая, автомобильная отрасли, сельское хозяйство и экология. Требуют внимания целлюлозно-бумажная, строительная, текстильная, химическая отрасли, а также фармацевтика и медицина. Стратегическую важность представляет применение рассматриваемых технологий в космической отрасли, так как оно сопряжено с необходимостью проведения дополнительных исследований, направленных на упрощение использования сверхкритической воды. Указанные отрасли, которые требуют внимания при укреплении технологического и промышленного суверенитета, нуждаются в ресурсном обеспечении оборудованием и систематизации производственного процесса на промышленных предприятиях по принципу экосистемы. Некоторым отраслям, к примеру строительной, необходим сырьевой компонент, что указывает на такую проблему, как доступное получение различных сверхкритических растворителей в процессе реализации СКФТ. На данный момент СКФТ как технология наиболее реализуема во многих промышленных отраслях по причине использования диоксида углерода. Другие сверхкритические растворители могут быть использованы лишь в лабораторных условиях. Таким образом, доказанный потенциал СКФТ для развития промышленных предприятий как отраслевых комплексов требует промышленного производства оборудования, к примеру экстракторов, и дальнейшего

совершенствования процесса получения сверхкритических растворителей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Факторами развития различных отраслей российской промышленности, которые используют СКФТ и способствуют ускоренному переходу от лабораторных решений к промышленным масштабам, являются следующие:

- совершенствование использования сверхкритической воды, особенно в космической и фармацевтической отраслях;
- промышленное производство сверхкритического флюидного оборудования для целлюлозно-бумажной, строительной, текстильной и химической отраслей, а также медицины;
- расширение и адаптация различных растворителей, в том числе при их использовании в промышленных объемах;
- промышленное обеспечение использования фреона R22 при ускорении процесса биоразложения различных отходов перерабатывающих отраслей агропромышленного комплекса;
- обеспечение пилотной стадии как промежуточного этапа между лабораторным применением СКФТ для различных целей и промышленным использованием потенциала флюидов, особенно в отраслях, требующих дополнительного внимания со стороны научного и производственного сообществ;
- создание условий для увеличения объема компонентов сверхкритических флюидных систем, особенно в пищевой, фармацевтической, нефтехимической, текстильной и строительной отраслях.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Залепугин Д.Ю., Тилькунова Н.А., Чернышева И.В., Поляков В.С. Развитие технологий, основанных на использовании сверхкритических флюидов // Сверхкритические флюиды: теория и практика. 2006. Т. 1. N 1. С. 27–51. EDN: KAOIPH.

2. Федяева О.Н., Востриков О.Н. Переработка отходов целлюлознобумажной промышленности в сверхкритической воде (обзор) // Сверхкритические флюиды: теория и практика. 2018. Т. 13. N 3. С. 8–19. EDN: UWGAJU.

3. Гумеров Ф.М., Зарипов З.И., Мазанов С.В., Накипов Р.Р., Хабриев И.Ш., Ахметзянов Т.Р. [и др.]. Некоторые характеристики термодинамических систем и их влияние на эффективность извлечения ценных компонентов промышленного водного стока ПАО «Казаньоргсинтез» методом сверхкритической флюидной экстракции // Сверхкритические флюиды: теория и практика. 2022. Т. 17. N 4. С. 3–13. DOI: 10.34984/SCFTP.2022.17.4.001. EDN: HAOPIHQ.
4. Полевая В.Г., Воробей А.М., Паренего О.О. Матсон С.М. Химическая модификация поли(1-триметилсилил-1-пропина) в среде сверхкритических флюидов для создания высокоэффективных мембранных материалов // Сверхкритические флюиды: теория и практика. 2025. Т. 20. N 1. С. 81–94. DOI: 10.34984/SCFTP.2025.20.1.007. EDN: TWIDFD.
5. Дадашев М.Н., Кобелев К.В., Винокуров В.А., Филенко Д.Г., Магомедов З.Б., Джафаров Р.Ф. [и др.]. Перспективы применения сверхкритических флюидных технологий в различных отраслях промышленности // Мониторинг. Наука и технологии. 2017. N 1. С. 74–83. EDN: YNCCPX.
6. Дадашев М.Н., Филенко Д.Г., Григорьев Е.Б., Сваровская Н.А. Влияние проницаемости пласта на коэффициент извлечения нефти сверхкритическим диоксидом углерода // Мониторинг: наука и технологии. 2024. N 3. С. 14–18. DOI: 10.25714/MNT.2024.61.002. EDN: PUEKAW.
7. Филенко Д.Г., Дадашев М.Н., Винокуров В.А., Григорьев Е.Б. Сверхкритическая флюидная технология в нефтепереработке и нефтехимии // Научно-технический сборник «Вести газовой науки». 2011. N 2. С. 82–92. EDN: RTWYVB.
8. Солдуп Ш.Н., Котельников В.И., Кара-сал Б.К. Термическое растворение каменных углей Чаданского и Межегейского месторождений с бензолом при сверхкритических условиях // Материалы и технологии XXI века: сборник трудов конф. (г. Пенза, 28–29 марта 2016 г.). Пенза: Изд-во АННМО «Приволжский Дом знаний», 2016. С. 222–228. EDN: WDQWBZ.
9. Zhang A., Zhang Q., Bai H., Li L., Li J. Polymeric nanoporous materials fabricated with supercritical CO₂ and CO₂-expanded liquids // Chemical Society Reviews. 2014. Vol. 43, no. 20. P. 6938–6953. DOI: C4CS00100A.
10. Kang S.M., Unger A., Morrell J.J. The effect of supercritical carbon dioxide extraction on color retention and pesticide reduction of wooden artifacts // Journal of the American Institute for Conservation. 2004. Vol. 43, no. 2. P. 151–160. DOI: 10.2307/4129650.
11. Боголицын К.Г. Перспективы применения сверхкритических флюидных технологий в химии растительного сырья // Сверхкритические флюиды: теория и практика. 2007. Т. 2. N 1. С. 16–27. EDN: KAOIUR.
12. Ke J., Su W., Howdle S.M., George M.W., Cook D., Perdjon-Abel M., et al. Electrodeposition of metals from supercritical fluids // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2009. Vol. 106, no. 35. P. 14768–14772. DOI: 10.1073/pnas.0901986106.
13. Сошин С.А., Мазанов С.В., Хайрутдинов В.Ф., Амирханов Р.Д., Гумерова Ф.М. Реализованные в промышленном масштабе сверхкритические флюидные технологии // Вестник технологического университета. 2015. Т. 18. N 4. С. 161–164. EDN: ROGWBX.
14. Кумеева Т.Ю., Пророкова Н.П. Сверхкритический диоксид углерода – «зеленый» растворитель для текстильной химии // Известия высших учебных заведений. Технология текстильной промышленности. 2024. N 4. С. 5–20. DOI: 10.47367/0021-3497_2024_4_5. EDN: FZCWGP.
15. Киселев М.Г., Кумеева Т.Ю., Пуховский Ю.П. Применение сверхкритического диоксида углерода в текстильной промышленности // Российский химический журнал. 2002. Т. 46. N 1. С. 116–120. EDN: SFXDZP.
16. Смоленцев Д.В., Гуринов М.В., Венедиктов А.А., Евдокимов С.В., Фадеев Р.А. Получение ксенотенной костной крошки для имплантаций с помощью сверхкритической флюидной экстракции // Медицинская техника. 2019. N 4. С. 8–10.
17. Голубев Э.В., Абрамов А.А., Цыганков П.Ю., Меньшутин Н.В. Разработка современных процессов сверхкритической сушки и стерилизации высокопористых материалов // Российский химический журнал. 2024. Т. 68. N 2. С. 93–100. DOI: 10.6060/rcj.2024682.13. EDN: NZRISY.
18. Zheng Y., Huang Yu., Luo J., Peng X., Gui X., Liu G., et al. Supercritical fluid technology: a game-changer for biomacromolecular nanomedicine preparation and biomedical application // Chinese Chemical Letters. 2024. Vol. 35, no. 7. P. 109169. DOI: 10.1016/j.cclet.2023.109169.
19. Nielsen K.A., Busby D.C., Glancy C.C., Hoy K.L., Kuo A.C., Lee Ch., et al. Spray application of low-VOC coatings using supercritical fluids // SAE Transactions. 1991. Vol. 100. P. 9–16.
20. Дадашев М.Н., Магомедмирзоева Р.Г. Бузина черная перспективный источник для получения натурального пищевого красителя // Приоритетные научные исследования в области производства и переработки плодовоовощного сырья и винограда: сборник трудов Междунар. науч.-практ. конф. (г. Махачкала, 12–13 сентября 2023 г.). Махачкала: Издательство АЛЕФ, 2023. С. 297–303. EDN: RMSFBJ.
21. Braga M.E.M., Gaspar M.C., de Sousa H.C. Supercritical fluid technology for agrifood materials processing // Current Opinion in Food Science. 2023. Vol. 50. P. 100983. DOI: 10.1016/j.cofs.2022.100983.
22. Wang W., Rao L., Wu X., Wang Y., Zhao L., Liao X. Supercritical carbon dioxide applications in food processing // Food Engineering Reviews. 2021. Vol. 13. P. 570–591. DOI: 10.1007/s12393-020-09270-9.
23. Меньшутин Н.В., Казеев И.В., Артемьев А.И., Бочарова О.А., Худеев И.И. Применение сверхкритической экстракции для выделения химических соединений // Известия высших учебных заведений. Серия Химия и химическая технология. 2021. Т. 64. N 6. С. 4–19. DOI: 10.6060/ivkkt.20216406.6405. EDN: XRISUD.
24. Гайдукова А.А., Алексахина С.А. Методы экстрагирования биологически активных веществ и их применение в пищевой промышленности // Научные труды Дальрыбвтуза. 2025. Т. 71. N 1. С. 15–24. DOI: 10.48612/dalrybtuz/2025-71-02. EDN: AZGJCI.
25. Albals D., Al-Momani I.F., Issa R., Yehya A. Multi-element determination of essential and toxic metals in green and roasted coffee beans: a comparative study among different origins using ICP-MS // Science Progress. 2021. Vol. 104, no. 2. P. 1–17. DOI: 10.1177/00368504211026162.
26. Salami A., Asefi N., Kenari R.E., Gharekhani M.

Extraction of pumpkin peel extract using supercritical CO₂ and subcritical water technology: enhancing oxidative stability of canola oil // *Journal of Food Science and Technology*. 2021. Vol. 58. P. 1101–1109. DOI: 10.1007/s13197-020-04624-x.

27. Ahangari H., King J.W., Ehsani A., Yousefi M. Supercritical fluid extraction of seed oils – a short review of current trends // *Trends in Food Science & Technology*. 2021. Vol. 111. P. 249–260. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.02.066.

28. Innovative and emerging technologies in the bio-marine food sector / eds M. Garcia-Vaquero, G. Rajauria. Academic Press, 2021. 500 p. DOI: 10.1016/C2019-0-01113-2.

29. Puha A.L., Stolyar A.L., Williams R.J. The fluid limit of an overloaded processor sharing queue // *Mathematics of Operations Research*. 2006. Vol. 31, no. 2. P. 316–350. DOI: 10.1287/moor.1050.0181.

30. Aguiar-Ricardo A., Vasco D.B., Bonifacio T.C., Correia V.G. Supercritical carbon dioxide design strategies: from drug carriers to soft killers // *Philosophical Transactions: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 2015. Vol. 373, no. 2057. P. 1–16. DOI: 10.1098/rsta.2015.0009.

31. Федотов А.В., Володина А.А., Григорьев В.С., Романов И.В., Шемберев И.А. Энергоэффективная технология комплексной утилизации твердых и жидких органосодержащих отходов в сверхкритических условиях // *Электротехнологии и электрооборудование в АПК*. 2019. N 1. С. 133–139. EDN: QHRZXB.

32. Абудалагатов И.М., Алхасов А.Б., Догеев Г.Д., Тумалаев Н.Р., Алиев Р.М., Бадавов Г.Б. [и др.]. Микроводороды и их технологические применения в энергетике и защите окружающей среды // *Юг России: экология, развитие*. 2018. Т. 13. N 1. С. 166–183. DOI: 10.18470/1992-1098-2018-1-166-183. EDN: YTMDJN.

33. Munshi P., Bhaduri S. Supercritical CO₂: a twenty-first century solvent for the chemical industry // *Current Science*. 2009. Vol. 97, no. 1. P. 63–72.

34. Kravanja K.A., Finšgar M., Knez Z., Knez M.K. Supercritical fluid technologies for the incorporation of synthetic and natural active compounds into materials for drug formulation and delivery // *Pharmaceutics*. 2022. Vol. 14, no. 8. P. 1670. DOI: 10.3390/pharmaceutics14081670.

35. Tran P., Park J.-S. Application of supercritical fluid technology for solid dispersion to enhance solubility and bioavailability of poorly water-soluble drugs // *International Journal of Pharmaceutics*. 2021. Vol. 610. P. 121247. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.121247.

36. Jambo H., Hubert P., Dispas A. Supercritical fluid chromatography for pharmaceutical quality control: current challenges and perspectives // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2022. Vol. 146. P. 116486. DOI: 10.1016/j.trac.2021.116486.

37. Islam T., Al Ragib A., Ferdosh S., Uddin A.B.M.H., Akanda J.H., Mia A.R., et al. Development of nanoparticles for pharmaceutical preparations using supercritical techniques // *Chemical Engineering Communications*. 2022. Vol. 209, no. 12. P. 1642–1663. DOI: 10.1080/00986445.2021.1983545.

38. Abdelbasset W.K., Elkholi S.M., Ismail K.A., Alalwani T.A.A.M., Hachem K., Mohamed A., et al. Modeling and computational study on prediction of pharmaceutical solubility in supercritical CO₂ for manufacture of

nanomedicine for enhanced bioavailability // *Journal of Molecular Liquids*. 2022. Vol. 359. P. 119306. DOI: 10.1016/j.molliq.2022.119306.

39. Penoy N., Grignard B., Evrard B., Piel G. A supercritical fluid technology for liposome production and comparison with the film hydration method // *International Journal of Pharmaceutics*. 2021. Vol. 592. P. 120093. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.120093.

40. Amani M., Ardestani N.S., Majd N.Y. Utilization of supercritical CO₂ gas antisolvent (GAS) for production of Capecitabine nanoparticles as anti-cancer drug: Analysis and optimization of the process conditions // *Journal of CO₂ Utilization*. 2021. Vol. 46. P. 101465. DOI: 10.1016/j.jcou.2021.101465.

41. Ha E.-S., Kang H.-T., Park H., Kim S., Kim M.-S. Advanced technology using supercritical fluid for particle production in pharmaceutical continuous manufacturing // *Journal of Pharmaceutical Investigation*. 2023. Vol. 53. P. 249–267. DOI: 10.1007/s40005-022-00601-y.

42. Chen L., Dean B., Liang X. A technical overview of supercritical fluid chromatography-mass spectrometry (SFC-MS) and its recent applications in pharmaceutical research and development // *Drug Discovery Today: Technologies*. 2021. Vol. 40. P. 69–75. DOI: 10.1016/j.ddtec.2021.10.002.

43. Killilea W.R., Hong G.T., Swallow K.C., Thomason T.B. Supercritical water oxidation: microgravity solids separation // *SAE Transactions*. 1988. DOI: 10.4271/881038.

44. Hicks M.C., Lauver R.W., Hegde U.G., Hall D.G., Sikora T.J. Gravity effects on premixed and diffusion limited supercritical water oxidation // *SAE Transactions*. 2005. Vol. 114. P. 509–517. DOI: 10.4271/2005-01-3036.

45. Федяева О.Н., Востриков А.А. Утилизация токсичных органических веществ в сверхкритической воде // *Сверхкритические флюиды: теория и практика*. 2012. Т. 7. N 1. С. 64–88. EDN: OTNMEH.

46. Залепугин Д.Ю., Карпов Н.А., Тилькунова Н.А., Ковальчук Ю.А., Чернышова И.В., Семенова Т.А. Разработка метода импрегнации полимерных отходов в субкритическом фреоне R22 веществами, способствующими их биоразложению в естественной среде // *Сверхкритические флюиды: теория и практика*. 2019. Т. 14. N 2. С. 4–13. DOI: 10.34984/SCFTP.2019.14.2.001. EDN: JZFRNN.

47. Сабирова Л.Ю., Яруллин Л.Ю., Хабриев И.Ш., Корепанова Я.Ю., Шинкевич Т.О. Энергосберегающие аспекты процесса экстракции биоактивных соединений из растительного сырья сверхкритическими флюидными растворителями // *Известия высших учебных заведений. Проблемы энергетики*. 2024. Т. 26. N 6. С. 157–165. DOI: 10.30724/1998-9903-2024-26-6-157-165. EDN: DULTTK.

48. Гурин В., Титенко А., Старокадомский Д., Куц В., Демченко Л., Малоштан С. [и др.]. Комбинированная мобильная установка сверхкритической CO₂-экстракции // *Кронос: естественные и технические науки*. 2021. N 4. С. 16–23.

49. Бургонов О.В., Рубашкин М.В. Совершенствование промышленной политики России // *Ученые записки Санкт-Петербургского имени В.Б. Бобкова филиала Российской таможенной академии*. 2023. N 4. С. 64–68. EDN: DYGRRC.

50. Шинкевич А.И., Шогенов В.А. Некоторые аспекты обеспечения технологического суверенитета научно-про-

изводственного предприятия // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2023. Т. 25. N 1. С. 23–27. DOI: 10.37313/1990-5378-2023-25-1-23-27. EDN: XJCKAB.

51. Потапова Е.В. Доказательная промышленная политика технологического суверенитета: сущность и содержание // Вестник экономики, права и социологии. 2025. N 1. С. 98–103. DOI: 10.24412/1998-5533-2025-1-98-103. EDN: RHOTQJ.

REFERENCES

1. Zalepugin D.Yu., Tilkunova N.A., Chernyshova I.V., Polyakov V.S. Development of technologies based on supercritical fluids. *Sverkhkriticheskie flyuidy: teoriya i praktika*. 2006;1(1):27-51. (In Russian). EDN: KAOIPH.
2. Fedyaeva O.N., Vostrikov A.A. Processing of pulp and paper industry wastes by supercritical water gasification (review). *Sverkhkriticheskie flyuidy: teoriya i praktika*. 2018;13(3):8-19. (In Russian). EDN: UWGAJU.
3. Gumerov F.M., Zaripov Z.I., Mazanov S.V., Nakipov R.R., Khabriev I.Sh., Akhmetzyanov T.R., et al. Some characteristics of thermodynamic systems and their influence on the efficiency of recovery of valuable components from industrial wastewater of PJSC "Kazanorgsintez" using supercritical fluid extraction method. *Sverkhkriticheskie flyuidy: teoriya i praktika*. 2022;17(4):3-13. (In Russian). DOI: 10.34984/SCFTP.2022.17.4.001. EDN: HAOPHQ.
4. Poleyeva V.G., Vorobey A.M., Parenago O.O., Matson S.M. Chemical modification of poly(1-trimethylsilyl-1-propyne) in supercritical fluid media for the development of high-performance membrane materials. *Sverkhkriticheskie flyuidy: teoriya i praktika*. 2025;20(1):81-94. (In Russian). DOI: 10.34984/SCFTP.2025.20.1.007. EDN: TWIDFD.
5. Dadashev M.N., Kobelev K.V., Vinokurov V.A., Filenko D.G., Magomedov Z.B., Dzhaifarov R.F., et al. Prospects of applying the supercritical fluid technologies in different branches of the industry. *Monitoring. Science and Technologies*. 2017;1:74-83. (In Russian). EDN: YNCCPX.
6. Dadashev M.N., Filchenko D.G., Grigoriev E.B., Svarovskaya N.A. Influence of formation permeability on oil recovery factor by supercritical carbon dioxide. *Monitoring. Science and Technologies*. 2024;3:14-18. (In Russian). DOI: 10.25714/MNT.2024.61.002. EDN: PUEKAW.
7. Filenko D.G., Dadashev M.N., Vinokurov V.A., Grigor'ev E.B. Supercritical fluid technology in oil refining and petrochemistry. *Nauchno-tekhnicheskii sbornik "Vesti gazovoi nauki"*. 2011;2:82-92. (In Russian). EDN: RTWYVB.
8. Soldup Sh.N., Kotelnikov V.I., Kara-sal B.K. Thermal dissolution of coals of chadan and mezhegey fields with benzene at supercritical conditions. In: *Materialy i tekhnologii XXI veka: sbornik trudov konf. = Materials and Technologies of the 21st century: Proc. Conf.* Penza: Privolzhskii Dom znani; 2016, p. 222-228. (In Russian). EDN: WDQWBZ.
9. Zhang A., Zhang Q., Bai H., Li L., Li J. Polymeric nanoporous materials fabricated with supercritical CO₂ and CO₂-expanded liquids. *Chemical Society Reviews*. 2014;43(20):6938-6953. DOI: C4CS00100A.
10. Kang S.M., Unger A., Morrell J.J. The effect of supercritical carbon dioxide extraction on color retention and pesticide reduction of wooden artifacts. *Journal of the American Institute for Conservation*. 2004;43(2):151-160. DOI: 10.2307/4129650.
11. Bogolitsyn K.G. Prospects in applying supercritical fluid technologies to the chemistry of raw plant material. *Sverkhkriticheskie flyuidy: teoriya i praktika*. 2007;2(1):16-27. (In Russian). EDN: KAOIUR.
12. Ke J., Su W., Howdle S.M., George M.W., Cook D., Perdjon-Abel M., et al. Electrodeposition of metals from supercritical fluids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(35):14768-14772. DOI: 10.1073/pnas.0901986106.
13. Soshin S.A., Mazanov S.V., Khairutdinov V.F., Amirkhanov R.D., Gumerova F.M. Supercritical fluid technologies implemented on an industrial scale. *Herald of Technological University*. 2015;18(4):161-164. (In Russian). EDN: ROGWBX.
14. Kumeeva T.Yu., Prorokova N.P. Supercritical carbon dioxide – "green" solvent for textile chemistry. *Textile Industry Technology (series "Proceedings of Higher Educational Institutions")*. 2024;4:5-20. (In Russian). DOI: 10.47367/0021-3497_2024_4_5. EDN: FZCWGP.
15. Kiselev M.G., Kumeeva T.Yu., Pukhovskii Yu.P. Application of supercritical carbon dioxide in the textile industry. *Rossiiskii khimicheskii zhurnal*. 2002;46(1):116-120. (In Russian). EDN: SFXDZP.
16. Smolentsev D.V., Gurin M.V., Venediktov A.A., Evdokimov S.V., Fadeev R.A. Obtaining xenogenic bone chips for implantations using supercritical fluid extraction. *Meditinskaya tekhnika*. 2019;4:8-10. (In Russian). EDN: SFXDZP.
17. Golubev E.V., Abramov A.A., Tsygankov P.Yu., Menshutina N.V. Development of combined processes of supercritical drying and sterilization of highly porous materials. *Rossiiskii khimicheskii zhurnal*. 2024;68(2):93-100. (In Russian). DOI: 10.6060/rcj.2024682.13. EDN: NZRISY.
18. Zheng Y., Huang Yu., Luo J., Peng X., Gui X., Liu G., et al. Supercritical fluid technology: a game-changer for biomacromolecular nanomedicine preparation and biomedical application. *Chinese Chemical Letters*. 2024;35(7):109169. DOI: 10.1016/j.ccl.2023.109169.
19. Nielsen K.A., Busby D.C., Glancy C.C., Hoy K.L., Kuo A.C., Lee Ch., et al. Spray application of low-VOC coatings using supercritical fluids. *SAE Transactions*. 1991;100:9-16.
20. Dadashev M.N., Magomedmirzoeva R.G. Black elder a perspective source for obtaining natural food color. In: *Prioritetnye nauchnye issledovaniya v oblasti proizvodstva i pererabotki plodoovoshchnogo syr'ya i vinograda: sbornik trudov Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. = Priority Scientific Research in the Field of Production and Processing of Fruit and Vegetable Raw Materials and Grapes: Proc. Int. Sci. Pract. Conf.* 12–13 September 2023, Makhachkala. Makhachkala: ALEF; 2023, p. 297-303. (In Russian). EDN: RMSFBJ.
21. Braga M.E.M., Gaspar M.C., de Sousa H.C. Supercritical fluid technology for agrifood materials processing. *Current Opinion in Food Science*. 2023;50:100983. DOI: 10.1016/j.cofs.2022.100983.
22. Wang W., Rao L., Wu X., Wang Y., Zhao L., Liao X. Supercritical carbon dioxide applications in food processing. *Food Engineering Reviews*. 2021;13:570-591. DOI: 10.1007/s12393-020-09270-9.
23. Menshutina N.V., Kazeev I.V., Artemiev A.I.,

- Bocharova O.A., Khudeev I.I. Application of supercritical extraction for isolation of chemical compounds. *ChemChemTech*. 2021;64(6):4-19. (In Russian). DOI: 10.6060/ivkkt.20216406.6405. EDN: XRSUD.
- 24.** Gaidukova A.A., Aleksashina S.A. Methods of extracting biologically active substances and their application in the food industry. *Scientific Journal of the Far East State Technical Fisheries University*. 2025;71(1):15-24. (In Russian). DOI: 10.48612/dalrybvtuz/2025-71-02. EDN: AZGJCI.
- 25.** Albals D., Al-Momani I.F., Issa R., Yehya A. Multi-element determination of essential and toxic metals in green and roasted coffee beans: a comparative study among different origins using ICP-MS. *Science Progress*. 2021;104(2):1-17. DOI: 10.1177/00368504211026162.
- 26.** Salami A., Asefi N., Kenari R.E., Gharekhani M. Extraction of pumpkin peel extract using supercritical CO₂ and subcritical water technology: enhancing oxidative stability of canola oil. *Journal of Food Science and Technology*. 2021;58:1101-1109. DOI: 10.1007/s13197-020-04624-x.
- 27.** Ahangari H., King J.W., Ehsani A., Yousefi M. Supercritical fluid extraction of seed oils – a short review of current trends. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;111:249-260. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.02.066.
- 28.** Garcia-Vaquero M., Rajauria G. Innovative and emerging technologies in the bio-marine food sector. Academic Press; 2021, 500 p. DOI: 10.1016/C2019-0-01113-2.
- 29.** Puha A.L., Stolyar A.L., Williams R.J. The fluid limit of an overloaded processor sharing queue. *Mathematics of Operations Research*. 2006;31(2):316-350. DOI: 10.1287/moor.1050.0181.
- 30.** Aguiar-Ricardo A., Vasco D.B., Bonifacio T.C., Correia V.G. Supercritical carbon dioxide design strategies: from drug carriers to soft killers. *Philosophical Transactions: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 2015;373(2057):1-16. DOI: 10.1098/rsta.2015.0009.
- 31.** Fedotov A.V., Volodina A.A., Grigor'yev V.S., Romanov I.V., Shemberev I.A. Complex energy-efficient utilization technology of solid and liquid organic waste in supercritical conditions. *Electrical Technologies and Electrical Equipment in the Agro-industrial Complex*. 2019;1:133-139. (In Russian). EDN: QHRZXB.
- 32.** Abdulagatov I.M., Alkhasov A.B., Dogeev G.D., Tumalaev N.R., Aliev R.M., Badavov G.B., et al. Technological application of microalgae in power industry and environmental protection. *South of Russia: ecology, development*. 2018;13(1):166-183. (In Russian). DOI: 10.18470/1992-1098-2018-1-166-183. EDN: YTM DJN.
- 33.** Munshi P., Bhaduri S. Supercritical CO₂: a twenty-first century solvent for the chemical industry. *Current Science*. 2009;97(1):63-72.
- 34.** Kravanja K.A., Finšgar M., Knez Z., Knez M.K. Supercritical fluid technologies for the incorporation of synthetic and natural active compounds into materials for drug formulation and delivery. *Pharmaceutics*. 2022;14(8):1670. DOI: 10.3390/pharmaceutics14081670.
- 35.** Tran P., Park J.-S. Application of supercritical fluid technology for solid dispersion to enhance solubility and bioavailability of poorly water-soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;610:121247. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.121247.
- 36.** Jambo H., Hubert P., Dispas A. Supercritical fluid chromatography for pharmaceutical quality control: current challenges and perspectives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2022;146:116486. DOI: 10.1016/j.trac.2021.116486.
- 37.** Islam T., Al Ragib A., Ferdosh S., Uddin A.B.M.H., Akanda J.H., Mia A.R., et al. Development of nanoparticles for pharmaceutical preparations using supercritical techniques. *Chemical Engineering Communications*. 2022;209(12):1642-1663. DOI: 10.1080/00986445.2021.1983545.
- 38.** Abdelbasset W.K., Elkholi S.M., Ismail K.A., Alalwani T.A.A.M., Hachem K., Mohamed A., et al. Modeling and computational study on prediction of pharmaceutical solubility in supercritical CO₂ for manufacture of nanomedicine for enhanced bioavailability. *Journal of Molecular Liquids*. 2022;359:119306. DOI: 10.1016/j.molliq.2022.119306.
- 39.** Penoy N., Grignard B., Evard B., Piel G. A supercritical fluid technology for liposome production and comparison with the film hydration method. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;592:120093. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.120093.
- 40.** Amani M., Ardestani N.S., Majd N.Y. Utilization of supercritical CO₂ gas antisolvent (GAS) for production of Capecitabine nanoparticles as anti-cancer drug: Analysis and optimization of the process conditions. *Journal of CO₂ Utilization*. 2021;46:101465. DOI: 10.1016/j.jcou.2021.101465.
- 41.** Ha E.-S., Kang H.-T., Park H., Kim S., Kim M.-S. Advanced technology using supercritical fluid for particle production in pharmaceutical continuous manufacturing. *Journal of Pharmaceutical Investigation*. 2023;53:249-267. DOI: 10.1007/s40005-022-00601-y.
- 42.** Chen L., Dean B., Liang X. A technical overview of supercritical fluid chromatography-mass spectrometry (SFC-MS) and its recent applications in pharmaceutical research and development. *Drug Discovery Today: Technologies*. 2021;40:69-75. DOI: 10.1016/j.ddtec.2021.10.002.
- 43.** Killilea W.R., Hong G.T., Swallow K.C., Thomason T.B. Supercritical water oxidation: microgravity solids separation. *SAE Transactions*. 1988. DOI: 10.4271/881038.
- 44.** Hicks M.C., Lauver R.W., Hegde U.G., Hall D.G., Sikora T.J. Gravity effects on premixed and diffusion limited supercritical water oxidation. *SAE Transactions*. 2005;114:509-517. DOI: 10.4271/2005-01-3036.
- 45.** Fedyaeva O.N., Vostrikov A.A. Destruction of hazardous organic substances in supercritical water. *Sverkhkriticheskie flyuidy: teoriya i praktika*. 2012;7(1):64-88. (In Russian). EDN: OTNMEH.
- 46.** Zalepugin D.Yu., Karpov V.A., Tilkunova N.A., Kovalechuk Yu.L., Chernyshova I.V., Semenova T.A. Development of polymer waste impregnation method in subcritical freon R22 media with substances promoting their biodegradation in nature. *Sverkhkriticheskie flyuidy: teoriya i praktika*. 2019;14(2):4-13. (In Russian). DOI: 10.34984/SCFTP.2019.14.2.001. EDN: JZFRNN.
- 47.** Sabirova L.Yu., Yarullin L.Yu., Khabriev I.Sh., Korepanova Ya.Yu., Shinkevich T.O. Energy-saving aspects of the process of extraction of bioactive compounds from plant raw materials with supercritical fluid solvents. *Power engineering: research, equipment, technology*. 2024;26(6):157-165. (In Russian). DOI: 10.30724/1998-9903-2024-26-6-157-165. EDN: DULTTK.

48. Gurin V., Titenko A., Starokadomsky D., Kutz V., Demchenko L., Maloshtan S., et al. Combined mobile installation of supercritical CO₂ extraction. *Chronos: natural and technical sciences*. 2021;4:16-23. (In Russian).

49. Burgonov O.V., Rubashkin M.V. Improving Russia's industrial policy. *Uchenye zapiski Sankt-Peterburgskogo imeni. V.B. Bobkova filiala Rossiiskoi tamozhennoi akademii*. 2023;4:64-68. (In Russian). EDN: DYGRRC.

50. Shinkevich A.I., Shogenov V.A. Some aspects of

ensuring the technological sovereignty of a scientific and production enterprise. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2023;25(1):23-27. (In Russian). DOI: 10.37313/1990-5378-2023-25-1-23-27. EDN: XJCKAB.

51. Potaptseva E.V. Evidence-based industrial policy of technological sovereignty: essence and content. *Vestnik ekonomiki, prava i sotsiologii*. 2025;1:98-103. (In Russian). DOI: 10.24412/1998-5533-2025-1-98-103. EDN: RHOTQJ.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Дадашев Мирали Нуралиевич,

д.т.н., профессор,
Российский государственный университет
нефти и газа (национальный исследовательский
университет) имени И.М. Губкина,
119991, г. Москва, Ленинский проспект, 65,
Российская Федерация,
jnus@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6811-3376>

Вклад автора

Автор выполнил исследовательскую работу,
на основании полученных результатов
провел обобщение, подготовил рукопись
к печати.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии
конфликта интересов.

Автор прочел и одобрил окончательный
вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 12.08.2025.
Одобрена после рецензирования 22.09.2025.
Принята к публикации 17.10.2025.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Mirali N. Dadashev,

Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Gubkin Russian State University
of Oil and Gas (National University),
65, Leninsky Ave., Moscow, 119991,
Russian Federation,
jnus@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6811-3376>

Contribution of the author

The author performed the research, made
a generalization on the basis of the results
obtained and prepared the manuscript
for publication.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interests
regarding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved
by the author.*

Information about the article

*The article was submitted 12.08.2025.
Approved after reviewing 22.09.2025.
Accepted for publication 17.10.2025.*



Микроволновый пиролиз древесины дуба: исследование процесса и характеристика продуктов

А.Б. Алыева*^{,} С.А. Ананичева*, Т.О. Крапивницкая*[✉],
А.Н. Денисенко*, А.А. Ананичев*, Е.И. Преображенский*,
Д.А. Широков^{**}, М.Ю. Глявин*, Н.Ю. Песков***

**Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова РАН,*

Нижний Новгород, Российская Федерация

***Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева,*

Нижний Новгород, Российская Федерация

Аннотация. Развитие методов конверсии сельскохозяйственных отходов в ценные химические продукты является актуальной задачей, направленной на повышение эффективности использования природных ресурсов. Пиролиз с применением микроволнового излучения представляет собой перспективный подход, характеризующийся высокой скоростью нагрева, селективностью воздействия и потенциалом для масштабирования. Для реализации микроволновой обработки древесины дуба была разработана специализированная технологическая установка, ключевым элементом которой является микроволновый реактор с объемом загрузки сырья до 3 л. В рамках настоящего исследования было проведено сопоставление инфракрасных спектров древесины дуба до и после воздействия микроволнового излучения, а также полученной газообразной фракции. Анализ инфракрасных спектров исходной древесины и твердого остатка после пиролиза позволил оценить изменения в структуре полимерных компонентов древесины (целлюлозы, лигнина, гемицеллюлоз), а анализ инфракрасного спектра газовой фракции – идентифицировать основные газообразные продукты реакции. Дополнительно был проведен элементный анализ древесины дуба и твердого продукта его микроволновой переработки. Полученные данные свидетельствуют о том, что в ходе процесса пиролиза древесины атомные отношения Н/С и О/С уменьшаются на 0,73 и 0,44 соответственно. Расчетная теплотворная способность твердого остатка при этом повысилась в 2 раза, что свидетельствует о перспективности использования продукта пиролиза в качестве топлива благодаря увеличению энергетической ценности. Полученные результаты указывают на перспективность применения микроволнового пиролиза для переработки сельскохозяйственных отходов в высокоуглеродистые материалы с повышенной теплотворной способностью.

Ключевые слова: переработка органического сырья, древесина, микроволновый пиролиз, уголь, микроволновый реактор

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-19-00763 «Разработка новых физико-химических технологий и СВЧ-комплексов для глубокой переработки целлюлозосодержащих материалов»).

Для цитирования: Алыева А.Б., Ананичева С.А., Крапивницкая Т.О., Денисенко А.Н., Ананичев А.А., Преображенский Е.И. [и др.]. Микроволновый пиролиз древесины дуба: исследование процесса и характеристика продуктов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 573–581. DOI: 10.21285/achb.1003. EDN: BWZUXR.

Microwave pyrolysis of oak wood: Process analysis and product characterization

Alisa B. Alyeva^{***}, Svetlana A. Ananicheva^{*}, Tatiana O. Krapivnitckaia^{*✉},
Andrey N. Denisenko^{*}, Andrey A. Ananichev^{*}, Evgenii I. Preobrazhensky^{*},
Dmitriy A. Shirokov^{**}, Mikhail Yu. Glyavin^{*}, Nikolay Yu. Peskov^{*}

^{*}A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences,
Nizhny Novgorod, Russian Federation

^{**}Nizhny Novgorod State Technical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. Development of methods for converting agricultural waste into valuable chemical products constitutes an important task designed to improve the efficiency of natural resource use. A promising approach is microwave-assisted pyrolysis, which offers high heating rates, selective action, and potential for scaling. In order to implement microwave processing of oak wood, a specialized processing unit was developed; its key element is a microwave reactor with a capacity of up to 3 L. The present study compared the IR spectra of oak wood prior to and after exposure to microwave radiation, as well as that of the obtained gaseous fraction. The IR spectrum analysis of the original wood and the solid residue from pyrolysis revealed structural changes in the polymer components of wood (cellulose, lignin, and hemicelluloses), while the IR spectrum analysis of the gaseous fraction helped identify the main gaseous reaction products. In addition, an elemental analysis of oak wood and the solid product of its microwave processing was conducted. The obtained data indicate a decrease in H/C and O/C atomic ratios by 0.73 and 0.44, respectively, during wood pyrolysis. The estimated calorific value of the solid residue increased twofold, which suggests the potential of using pyrolysis products as fuel due to the increased energy value. The obtained results indicate the potential of microwave pyrolysis in the conversion of agricultural waste into high-carbon materials with increased calorific value.

Keywords: processing of organic raw materials, wood, microwave pyrolysis, coal, microwave reactor

Funding. The work was carried out with the financial support of a grant from the Russian Science Foundation (project no. 23-19-00763 "Development of new physical and chemical technologies and microwave complexes for deep processing of cellulose-containing materials").

For citation: Alyeva A.B., Ananicheva S.A., Krapivnitckaia T.O., Denisenko A.N., Ananichev A.A., Preobrazhensky E.I., et al. Microwave pyrolysis of oak wood: Process analysis and product characterization. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):573-581. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1003. EDN: BWZUXR.

ВВЕДЕНИЕ

Необходимость снижения выбросов углекислого газа обуславливает увеличение доли возобновляемых источников энергии, в частности биомассы, обладающей значительным энергетическим потенциалом вследствие ее возобновляемости и высокого содержания углерода [1]. Теоретический годовой потенциал биомассы в России, включая агробиомассу, превышает 100 млн т.н.э., значительную долю в котором составляют отходы лесной промышленности (11–13 млн т.н.э. в год в начале XXI века [2]). Общий объем древесных отходов в настоящее время оценивается в 84–124 млн м³ в год (около 14–21 млн т.н.э.) и, по прогнозам, к 2030 году возрастет до 100–189 млн м³ в год (18–34 млн т.н.э.) [2]. Основным компонентом необработанной древесины является вода, но в пересчете на сухую массу основную часть составляют углеводы (65–75%), которые связаны с лигнином (18–35%). В целом сухая древесина имеет следующий элементный состав: около 50% углерода, 6% водорода, 44% кислорода и следовые количества неорганических веществ [3].

В контексте возрастающей экологической и экономической значимости эффективного управления отходами термохимические методы, в частности пиролиз, рассматриваются как перспективные технологии переработки лигноцеллюлозной биомассы [4]. Пиролиз, заключающийся в термической деструкции органического сырья в инертной среде, позволяет получать углеродистый остаток (биоуголь), биомасло и газ. Биоуголь находит применение в различных областях, включая улучшение плодородия почв [5], сорбцию дымовых газов [6] и металлургию [7]. Микроволновый пиролиз за счет объемного нагрева и снижения затрат представляет собой перспективную технологию оптимизации данного процесса. Несмотря на исследования микроволнового пиролиза древесных гранул [8, 9], данные о масштабировании технологии для переработки биомассы остаются ограниченными, при этом промышленные разработки сконцентрированы на сушильных установках [10]. Попытки масштабирования реакторов для глубокой переработки [11, 12] не получили широкого освещения в научной литературе.

В связи с этим настоящее исследование направлено на изучение состава продуктов микроволнового пиролиза древесины дуба в разработанном сверхвысокочастотном (СВЧ) реакторе с загрузкой до 3 л с целью развития представлений о механизмах пиролиза и создания основы для промышленных технологий.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования являлись образцы сердцевины дуба (Томская область, Россия). Древесина была предварительно подготовлена путем измельчения до формы брусков размером 5×5×3 см. Общая масса брусков, помещенных в реактор, составила 2 кг.

Для проведения экспериментов по СВЧ-пиролизу был разработан макет реактора, конструктивные особенности которого представлены на рис. 1. Данная конструкция рассчитана на переработку до 3 л органического сырья. Экспериментальная установка включала в себя промышленный магнетрон (2,45 ГГц / 800 Вт, выходная мощность ~400 Вт), оснащенный специализированной системой электропитания и водяным охлаждением. Форвакуумный насос обеспечивал непрерывную откачку газовой фазы из реакционного объема и поддержание остаточного давления на уровне ~0,1 атм. Выходящие из реактора газы охлаждались до комнатной температуры в теплообменнике, после чего с помощью газового счетчика измерялся их объем.

Для последующего анализа газообразные продукты собирались в азотной ловушке. Конденсирующиеся продукты пиролиза собирались в системе фракционирования, оборудованной резервуаром с ледяным охлаждением (с добавлением воды). Длительность СВЧ-воздействия составляла 90 мин. По завершении процесса проводилось определение массы твердой и жидкой фракций.

Для идентификации продуктов пиролиза проводили инфракрасный (ИК) анализ твердых и газообразных образцов с использованием ИК-Фурье спектрометра FT-801 (СИМЕКС, Россия) с приставкой НПВО (для твердых образцов) и герметичной кюветой (для газовых) в диапазоне 500–4000 см⁻¹. Твердые образцы предварительно измельчали и спрессовывали в таблетки. Анализ газообразных образцов проводили в герметичной кювете с регистрацией опорного спектра. Элементный анализ (C, H, N, S, O) древесины дуба и углеродистого остатка выполняли на CHNS/O-анализаторе (EMA 502, VELP, Италия) с использованием 2 мг порошковых образцов, высушенных до содержания влаги менее 1%. Сжигание проводили при 1030 °С. Весь материал, содержащийся внутри анализатора, разлагается на элементарные газообразные компоненты. Такие компоненты, как CO₂, N₂, H₂O, SO₂, CO, обнаруживаются при помощи термокондуктометрического детектора.

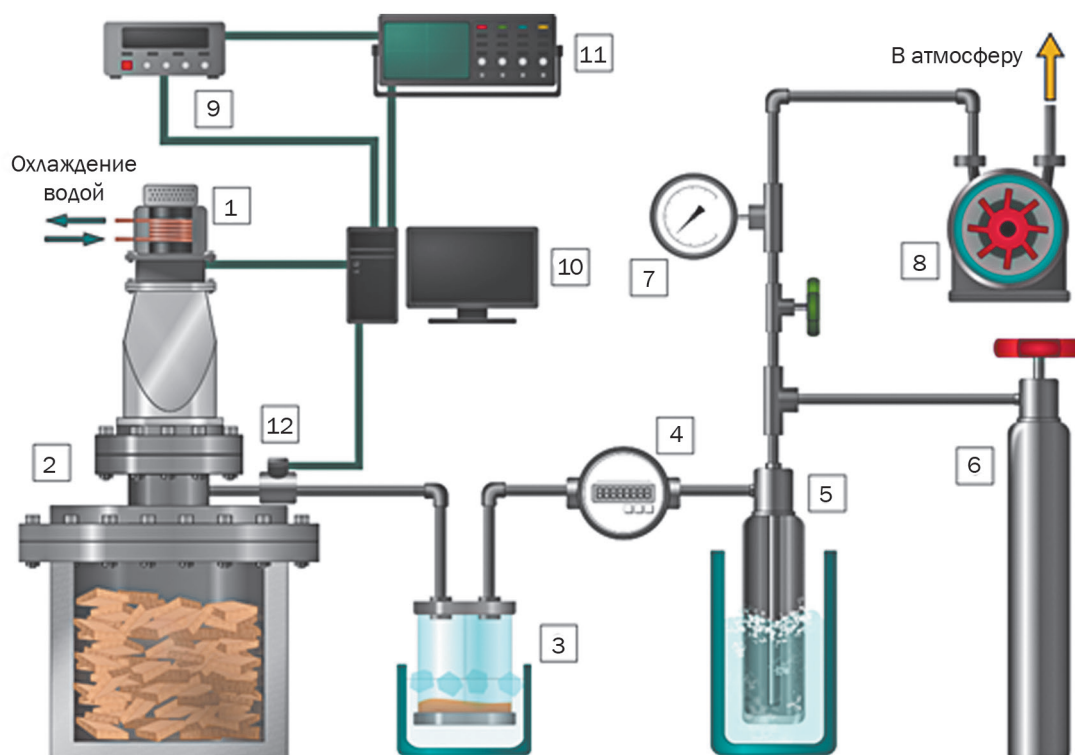


Рис. 1. Схема микроволнового комплекса для пиролиза: 1 – магнетрон; 2 – реактор; 3 – жидкостный отстойник; 4 – газовый счетчик; 5 – отстойник газа; 6 – пробоотборник газа; 7 – манометр; 8 – форвакуумный насос; 9 – высоковольтный источник питания; 10 – компьютерная система управления; 11 – осциллограф; 12 – термопара

Fig. 1. Scheme of microwave complex for pyrolysis: 1 – magnetron; 2 – reactor; 3 – liquid settler; 4 – gas meter; 5 – gas settler; 6 – gas sampler; 7 – pressure gauge; 8 – vacuum pump; 9 – high-voltage power source; 10 – computer control system; 11 – oscilloscope; 12 – thermocouple

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате пиролиза получены твердая (74,5% масс.), жидкая (11,0% масс.) и газообразная (14,5% масс.) фракции. Неоднородный цвет твердого остатка обусловлен неравномерным распределением электромагнитного поля и образованием «горячих точек» [13–15] вследствие низкой теплопроводности древесины дуба (0,35–0,42 Вт/м·К вдоль волокон, 0,20–0,21 Вт/м·К поперек волокон). Для разработки технологии утилизации отходов необходимо минимизировать образование локальных перегревов с целью получения однородного высокоуглеродистого продукта.

С целью изучения механизмов диэлектрического нагрева и визуализации распределения температуры эксперимент был прерван на промежуточной стадии пиролиза с последующим извлечением образца древесины. При этом наблюдали сохранение формы бруска (5×5×3 см) с почернением центральной части, что указывает на обратный температурный градиент (от центра к поверхности). Это способствует перемещению первичных летучих веществ из центра к поверхности и снижению нежелательных вторичных реакций. В ходе высокотемпературного нагрева возможны процессы коксования в полиароматические соединения. Недавние исследования микроволнового нагрева [16, 17] также продемонстрировали это уникальное распределение температуры. Но поскольку газ, образующийся в сердцевине древесины, перемещается через секцию с более низкой температурой, нежелательные вторичные реакции уменьшаются.

В результате эксперимента было получено 4% газообразной фракции, 12% жидкой фракции и 84% твердого углеродистого остатка, то есть средняя относительная скорость конверсии твердого продукта составила 0,17% масс./мин. Процентный выход жидкой фракции характеризует в первую очередь снижение влажности древесины после микроволновой переработки. Доминирующий выход твердого остатка свидетельствует о неполной конверсии исходного сырья.

На рис. 2 приведены результаты исследования древесины дуба и продуктов его микроволнового пиролиза методом ИК-спектроскопии. Стоит отметить, что одной из составных частей древесины является природный полимер лигнин. Известно, что лигнин в лиственных породах состоит из гваяцилпропановых и синрингилпропановых структурных единиц, в то время как в хвойных породах присутствуют только гваяцилпропановые единицы.

ИК-спектроскопическое исследование исходной древесины дуба (см. рис. 2, а) и продуктов микроволнового пиролиза позволило идентифицировать структурные изменения, произошедшие в ходе процесса. Ранее авторы работ [18, 19] в спектре древесины дуба отмечали характеристические полосы, соответствующие синрингилпропановым единицам лигнина (1591, 1417, 1321, 1224 см⁻¹). Полоса поглощения 1591 см⁻¹ соответствовала валентным колебаниям карбоксильной связи *пара*-замещенных фенолов синрингилпропановых колец. Ранее также было показано [20], что широкая полоса 1224 см⁻¹ отражала скелетные колебания C-C связей синрингильных колец и валентные колебания C-O в фенолах. В спектре углеродистого остатка (см. рис. 2, b) наблюдалось снижение интенсивности полос, особенно в области 1016 см⁻¹ (валентные колебания C-O), что указывает на распад компонентов по лабильной C-O связи. На рис. 2, c представлен ИК-спектр газообразной фракции, демонстрирующий наличие воды (1250–1600 и 3500–3700 см⁻¹), углекислого газа (615–730, 2280–2380, 3590–3650 и 3675–3750 см⁻¹), а также незначительные полосы метильных и метиленовых алифатических углеводородов (2800–3000 см⁻¹), метана и угарного газа. Таким образом, газовая фракция содержала водяные пары, углекислый газ и углеводороды. Жидкая фракция представляла собой в основном воду и легкокипящие кислородсодержащие органические соединения.

Элементный анализ древесины дуба и твердого продукта (таблица) выявил высокое содержание углерода и кислорода, характерное для лигнина, целлюлозы и

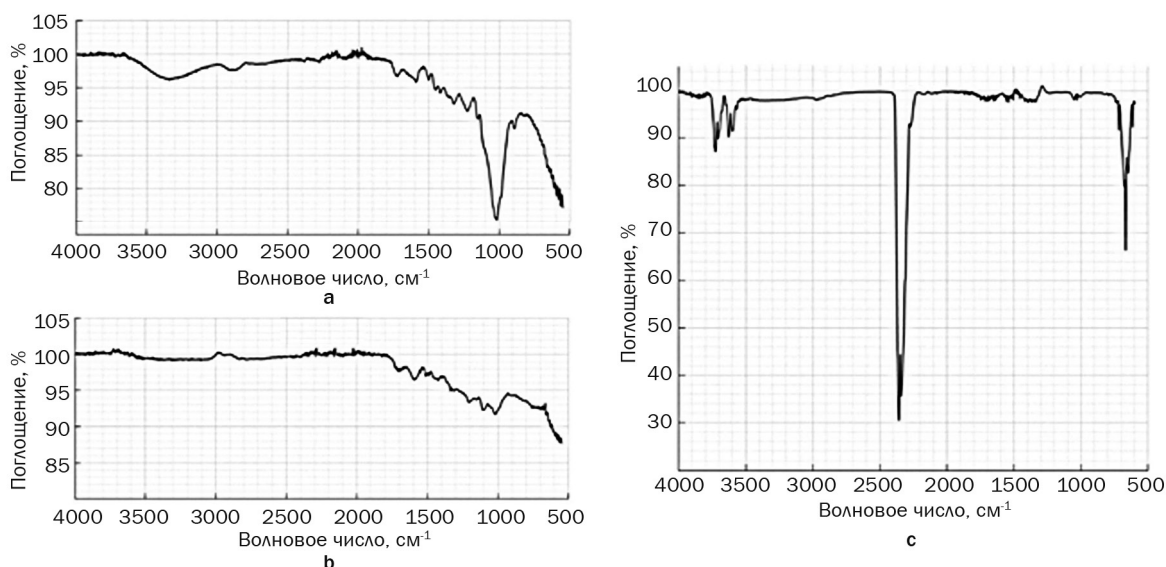


Рис. 2. Инфракрасные спектры древесины дуба (а), углеродистого остатка (b) и газового пиролизата (с)

Fig. 2. Infrared spectra of oak wood (a), carbon residue (b) and gas pyrolysate (c)

гемицеллюлозы. В ходе пиролиза наблюдалось уменьшение атомных отношений Н/С (с 1,65 до 0,92) и О/С (с 0,93 до 0,49), что свидетельствует о дегидратации и декарбонизации. Содержание серы в обоих образцах было ниже предела обнаружения (<0,3 %).

Элементный анализ дубовых опилок и его углеродистого остатка, полученного микроволновым пиролизом

Elemental analysis of oak sawdust and its carbon residue obtained by microwave pyrolysis

Параметр	Древесина дуба	Углеродистый остаток
C, %	41,9±1,4	57,0±1,4
H, %	5,8±0,2	4,4±0,2
N, %	1,1±0,1	1,1±0,1
O, %	51,0±3,0	37,4±2,2
S, %	менее 0,3	менее 0,3
H/C	1,65	0,93
O/C	0,92	0,49

На основе полученных показателей в массовых процентах содержания ω углерода, водорода, азота и кислорода в древесине до и после пиролиза была рассчитана теплота сгорания Q по формуле С.А. Алиева¹:

$$Q = 90 \times \omega(C, \%) + 34,4 \times \omega(H, \%) - 50 \times (0,87 \times \omega(O, \%) - 4 \times \omega(N, \%)).$$

Расчет показал увеличение теплоты сгорания с 1972,0 ккал/кг (древесина) до 3874,5 ккал/кг (углеродистый остаток), что свидетельствует о двукратном повышении теплотворной способности.

Для определения энергетической эффективности низкотемпературного микроволнового пиролиза были определены энергетические затраты на процесс при переработке 2 кг древесины. Общее потребление элек-

троэнергии от сети при времени воздействия 90 мин составило 0,6 кВт·ч. Энергетические затраты на переработку килограмма древесины равнялись 1,1 МДж/кг. Хотя расчет показывает относительно высокие энергетические затраты, возможности для оптимизации процесса и масштабирования на промышленный уровень существуют.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенной работы исследовано влияние микроволнового воздействия на древесину дуба. Элементный анализ твердого продукта продемонстрировал увеличение содержания углерода на 15% с сохранением исходной формы и размеров углеродистого остатка. ИК-спектроскопия газовой фракции подтвердила наличие воды, диоксида углерода, метана и монооксида углерода. В ИК-спектре углеродистого остатка наблюдалось снижение интенсивности полос, указывающее на уменьшение концентрации полярных функциональных групп. Расчетное значение теплоты сгорания углеродистого остатка увеличилось в 2 раза по сравнению с исходным сырьем. Полученные данные свидетельствуют о перспективности микроволнового пиролиза для переработки отходов лесной промышленности, в частности дубовых опилок, в высокоуглеродистые материалы для топливной промышленности.

При масштабировании на промышленный уровень необходимо учитывать геометрию реактора и при необходимости ее оптимизацию, теплоизоляцию камеры, предварительную обработку древесины для уменьшения времени воздействия. Дальнейшие исследования и разработки, направленные на повышение эффективности микроволновой обработки древесины, позволят создать экономически выгодную и экологически устойчивую технологию пиролиза.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Moreira G.D.O., Costa G.F., Cavalcante R.M., Young A.F. Process simulation and economic evaluation of pyrolysis and hydrothermal liquefaction as alternatives for the valorization of wood waste from the pulp and paper industry // *Energy Conversion and Management*. 2025. Vol. 325. P. 119387. DOI: 10.1016/j.enconman.2024.119387.
2. Marchenko O., Solomin S., Kozlov A., Shamanskiy V., Donskoy I. Economic efficiency assessment of using wood waste in cogeneration plants with multi-stage gasification // *Applied Sciences*. 2020. Vol. 10, no. 21. P. 7600. DOI: 10.3390/app10217600.
3. Inari G.N., Pétrissans M., Pétrissans A., Gérardin P. Elemental composition of wood as a potential marker to evaluate heat treatment intensity // *Polymer Degradation and Stability*. 2009. Vol. 94, no. 3. P. 365–368. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2008.12.003.
4. Masfuri I., Amrullah A., Farobie O., Anggoro T., Rian S. F., Prabowo W., et al. Temperature effects on chemical reactions and product yields in the co-pyrolysis of wood sawdust and waste tires: an experimental investigation // *Results in Engineering*. 2024. Vol. 23. P. 102638. DOI: 10.1016/j.rineng.2024.102638.
5. Turek-Szytow J., Michalska J., Dudło A., Krzemiński P., Ribeiro A.L., Nowak B., et al. Soil application potential of post-sorbents produced by co-sorption of humic substances and nutrients from sludge anaerobic digestion reject water // *Journal of Environmental Management*. 2024. Vol. 370. P. 122465. DOI: 10.1016/j.jenvman.2024.122465.
6. Jadlovac M., Honus S., Čespiva J. Pyrolysis solid product as a sorbent for flue gases mercury capture – Part II: Sorbent utilization // *Environmental Technology & Innovation*. 2024. Vol. 35. P. 103678. DOI: 10.1016/j.eti.2024.103678.
7. Xiong J., Zhang J., Du J., He C., Zhang Z., Yang Z., et al. Native corn-cob-derived biosorbent with grafted 1,3,4-thiadiazole for enhanced adsorption of palladium in metallurgical wastewater // *Journal of Colloid and Interface Science*. 2025. Vol. 681. P. 292–304. DOI: 10.1016/j.jcis.2024.11.157.
8. Robinson J.P., Kingman S.W., Barranco R., Snape C.E., Al-Sayegh H. Microwave pyrolysis of wood pellets // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2010. Vol. 49, no. 2. P. 459–463. DOI: 10.1021/ie901336k.

¹Орлов Д.С., Гришина Л.А. Практикум по химии гумуса: учеб. пособие для студентов. М.: Изд-во МГУ, 1981. 273 с.

9. Do Nascimento V.R., dos Santos M.B., Diehl L., Paniz J.N.G., de Castilhos F., Bizzi C.A. Microwave-assisted pyrolysis of pine wood waste: system development, bio-fuels production, and characterization // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2024. Vol. 183. P. 106799. DOI: 10.1016/j.jaap.2024.106799.

10. Undri A., Abou-Zaid M., Briens C., Berruti F., Rosi L., Bartoli M., et al. Bio-oil from pyrolysis of wood pellets using a microwave multimode oven and different microwave absorbers // *Fuel*. 2015. Vol. 153. P. 464–482. DOI: 10.1016/j.fuel.2015.02.081.

11. Aichholzer A., Schuberth C., Mayer H., Arthaber H. Microwave testing of moist and oven-dry wood to evaluate grain angle, density, moisture content and the dielectric constant of spruce from 8 GHz to 12 GHz // *European Journal of Wood and Wood Products*. 2018. Vol. 76. P. 89–103. DOI: 10.1007/s00107-017-1203-x.

12. Salema A.A., Afzal M.T., Bennamoun L. Pyrolysis of corn stalk biomass briquettes in a scaled-up microwave technology // *Bioresource Technology*. 2017. Vol. 233. P. 353–362. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.02.113.

13. De la Hoz A., Díaz-Ortiz Á., Moreno A. Microwaves in organic synthesis. Thermal and non-thermal microwave effects // *Chemical Society Reviews*. 2005. Vol. 34, no. 2. P. 164–178. DOI: 10.1039/B411438H.

14. Zhang X., Hayward D.O., Mingos D.M.P. Apparent equilibrium shifts and hot-spot formation for catalytic reactions induced by microwave dielectric heating // *Chemical Communications*. 1999. Vol. 11. P. 975–976. DOI: 10.1039/a901245a.

15. Ramirez A., Hueso J.L., Mallada R., Santamaria J. *In situ* temperature measurements in microwave-heated

gas-solid catalytic systems. Detection of hot spots and solid-fluid temperature gradients in the ethylene epoxidation reaction // *Chemical Engineering Journal*. 2017. Vol. 316. P. 50–60. DOI: 10.1016/j.cej.2017.01.077.

16. Habouria M., Ouertani S., Mansour N.B., Azzouz S., Elaieb M.T. Influence of microwave power and heating time on the drying kinetics and mechanical properties of *Eucalyptus gomphocephala* wood // *Frontiers in Heat and Mass Transfer*. 2025. Vol. 23, no. 1. P. 345–360. DOI: 10.32604/fhmt.2024.057387.

17. Xing X., Li S., Jin J., Wang Z., Fu F. Effects of high-intensity microwave (HIMW) treatment on mechanical properties and bending failure mechanisms of radiata pine (*Pinus Radiata* D. Don) // *Wood Science and Technology*. 2024. Vol. 58. P. 2073–2096. DOI: 10.1007/s00226-024-01601-x.

18. Colom X., Carrillo F. Comparative study of wood samples of the northern area of catalonia by FTIR // *Journal of Wood Chemistry and Technology*. 2005. Vol. 25, no. 1–2. P. 1–11. DOI: 10.1081/WCT-200058231.

19. Pandey K.K. A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy // *Journal of Applied Polymer Science*. 1999. Vol. 71, no. 12. P. 1969–1975. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4628(19990321)71:12<1969::AID-APP6>3.0.CO;2-D.

20. Пожидаев В.М., Ретивов В.М., Панарина Е.И., Сергеева Я.Э., Жданович О.А., Яцишина Е.Б. Разработка метода идентификации породы древесины в археологических материалах методом ИК-спектроскопии // *Журнал аналитической химии*. 2019. Т. 74. N 12. С. 911–921. DOI: 10.1134/s00444450219120107. EDN: GBSFCS.

REFERENCES

1. Moreira G.D.O., Costa G.F., Cavalcante R.M., Young A.F. Process simulation and economic evaluation of pyrolysis and hydrothermal liquefaction as alternatives for the valorization of wood waste from the pulp and paper industry. *Energy Conversion and Management*. 2025;325:119387. DOI: 10.1016/j.enconman.2024.119387.

2. Marchenko O., Solomin S., Kozlov A., Shamanskiy V., Donskoy I. Economic efficiency assessment of using wood waste in cogeneration plants with multi-stage gasification. *Applied Sciences*. 2020;10(21):7600. DOI: 10.3390/app10217600.

3. Inari G.N., Pétrissans M., Pétrissans A., Gérardin P. Elemental composition of wood as a potential marker to evaluate heat treatment intensity. *Polymer Degradation and Stability*. 2009;94(3):365–368. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2008.12.003.

4. Masfuri I., Amrullah A., Farobie O., Anggoro T., Rian S. F., Prabowo W., et al. Temperature effects on chemical reactions and product yields in the co-pyrolysis of wood sawdust and waste tires: an experimental investigation. *Results in Engineering*. 2024;23:102638. DOI: 10.1016/j.rineng.2024.102638.

5. Turek-Szytow J., Michalska J., Dudło A., Krzemiński P., Ribeiro A.L., Nowak B., et al. Soil application potential of post-sorbents produced by co-sorption of humic substances and nutrients from sludge anaerobic digestion reject water. *Journal of Environmental Management*. 2024;370:122465. DOI: 10.1016/j.jenvman.2024.122465.

6. Jadlovec M., Honus S., Čespiva J. Pyrolysis solid

product as a sorbent for flue gases mercury capture – Part II: Sorbent utilization. *Environmental Technology & Innovation*. 2024;35:103678. DOI: 10.1016/j.eti.2024.103678.

7. Xiong J., Zhang J., Du J., He C., Zhang Z., Yang Z., et al. Native corn-cob-derived biosorbent with grafted 1,3,4-thiadiazole for enhanced adsorption of palladium in metallurgical wastewater. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2025;681:292–304. DOI: 10.1016/j.jcis.2024.11.157.

8. Robinson J.P., Kingman S.W., Barranco R., Snape C.E., Al-Sayegh H. Microwave pyrolysis of wood pellets. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2010;49(2):459–463. DOI: 10.1021/ie901336k.

9. Do Nascimento V.R., dos Santos M.B., Diehl L., Paniz J.N.G., de Castilhos F., Bizzi C.A. Microwave-assisted pyrolysis of pine wood waste: system development, biofuels production, and characterization. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2024;183:106799. DOI: 10.1016/j.jaap.2024.106799.

10. Undri A., Abou-Zaid M., Briens C., Berruti F., Rosi L., Bartoli M., et al. Bio-oil from pyrolysis of wood pellets using a microwave multimode oven and different microwave absorbers. *Fuel*. 2015;153:464–482. DOI: 10.1016/j.fuel.2015.02.081.

11. Aichholzer A., Schuberth C., Mayer H., Arthaber H. Microwave testing of moist and oven-dry wood to evaluate grain angle, density, moisture content and the dielectric constant of spruce from 8 GHz to 12 GHz. *European Journal of Wood and Wood Products*. 2018;76:89–103. DOI: 10.1007/s00107-017-1203-x.

12. Salema A.A., Afzal M.T., Bennamoun L. Pyrolysis of corn stalk biomass briquettes in a scaled-up microwave technology. *Bioresource Technology*. 2017;233:353-362. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.02.113.

13. De la Hoz A., Díaz-Ortiz Á., Moreno A. Microwaves in organic synthesis. Thermal and non-thermal microwave effects. *Chemical Society Reviews*. 2005;34(2):164-178. DOI: 10.1039/B411438H.

14. Zhang X., Hayward D.O., Mingos D.M.P. Apparent equilibrium shifts and hot-spot formation for catalytic reactions induced by microwave dielectric heating. *Chemical Communications*. 1999;11:975-976. DOI: 10.1039/a901245a.

15. Ramirez A., Hueso J.L., Mallada R., Santamaria J. *In situ* temperature measurements in microwave-heated gas-solid catalytic systems. Detection of hot spots and solid-fluid temperature gradients in the ethylene epoxidation reaction. *Chemical Engineering Journal*. 2017;316:50-60. DOI: 10.1016/j.cej.2017.01.077.

16. Habouria M., Ouertani S., Mansour N.B., Azzouz S., Elaieb M.T. Influence of microwave power and heating time on the drying kinetics and mechanical properties of *Eucalyptus gomphocephala* wood. *Frontiers in Heat*

and Mass Transfer. 2025;23(1):345-360. DOI: 10.32604/fhmt.2024.057387.

17. Xing X., Li S., Jin J., Wang Z., Fu F. Effects of high-intensity microwave (HIMW) treatment on mechanical properties and bending failure mechanisms of radiata pine (*Pinus Radiata* D. Don). *Wood Science and Technology*. 2024;58:2073-2096. DOI: 10.1007/s00226-024-01601-x.

18. Colom X., Carrillo F. Comparative study of wood samples of the northern area of catalonia by FTIR. *Journal of Wood Chemistry and Technology*. 2005;25(1-2):1-11. DOI: 10.1081/WCT-200058231.

19. Pandey K.K. A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy. *Journal of Applied Polymer Science*. 1999;71(12):1969-1975. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4628(19990321)71:12<1969::AID-APP6>3.0.CO;2-D.

20. Pozhidaev V.M., Retivov V.M., Panarina E.I., Sergeeva Y.E., Zhdanovich O.A., Yatsishina E.B. Development of a method for identifying wood species in archaeological materials by IR spectroscopy. *Zhurnal analiticheskoi khimii*. 2019;74(12):911-921. (In Russian). DOI: 10.1134/S0044450219120107. EDN: GBSFCS.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Алыева Алиса Биняминовна,

к.х.н.,
научный сотрудник,
Институт прикладной физики
им. А.В. Гапонова-Грехова РАН,
603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
доцент,
Нижегородский государственный т
ехнический университет им. Р.Е. Алексеева,
603155, г. Нижний Новгород, ул. Минина, 24,
Российская Федерация,
a.alieva@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3749-7738>

Ананичева Светлана Андреевна,

младший научный сотрудник,
Институт прикладной физики
им. А.В. Гапонова-Грехова РАН,
603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
bulanova@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4008-3328>

Крапивницкая Татьяна Олеговна,

к.т.н., научный сотрудник,
Институт прикладной физики
им. А.В. Гапонова-Грехова РАН,
603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
✉ kto@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4020-7482>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Alisa B. Alyeva,

Cand. Sci. (Chemistry),
Researcher,
A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics
of the Russian Academy of Sciences,
46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950,
Russian Federation,
Associate Professor,
Nizhny Novgorod State Technical University,
24, Minin St., Nizhny Novgorod, 603155,
Russian Federation,
a.alieva@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3749-7738>

Svetlana A. Ananicheva,

Junior Researcher,
A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics
of the Russian Academy of Sciences,
46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950,
Russian Federation,
bulanova@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4008-3328>

Tatiana O. Krapivnitckaia,

Cand. Sci. (Engineering), Researcher,
A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics
of the Russian Academy of Sciences,
46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950,
Russian Federation,
✉ kto@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4020-7482>

Денисенко Андрей Николаевич,

ведущий конструктор,
Институт прикладной физики
им. А.В. Гапонова-Грехова РАН,
603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
androu@ipfran.ru
<https://orcid.org/0009-0002-2765-252X>

Ананичев Андрей Алексеевич,

младший научный сотрудник,
Институт прикладной физики
им. А.В. Гапонова-Грехова РАН,
603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
a0810@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6503-9454>

Преображенский Евгений Игоревич,

младший научный сотрудник,
Институт прикладной физики
им. А.В. Гапонова-Грехова РАН,
603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
evgenypr@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7441-6354>

Широков Дмитрий Алексеевич,

ассистент,
Нижегородский государственный
технический университет им. Р.Е. Алексеева,
603155, г. Нижний Новгород, ул. Минина, 24,
Российская Федерация,
dima.shirokov.99@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2012-8621>

Глявин Михаил Юрьевич,

д.ф.-м.н., заместитель директора учреждения
по научной работе, заведующий отделом,
Институт прикладной физики
им. А.В. Гапонова-Грехова РАН,
603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
glyavin@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7896-9212>

Песков Николай Юрьевич,

д.ф.-м.н., профессор РАН,
заведующий лабораторией,
Институт прикладной физики
им. А.В. Гапонова-Грехова РАН,
603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46,
Российская Федерация,
peskov@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4319-3562>

Andrey N. Denisenko,

Leading Designer,
A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics
of the Russian Academy of Sciences,
46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950,
Russian Federation,
androu@ipfran.ru
<https://orcid.org/0009-0002-2765-252X>

Andrey A. Ananichev,

Junior Researcher,
A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics
of the Russian Academy of Sciences,
46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950,
Russian Federation,
a0810@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6503-9454>

Evgenii I. Preobrazhensky,

Junior Researcher,
A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics
of the Russian Academy of Sciences,
46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950,
Russian Federation,
evgenypr@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7441-6354>

Dmitry A. Shirokov,

Assistant,
Nizhny Novgorod State Technical University,
24, Minin St., Nizhny Novgorod, 603155,
Russian Federation,
dima.shirokov.99@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2012-8621>

Mikhail Yu. Glyavin,

Dr. Sci. (Physics & Mathematics),
Deputy Director for Research, Head of Department,
A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics
of the Russian Academy of Sciences,
46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950,
Russian Federation,
glyavin@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7896-9212>

Nikolai Yu. Peskov,

Dr. Sci. (Physics & Mathematics),
Professor of Russian Academy of Sciences,
Head of Laboratory,
A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics
of the Russian Academy of Sciences,
46, Ulyanov St., Nizhniy Novgorod, 603950,
Russian Federation,
peskov@ipfran.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4319-3562>

Вклад авторов

А.Б. Алыева – проведение исследования, написание черновика рукописи.
С.А. Ананичева – проведение исследования, валидация результатов, визуализация.
Т.О. Крапивницкая – проведение исследования, редактирование рукописи.
А.Н. Денисенко – предоставление ресурсов, проведение исследования.
А.А. Ананичев – проведение исследования.
Е.И. Преображенский – курирование данных, проведение исследования.
Д.А. Широков – формальный анализ, проведение исследования.
М.Ю. Глявин – административное руководство исследовательским проектом.
Н.Ю. Песков – разработка концепции.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 24.04.2025.
Одобрена после рецензирования 09.09.2025.
Принята к публикации 29.10.2025.

Contribution of the authors

Alisa B. Alyeva – investigation, writing – original draft.
Svetlana A. Ananicheva – investigation, validation, visualization.
Tatiana O. Krapivnitckaia – investigation, editing.
Andrey N. Denisenko – resources, investigation.
Andrey A. Ananichev – investigation.
Evgenii I. Preobrazhensky – data curation, investigation.
Dmitry A. Shirokov – formal analysis, investigation.
Mikhail Yu. Glyavin – project administration.
Nikolai Yu. Peskov – conceptualization.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 24.04.2025.
Approved after reviewing 09.09.2025.
Accepted for publication 29.10.2025.



Покрyтия на основе масел для регулирования скорости высвобождения питательных веществ

А.Г. Липин✉, А.А. Липин

Ивановский государственный химико-технологический университет,
Иваново, Российская Федерация

Аннотация. Капсулирование минеральных удобрений является одним из наиболее эффективных способов снижения потерь питательных веществ. Для получения защитных покрытий на поверхности гранул удобрений используется широкий спектр природных и синтетических полимеров. Главный недостаток синтетических полимеров заключается в их накоплении в почве, так как они не подвергаются биодеструкции. Одним из путей обеспечения биоразлагаемости является применение в качестве материалов покрытий полимеров на основе растительных масел. В данной работе использовались льняное и тунговое масла. Масло посредством пневматической форсунки наносилось на движущийся слой гранул в тарельчатом грануляторе. Защитное покрытие формировалось посредством полимеризации масла непосредственно на поверхности частиц. Процесс ускорялся путем нагрева горячим воздухом и введением в масло марганцевого сиккатива. Были получены образцы капсулированного карбамида с содержанием покрытия 7 и 10%. Исследована кинетика высвобождения карбамида из полученных капсул в водной среде в статических условиях. Для обоих видов масел кривые выделения имеют S-образный характер. Продолжительность действия капсулированного удобрения возрастает с увеличением массовой доли покрытия и, как следствие, толщины оболочки. Сравнительный анализ показал, что барьерные свойства покрытия на основе тунгового масла значительно лучше, чем на основе льняного. При массовой доле оболочки 10% время высвобождения 80% карбамида составляет 14 дней для льняного масла и 56 дней, то есть в 4 раза больше, для тунгового масла.

Ключевые слова: капсулирование, карбамид, полимеризация, растительные масла, кинетика растворения

Благодарности. В работе использовано оборудование Центра коллективного пользования Ивановского государственного химико-технологического университета (г. Иваново, Россия).

Для цитирования: Липин А.Г., Липин А.А. Покрyтия на основе масел для регулирования скорости высвобождения питательных веществ // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 582–589. DOI: 10.21285/achb.1008. EDN: AOCZMT.

CHEMICAL TECHNOLOGY

Original article

Oil-based coatings for controlled nutrient release

Aleksandr G. Lipin✉, Andrey A. Lipin

Ivanovo State University of Chemistry and Technology, Ivanovo, Russian Federation

Abstract. Encapsulation of mineral fertilizers is one of the most effective ways to reduce nutrient losses. In order to obtain protective coatings on the surface of fertilizer granules, a wide range of natural and synthetic polymers is used. The main disadvantage of synthetic polymers lies in their accumulation in soil due to their inability to biodegrade. One way to ensure biodegradability is to use vegetable oil polymers as coating materials. The present study used linseed and tung oils, which were applied to the moving layer of granules in a pan granulator by means of a pneumatic atomizer. The protective coating was formed through the polymerization of oil directly on the particle

surface. The process was accelerated via hot-air heating and the addition of a manganese drier to the oil. As a result, encapsulated carbamide samples with 7% and 10% coating contents were obtained. The study analyzed the kinetics of carbamide release from the obtained capsules in aqueous medium under static conditions. For both types of oil, the release curves are S-shaped. The duration of encapsulated fertilizer effect increases at a greater coating mass fraction and, therefore, capsule thickness. A comparative analysis showed that the barrier properties of tung oil-based coatings are significantly better than those of linseed oil-based coatings. At a capsule mass fraction of 10%, it takes 14 days for 80% of carbamide to be released in the case of linseed oil and 56 days in the case of tung oil, i.e., four times longer.

Keywords: encapsulation, carbamide, polymerization, vegetable oils, dissolution kinetics

Acknowledgment. The study was carried out using the equipment of the Center for Collective Use, Ivanovo State University of Chemistry and Technology (Ivanovo, Russia).

For citation: Lipin A.G., Lipin A.A. Oil-based coatings for controlled nutrient release. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):582-589. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1008. EDN: AOCZMT.

ВВЕДЕНИЕ

Достижение высоких урожаев в растениеводстве невозможно без интенсивного применения минеральных удобрений. Вместе с тем в общемировом масштабе возникает проблема чрезмерного использования удобрений, прежде всего азотных. Количество азота, вносимого на сельскохозяйственные угодья, часто превышает фактическую потребность сельскохозяйственных культур, а неиспользованный азот удаляется либо путем выщелачивания, денитрификации, либо путем испарения [1]. Таким образом, более 50% азота расходуется впустую, что является причиной загрязнения подземных горизонтов и озер, усиливает выбросы парниковых газов и эвтрофикацию водоемов [2]. Имеются данные о том, что в 2012 году уровень потерь азотных удобрений в Китае составлял не менее 60% [3].

Чтобы повысить эффективность использования азотных удобрений, исследователи разработали удобрения с замедленным или контролируемым высвобождением. К примеру, капсулированное удобрение является одним из наиболее эффективных способов снижения потерь питательных веществ. Для контроля скорости выделения питательных веществ на гранулы удобрения наносится слой малорастворимого или нерастворимого неорганического вещества или органического полимера [4, 5].

К неорганическим материалам относятся сера, фосфаты кальция и магния, глина, цеолиты, аттапульгит, гипс, биоуголь, зола, бентонит, тальк, оксид магния, силикаты. Эти вещества доступны в больших количествах, имеют низкую стоимость, разрушают в почве, не загрязняют окружающую среду, снабжают растения различными микроэлементами. В качестве недостатков неорганических покрытий можно выделить низкую адгезию, наличие значительного количества дефектов, недостаточное замедление высвобождения питательных веществ, то, что покрытие легко повреждается и в производственном процессе обычно используются вещества, заживляющие дефекты (парафин, гудрон, стеариновая кислота, воск, полиуретан) [6].

Органические материалы покрытий можно разделить на три группы: природные полимеры, синтетические полимеры и химически модифицированные природные полимеры. Природными полимерами являются натуральный каучук, гуммиарабик, желатин, альгинат натрия, целлюлоза, лигнин, крахмал, гуминовая кислота, хитозан, канифоль, растительные масла, смола, полисахариды,

гуаровая камедь, латекс, парафин, асфальт. К достоинствам природных полимеров можно отнести широкий спектр возобновляемых источников, легкое биоразложение, экологическую безопасность. Основным недостатком покрытий из этих материалов, в свою очередь, можно назвать недостаточные барьерные свойства. Наиболее распространенными синтетическими полимерами, являющимися материалами покрытий, являются полиэтилен, поливинилхлорид, полипропилен, поливиниловый спирт, полипропиленфталамид, полиуретаны, алкидные смолы, мочевино-формальдегидные смолы, полиамиды, полисульфоны. Эти полимеры позволяют получить тонкое и равномерное покрытие, имеющее хорошую прочность и эластичность, высокую стойкость к истиранию, профиль выделения питательных веществ у них соответствует потребности сельскохозяйственных культур в удобрениях. Недостатками являются высокая стоимость, низкая способность к биодеструкции, загрязнение окружающей среды. К полусинтетическим полимерам относятся натрийметилцеллюлоза, этилцеллюлоза, ацетат целлюлозы, ацетат крахмала, сшитый крахмал. Эти материалы биоразлагаемы в почве, но покрытия из них не обеспечивают существенного замедления выделения питательных веществ [7].

Одним из натуральных полимерных материалов является пленочное покрытие на основе растительных масел. Их можно использовать в качестве материала для покрытия по следующим причинам: во-первых, масло обладает пленкообразующим свойством; во-вторых, сам материал обладает адгезивным эффектом; в-третьих, растительное масло может придавать гидрофобность благодаря длинной алкильной цепи жирных кислот.

Использование растительных масел для получения защитных покрытий гранул минеральных удобрений осуществляется различными способами. Натуральная масляная оболочка может формироваться из оригинального масла, смеси масла с другими веществами или из продукта, полученного окислением или эпоксидированием растительных масел. Растительные масла состоят в основном из триглицеридов с цепочками жирных кислот, которые определяют большую часть химических и физических свойств растительных масел [8].

Второй путь использования биомасла в качестве основы материала для покрытий – получение полиола. Растительные масла содержат определенное количество высокоактивных двойных связей, поэтому из них можно получать различные промежуточные продукты путем

алкоголиза, эпоксидирования, полимеризации, сополимеризации, присоединения с размыканием цикла и другими способами [9]. Полиол – очень важный промежуточный материал [10]. По сравнению с традиционными синтетическими полиолами полиолы растительного масла обладают преимуществами, заключающимися в том, что они биоразлагаемы и имеют возобновляемые источники сырья. Однако у них также есть недостатки, связанные с низкой степенью конверсии и высокой стоимостью производства. Приготовление полиолов на основе растительного масла, как правило, можно разделить на две стадии: эпоксидирование и гидроксирование. Эпоксидирование – это процесс, в ходе которого олефины вступают в реакцию с образованием эпоксидов под действием реагентов. Обычно используемые для эпоксидирования реагенты включают надуксусную кислоту, пероксибензойную кислоту и хлорпероксибензойную кислоту. Получаемое в результате эпоксидированное растительное масло обладает высокой реакционной способностью и легко гидроксится с образованием полиолов, играющих роль нуклеофилов. Большинство полиолов на биологической основе получают путем эпоксидирования или переэтерификации масла, а затем реакции размыкания кольца со спиртами и глицерином. Кроме того, распространенные методы гидроксирования включают метод присоединения водорода, метод раскрытия протонового кислотного кольца, метод раскрытия спирто-аминного кольца, метод катализа переходными металлами, метод алкоголиза, метод аммонолиза и т.д. С. Саху и др. [11] показали, что полиолы на основе касторового масла могут естественным образом разлагаться в условиях нахождения в почве.

Третий способ применения растительных масел заключается в создании покрытий из полиуретанов, полученных на биологической основе. Полиуретан – это разновидность высокомолекулярного полимера, содержащего повторяющуюся карбаматную структуру (-NHCOO-) в основной цепи. Полиуретан обладает многими преимуществами, такими как хорошая прочность, отличная эластичность, стойкость к истиранию, стойкость к растворителям, коррозионная стойкость и устойчивость к старению. Обычно он используется в качестве материала покрытия для удобрений с медленным высвобождением [12–14]. Полиуретан в основном синтезируется путем взаимодействия полиольного соединения (R-OH) и изоцианата (R-N=C=O), включая мягкий сегмент (SS) и твердый сегмент (HS) с различными химическими свойствами [15–17]. SS представляет собой гибкую неполярную цепь, полученную из сложного полиэфира или полиэфирполиола, в то время как HS представляет собой жесткую полярную цепь, образованную в результате реакции между изоцианатом и наполнителем цепи. Полиолы на биологической основе, полученные из растительных масел, также могут быть использованы для получения полиуретана [18]. Полиуретан на биологической основе может образовывать тонкую пленку на поверхности частиц удобрений. Пленка получается плотной и однородной,

и после растягивания не остается повреждений или разрывов. Для получения полимеров на биологической основе используются различные растительные масла, такие как льняное, пальмовое, рапсовое, кокосовое, сафлоровое, подсолнечное, табачное, кукурузное, хлопковое, соевое масло и масло анемоны [19].

Состав и свойства растительных масел существенно различаются. Их принято делить на три группы: высыхающие, полувсыхающие и не высыхающие. Высыхающие масла (конопляное, льняное, тунговое) окисляются на воздухе и образуют гладкие прозрачные смолоподобные эластичные пленки, не растворимые в органических растворителях; полувсыхающие масла (кукурузное, маковое, подсолнечное, соевое) медленно образуют мягкие липкие пленки; не высыхающие масла (арахисовое, горчичное, какао-масло, пальмовое, пальмоядровое, оливковое, рапсовое) не образуют пленок и не загустевают при нагревании.

Известно, что отверждение масляной пленки протекает по механизму окислительной полимеризации [20]. Высыхающая способность, скорость ее протекания и качество образующихся полимерных пленок определяются молекулярным строением масла, зависят от количества двойных связей в молекулах и их взаимного положения. Наличие двойных связей и «правильное» строение молекул являются необходимым условием для формирования прочной пленки при высыхании масел.

Для ускорения высыхания в масла вводят вспомогательные вещества – сиккативы, которые являются катализаторами окислительной полимеризации растительных масел¹. В качестве сиккативов могут использоваться соли кобальта, марганца, циркония, бария, свинца, кальция и другие.

Цель проведенного исследования заключалась в получении гранул минерального удобрения с покрытием на основе растительных масел и оценке влияния толщины слоя покрытия и вида масла на кинетику выделения питательных веществ из капсулированных гранул.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Капсулировался гранулированный карбамид производства АО «Акрон» (Россия). В качестве пленкообразующих веществ использовались тунговое масло и оксидированное льняное масло. Для ускорения высыхания масляной пленки вводился марганцевый сиккатив в количестве 5% от массы масла.

Получение гранул пролонгированного действия осуществлялось в тарельчатом грануляторе. Диаметр тарелки лабораторного гранулятора составлял 200 мм, высота борта – 70 мм. Угол наклона тарелки – 60°, скорость вращения – 45 мин⁻¹. Диспергирование пленкообразующего вещества осуществлялось пневматической форсункой. Давление воздуха – 1,5 бар. С помощью тепловой пушки температура гранул на тарелке гранулятора поддерживалась в диапазоне 60–70 °С.

Процесс проводился в периодическом режиме. На тарелку гранулятора загружалась навеска гранулированного карбамида массой 100 г. С помощью тепловой пушки осуществлялся предварительный нагрев гранул.

¹Крутько Э.Т., Прокопчук Н.Р. Технология и оборудование лакокрасочного производства: учеб. пособие. Минск: Изд-во БГТУ, 2005. 446 с.

Затем на гранулы с помощью форсунки наносился 1 мл масла, после чего делалась пауза в подаче пленкообразующего вещества, в течение которой происходило отверждение масляной пленки. При этом гранулы перекачивались на тарелке и обдувались горячим воздухом. Такая обработка гранул повторялась несколько раз до достижения запланированной массы покрытия на навеске гранул.

По микрофотографиям разреза капсулированных гранул, выполненных на электронном микроскопе, определялась толщина слоя покрытия. Сканирующая электронная микроскопия срезов капсулированных гранул проводилась на микроскопе Tescan Vega3 (Tescan, Чехия).

Экспериментальное исследование кинетики выделения питательных веществ из гранул карбамида с масляным покрытием проводилось в водной среде в статическом режиме. В закрытые емкости, содержащие 50 мл дистиллированной воды, помещались навески 5 г капсулированных гранул и выдерживались при температуре 20–23 °С. Колебание температуры в пределах 3 °С не оказывало заметного влияния на кинетику высвобождения карбамида из капсулированных гранул. С определенной периодичностью из этих емкостей отбирались пробы раствора карбамида для измерения его концентрации. Отбираемый объем, составляющий 1 мл, заменялся дистиллированной водой. Концентрация карбамида в растворе определялась рефрактометрическим методом. Применялся рефрактометр марки ИРФ-454 Б2М (АО «Казанский оптико-механический завод», Россия). Значения показателя преломления раствора, измеренные на рефрактометре, по калибровочному графику переводились в значения

массовой концентрации карбамида в растворе. Для построения зависимости показателя преломления раствора карбамида от его концентрации предварительно были определены значения показателя преломления у растворов карбамида известных концентраций. Значения степени выделения карбамида из капсулированных гранул находились как отношение текущей концентрации раствора карбамида к его максимальной концентрации, достижимой при полном растворении ядра гранулы.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На рис. 1 и 2 приведены микрофотографии разреза капсулированных гранул с оболочками на основе льняного и тунгового масла, сделанные при разной степени увеличения. На этих снимках видно, что оболочка целиковая и равномерная, плотная и непористая. Измерение толщины оболочки показало, что отклонение значения толщины от среднего значения в разных ее точках составляет не более 10 мкм.

На рис. 3 и 4 представлены экспериментальные данные по кинетике выделения карбамида из гранул с масляным покрытием в воде.

Для обоих видов масел кривые выделения имеют S-образный характер. Имеется период задержки выделения (индукционный), во время которого происходит пропитка слоя покрытия водой. В этот период отсутствует перенос целевого компонента через слой покрытия. Данный процесс продолжается до достижения на внутренней поверхности пленки концентрации воды, соответствующей ее объемной доле в насыщенном растворе. Во второй период процесса выделения, когда на внутренней поверхности

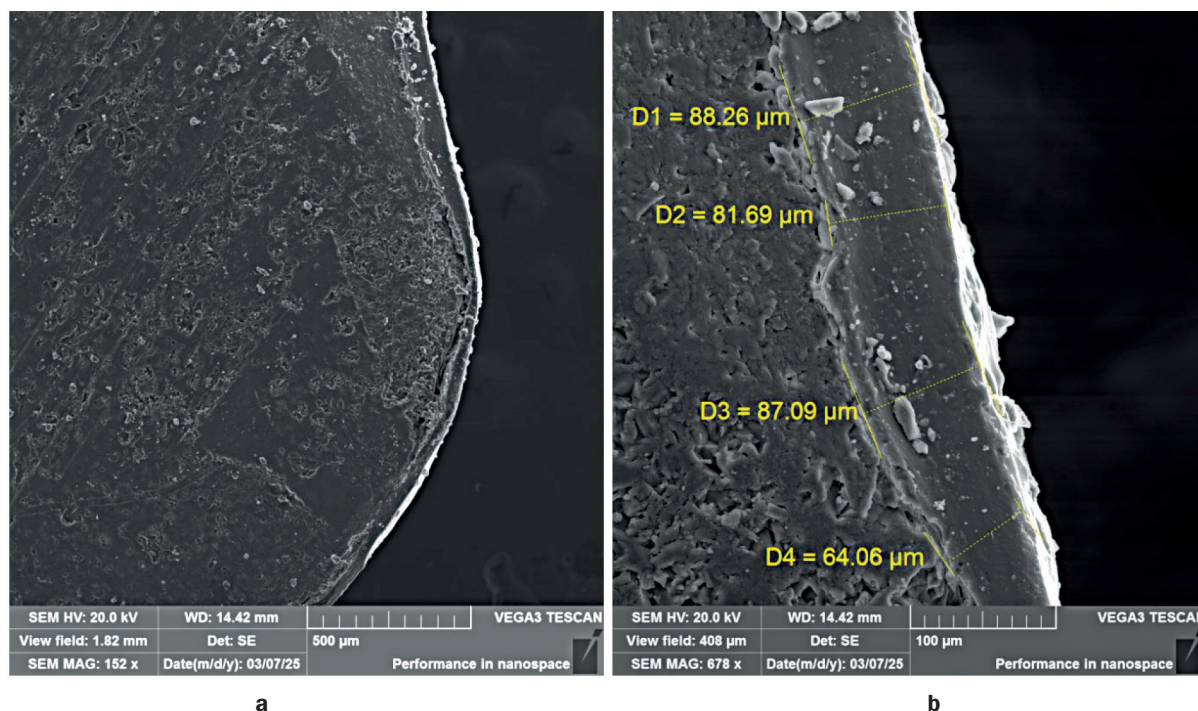


Рис. 1. Микрофотографии капсулированных гранул карбамида в разрезе с покрытием на основе льняного масла: а – увеличение 152×; б – увеличение 678×

Fig. 1. Scanning electron microscope images of cross section of encapsulated urea granules with linseed oil-based coating: а – magnification 152×; б – magnification 678×

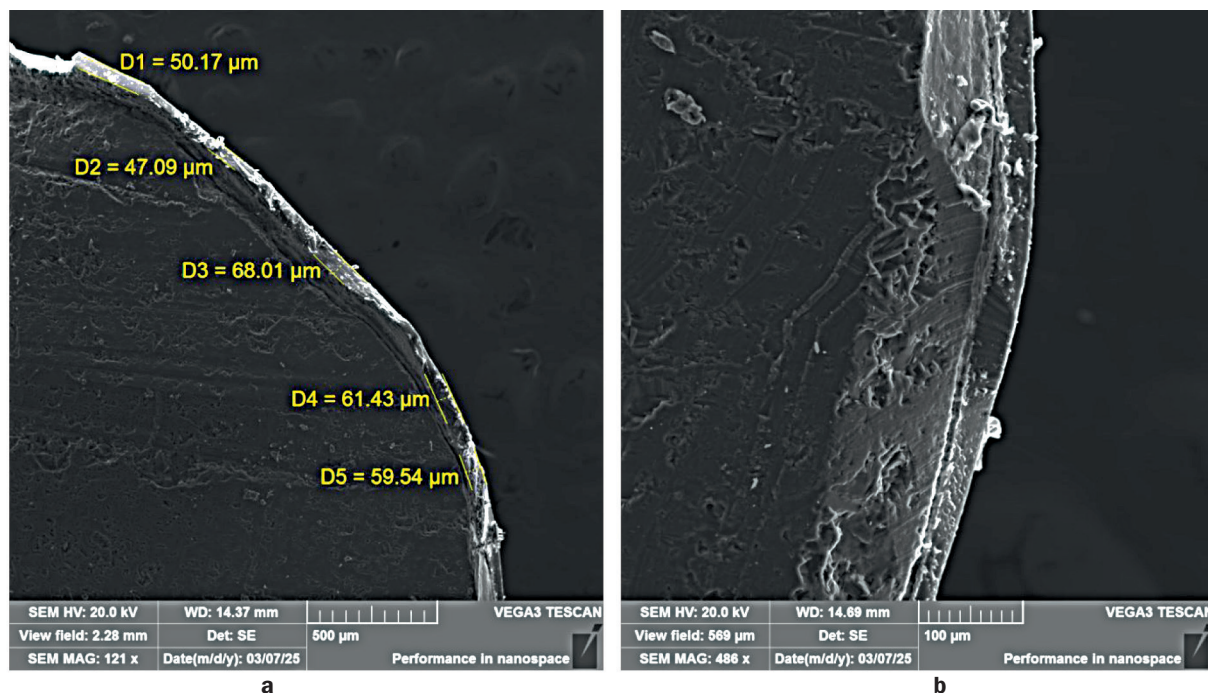


Рис. 2. Микрофотографии капсулированных гранул карбамида в разрезе с покрытием на основе тунгового масла:
 а – увеличение 121×; б – увеличение 486×

Fig. 2. Scanning electron microscope images of cross section of encapsulated urea granules with tung oil-based coating:
 а – magnification 121×; б – magnification 486×

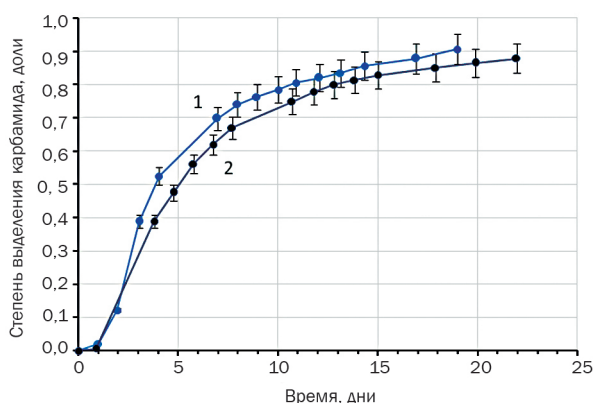


Рис. 3. Зависимость степени выделения карбамида из гранул, покрытых льняным маслом, от времени (массовая доля покрытия: 1 – 7%; 2 – 10%)

Fig. 3. Urea release curves from granules coated with linseed oil (mass fraction of coating: 1 – 7%; 2 – 10%)

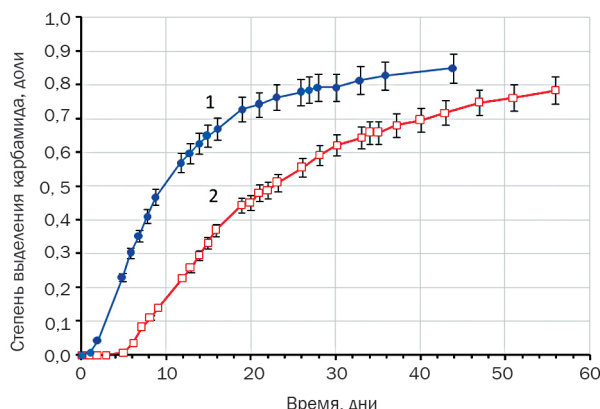


Рис. 4. Зависимость степени выделения карбамида из гранул, покрытых тунговым маслом, от времени (массовая доля покрытия: 1 – 6,2%; 2 – 10%)

Fig. 4. Urea release curves from granules coated with tung oil (mass fraction of coating: 1 – 6.2%, 2 – 10%)

покрытия образуется пленка насыщенного раствора, начинается диффузия целевого компонента через слой покрытия. При этом диффузия воды внутрь гранулы продолжается. В этот период происходит растворение твердого ядра. Вокруг твердого ядра растет слой насыщенного раствора целевого компонента. Третий период процесса наступает после полного растворения ядра. В этот период концентрация раствора внутри капсулы снижается с течением времени, что приводит к уменьшению движущей силы массопереноса и замедлению процесса выделения целевого компонента из капсулы.

Индукционный период при массовой доле покрытия 10% у тунгового масла в 5 раз больше, чем у льняного: 5 дней против 1 дня. Продолжительность действия капсулированного удобрения возрастает с увеличением массовой доли покрытия и, как следствие, толщины оболочки. Для гранул с покрытием на основе льняного масла время выделения 80% карбамида возрастает с 10 до 14 дней при увеличении массовой доли покрытия с 7 до 10%. Для гранул с покрытием на основе тунгового масла время высвобождения 80% карбамида возрастает с 30 до 56 дней при увеличении массовой доли покрытия с 6,2 до 10%. Сравнительный анализ графиков, изобра-

женных на рис. 3 и 4, показывает, что барьерные свойства покрытия на основе тунгового масла значительно лучше, чем на основе льняного. Например, при массовой доле оболочки 10% время высвобождения 80% карбамида составляет 14 дней для льняного масла и 56 дней (то есть в 4 раза больше) для тунгового масла.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что растительные масла могут использоваться в качестве материала для покрытия минеральных удобрений с целью придания им свойства регулируемого высвобождения питательных веществ. Растительные масла легкодоступны, безвредны для окружающей среды, возобновляемы, обладают высокой гидрофобностью и могут разлагаться микроорганизмами в природе. Однако из-за неоднородности растительных масел

необходимо проводить рафинирование, очистку и модифицирование для оптимизации пленкообразующих свойств.

Диффузионная проницаемость материалов покрытий, полученных из растительных масел, существенно различается. Так, время высвобождения 80% карбамида из гранул с покрытием на основе тунгового масла в четыре раза больше по сравнению с покрытием равной толщины на основе льняного масла, что свидетельствует о меньшей диффузионной проницаемости покрытия на основе тунгового масла. Требуется дальнейшие исследования с целью поиска способов модификации растительных масел, направленной на повышение реакционной и пленкообразующей способности растительных масел, что будет способствовать улучшению барьерных свойств материалов покрытий, полученных на их основе.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Gamage A., Basnayake B., De Costa J.D., Merah O. Effects of rice husk biochar coated urea and anaerobically digested rice straw compost on the soil fertility, and cyclic effect of phosphorus // *Plants*. 2022. Vol. 11, no. 1. P. 75. DOI: 10.3390/plants11010075.
2. Zhu Z.L., Chen D.L. Nitrogen fertilizer use in China – contributions to food production, impacts on the environment and best management strategies // *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 2002. Vol. 63. P. 117–127. DOI: 10.1023/A:1021107026067.
3. Huang J., Huang Z., Jia X., Hu R., Xiang C. Long-term reduction of nitrogen fertilizer use through knowledge training in rice production in China // *Agricultural Systems*. 2015. Vol. 135. P. 105–111. DOI: 10.1016/j.agry.2015.01.004.
4. Azeem B., KuShaari K.Z., Man Z.B., Basit A., Trinh T.H. Review on materials & methods to produce controlled release coated urea fertilizer // *Journal of Controlled Release*. 2014. Vol. 181. P. 11–21. DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.02.020.
5. Липин А.Г., Липин А.А. Кинетика высвобождения азота из гранул мочевины с полимерным покрытием // *Известия высших учебных заведений. Серия Химия и химическая технология*. 2022. Т. 65. N 7. С. 100–106. DOI: 10.6060/ivkkt.20226507.6635. EDN: VAISWG.
6. Moradi S., Babapoor A., Ghanbarlou S., Kalashgarani M.Y., Salahshoori I., Seyfaee A. Toward a new generation of fertilizers with the approach of controlled-release fertilizers: a review // *Journal of Coatings Technology and Research*. 2024. Vol. 21. P. 31–54. DOI: 10.1007/s11998-023-00817-z.
7. Govil S., Long N.V.D., Escribà-Gelonch M., Hessel V. Controlled-release fertiliser: recent developments and perspectives // *Industrial Crops and Products*. 2024. Vol. 219. P. 119160. DOI: 10.1016/j.indcrop.2024.119160.
8. Miao S., Wang P., Su Z., Zhang S. Vegetable-oil-based polymers as future polymeric biomaterials // *Acta Biomaterialia*. 2014. Vol. 10, no. 4. P. 1692–1704. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.08.040.
9. Adekunle K.F. A review of vegetable oil-based polymers: synthesis and applications // *Open Journal of Polymer Chemistry*. 2015. Vol. 5, no. 3. P. 34–40. DOI: 10.4236/ojpc.2015.53004.
10. Yang Z., Li W., Yang H., Li S., Tao J., Wang C., et al. Preparation and characterization of tung oil based polyols by UV photocatalysis // *Journal of Functional Materials*. 2018. Vol. 49, no. 12. P. 12161–12165. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9731.2018.12.025.
11. Sahoo S., Kalita H., Mohanty S., Nayak S.K. Degradation study of biobased polyester-polyurethane and its nanocomposite under natural soil burial, UV radiation and hydrolytic-salt water circumstances // *Journal of Polymers and the Environment*. 2018. Vol. 26. P. 1528–1539. DOI: 10.1007/s10924-017-1058-6.
12. Liang D., Zhang Q., Zhang W., Liu L., Liang H., Quirino R.L., et al. Tunable thermo-physical performance of castor oil-based polyurethanes with tailored release of coated fertilizers // *Journal of Cleaner Production*. 2019. Vol. 210. P. 1207–1215. DOI: 10.1016/j.jclepro.2018.11.047.
13. Li L.X., Song H.H., Cao B., Xiao Q., Yi W.P. Polyurethane modified with zeolite 4A for the controlled release of urea // *Polymer-Plastics Technology and Engineering*. 2017. Vol. 56, no. 8. P. 866–872. DOI: 10.1080/03602559.2016.1227838.
14. Yao L., Baharum A., Yu L.J., Yan Z., Badri K.H. A vegetable-oil-based polyurethane coating for controlled nutrient release: a review // *Coatings*. 2025. Vol. 15, no. 6. P. 665. DOI: 10.3390/coatings15060665.
15. Akindoyo J.O., Beg M.D.H., Ghazali S., Islam M.R., Jeyaratnam N., Yuvaraj A.R. Polyurethane types, synthesis and applications – a review // *RSC Advances*. 2016. Vol. 6, no. 115. P. 114453–114482. DOI: 10.1039/C6RA14525F.
16. Li F., Weng K., Nakamura A., Ono K., Tanaka T., Noda D., et al. Preparation of waterborne silicone-modified polyurethane nanofibers and the effect of crosslinking agents on physical properties // *Polymers*. 2024. Vol. 16, no. 11. P. 1500. DOI: 10.3390/polym16111500.
17. Alexandru M., Cazacu M., Cristea M., Nistor A., Simionescu B.C. Poly(siloxane-urethane) crosslinked structures obtained by sol-gel technique // *Journal of Polymer Science. Part A: Polymer Chemistry*. 2011. Vol. 49, no. 7. P. 1708–1718. DOI: 10.1002/pola.24602.
18. Couto A.M.S., Borges C.S.P., Jalali S., Simões B.D., Marques E.A.S., Carbas R.J.C., et al. Exploring bio-based polyurethane adhesives for eco-friendly structural applications: an experimental and numerical study // *Polymers*. 2024. Vol. 16, no. 17. P. 2546. DOI: 10.3390/polym16172546.
19. Abbasi A., Nasef M.M., Yahya W.Z.N. Copolymerization of vegetable oils and bio-based monomers with

elemental sulfur: a new promising route for bio-based polymers // *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2019. Vol. 13. 100158. DOI: 10.1016/j.scp.2019.100158.

20. Могилевич М.М. Окислительная полимеризация в процессах пленкообразования. Л.: Химия, 1977. 173 с.

REFERENCES

1. Gamage A., Basnayake B., De Costa J.D., Merah O. Effects of rice husk biochar coated urea and anaerobically digested rice straw compost on the soil fertility, and cyclic effect of phosphorus. *Plants*. 2022;11(1):75. DOI: 10.3390/plants11010075.

2. Zhu Z.L., Chen D.L. Nitrogen fertilizer use in China – contributions to food production, impacts on the environment and best management strategies. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 2002;63:117-127. DOI: 10.1023/A:1021107026067.

3. Huang J., Huang Z., Jia X., Hu R., Xiang C. Long-term reduction of nitrogen fertilizer use through knowledge training in rice production in China. *Agricultural Systems*. 2015;135:105-111. DOI: 10.1016/j.agry.2015.01.004.

4. Azeem B., KuShaari K.Z., Man Z.B., Basit A., Trinh T.H. Review on materials & methods to produce controlled release coated urea fertilizer. *Journal of Controlled Release*. 2014;181:11-21. DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.02.020.

5. Lipin A.G., Lipin A.A. Nitrogen release from polymer-coated urea granules. *ChemChemTech*. 2022;65(7):100-106. (In Russian). DOI: 10.6060/ivkkt.20226507.6635. EDN: VAISWG.

6. Moradi S., Babapoor A., Ghanbarlou S., Kalashgarani M.Y., Salahshoori I., Seyfaee A. Toward a new generation of fertilizers with the approach of controlled-release fertilizers: a review. *Journal of Coatings Technology and Research*. 2024;21:31-54. DOI: 10.1007/s11998-023-00817-z.

7. Govil S., Long N.V.D., Escribà-Gelonch M., Hessel V. Controlled-release fertiliser: recent developments and perspectives. *Industrial Crops and Products*. 2024;219:119160. DOI: 10.1016/j.indcrop.2024.119160.

8. Miao S., Wang P., Su Z., Zhang S. Vegetable-oil-based polymers as future polymeric biomaterials. *Acta Biomaterialia*. 2014;10(4):1692-1704. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.08.040.

9. Adekunle K.F. A review of vegetable oil-based polymers: synthesis and applications. *Open Journal of Polymer Chemistry*. 2015;5(3):34-40. DOI: 10.4236/ojpcem.2015.53004.

10. Yang Z., Li W., Yang H., Li S., Tao J., Wang C., et al. Preparation and characterization of tung oil based polyols by UV photocatalysis. *Journal of Functional Materials*. 2018;49(12):12161-12165. (In Chinese). DOI: 10.3969/j.issn.1001-9731.2018.12.025.

11. Sahoo S., Kalita H., Mohanty S., Nayak S.K. Degradation study of biobased polyester-polyurethane and its nanocomposite under natural soil burial, UV radiation and

hydrolytic-salt water circumstances. *Journal of Polymers and the Environment*. 2018;26:1528-1539. DOI: 10.1007/s10924-017-1058-6.

12. Liang D., Zhang Q., Zhang W., Liu L., Liang H., Quirino R.L., et al. Tunable thermo-physical performance of castor oil-based polyurethanes with tailored release of coated fertilizers. *Journal of Cleaner Production*. 2019;210:1207-1215. DOI: 10.1016/j.jclepro.2018.11.047.

13. Li L.X., Song H.H., Cao B., Xiao Q., Yi W.P. Polyurethane modified with zeolite 4A for the controlled release of urea. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*. 2017;56(8):866-872. DOI: 10.1080/03602559.2016.1227838.

14. Yao L., Baharum A., Yu L.J., Yan Z., Badri K.H. A vegetable-oil-based polyurethane coating for controlled nutrient release: a review. *Coatings*. 2025;15(6):665. DOI: 10.3390/coatings15060665.

15. Akindoyo J.O., Beg M.D.H., Ghazali S., Islam M.R., Jeyaratnam N., Yuvaraj A.R. Polyurethane types, synthesis and applications – a review. *RSC Advances*. 2016;6(115):114453-114482. DOI: 10.1039/C6RA14525F.

16. Li F., Weng K., Nakamura A., Ono K., Tanaka T., Noda D., et al. Preparation of waterborne silicone-modified polyurethane nanofibers and the effect of crosslinking agents on physical properties. *Polymers*. 2024;16(11):1500. DOI: 10.3390/polym16111500.

17. Alexandru M., Cazacu M., Cristea M., Nistor A., Simionescu B.C. Poly(siloxane-urethane) crosslinked structures obtained by sol-gel technique. *Journal of Polymer Science. Part A: Polymer Chemistry*. 2011;49(7):1708-1718. DOI: 10.1002/pola.24602.

18. Couto A.M.S., Borges C.S.P., Jalali S., Simões B.D., Marques E.A.S., Carbas R.J.C., et al. Exploring bio-based polyurethane adhesives for eco-friendly structural applications: an experimental and numerical study. *Polymers*. 2024;16(17):2546. DOI: 10.3390/polym16172546.

19. Abbasi A., Nasef M.M., Yahya W.Z.N. Copolymerization of vegetable oils and bio-based monomers with elemental sulfur: a new promising route for bio-based polymers. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2019;13:100158. DOI: 10.1016/j.scp.2019.100158.

20. Mogilevich M.M. *Oxidative polymerisation in film formation processes*. Leningrad: Khimiya; 1977, 173 p. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Липин Александр Геннадьевич,
д.т.н., профессор, профессор,
Ивановский государственный
химико-технологический университет,
153000, г. Иваново, пр. Шереметевский, 7,
Российская Федерация,
✉ 157lipin@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2011-9503>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Aleksandr G. Lipin,
Dr. Sci. (Engineering), Professor, Professor,
Ivanovo State University of Chemistry
and Technology,
7, Sheremetevskiy Ave., Ivanovo, 153000,
Russian Federation,
✉ 157lipin@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2011-9503>

Липин Андрей Александрович,
д.т.н., доцент, заведующий кафедрой,
Ивановский государственный
химико-технологический университет,
153000, г. Иваново, пр. Шереметевский, 7,
Российская Федерация,
lipin.a@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7984-1691>

Andrey A. Lipin,
Dr. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Head of the Department,
Ivanovo State University of Chemistry
and Technology,
7, Sheremetevskiy Ave., Ivanovo, 153000,
Russian Federation,
lipin.a@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7984-1691>

Вклад авторов

А.Г. Липин – разработка концепции,
проведение исследования, написание
черновика рукописи.
А.А. Липин – проведение исследования,
валидация результатов, редактирование
рукописи.

Contribution of the authors

Aleksandr G. Lipin – conceptualization,
investigation, writing – original draft.
Andrey A. Lipin – investigation,
validation, editing.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests
regarding the publication of this article.

Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.

The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.

Информация о статье

Поступила в редакцию 15.04.2025.
Одобрена после рецензирования 02.06.2025.
Принята к публикации 17.11.2025.

Information about the article

The article was submitted 15.04.2025.
Approved after reviewing 02.06.2025.
Accepted for publication 17.11.2025.



Летучие примеси биоэтанола-сырца из мискантуса гигантского

Е.А. Скиба✉, Г.Ф. Миронова

Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН, Бийск, Российская Федерация

Аннотация. Вопрос изучения летучих примесей биоэтанола-сырца имеет важное техническое значение для дальнейших каталитических превращений биоэтанола в продукты технической химии и товароведческое значение для предотвращения фальсификации пищевого спирта. В работе впервые исследованы летучие примеси биоэтанола-сырца, полученного из мискантуса гигантского с помощью авторских методов предобработки. Используются три авторских метода, основанные на воздействии на сырье разбавленными растворами азотной кислоты при атмосферном давлении. В качестве арбитражного метода использован классический способ предобработки целлюлозосодержащего недревесного сырья – щелочная делигнификация с помощью гидроксида натрия. Полученные субстраты подвергались ферментативному гидролизу (препараты «Целлюлюкс-А» и «Ультрафло Коре»), совмещенному со спиртовым брожением (продуцент *Saccharomyces cerevisiae* Y-3136). Компонентный состав биоэтанола-сырца определен с помощью метода газожидкостной хроматографии. Примененная методология получения биоэтанола позволила получить биоэтанол-сырец с содержанием метанола не более 0,009 об.%, что в 10 раз ниже регламентируемых отраслевых норм. На чистоту образцов биоэтанола-сырца влияют два параметра: во-первых, стадийность предобработки (двустадийная предобработка позволяет в 4–21 раз снизить общее количество примесей в биоэтаноле-сырце по сравнению с одностадийной предобработкой), во-вторых, конкретный способ одностадийной предобработки (так, предобработка с помощью азотной кислоты позволяет получить в 5 раз более чистый биоэтанол-сырец, чем классическая щелочная делигнификация).

Ключевые слова: биоэтанол, мискантус гигантский, летучие примеси, азотная кислота

Финансирование. Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 22-13-00107-П, <https://rscf.ru/project/22-13-00107/>.

Для цитирования: Скиба Е.А., Миронова Г.Ф. Летучие примеси биоэтанола-сырца из мискантуса гигантского // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 4. С. 590–596. DOI: 10.21285/achb.1009. EDN: OCWINK.

BRIEF COMMUNICATION

Volatile impurities in crude bioethanol produced from giant miscanthus

Ekaterina A. Skiba✉, Galina F. Mironova

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Biysk, Russian Federation

Abstract. The study of volatile impurities in crude bioethanol is of great technical importance for further catalytic conversion of bioethanol to industrial chemicals, as well as of considerable significance in the prevention of potable alcohol adulteration. This study was the first to analyze volatile impurities in crude bioethanol obtained from giant miscanthus using three proprietary pretreatment methods. These methods are based on treating raw materials with dilute nitric acid solutions at atmospheric pressure. The classical method for the pretreatment of cellulose-containing non-wood raw materials – alkaline delignification with sodium hydroxide – was used as

the reference method. The resulting substrates were subjected to enzymatic hydrolysis (using Cellolux-A and Ultraflo Core preparations) together with alcoholic fermentation (using *Saccharomyces cerevisiae* Y-3136). The composition of crude bioethanol was determined using gas-liquid chromatography. The methodology used to produce bioethanol provided a means to obtain crude bioethanol with a methanol content of no more than 0.009 vol%, which is ten times lower than that regulated by industry codes. The purity of crude bioethanol samples is determined by two parameters: first, the number of pretreatment stages (two-stage pretreatment reduces the total amount of impurities in crude bioethanol by 4–21 times compared to single-stage pretreatment); second, a specific method of single-stage pretreatment (for example, pretreatment with nitric acid yields crude bioethanol with five times higher purity than in the case of the classical alkaline delignification).

Keywords: bioethanol, giant miscanthus, volatile impurities, nitric acid

Funding. The Russian Science Foundation supported the research (grant no. 22-13-00107-P, <https://rscf.ru/project/22-13-00107/>).

For citation: Skiba E.A., Mironova G.F. Volatile impurities in crude bioethanol produced from giant miscanthus. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(4):590-596. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1009. EDN: OCWINK.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время продолжается развитие технологий биоэтанола всех четырех поколений и можно говорить о новом витке востребованности биоэтанола. У каждого поколения есть критические проблемы, преодоление которых позволит достичь прорывных результатов и обеспечить мировую биоэкономику базовым продуктом – биоэтанолом [1, 2]. Биоэтанол второго поколения получают из целлюлозосодержащего сырья, то есть сырья с бесконечным потенциалом воспроизведения, поэтому это привлекательная и устойчивая технология [2].

В данной работе в качестве модельного целлюлозосодержащего сырья использована многолетняя культура мискантуса гигантского (*Miscanthus × giganteus*). Это хорошо зарекомендовавшее себя для получения биоэтанола сырье с высоким содержанием целлюлозы [3–5]. Интродукция растения очень широка и включает регионы с климатом от тропического до умеренного [6]. Россия – самая северная страна, в которой выращивается мискантус гигантский [7], поэтому представленное исследование имеет не только региональное, но и общемировое значение.

При промышленном производстве важное значение имеет не только выход биоэтанола-сырца, но и его качество, то есть состав и содержание летучих примесей. Известно, что по качеству этанола специалисты могут определить его сырьевое происхождение, особенности технологии его получения или нарушения технологии [8–10]. В советский период качественному составу технического спирта уделялось большое внимание, что позволяло осуществлять жесткий контроль и получать продукцию постоянного качества, а также исключало использование технического спирта для фальсификации пищевых продуктов¹. В современной мировой литературе вопрос качества биоэтанола второго поколения (или технического спирта) обсуждается незаслуженно редко [11], вместе с тем этот вопрос имеет важное техническое значение для дальнейших каталитических превращений биоэтанола в продукты технической химии [12]. Имеются данные о влиянии качества биоэтанола-сырца на паровой риформинг при его превращении в водород [13–15]. Получены прорывные результаты в технологии биоэтилена, а именно установлено, что общее содержание примесей

около 1% в биоэтаноле-сырце приводит к повышению выхода и улучшению качества биоэтилена, что позволяет использовать биоэтанол-сырец без очистки и ведет к повышению экономичности и экологичности процесса в целом [16]. Имеется и парадоксальная парадигма, когда оптимизация процесса направлена на получение биоэтанола с высоким содержанием летучих примесей [17].

Целью представленной работы являлось исследование летучих примесей биоэтанола-сырца, полученного из мискантуса гигантского с помощью авторских методов предобработки. Использованы три авторских метода, основанные на воздействии на сырье при атмосферном давлении разбавленными растворами азотной кислоты. В качестве арбитражного метода для сравнения результатов использован классический способ предобработки целлюлозосодержащего недревесного сырья – щелочная делигнификация с помощью гидроксида натрия [18, 19].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе впервые мискантус гигантский российской селекции (сорт КАМИС) использован как сырье для биотехнологической трансформации в биоэтанол. Мискантус с плантации возрастом 7 лет (д. Марушкино, Московская обл., Россия) любезно предоставлен ООО «Мастер Брэнд».

Предобработка сырья проводилась в лабораторных условиях при атмосферном давлении и температуре 90–96 °С авторскими способами в одну или две стадии с получением следующих продуктов химической предварительной обработки: 1) субстрат 1 получен в одну стадию обработкой мискантуса 4%-м раствором азотной кислоты; 2) субстрат 2 получен в одну стадию обработкой мискантуса раствором 4%-го гидроксида натрия; 3) субстрат 3 получен в две стадии путем обработки субстрата 14%-м раствором гидроксида натрия; 4) субстрат 4 получен в две стадии путем обработки субстрата 24%-м раствором азотной кислоты. Субстраты тщательно промывались водой.

Ферментативный гидролиз субстратов проводился с помощью композиции из ферментных препаратов «Целлолюкс-А» («Сиббиофарм», Россия, 0,1 г/г субстрата) и «Ультрафло Коре» («Novozymes A/S», Дания, 0,3 мл/г субстрата), начальная концентрация субстратов составляла 60 г/л, температура – (46±2) °С, скорость

¹Холькин Ю.И. Технология гидролизных производств: учебник для вузов. М.: Лесная промышленность, 1989. 495 с.

перемешивания – 150 об/мин [20]. Через 24 ч температура опускалась до 28 °С, вносилось 10 масс.% инокулята дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-3136 (Коллекция микроорганизмов для спиртовой, уксусной, ферментной и дрожжевой промышленности, руководитель В.А. Поляков, куратор коллекции Л.В. Римарева, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии – филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи, г. Москва, Россия [21]) и проводились одновременные ферментативный гидролиз и спиртовое брожение в течение еще 72 ч. Процесс осуществлялся в колбах Эрленмейера объемом 2 л, установленных в шейкере-инкубаторе Unimax-1010 (Heidolph, США).

Концентрация биоэтанола в бражах устанавливалась ареометрически после процедуры прямого отгона. Компонентный состав биоэтанола-сырца определялся с помощью метода газожидкостной хроматографии [22]. Были использованы газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором «Кристалл 2000М» (ЗАО «СКБ Хроматэк», Россия), а также колонка газохроматографическая капиллярная ZB-FFAP (Phenomenex, США).

Работа выполнена с использованием приборной базы Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (г. Бийск, Россия).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Составы примесей в образцах биоэтанола-сырца сильно зависят от способа предобработки мискантуса гигантского (таблица).

В биоэтаноле-сырце из субстрата 1 основными примесями являются сивушные масла (изобутанол – 791 мг/дм³ > изоамилол – 285 мг/дм³ > 1-пропанол – 156 мг/дм³), основной примесью является также ацетальдегид – 510 мг/дм³. Общее содержание примесей составляет 1,34 масс.%.

Среди всех образцов биоэтанол-сырец из субстрата 2 характеризуется наибольшим количеством примесей. В образце много не только сивушных масел (1-пропанол – 1170 мг/дм³ > изоамилол – 983 мг/дм³ > изобу-

танол – 806 мг/дм³), но и ацетальдегида – 8850 мг/дм³, а также сложных эфиров (этилацетат – 2654 мг/дм³ > метилацетат – 728 мг/дм³). Общее содержание примесей составляет 6,43 масс.%, что в 5 раз больше, чем в биоэтаноле-сырце из субстрата 1.

Двустадийная предобработка, примененная при получении субстратов 3 и 4, позволила получить гораздо более чистые образцы биоэтанола-сырца, чем при одностадийной химической обработке. Так, содержание сивушных масел снизилось в 10 и 8 раз, содержание ацетальдегида – в 56 и 25 раз, содержание сложных эфиров – в 1990 раз и 1692 раза, общее содержание примесей – в 21 и 18 раз соответственно по сравнению с биоэтанолом-сырцом из субстрата 2, полученным классическим методом. Самый чистый биоэтанол-сырец получен из субстрата 3 (общее содержание примесей составляет всего 0,3%), и именно этот субстрат характеризовался максимальным удалением нецеллюлозных примесей [20].

Подытожив вышеприведенное, можно сказать, что на чистоту образцов биоэтанола-сырца влияют два параметра. Во-первых, важна стадийность предобработки: двустадийная предобработка позволяет в 4–21 раз снизить общее количество примесей в биоэтаноле-сырце по сравнению с одностадийной предобработкой. Во-вторых, существенное значение имеет конкретный способ одностадийной предобработки: так, предобработка с помощью азотной кислоты позволяет получить в 5 раз более чистый биоэтанол-сырец, чем классическая щелочная делигнификация.

Вопрос количества и состава примесей в биоэтаноле-сырце редко обсуждается в литературе. С одной стороны, это вполне объяснимо, так как современные методы очистки позволяют легко освободить биоэтанол от сопутствующих примесей [23], а отделенные примеси находят самостоятельное широкое применение в химической промышленности [24]. С другой стороны, фундаментальный вопрос примесей в биоэтаноле-сырце необходим для ответа на вопрос о выборе технологии предварительной химической обработки. Количество и

Состав летучих примесей в образцах биоэтанола-сырца из мискантуса гигантского

Composition of volatile impurities in samples of raw bioethanol from *Miscanthus × giganteus*

Образец	Показатель (в пересчете на безводный спирт)			
	Массовая концентрация альдегидов, мг/дм ³	Массовая концентрация эфиров, мг/дм ³	Массовая концентрация сивушного масла, мг/дм ³	Содержание метанола, об.%
Опытные образцы из мискантуса гигантского, предварительно обработанного				
одностадийно азотной кислотой	550	40	1310	0,004
одностадийно гидроксидом натрия	8850	3400	3050	0,009
двустадийно азотной кислотой и гидроксидом натрия	160	10	300	0,001
двустадийно гидроксидом натрия и азотной кислотой	360	10	360	0,002
Спирт этиловый технический ²				
Марка А ОКП 91 8213 1100	менее 200	менее 80	менее 500	менее 0,1
Марка Б ОКП 91 8213 1200	менее 350	менее 180	менее 1000	менее 0,1

² ГОСТ 17299-78. Спирт этиловый технический. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2006. 6 с.

состав примесей в биоэтаноле-сырце позволяют выявить нарушения в технологическом цикле и неблагоприятные условия для жизнедеятельности дрожжей [11, 13]. В нашем случае использование субстрата 2 привело к получению биологически недоброкачественной питательной среды и биоэтанола с высоким содержанием летучих примесей.

Обращает на себя внимание факт того, что в полученных в работе образцах биоэтанола-сырца отмечается крайне низкое содержание метанола: от 0,001 масс.% в самом чистом образце из субстрата 3 до 0,009 масс.% в образце из субстрата 2, полученном методом щелочной делигнификации. Это обусловлено использованием непищевого недревесного сырья, так как метанол образуется либо из пектиновых веществ пищевого сырья [8, 9], либо из глюкуроноксилана и арабиноглюкуроноксилана древесного сырья лиственных пород. Кроме того, метанол может образовываться из лигнина в жестких технологических режимах [13]. В нашем случае применены мягкие режимы предобработки при атмосферном давлении. Возможно, получение небольшого количества метанола из субстрата 2 обусловлено именно использованием щелочной делигнификации. В субстрате 1 лигнин подвергается окислительному нитрованию, поэтому метанол в образце из субстрата 1 практически отсутствует. Субстраты 3 и 4 очень чистые, поэтому образование метанола крайне низкое. Содержание метанола в представленных опытных образцах в тысячи раз меньше, чем в описанных в обзоре [11], и на порядок меньше, чем нормируется для спирта этилового технического².

Одним из важных маркеров качества биоэтанола является содержание сивушных спиртов (основные из них – 1-пропанол, 2-метил-1-пропанол и 3-метил-1-бутанол). В работе [15] содержание сивушных спиртов в образцах биоэтанола-сырца, полученных из целлюлозного остатка сахарного тростника, варьировало от 223 до 547 мг/дм³, что хорошо согласуется с результатами нашей работы для субстрата 1. При этом авторы делают вывод о приоритетности использования азотной кислоты в оптимальных условиях предобработки по сравнению с гидротермальной предобработкой. В работе [14] показано, что содержание биоэтанола и сивушных спиртов находится в прямо пропорциональной зависимости, но с применением метода проектирования Бокса – Бенкена удалось найти оптимальные режимы, позволившие снизить содержание примесей в биоэтаноле.

В данной работе не были обнаружены специфические примеси биоэтанола, которые позволили бы идентифицировать образцы как полученные именно из мискантуса.

В биоэтаноле-сырце из субстрата 1 общее содержание примесей в 5 раз меньше, чем в биоэтаноле-сырце из субстрата 2. Этот факт хорошо согласуется с данными работы [25], в которой при получении биоэтанола из шелухи овса наблюдалась аналогичная зависимость: общее количество примесей составило 0,49 масс.% при

обработке азотной кислотой и 3,66 масс.% при обработке методом щелочной делигнификации. Повышение количества примесей в образцах биоэтанола-сырца из мискантуса гигантского свидетельствует о наличии ингибиторов в самом мискантусе, что объясняется природой этого быстрорастущего вида сырья и хорошо описано в литературе [26, 27]. В то же время, как было показано в работе [16], наличие в биоэтаноле С3-примесей в количестве до 0,05 мол.% не только не снижает, но, наоборот, повышает выход биоэтилена из биоэтанола при использовании в качестве катализатора оксида алюминия. Таким образом, все образцы биоэтанола-сырца, полученные в результате двустадийной предобработки мискантуса, могут успешно использоваться для каталитической дегидратации в биоэтилен.

Сравним показатели полученных образцов биоэтанола-сырца с требованиями ГОСТ 17299-78³ на спирт этиловый технический. Одностадийная предобработка мискантуса привела к получению образцов с высоким содержанием примесей, двустадийная предобработка позволила получить образцы биоэтанола-сырца, соответствующие по основным показателям спирту этиловому техническому марки Б. Эти опыты должны быть повторены в условиях опытно-промышленного производства. Если эффект будет многократно воспроизведен, то биоэтанол по данной технологии может производиться без ректификации, что приведет к серьезной экономии капитальных вложений и энергоресурсов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Образцы биоэтанола-сырца, полученные из мискантуса гигантского через технологические стадии предварительной химической обработки, ферментативного гидролиза, спиртового брожения с помощью продуцента *Saccharomyces cerevisiae* Y-3136 и прямого отгона, характеризуются крайне низким содержанием метанола – не более 0,009%, что не характерно для технического биоэтанола и объясняется мягкими условиями получения полупродуктов.

Метод предварительной химической обработки мискантуса гигантского определяет состав и содержание летучих примесей в образцах биоэтанола-сырца. Наибольшее содержание летучих примесей зафиксировано в образце биоэтанола-сырца, полученного при использовании классической предварительной обработки с помощью гидроксида натрия: массовая концентрация альдегидов составляет 8850 мг/дм³, эфиров – 3400 мг/дм³, сивушных масел – 3050 мг/дм³. Авторские методы, основанные на воздействии на сырье разбавленными растворами азотной кислоты при атмосферном давлении, позволяют получить более чистый биоэтанол-сырец. При использовании двустадийных методов общее содержание примесей сокращается в 21 раз, а при использовании одностадийного метода предварительной обработки азотной кислотой – в 5 раз по сравнению с одностадийной обработкой гидроксидом натрия.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kazmi A., Sultana T., Ali A., Nijabat A., Li G., Hou H. Innovations in bioethanol production: a comprehensive review of feedstock generations and technology advances //

Energy Strategy Reviews. 2025. Vol. 57. 101634. DOI: 10.1016/j.esr.2024.101634.

2. Jain S., Kumar S. A comprehensive review of bioethanol

³ ГОСТ 17299-78. Спирт этиловый технический. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2006. 6 с.

production from diverse feedstocks: current advancements and economic perspectives // *Energy*. 2024. Vol. 296. P. 131130. DOI: 10.1016/j.energy.2024.131130.

3. Zhang Y., Oates L.G., Serate J., Xie D., Pohlmann E., Bukhman Y.V., et al. Diverse lignocellulosic feedstocks can achieve high field-scale ethanol yields while providing flexibility for the biorefinery and landscape-level environmental benefits // *GCB Bioenergy: Bioproducts for a Sustainable Bioeconomy*. 2018. Vol. 10, no. 11. P. 825–840. DOI: 10.1111/gcbb.12533.

4. Turner W., Greetham D., Mos M., Squance M., Kam J., Du C. Exploring the bioethanol production potential of *Miscanthus* cultivars // *Applied Sciences*. 2021. Vol. 11, no. 21. P. 9949. DOI: 10.3390/app11219949.

5. Osipov D.O., Dotsenko A.S., Semenova M.V., Rozhkova A.M., Sinitsyn A.P. Comparative study of the convertibility of pretreated *Miscanthus* straw using enzyme preparations produced by different recombinant strains of *Penicillium verruculosum* // *Agronomy*. 2024. Vol. 14, no. 3. P. 499. DOI: 10.3390/agronomy14030499.

6. Zhang Z., Xu J., Jin S., Zhuang H., Li S., Wu X., et al. Considerable energy crop production potentials in the Russian Far East // *Biomass and Bioenergy*. 2024. Vol. 189. P. 107365. DOI: 10.1016/j.biombioe.2024.107365.

7. Gismatulina Y.A., Budaeva V.V., Kortusov A.N., Kashcheyeva E.I., Gladysheva E.K., Mironova G.F., et al. Evaluation of chemical composition of *Miscanthus × giganteus* raised in different climate regions in Russia // *Plants*. 2022. Vol. 11, no. 20. P. 2791. DOI: 10.3390/plants11202791.

8. Шелехова Т.М., Абрамова И.М., Шелехова Н.В., Скворцова Л.И., Полтавская Н.В., Амелякина М.В. Сравнительный анализ химического состава невыдержанных зерновых дистиллятов российского и зарубежного производства // *Пищевая промышленность*. 2024. N 10. С. 110–114. DOI: 10.52653/PPI.2024.10.10.022. EDN: ZRUTEA.

9. Абрамова И.М., Туршатов М.В., Кривченко В.А., Соловьев А.О., Никитенко В.Д. Исследование биохимического состава топинамбура и получаемых на его основе этилового спирта и пищевых функциональных продуктов // *Биотехнология*. 2022. Т. 38. N 4. С. 56–61. DOI: 10.56304/S0234275822040020. EDN: DCDJRK.

10. Агеева Н.М., Тихонова А.Н., Бирюков А.П. Влияние ферментных препаратов на ароматизующие компоненты красных столовых вин // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 251–260. DOI: 10.21285/2227-2925-2020-10-2-251-260. EDN: GRPOPD.

11. Habe H., Shinbo T., Yamamoto T., Sato S., Shimada H., Sakaki K. Chemical analysis of impurities in diverse bioethanol samples // *Journal of the Japan Petroleum Institute*. 2013. Vol. 56, no. 6. P. 414–422. DOI: 10.1627/jpi.56.414.

12. Xiang H., Xin R., Prasongthum N., Natewong P., Sooknoi T., Wang J., et al. Catalytic conversion of bioethanol to value-added chemicals and fuels: a review // *Resources Chemicals and Materials*. 2022. Vol. 1, no. 1. P. 47–68. DOI: 10.1016/j.recmm.2021.12.002.

13. Sanchez N., Ruiz R., Hacker V., Cobo M. Impact of bioethanol impurities on steam reforming for hydrogen production: a review // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2020. Vol. 45, no. 21. P. 11923–11942. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2020.02.159.

14. Sanchez N., Ruiz R., Plazas A., Vasquez J., Cobo M. Effect of pretreatment on the ethanol and fusel alcohol

production during fermentation of sugarcane press-mud // *Biochemical Engineering Journal*. 2020. Vol. 161. P. 107668. DOI: 10.1016/j.bej.2020.107668.

15. Sanchez N., Cobo M., Rodriguez-Fontalvo D., Uribe-Laverde M.Á., Ruiz-Pardo R.Y. Bioethanol production from sugarcane press-mud: assessment of the fermentation conditions to reduce fusel alcohol // *Fermentation*. 2021. Vol. 7, no. 3. P. 194. DOI: 10.3390/fermentation7030194.

16. Ovchinnikova E.V., Banzaraksaeva S.P., Kovgan M.A., Chumachenko V.A. Effect of C3-alcohol impurities on alumina-catalyzed bioethanol dehydration to ethylene: experimental study and reactor modeling // *Catalysts*. 2023. Vol. 13, no. 3. P. 509. DOI: 10.3390/catal13030509.

17. Tantayotai P., Krungkaew S., Fatriasari W., Chantarasiri A., Sriariyanun M., Panakkal E.J. A sustainable approach for the concurrent production of bioethanol and volatile compounds from agro residues using different yeast strains // *Biomass and Bioenergy*. 2025. Vol. 201. P. 108134. DOI: 10.1016/j.biombioe.2025.108134.

18. Kim J.S., Lee Y.Y., Kim T.H. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass // *Bioresource Technology*. 2016. Vol. 199. P. 42–48. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.08.085.

19. Bhatia S.K., Jagtap S.S., Bedekar A.A., Bhatia R.K., Patel A.K., Pant D., et al. Recent developments in pretreatment technologies on lignocellulosic biomass: effect of key parameters, technological improvements, and challenges // *Bioresource Technology*. 2020. Vol. 300. P. 122724. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122724.

20. Скиба Е.А., Кашеева Е.И., Золотухин В.Н., Кухленко А.А. Ферментативный гидролиз высококонцентрированных субстратов, полученных из мискантуса гигантского // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2024. Т. 14. N 3. С. 394–405. DOI: 10.21285/achb.933. EDN: YXAMLK.

21. Сербя Е.М., Оверченко М.Б., Римарева Л.В. Биотехнологические основы микробной конверсии концентрированного зернового сусла в этанол: монография. М.: Издательский дом «Библио-Глобус», 2017. 120 с. DOI: 10.18334/9785950050169. EDN: YRYGRF.

22. Nassini D., Alvarez F.J., Bohé A.E., Olivieri A.C. Multivariate optimization of a gas chromatographic method for the determination of organic impurities in ethanol // *Microchemical Journal*. 2023. Vol. 194. P. 109332. DOI: 10.1016/j.microc.2023.109332.

23. Li G.-B., Chen J., Song B.-Q., Zhang X., Zhang Z., Pan R.-K., et al. Efficient purification of bioethanol by an ethanol-trapping coordination network // *Separation and Purification Technology*. 2022. Vol. 293. P. 121097. DOI: 10.1016/j.seppur.2022.121097.

24. Tantayotai P., Krungkaew S., Fatriasari W., Chantarasiri A., Sriariyanun M., Panakkal E.J. A sustainable approach for the concurrent production of bioethanol and volatile compounds from agro residues using different yeast strains // *Biomass and Bioenergy*. 2025. Vol. 201. P. 108134. DOI: 10.1016/j.biombioe.2025.108134.

25. Ovchinnikova E.V., Mironova G.F., Banzaraksaeva S.P., Skiba E.A., Budaeva V.V., Kovgan M.A., et al. Bioprocessing of oat hulls to ethylene: impact of dilute HNO₃- or NaOH pretreatment on process efficiency and sustainability // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2021. Vol. 9, no. 49. P. 16588–16596. DOI: 10.1021/acssuschemeng.1c05112.

26. Villaverde J.J., Li J., Ek M., Ligerio P., de Vega A. Native lignin structure of *Miscanthus × giganteus* and its changes during acetic and formic acid fractionation // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009. Vol. 57, no. 14. P. 6262–6270.

27. Li M., Si S., Hao B., Zha Y., Wan C., Hong S., et al.

Mild alkali-pretreatment effectively extracts guaiacyl-rich lignin for high lignocellulose digestibility coupled with largely diminishing yeast fermentation inhibitors in *Miscanthus* // *Bioresource Technology*. 2014. Vol. 169. P. 447–454. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.07.017.

REFERENCES

1. Kazmi A., Sultana T., Ali A., Nijabat A., Li G., Hou H. Innovations in bioethanol production: a comprehensive review of feedstock generations and technology advances. *Energy Strategy Reviews*. 2025;57:101634. DOI: 10.1016/j.esr.2024.101634.

2. Jain S., Kumar S. A comprehensive review of bioethanol production from diverse feedstocks: current advancements and economic perspectives. *Energy*. 2024;296:131130. DOI: 10.1016/j.energy.2024.131130.

3. Zhang Y., Oates L.G., Serate J., Xie D., Pohlmann E., Bukhman Y.V., et al. Diverse lignocellulosic feedstocks can achieve high field-scale ethanol yields while providing flexibility for the biorefinery and landscape-level environmental benefits. *GCB Bioenergy: Bioproducts for a Sustainable Bioeconomy*. 2018;10(11):825–840. DOI: 10.1111/gcbb.12533.

4. Turner W., Greetham D., Mos M., Squance M., Kam J., Du C. Exploring the bioethanol production potential of *Miscanthus* cultivars. *Applied Sciences*. 2021;11(21):9949. DOI: 10.3390/app11219949.

5. Osipov D.O., Dotsenko A.S., Semenova M.V., Rozhkova A.M., Sinitsyn A.P. Comparative study of the convertibility of pretreated *Miscanthus* straw using enzyme preparations produced by different recombinant strains of *Penicillium verruculosum*. *Agronomy*. 2024;14(3):499. DOI: 10.3390/agronomy14030499.

6. Zhang Z., Xu J., Jin S., Zhuang H., Li S., Wu X., et al. Considerable energy crop production potentials in the Russian Far East. *Biomass and Bioenergy*. 2024;189:107365. DOI: 10.1016/j.biombioe.2024.107365.

7. Gismatulina Y.A., Budaeva V.V., Kortusov A.N., Kashcheyeva E.I., Gladysheva E.K., Mironova G.F., et al. Evaluation of chemical composition of *Miscanthus × giganteus* raised in different climate regions in Russia. *Plants*. 2022;11(20):2791. DOI: 10.3390/plants11202791.

8. Shelekhova T.M., Abramova I.M., Shelekhova N.V., Skvortsova L.I., Poltavskaya N.V., Amelyakina M.V. Comparative analysis of the chemical composition of grain distillates of Russian and foreign production. *Food Industry*. 2024;10:110–114. (In Russian). DOI: 10.52653/PPI.2024.10.10.022. EDN: ZRUTEA.

9. Abramova I.M., Turshatov M.V., Krivchenko V.A., Soloviev A.O., Nikitenko V.D. Study of the biochemical composition of Jerusalem artichoke, as well as ethyl alcohol and food functional products obtained on its basis. *Biotehnologiya*. 2022;38(4):56–61. (In Russian). DOI: 10.56304/S0234275822040020. EDN: DCDJRK.

10. Ageeva N.M., Tichonova A.N., Biryukov A.P. Effect of enzyme preparations on the aroma-forming components of red table wines. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020;10(2):251–260. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2020-10-2-251-260. EDN: GRPOPD.

11. Habe H., Shinbo T., Yamamoto T., Sato S., Shimada H., Sakaki K. Chemical analysis of impurities in diverse bioethanol samples. *Journal of the Japan Petroleum Institute*. 2013;56(6):414–422. DOI: 10.1627/jpi.56.414.

12. Xiang H., Xin R., Prasongthum N., Natewong P., Sooknoi T., Wang J., et al. Catalytic conversion of bioethanol to value-added chemicals and fuels: a review. *Resources Chemicals and Materials*. 2022;1(1):47–68. DOI: 10.1016/j.recmm.2021.12.002.

13. Sanchez N., Ruiz R., Hacker V., Cobo M. Impact of bioethanol impurities on steam reforming for hydrogen production: a review. *International Journal of Hydrogen Energy*. 2020;45(21):11923–11942. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2020.02.159.

14. Sanchez N., Ruiz R., Plazas A., Vasquez J., Cobo M. Effect of pretreatment on the ethanol and fusel alcohol production during fermentation of sugarcane press-mud. *Biochemical Engineering Journal*. 2020;161:107668. DOI: 10.1016/j.bej.2020.107668.

15. Sanchez N., Cobo M., Rodriguez-Fontalvo D., Uribe-Laverde M.Á., Ruiz-Pardo R.Y. Bioethanol production from sugarcane press-mud: assessment of the fermentation conditions to reduce fusel alcohol. *Fermentation*. 2021;7(3):194. DOI: 10.3390/fermentation7030194.

16. Ovchinnikova E.V., Banzaraksheva S.P., Kovgan M.A., Chumachenko V.A. Effect of C3-alcohol impurities on alumina-catalyzed bioethanol dehydration to ethylene: experimental study and reactor modeling. *Catalysts*. 2023;13(3):509. DOI: 10.3390/catal13030509.

17. Tantayotai P., Krungkaew S., Fatriasari W., Chantarasiri A., Sriariyanun M., Panakkal E.J. A sustainable approach for the concurrent production of bioethanol and volatile compounds from agro residues using different yeast strains. *Biomass and Bioenergy*. 2025;201:108134. DOI: 10.1016/j.biombioe.2025.108134.

18. Kim J.S., Lee Y.Y., Kim T.H. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 2016;199:42–48. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.08.085.

19. Bhatia S.K., Jagtap S.S., Bedekar A.A., Bhatia R.K., Patel A.K., Pant D., et al. Recent developments in pretreatment technologies on lignocellulosic biomass: effect of key parameters, technological improvements, and challenges. *Bioresource Technology*. 2020;300:122724. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122724.

20. Skiba E.A., Kashcheyeva E.I., Zolotukhin V.N., Kukhlenko A.A. Enzymatic hydrolysis of highly concentrated substrates obtained from *Miscanthus giganteus*. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(3):394–405. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.933. EDN: YXAMLK.

21. Serba E.M., Overchenko M.B., Rimareva L.V. *Biotechnological foundations of microbial conversion of concentrated grain wort to ethanol*. Moscow: Biblio-Globus; 2017, 120 p. (In Russian). DOI: 10.18334/9785950050169.

22. Nassini D., Alvarez F.J., Bohé A.E., Olivieri A.C. Multivariate optimization of a gas chromatographic method for the determination of organic impurities in ethanol. *Microchemical Journal*. 2023;194:109332. DOI: 10.1016/j.microc.2023.109332.

23. Li G.-B., Chen J., Song B.-Q., Zhang X., Zhang Z., Pan R.-K., et al. Efficient purification of bioethanol by an ethanol-trapping coordination network. *Separation and Purification Technology*. 2022;293:121097. DOI: 10.1016/j.seppur.2022.121097.

24. Tantayotai P., Krungkaew S., Fatriasari W., Chantarasiri A., Sriariyanun M., Panakkal E.J. A sustainable approach for the concurrent production of bioethanol and volatile compounds from agro residues using different yeast strains. *Biomass and Bioenergy*. 2025;201:108134. DOI: 10.1016/j.biombioe.2025.108134.

25. Ovchinnikova E.V., Mironova G.F., Banzaraksheva S.P., Skiba E.A., Budaeva V.V., Kovgan M.A., et al. Bioprocessing of oat hulls to ethylene: impact of dilute HNO_3 - or NaOH

pretreatment on process efficiency and sustainability. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2021;9(49):16588-16596. DOI: 10.1021/acssuschemeng.1c05112.

26. Villaverde J.J., Li J., Ek M., Ligerio P., de Vega A. Native lignin structure of *Miscanthus × giganteus* and its changes during acetic and formic acid fractionation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009;57(14):6262-6270.

27. Li M., Si S., Hao B., Zha Y., Wan C., Hong S., et al. Mild alkali-pretreatment effectively extracts guaiacyl-rich lignin for high lignocellulose digestibility coupled with largely diminishing yeast fermentation inhibitors in *Miscanthus*. *Bioresource Technology*. 2014;169:447-454. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.07.017.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Скиба Екатерина Анатольевна,
д.т.н., доцент, ведущий научный сотрудник,
Институт проблем химико-энергетических
технологий СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1,
Российская Федерация,
✉ eas08988@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8897-347X>

Миронова Галина Федоровна,
к.т.н., научный сотрудник,
Институт проблем химико-энергетических
технологий СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1,
Российская Федерация,
✉ yur_galina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4677-9200>

Вклад авторов

Е.А. Скиба – разработка концепции,
разработка методологии, формальный анализ,
валидация результатов, научное руководство,
редактирование рукописи.
Г.Ф. Миронова – проведение исследования,
визуализация, написание черновика рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 27.08.2025.
Одобрена после рецензирования 25.10.2025.
Принята к публикации 24.11.2025.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina A. Skiba,
Dr. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Leading Researcher,
Institute for Problems of Chemical
and Energetic Technologies, Siberian Branch
of the Russian Academy of Science,
1, Sotsialisticheskaya St., Biysk, 659322,
Russian Federation,
✉ eas08988@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8897-347X>

Galina F. Mironova,
Cand. Sci. (Engineering), Researcher,
Institute for Problems of Chemical
and Energetic Technologies, Siberian Branch
of the Russian Academy of Science,
1, Sotsialisticheskaya St., Biysk, 659322,
Russian Federation,
✉ yur_galina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4677-9200>

Contribution of the authors

Ekaterina A. Skiba – conceptualization,
methodology, formal analysis, validation,
supervision, editing.
Galina F. Mironova – investigation, visualization,
writing – original draft.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests
regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 27.08.2025.
Approved after reviewing 25.10.2025.
Accepted for publication 24.11.2025.

Уважаемые читатели!

Приглашаем Вас к активному творческому сотрудничеству по научным направлениям:

- Химические науки
- Физико-химическая биология
- Химическая технология

Журнал «Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология» включен в перечень рецензируемых научных изданий (Перечень ВАК) и следующие базы данных: ЕГПНИ «Белый список», Russian Science Citation Index (RSCI), Web of Science (ESCI), Chemical Abstracts Service (CAS), EBSCO Publishing Databases, European Reference Index for the Humanities and the Social Sciences (ERIH PLUS), ВИНТИ РАН, система Российского индекса научного цитирования, представлен в электронной библиотеке Cyberleninka, Directory of Open Access Journals (DOAJ) и описан в Ulrich's Periodicals Directory.

Публикациям журнала присваивается DOI (Digital object identifier).

Редколлегия

Dear readers!

We would like to invite you to creative cooperation in the fields:

- Chemical Sciences
- Physical-Chemical and General Biology
- Chemical Technology

The Journal "Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya" is included in the list of journals which are regarded as academic publications by the State Commission for Academic Degrees and Titles (VAK). The Journal also is indexing in Unified State Index of Scientific Publications "White list", Russian Science Citation Index (RSCI), Web of Science (ESCI), Chemical Abstracts Service (CAS), EBSCO Publishing Databases, European Reference Index for the Humanities and the Social Sciences (ERIH PLUS), VINITI Database (Referativnyi Zhurnal), Russian Science Citation Index, included in the digital scientific library Cyberleninka, Directory of Open Access Journals (DOAJ) and is described in Ulrich's Periodicals Directory.

Publications are assigned a DOI (Digital object identifier).

Editorial Board

**ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
ПРИКЛАДНАЯ ХИМИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ**

Том 15 N 4 (55) 2025

12+

**PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
APPLIED CHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY
Volume 15 N 4 (55) 2025**

Редактор Ф.А. Посысоева

Перевод на английский язык:

А.В. Кверлис, Dusan Stocis (PhD), Anastasia Stosis (PhD),
David Mossop (PhD), Е.А. Привалова (к.х.н.)

Верстка Т.С. Жевлаковой

Дата выхода в свет 25.12.2025. Формат 60×90/8.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. л. 20,25
Тираж 500 экз. Зак. 112. Поз. плана 5н.

Отпечатано в типографии издательства
ФГБОУ ВО «ИРНИТУ»

Адрес типографии:

Россия, 664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83А

Издание распространяется бесплатно
ФГБОУ ВО «ИРНИТУ»,
Россия, 664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83