

На правах рукописи



Мамаева Ольга Олеговна

СОСТАВ, СВОЙСТВА И ПЕРЕРАБОТКА ЛИСТЬЕВ ТОПОЛЯ

05.21.03 – Технология и оборудование химической переработки
биомассы дерева; химия древесины

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата
технических наук

Красноярск - 2022

Работа выполнена на кафедре химической технологии древесины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнева», г. Красноярск

Научный руководитель:

доктор технических наук, профессор

Исаева Елена Владимировна

Официальные оппоненты:

Коньшин Вадим Владимирович – доктор химических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова», кафедра химической технологии, заведующий кафедрой

Кох Жанна Александровна – кандидат технических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», кафедра технологии, оборудования бродильных и пищевых производств, доцент

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», г. Барнаул

Защита состоится «22» сентября 2022 г. в 10:00 ч на заседании диссертационного совета Д 212.249.07 в ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнева» по адресу: 660049, г. Красноярск, пр. Мира, 82.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах с подписями, заверенными печатью, просим направлять по адресу: 660049, г. Красноярск, пр. Мира, 82, Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнева, ученому секретарю. E-mail: dissovetsibgtu01@mail.ru

В отзыве указывается фамилия, имя, отчество, почтовый адрес, телефон и адрес электронной почты (при наличии), наименование организации и должность лица, представившего отзыв (п. 28 Положения о присуждении ученых степеней).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнева» <https://www.sibsau.ru/page/dissertational-advice>

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Исаева Елена Владимировна

Актуальность исследования. Тополь является распространенной и быстрорастущей породой древесины, ведутся работы для создания специальных плантаций, что позволит решить проблему восстановления лесных массивов. В процессе заготовки древесины, а также ежегодных обрезок тополей, в том числе городских насаждений, используемых для озеленения, остаются отходы, которые требуют утилизации, при этом не нанося вред окружающей среде. Также растительным отходом является опавшая листва, которая перерабатывается ограниченно, основной путь утилизации – это сжигание и вывоз на свалки. Поэтому переработка этой биомассы тополя имеет важное экономическое и экологическое значение.

Известно, что вегетативная часть тополя (побеги, почки, листья) является уникальным источником природных соединений. Естественная возобновляемость древесных растений делает их неисчерпаемым сырьем для производства биологически активных веществ (БАВ). В литературе имеются сведения о перспективности использования почек и листьев тополя в качестве источника для получения эффективных антибактериальных и противогрибковых лекарственных средств, белкового и провитаминового концентратов.

В настоящий момент состав и свойства листьев тополя *Populus balsamifera* L. изучены не в полной мере, в отличие от почек тополя, а технология их переработки неизвестна. Кроме выделения водо- и спиртоэкстрактивных веществ из листьев тополя, которые обладают биологически активными свойствами, необходимо обратить внимание на остающиеся твердые остатки и возможность их использования для биоконверсии. Поэтому создание комплексной технологии получения биологически активных веществ с последующей утилизацией послеэкстракционных остатков является актуальным направлением.

Таким образом, **актуальность данной работы** заключается в создании способа переработки листьев тополя, которые являются широкораспространенным, доступным, ежегодно возобновляемым и дешевым растительным сырьем с получением ценных для народного хозяйства продуктов.

Создание такой технологии является актуальным направлением, поскольку относится к числу приоритетных фундаментальных и поисковых научных исследований на 2021-2030 г., согласно п. 1.4.3.4. «Технологии глубокой переработки различных видов углеродного сырья» распоряжения правительства РФ от 31.12.2020 №3684-р.

Изложенные в диссертации результаты получены в ходе выполнения работ по проекту «Технология и оборудование химической переработки биомассы растительного сырья» при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (номер темы FEFE-2020-0016).

Цели и задачи исследования. Цель работы – изучение состава и свойств листьев тополя (зеленых и опавших), а также создание способа их переработки.

Для достижения цели решались следующие задачи:

- изучить химический состав листьев тополя бальзамического, исследовать состав и биологическую активность экстрактов;
- определить возможность использования листьев тополя в качестве субстратов для микробиологической переработки грибами PP-3.2 *Pleurotus*

pulmonarius, Fp5-15 *Fomitopsis pinicola*, M99-9 *Trichoderma aspirellum* и K6-15 *Trichoderma spp.*;

- исследовать химический состав продуктов микробиологической конверсии субстратов на основе листьев тополя и дать оценку возможности их использования в качестве кормовых продуктов и биопрепаратов;

- определить влияние условий культивирования базидиальных грибов PP-3.2 *P. pulmonarius* и Fp5-15 *F. pinicola* на листьях тополя;

- разработать технологию опытного производства переработки листьев тополя с получением биологически активных продуктов, а также рассчитать его основные технико-экономические показатели.

Предмет и объект исследования. Объект исследования: зеленые и опавшие листья тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.).

Предмет исследования: изучение химического состава листьев тополя бальзамического и способов их переработки.

Положения, выносимые на защиту:

- результаты исследования компонентного состава листьев тополя бальзамического (зеленые и опад), в частности, экстрактивных веществ листьев и компонентного состава фракций спиртовых экстрактов;

- результаты твердофазного культивирования грибов PP-3.2 *P. pulmonarius* и Fp5-15 *F. pinicola*, M99-9 *T. aspirellum* и K6-15 *Trichoderma spp.* на листьях тополя;

- результаты исследования химического состава кормовых продуктов, полученных в результате микробиологической переработки субстратов на основе листьев тополя;

- результаты апробации по применению продуктов переработки листьев тополя;

- результаты исследований, отражающие влияние условий культивирования базидиомицетов PP-3.2 *P. pulmonarius* и Fp5-15 *F. pinicola* (крупность сырья, температура и продолжительность) на выход кормового продукта;

- разработанная технологическая схема переработки листьев тополя с получением БАВ и кормовых продуктов.

Научная новизна. Разработаны обоснованные технологические решения комплексной переработки листьев тополя, позволяющие получать продукты, обладающие биологической активностью.

Впервые исследован компонентный состав листьев тополя бальзамического; получены новые сведения об антимикробной и ростостимулирующей активности экстрактов листьев тополя бальзамического. На модельных опытах показано, что спиртовые экстракты подавляют рост и развитие грибов *Penicillium* зараженных семян пшеницы. Обработка семян сосны обыкновенной водным экстрактом листьев в два раза увеличивает их ростовые характеристики.

Установлена возможность утилизации листьев тополя и их послеэкстракционных остатков методом биоконверсии. Показано воздействие ферментного комплекса грибов PP-3.2 *P. pulmonarius*, Fp5-15 *F. pinicola*, M99-9 *T. aspirellum* и K6-15 *Trichoderma spp.* на лигноуглеводный комплекс субстратов.

Впервые доказана возможность обогащения белком листьев тополя методом биоконверсии с использованием базидиомицетов. Продукт имеет высокий уровень белка (25-30 %), содержание незаменимых аминокислот от 51 до 87 % и менее 1 % нуклеиновых кислот, перевариваемость более 50 %, что значительно выше по сравнению с традиционными кормами растительного происхождения.

Разработан метод утилизации листьев тополя грибами М99-9 *Trichoderma aspirellum* и К6-15 *Trichoderma spp.* с получением биопрепарата типа «Триходермин» с высоким титром спор и биогумуса при продолжительности культивирования до двух недель.

Теоретическая и практическая значимость. Разработана экологически безопасная, экономически эффективная и ресурсосберегающая технология по безотходной переработке листьев тополя бальзамического. Технология предусматривает получение экстрактов с последующей переработкой твердых остатков методом биоконверсии. Полученные результаты вносят существенный вклад в решение проблемы комплексного использования растительной биомассы.

Запатентованы способы переработки листьев тополя с получением белкового кормового продукта и препарата типа «Триходермин».

Установлены условия культивирования базидиальных грибов РР-3.2 *P. pulmonarius*, Fr5-15 *F. pinicola* на субстратах из листьев тополя, обеспечивающие получение высокого выхода кормового продукта.

Предложена технологическая схема комплексной переработки листьев тополя. Проведены технико-экономические расчеты, которые показали эффективность предлагаемых технологических решений.

Проведена апробация предлагаемой технологии. Нарботана опытная партия и проведены испытания кормового продукта на токсичность. Установлено, что полученные микробиологической конверсией продукты являются безвредными для животных. Анализ проведен в «Краевой ветеринарной лаборатории» по методикам ГОСТ 31674-2012.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Наиболее существенные результаты, выносимые на защиту, относятся к п. 9 – «Биохимия и микробиологическая переработка растительного сырья» и п. 13 – «Химия и технология переработки древесной зелени, однолетних растений, водорослей и т.д.» паспорта специальности 05.21.03 – «Технология и оборудование химической переработки биомассы дерева; химия древесины».

Степень достоверности результатов работы. Достоверность научных положений и выводов обеспечена использованием в работе проверенных методов эксперимента и современной аналитической техники, а также статистической обработкой результатов.

Апробация работы. Основные положения диссертации представлялись на международных: «Решетневские чтения» (Красноярск, 2018, 2020, 2021), «Молодежь. Общество. Современная наука, техника и инновации» (Красноярск, 2019), «Biologically active preparations for plant growing: Scientific background – Recommendations – Practical results» (Минск, 2020) и всероссийских:

«Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (Красноярск, 2020, 2021), «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья» (Барнаул, 2020), «Лесной и химические комплексы – проблемы и решения» (Красноярск, 2020, 2021) конференциях.

Публикации. По теме диссертации было опубликовано 25 печатных работ, из них две в изданиях перечня ВАК, четыре в базе данных Scopus, две в базе данных Web of Science, два патента на изобретение.

Личный вклад автора заключается в проведении экспериментальной работы, обработке полученных результатов и их обобщении, формулировке выводов и в подготовке основных публикаций по выполненной работе.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованных источников из 260 наименований и 6 приложений. Основной текст изложен на 162 с., включает 36 рисунков, 30 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Обоснована актуальность работы, показана научная новизна и практическая значимость результатов исследования.

Глава 1 Аналитический обзор. Проанализирована отечественная и зарубежная литература по вопросу использования вегетативной части тополя для химической и микробиологической переработки, описан ее химический состав. Рассмотрены свойства некоторых макро- (*Pleurotus*, *Fomitopsis*) и микроскопических (*Trihoderna*) грибов и возможность их культивирования на различных растительных субстратах с целью получения БАВ и белковых кормовых продуктов.

На основании литературного обзора сделан вывод о перспективности изучения состава, свойств листьев тополя и их переработки. Применение грибов, как биологических агентов, в биоконверсии данного вида растительных отходов должно решить проблему создания малоотходных технологий. В связи с этим многообещающим биотехнологическим процессом может стать твердофазная ферментация, как собственно растительной биомассы, так и твердых отходов ее химической переработки.

Сформулированы цель и задачи исследования.

Глава 2 Объекты и методы исследования. Представлены общие сведения об объектах и методах исследования.

Пробы листьев тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) отбирали в течение 2018-2021 гг. (зеленые: с июня по август, опад: сентябрь) на территории г. Красноярска.

Исследование химического состава листьев и продуктов их микробиологической переработки проводили по методикам, принятым в химии растительного сырья и биохимии микроорганизмов. Для установления состава экстрактов использовали методы исследования: ИК-спектроскопия (прибор ИК-Фурье спектрометр IRTraser-100, Shimadzu, Япония), спектрофотометрический метод (спектрофотометр СФ-26 и фотоэлектрокалориметр КФК-2-УЛ42), хромато-масс-спектрометрия (газовый хроматограф с масс-селективным детектором

7890A GC, System-5975C, VL MSD, Agilent США), тонкослойная хроматография (ТСХ) на пластинах Silufol UV254, в системе растворителей петролейный эфир-этанол. Для установления состава субстратов до и после биодеструкции использовали следующие методы: масс-спектрометрия (прибор масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой Agilent-7900, Agilent Technologies, США), атомно-абсорбционный анализ (прибор AAnalyst -400, PerkinElmer, США), ВЭЖХ (автоматический анализатор аминокислот LA8080, Hitachi, Япония), термогравиметрия (прибор TG 209 F1, NETZSCH, Германия), рентгеновская дифракция (порошковый рентгеновский дифрактометр D8 ADVANCE, Bruker, Германия).

Определение всхожести семян проводили по ГОСТ 14161-86, ГОСТ 13056.6-97 и ГОСТ 12038-84.

Уравнения регрессии и значения факторов процесса биоконверсии получены при помощи пакета программы STATGRAPHICS® Centurion.

Эксперименты проводили в трех повторах. Для математической и статистической обработки данных была использована программа Microsoft Excel. Полученные результаты не выходят за пределы доверительной вероятности $P = 0,95$.

Глава 3 Экспериментальная часть. Представлены и обсуждены результаты лабораторных исследований.

Химический состав листьев тополя бальзамического. Результаты исследования группового состава листьев тополя бальзамического и их послеэкстракционных остатков (п.э.о.) представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Компонентный состав листьев тополя и их послеэкстракционных остатков

Компонент	Содержание, % а.с.с.				
	опад	зеленые	А ¹	Б ²	В ³
Водозэкстрактивные вещества	29,2	26,7	24,4	7,4	7,8
Спиртоэкстрактивные вещества	4,9	29,2	9,0	4,8	10,7
Легкогидролизуемые полисахариды	17,4	11,1	8,7	24,2	22,3
Трудногидролизуемые полисахариды	15,5	12,3	21,5	26,8	28,9
Лигниновые вещества	20,3	13,7	25,2	26,2	23,9
Минеральные вещества	9,6	7,0	11,2	7,6	5,1
Белковые вещества	9,4	12,3	13,1	не определяли	
¹ А – твердый остаток зеленых листьев после спиртовой экстракции; ² Б – твердый остаток зеленых листьев после спиртовой и водной экстракции; ³ В – твердый остаток зеленых листьев после водной экстракции; относительная стандартная ошибка опыта не превышает 5 %					

Установлено, что компонентный состав листьев тополя представлен как низко-, так и высокомолекулярными соединениями. В листьях содержится от 34 (опад) до 56 % а.с.с. (зеленый лист) экстрактивных веществ. В составе опада преобладают водо-, а в зеленых листьях – спиртоэкстрактивные вещества, количество которых в шесть раз выше, чем в опаде. При извлечении из листьев полезных биологически активных компонентов (экстрактивных веществ) остается биомасса (послеэкстракционные остатки), перспективным направлением утилизации которой может стать микробиологическая переработка.

На долю веществ лигниноуглеводного комплекса приходится от 37 % в зеленых листьях до 75 % а.с.с. в п.э.о. листьев (В). Сумма полисахаридов варьируется от 23 до 51 % а.с.с. Доля легкогидролизуемых полисахаридов в общей массе углеводов листьев составляет от 29 % (А) до 53 % (опад).

Установлено, что химический состав опада близок к составу п.э.о. листьев (А). Количество экстрактивных веществ составляет 33-34 %, веществ лигниноуглеводного комплекса – 53-55 %.

Содержание минеральных веществ в листьях тополя находится в диапазоне от 5 до 11 % а.с.с. Основными элементами являются сера, фосфор, магний, кальций, железо и натрий. Содержание в листьях тяжелых металлов не превышает предельно допустимой концентрации для кормов животных (Нормы и требования № 13-7-2/174. Ветеринарно-санитарные нормы и требования к качеству кормов для непродуктивных животных, 1997).

Содержание белка в листьях составляет от 9 % (опад) до 12 % (зеленые листья). Впервые для опада был определен аминокислотный состав. Установлено, что на долю незаменимых аминокислот белков приходится 79 % (опад) и 49 % (зеленые листья) (таблица 2).

Таблица 2 – Аминокислотный состав белков листьев тополя

Аминокислота	Содержание, мг/г сухой массы		Аминокислота	Содержание, мг/г сухой массы	
	зеленые	опад		зеленые	опад
Треонин	3,44	6,23	Цистин	0,50	следы
Валин	4,44	7,28	Аспарагиновая кислота	7,23	13,53
Изолейцин	3,14	5,46	Серин	4,17	6,22
Лейцин	5,65	10,09	Глутаминовая кислота	10,25	20,73
Фенилаланин	3,31	6,46	Глицин	4,00	6,79
Лизин	3,72	6,33	Аланин	4,08	7,07
Метионин	0,96	следы	Тирозин	2,31	4,00
Гистидин	5,90	2,45	Пролин	3,04	5,78
Аргинин	3,27	6,08			

Для опада и зеленых листьев установлено содержание витаминов: тиамин – 0,03 и 1,1 мг%, аскорбиновой кислоты – 0,04 и 0,9 мг%, рибофлавина – 0,04 и 0,7 мг%, рутина – 0,5 и 0,9 мг% соответственно.

Таким образом, в листьях содержится большое количество экстрактивных веществ, которые могут использоваться самостоятельно. Выделение этой группы веществ будет повышать доступность растительного субстрата для микроорганизмов при культивировании. Опад и п.э.о. зеленых листьев могут быть использованы для микробиологической переработки, так как имеют благоприятный состав для роста и развития грибов.

Исследование экстрактивных веществ листьев тополя. В составе экстрактивных веществ высока доля водорастворимых компонентов, она варьируется от 48 % (зеленые листья) до 86 % (опад). Основной группой соединений

водорастворимых веществ зеленых листьев являются углеводы – 9,9 % а.с.с. или ~37,2 % сухих веществ экстракта (с.в.э.), из них на долю олигосахаридов приходится 14,9 %. В опавших листьях количество углеводов в водном экстракте меньше (27 % от с.в.э.), содержание олигосахаридов составляет 9,6 % с.в.э., минеральных веществ около 12 % с.в.э.

Суммарное содержание макроэлементов (магний, фосфор, сера, калий) составляет 96 %. Среди микроэлементов основными являются хлор, цинк, натрий. Микроэлементы повышают устойчивость растений к неблагоприятным условиям окружающей среды, а также к бактериальным и грибковым болезням.

Таким образом, водный экстракт содержит необходимые органические и минеральные компоненты, способствующие росту растений, и может быть использован в качестве ростостимулирующих веществ, например, при проращивании семян злаковых и хвойных культур, а также для зрелых растений. Кроме того, компоненты, содержащиеся в водном экстракте, могут являться основой для питания микроорганизмов.

Спиртовые экстракты листьев тополя содержат 4 (зеленые) и 2,5 % а.с.с. (опавшие) липидов, в которых доля нейтральных составляет 53 и 67 %, гликолипидов – 35 и 25 % и фосфолипидов – 12 и 9 % соответственно.

Методом ТСХ в составе нейтральных липидов опада установлено наличие только свободных жирных кислот, триацилглицеридов и углеводов в отличие от зеленых листьев, где присутствуют также моноацилглицериды, стерины и их эфиры.

Содержание каротиноидов в опавших листьях составляет 0,22 %, что в два раза выше, чем в зеленых. Результаты качественного анализа каротиноидов листьев тополя методом ТСХ в системе петролейный эфир-этанол (16:1) показали наличие ксантофиллов и каротина.

Результаты исследования группового состава спиртовых экстрактов листьев тополя. Для выбора направления использования экстрактивных веществ необходимо знание их фракционного состава. Это позволит определить количество и оценить вклад каждой фракции при исследовании свойств экстрактивных веществ. Разделение веществ спиртовых экстрактов проводили с использованием растворителей с возрастающей полярностью (таблица 3). Исследование для опавших и зеленых (июль) листьев тополя проведено впервые.

Таблица 3 – Фракционный состав листьев тополя

Наименование экстракта	Содержание, %	
	опад	зеленые
Петролейный	1,2/15,0	1,2/11,1
Диэтиловый	0,4/12,2	0,1/3,8
Этилацетатный	4,8/59,5	4,9/46,7
Бутанольный	1,7/20,3	3,1/28,7
Примечание – в числителе приведено содержание от а.с.с., в знаменателе – от суммы экстрактивных веществ; относительная стандартная ошибка опыта не превышает 5 %		

Основной фракцией экстрактов, как в зеленых, так и опавших листьях являются вещества, извлекаемые этилацетатом. Известно, что в этилацетат могут

переходить флавоноиды, содержание которых в листьях тополя сибирского региона выше, чем, например, в зеленых листьях тополя бальзамического (в 1,7 раз) и дельтовидного (в 2,3 раза), произрастающих в Самарской области (Куркин В.А., Куприянова Е.А., 2020).

Состав полученных фракций был исследован методом хромато-масс-спектрологии. В результате исследования петролейных экстрактов (ПЭ) листьев разных фаз развития было идентифицировано 118 (июнь), 169 (июль), 144 (август) и 105 (сентябрь) компонентов, диэтиловых экстрактов (ДЭ) – 57 (июнь), 19 (июль), 95 (август) и 55 (сентябрь) компонентов, этилацетатных экстрактов (ЭА) – 86 (июнь), 96 (июль), 107 (август) и 51 (сентябрь) компонентов.

В составе фракций спиртовых экстрактов присутствуют кислородсодержащие (31-99 %) (рисунок 1), кремнийсодержащие (до 65 %) соединения, углеводороды от C₂₀ и выше (до 63 %), а также бром-, фтор-, серо-, и азотсодержащие соединения.

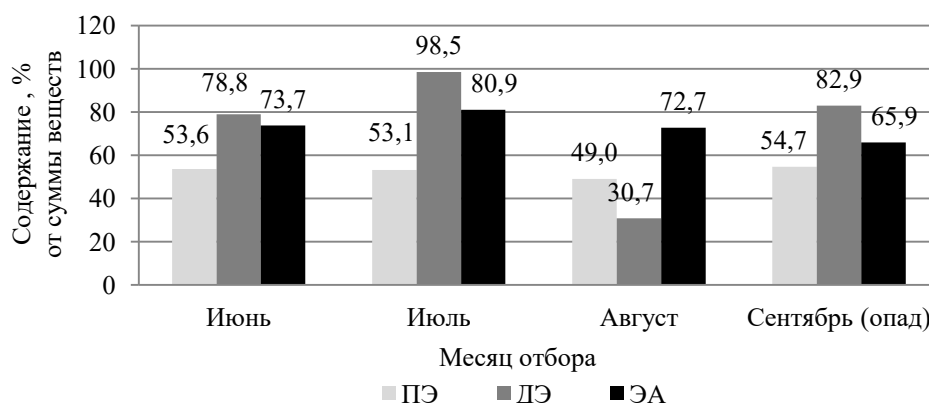


Рисунок 1 – Динамика содержания кислородсодержащих веществ в листьях тополя

Во всех экстрактах листьев обнаружен фитол. В петролейном экстракте зеленых листьев, отобранных в июле, обнаружены ацетат мегастерола (1,4) и γ -ситостерин (5,1); в сентябре – ситостерол (8,2 % от суммы идентифицированных). В диэтиловом экстракте зеленых листьев (июль) содержится значительная доля спиртов: 3-гексанол и 2,4-диметил-2,4-пентандиол (в сумме 77,8 %), в других экстрактах (август и сентябрь) доля спиртов составляет 30,8 и 34,3 % соответственно от суммы кислородсодержащих соединений. В диэтиловом экстракте опавших листьев установлено наличие диэтилтолуамида, соединения, обладающего репеллентным и инсектицидным действием.

В этилацетатном экстракте зеленых листьев обнаружено высокое содержание кротоновой и 2-бутеновой(Е) кислот, которое составляет 28,5 % (июнь) и 58,4 % (август) от суммы кислородсодержащих соединений.

Среди кислородсодержащих соединений установлено наличие галаксида (полициклическое мускусное соединение) – 19,9 % (июнь) и этилен брассилата – 8,4 % (август). Кроме того, в экстракте (август) обнаружены гедион (3-оксо-2-пентенилциклопентануксусной кислоты метиловый эфир) и β -изометилюнон, которые также применяют в отдушках и парфюмерных композициях.

В июньском экстракте обнаружен 4-метокси-3-нитробифенил, используемый в качестве важного промежуточного звена в синтезе бифеназата, который признан эффективным бактерицидом.

Таким образом, в процессе исследования спиртовых экстрактов обнаружены биологически активные вещества, на основе которых могут быть получены лекарственные формы, а также компоненты, способные подавлять рост и развитие микроорганизмов.

Микробиологическая переработка листьев тополя

На сегодняшний день остается актуальной проблема поиска доступного и дешевого сырья для промышленной биотехнологии, позволяющей получать различные препараты, в том числе кормового назначения и для защиты растений.

Для микробиологической конверсии использовали различные растительные субстраты на основе листьев тополя: опавшие листья тополя (субстрат 1), зеленые листья (субстрат 2), твердый остаток зеленых листьев после спиртовой экстракции (субстрат 3), твердый остаток зеленых листьев после спиртовой и водной экстракции (субстрат 4), твердый остаток зеленых листьев после водной экстракции (субстрат 5).

Результаты культивирования базидиомицетов на листьях тополя. В качестве биодеструктора использовали грибы рода *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Qué1 (штамм PP-3.2), *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst (штамм Fp5-15).

Установлено, что с максимальной скоростью ($(3,8 \pm 1,16)$ мм/сут) гриб Fp5-15 *F. pinicola* растет на послеэкстракционном остатке (п.э.о.) зеленых листьев (субстрат 3), чашка Петри зарастала уже на 10-е сутки. Для гриба PP-3.2 *P. pulmonarius* максимальная радиальная скорость роста отмечена на субстратах 4 ($4,9 \pm 1,19$) и 5 ($5,1 \pm 1,16$) мм/сут. В процессе культивирования субстраты полностью обрастали мицелием на 8-е сутки культивирования. При этом высокий ростовой коэффициент отмечен при культивировании грибов на субстратах 2 – ($28,0 \pm 10,7$) и ($50,3 \pm 9,52$) мм/сут и 3 – ($29,9 \pm 9,08$) и ($50,4 \pm 9,75$) мм/сут для Fp5-15 *F. pinicola* и PP-3.2 *P. pulmonarius* соответственно.

Об эффективности воздействия комплекса ферментов базидиомицетов на исследуемые субстраты можно судить по убыли массы и изменению содержания компонентов субстрата. Максимальная субстратразрушающая активность PP-3.2 *P. pulmonarius* при твердофазной ферментации растительных отходов отмечена на субстратах 2 и 3, убыль массы составила 10,5 и 10,8 % соответственно. Гриб Fp5-15 *F. pinicola* в большей степени разрушает опад, убыль массы субстрата составила 5,3 %. Результаты исследования компонентного состава субстрата после биодеструкции приведены в таблице 4.

В процессе трансформации субстратов наиболее полно утилизируются водоекстрактивные вещества от 30 % (субстрат 3) до 56 % (субстрат 2). Грибы также утилизируют полисахариды. В зависимости от биодеструктора их количество снижается на 13 и 20 % (субстрат 1), 22-23 % (субстрат 2), 28 и 23 % (субстрат 3), при этом грибы используют преимущественно гемицеллюлозы, их содержание уменьшается на 20-36 % (субстрат 1), 22-29 % (субстрат 2), 24-28 % (субстрат 3) для Fp5-15 *F. pinicola* и PP-3.2 *P. pulmonarius* соответственно.

Таблица 4 – Компонентный состав субстратов до и после биодеструкции

Компонент	Штамм	Содержание до и после биодеструкции, % а.с.с.					
		субстрат 1		субстрат 2		субстрат 3	
		до	после	до	после	до	после
Вещества, экстрагируемые горячей водой	Fp5-15	29,2	13,6	26,7	11,7	24,4	16,1
	PP-3.2		16,2		14,8		17,0
Вещества, экстрагируемые этиловым спиртом	Fp5-15	4,9	5,0	29,2	20,2	9,0	7,2
	PP-3.2		3,0		19,4		6,4
Легкогидролизуемые полисахариды	Fp5-15	17,4	13,8	11,1	8,7	8,7	6,6
	PP-3.2		11,2		7,9		6,3
Трудногидролизуемые полисахариды	Fp5-15	15,5	14,9	12,3	9,6	21,5	15,1
	PP-3.2		15,2		10,2		17,1
Лигниновые вещества	Fp5-15	20,3	18,9	13,7	14,0	25,2	22,1
	PP-3.2		18,4		13,6		20,8
Минеральные вещества	Fp5-15	9,6	10,6	7,0	6,6	11,2	9,6
	PP-3.2		9,4		6,8		9,7
Примечание – относительная стандартная ошибка опыта не превышает 5 %							

У целлюлозы грибы утилизируют аморфную часть, за счет чего в процессе биодеструкции содержание ее снижается от 1,5 (субстрат 1) до 6 % (субстрат 3), при этом степени кристалличности увеличивается с 17 до 30-31 % (субстрат 1) и с 23 до 29-32 % (субстрат 3) в зависимости от биодеструктора.

Установлено, что в процессе биоконверсии субстратов 1 и 3 грибы утилизируют лигниновые вещества, их содержание снижается на 7-9 % (субстрат 1), 12-17 % (субстрат 3) для Fp5-15 *F. pinicola* и PP-3.2 *P. pulmonarius* соответственно. Следует отметить, что при культивировании грибов на субстрате 2 значительных изменений содержания лигниновых веществ не происходит.

Кормовые продукты, полученные в процессе биоконверсии, характеризуются благоприятным химическим составом, высоким уровнем белка (23-30 %), содержащего от 51 до 87 % незаменимых аминокислот (таблица 5).

В продуктах биодеструкции количество нуклеиновых кислот не превышает 1 % от а.с.с.; присутствуют витамины В₁ – 1,1-4,9, В₂ – 1,1-5,6, С – 0,4-2,4, Р – до 0,8 мг%, основные макро- и микроэлементы. Содержание тяжелых металлов не превышает предельно допустимых концентраций. Количество сырой клетчатки 15-22 %, что соответствует оптимальному содержанию в рационе жвачных животных, например, коров. Перевариваемость кормовых продуктов не менее 50 %, что выше чем, например, у древесной зелени еловых. Установлено, что полученные микробиологической конверсией продукты являются нетоксичными в отношении животных. Эти показатели дают возможность рекомендовать к использованию данные продукты в качестве белковой кормовой добавки.

Результаты культивирования грибов рода *Trichoderma*. Другим направлением переработки растительных субстратов на основе листьев тополя может служить получение биопрепаратов на основе грибов рода *Trichoderma*. В качестве биодеструкторов в работе использованы сибирские штаммы грибов М99-9 *T. aspirellum* и К6-15 *Trichoderma spp.*

Таблица 5 – Состав и скор незаменимых аминокислот белка биодеструктированных субстратов

Аминокислота	Содержание, %									
	эталонный белок		субстрат 1				субстрат 3			
			Fp5-15		PP-3.2		Fp5-15		PP-3.2	
	от Σ АК ¹	скор ²	от Σ АК	скор	от Σ АК	скор	от Σ АК	скор	от Σ АК	скор
Валин	5,0	100,0	7,4	148,0	7,8	156,0	7,5	150,0	12,9	258,0
Изолейцин	4,0	100,0	4,7	117,5	4,9	122,5	5,3	132,5	9,4	235,0
Лейцин	7,0	100,0	9,0	128,6	9,1	130,0	9,6	137,1	18,5	264,3
Фенилаланин + Тирозин	6,0	100,0	8,4	140,0	5,0	83,3	9,9	165,0	17,1	285,0
Метионин + Цистин	3,5	100,0	следы	-	следы	-	1,4	40,0	2,9	82,9
Треонин	4,0	100,0	5,6	140,0	5,1	127,5	5,4	135,0	11,0	275,0
Лизин	5,5	100,0	3,5	157,1	3,0	54,5	4,4	80,0	7,1	129,1
Аргинин	- ³	-	4,7	-	4,1	-	5,8	-	10,5	-
Гистидин	-	-	10,9	-	11,2	-	2,0	-	3,2	-

¹ Σ АК – сумма аминокислот; ²скор – скорректированный аминокислотный коэффициент усвояемости белков, рекомендованный для применения при оценке качества белков FAO/WHO (1973); ³ - отсутствие данных

Результаты определения титра спор исследуемых грибов рода *Trichoderma* представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Урожай конидий грибов рода *Trichoderma*

Субстрат	Штамм	Титр, 10 ⁸ КОЕ/г				
		7 сут	11 сут	14 сут	18 сут	21 сут
1	M99-9	2,2	3,0	4,2	1,9	1,8
	K6-15	4,2	5,7	7,1	4,8	2,7
2	M99-9	8,6	16,5	23,3	11,8	10,3
	K6-15	7,4	21,1	35,6	24,7	21,4
3	M99-9	2,3	3,5	4,7	3,9	3,1
	K6-15	4,5	5,3	5,9	3,6	3,1
4	M99-9	1,3	2,9	4,1	2,9	2,1
	K6-15	2,3	3,9	4,7	3,1	2,9
5	M99-9	7,9	14,4	25,1	22,0	21,2
	K6-15	4,2	10,1	18,7	16,9	15,1

Наиболее интенсивно процесс конидиегенеза грибов протекает на опаде (субстрат 1), зеленых листьях (субстрат 2) и остатке зеленых листьев после водной экстракции (субстрат 5).

Установлено, что в процессе биодеструкции происходит снижение суммы полисахаридов за счет способности грибов рода *Trichoderma* образовывать целлюлолитические ферменты на природных субстратах и различных раститель-

ных отходах. При культивировании штамма М99-9 доля полисахаридов снижается на 16 (субстрат 1), 20 (субстрат 2) и 40 % (субстрат 5), при культивировании штамма К6-15 – на 15 (субстрат 1), 21 (субстрат 2) и 28 % (субстрат 5).

Содержание суммы экстрактивных веществ также уменьшается, при использовании штамма М99-9 на 53 (субстрат 2), 40 (субстрат 5) и 27 % (субстрат 1), а при использовании штамма К6-15 на, 47 %, 38 % и 32 (соответственно).

В процессе культивирования отмечено снижение содержания лигниновых веществ: в субстрате из опада на 15-20 % (субстрат 1), зеленых листьев – на 29-40 % (субстрат 2) и послеэкстационного остатка – до 11 % (субстрат 5). При этом происходит накопление гуминовых веществ от 11 % (субстрат 5) до 22 % (субстрат 2).

Сравнивая химический состав субстратов после биодеструкции можно судить о том, что грибы рода *Trichoderma* утилизируют основную часть полисахаридов и экстрактивных веществ. Высокий титр спор и образование в процессе культивирования гуминовых веществ, которые применяют в качестве стимуляторов роста растений, дает основание полагать, что листья тополя и их послеэкстракционные остатки можно использовать в качестве сырья для получения биопрепарата типа «Триходермин» или гумификации почвы.

Апробация продуктов переработки листьев тополя для получения биологически активных препаратов. Ростостимулирующий эффект водозэкстрактивных веществ листьев тополя изучен на семенах сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). Установлено, что использование водного экстракта листьев тополя бальзамического с концентрацией 0,025 % при проращивании семян сосны в большей степени сказывается на длине проростка и корня, увеличивая их в 1,9 и 1,3 раза соответственно. При проращивании семян в грунте масса проростков увеличилась в 1,5 раза, линейные размеры в 1,9 раза, происходит улучшение качества семян – всхожесть повышалась в 2,3 раза.

Для установления антифунгальной активности спиртовых экстрактов были использованы микроскопические грибы рода *Penicillium*, выделенные из зараженной пшеницы Новосибирская 31 (*Triticum aestivum* L.) и заплесневелого хлеба. Полученные результаты свидетельствуют, что спиртовые экстракты и отдельные его фракции способны подавлять рост грибов рода *Penicillium*. Экстракты вносили из расчета 4000 мкг/мл. Наименьшей активностью обладали этилацетатный и диэтиловый экстракты. Наилучшая ингибирующая активность отмечена у бутанольной фракции, выделенной из опавших листьев.

Также в работе было изучено антимикробное действие спиртового экстракта листьев тополя при проращивании зараженного зерна мягкой яровой пшеницы Новосибирская 31 (*Triticum aestivum* L.). Высокими ингибирующими свойствами обладают спиртовые экстракты листьев, в частности диэтиловые и бутанольные фракции. Наибольший эффект достигнут при обработке семян пшеницы Новосибирской 31 веществами суммарного спиртового экстракта листьев, позволившими снизить заражённость зерна с 90 % в контроле (дистиллированная вода) до 10 %.

При последующем проращивании обработанного экстрактивными веществами листьев тополя зерна пшеницы Новосибирская 31 были получены сле-

дующие результаты: зерно сохраняет способность к проращиванию; энергия прорастания, всхожесть и длина ростка несколько снижается по сравнению с контролем; длина корня увеличивается и составляет в среднем +115 % к контролю (при использовании экстрактов, как зеленых, так и опавших листьев).

Исследование биопрепарата типа «Триходермин». Исследование проводили на примере биопрепарата, полученного в процессе деструкции опада с использованием штамма K6-15 *Trichoderma spp.* (титр $7,1 \cdot 10^8$ КОЕ/г). Эксперименты по оценке эффективности препарата проводили двумя методами: опудривание семян и внесение препарата в почву (0,05 г и 0,01 г на 20 см³ земли), при этом использовали семена томата и зараженное грибами рода *Penicillium* зерно пшеницы Новосибирская 31. В эксперименте оценивали всхожесть и число зараженных семян.

Установлено, что с использованием метода опыления всхожесть семян томата на 5-е сутки составила 100 %, что в два раза выше по сравнению с контролем. В процессе обработки почвы биопрепаратом 100 % всхожесть наблюдалась на 6-е сутки проращивания при внесении препарата с концентрацией 0,05 г/20 см³.

При обработке зараженного зерна пшеницы методом опыления всхожесть увеличилась в 1,3 раза и уже на 3-и сутки составила +136 % к контролю. В процессе обработки земли максимальная всхожесть (+166 % к контролю) наблюдалась при внесении препарата с концентрацией 0,05 г/20 см³. В процессе проращивания у 33 % зерна (контроль) обнаружены следы гнили, при использовании биопрепарата следов гнили не обнаружено.

Результаты исследования показали, что использование препарата повышает всхожесть семян и уменьшает содержание гнили, обнаруженной в процессе проращивания зерна пшеницы.

Определение условий культивирования базидиальных грибов. Для построения математической модели процесса культивирования базидиомицетов и оценки влияния на процесс каждого учитываемого технологического фактора было изучено влияние крупности сырья, а также температуры (диапазон от 20 до 30 °С, интервал варьирования 5) и продолжительности (от 8 до 12 сут, интервал варьирования 2) на скорость роста (СР), ростовой коэффициент (РК) грибов (РР-3.2 *P. pulmonarius* и Fr5-15 *F. pinicola*), и выход конечного продукта (ВП).

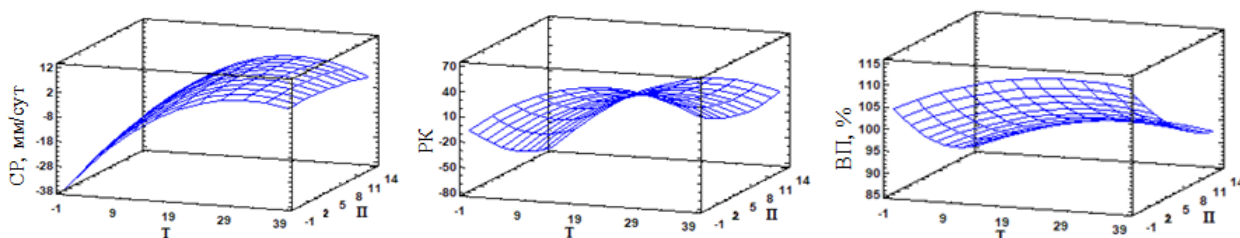
Влияние фракционного состава сырья на ростовые параметры грибов определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (рисунок 2, на примере результатов, полученных в процессе культивирования Fr5-15 *F. pinicola* на опаде).

Для получения математической модели процесса культивирования от выбранных переменных и определения наиболее благоприятных значений температуры и продолжительности культивирования грибов использовали метод в виде плана на кубе. На рисунке 3 представлены поверхности отклика выходных параметров, на примере результатов культивирования Fr5-15 *F. pinicola* на опавших листьях тополя.



1 – 1-2 мм, 2 – 3-4 мм, 3 – 5-6 мм, 4 – 7-8 мм, 5 – 10-12 мм

Рисунок 2 – Средние значения доверительных интервалов выходных параметров с вероятностью 95 % при культивировании Fp5-15 *F. pinicola* на опаде



T – температура, °C; П – продолжительность, сут

Рисунок 3 – Поверхности отклика выходных параметров, полученные в результате культивирования Fp5-15 *F. pinicola* на опаде

Статистически значимым параметром для культивирования грибов является температура, она влияет на показатель скорости роста гриба (CP). С увеличением продолжительности биодеструкции (П) происходит уменьшение количества конечного продукта за счет биотрансформации грибом субстрата.

Установлены следующие условия культивирования базидиальных грибов: крупность сырья 5-6 мм (PP-3.2 *P. pulmonarius*) и 7-8 мм (Fp5-15 *F. pinicola*); температура $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$; продолжительность культивирования 8-10 сут.

Сравнение полученных в процессе математической обработки теоретических результатов с экспериментальными данными показывает их соответствие. На примере культивирования грибов Fp5-15 *F. pinicola* на опавших листьях в оптимальных условиях установлено, что значения ростовых параметров составляют 93 %, при этом выход продукта – 99 % от теоретически возможного.

Глава 4 Технология переработки листьев тополя с получением БАВ и кормовых продуктов

Технология предусматривает выделение водо- и спирторастворимых веществ из зеленых листьев тополя и утилизацию послеэкстракционного остатка и опавших листьев методом биоконверсии с получением белкового кормового продукта и/или биопрепарата типа «Триходермин». Блок-схема процесса получения продуктов переработки листьев тополя приведена на рисунке 4.

Растительное сырье (зеленые и опавшие листья тополя) сушат и измельчают до размера частиц 5-6 мм. Далее необходимое количество измельченного сырья поступает на переработку в экстракционное отделение, где осуществляется поочередная экстракция водой, а затем этиловым спиртом (продолжительность каждой экстракции – 3 ч, жидкостный модуль – 20, концентрация этило-

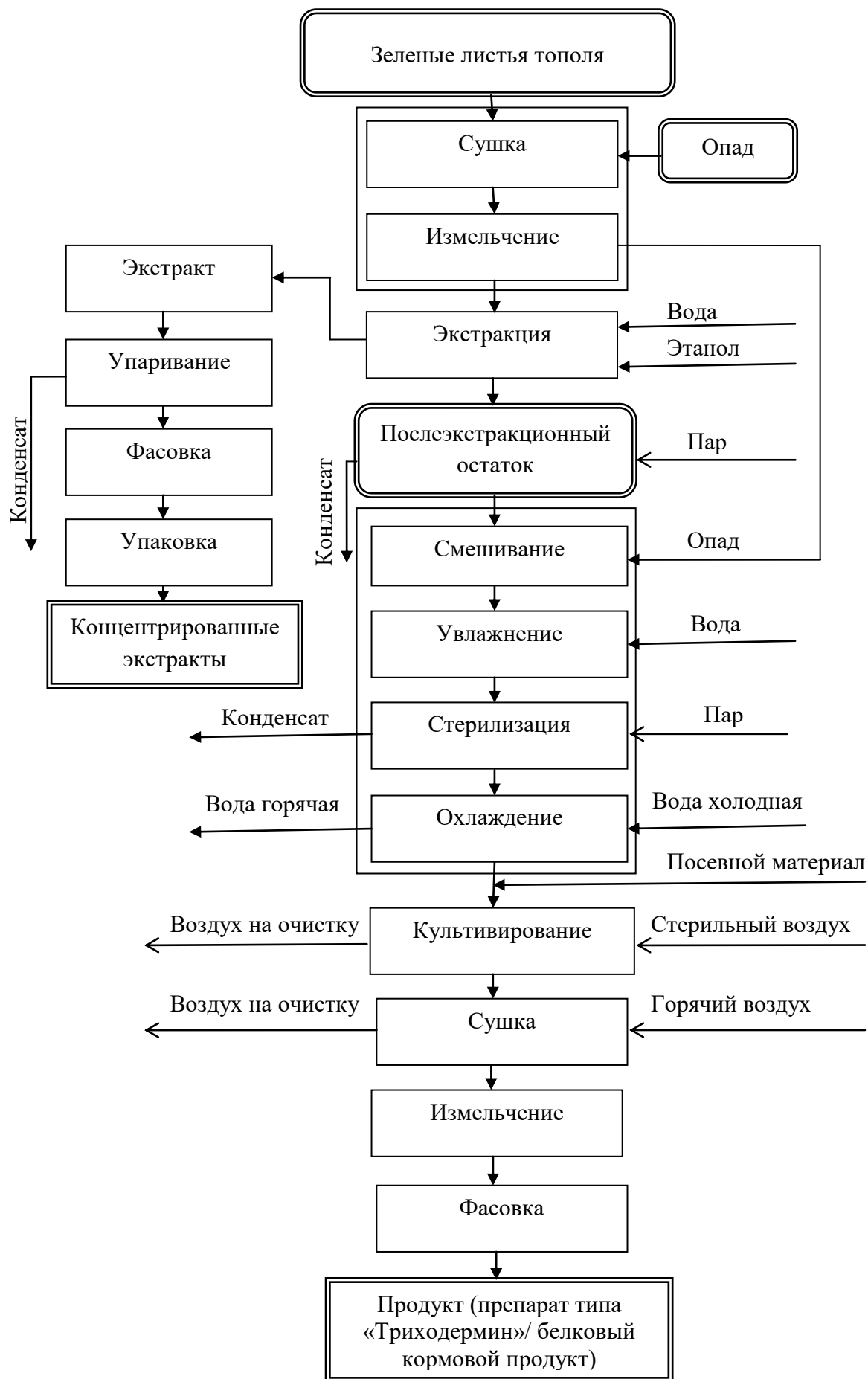


Рисунок 4 – Блок-схема технологического процесса переработки листьев тополя

вого спирта – 96 %, температура – 70 °С). Остаточное количество спирта из твердого остатка удаляется с помощью отдувки паром. В процессе отдувки пары этанола направляются в конденсатор-холодильник, далее конденсат отправляется на регенерацию спирта.

Полученные экстракты концентрируются в два раза, фасуются, упаковываются и отправляются на склад готовой продукции.

Твердый остаток, полученный в процессе экстрагирования зеленых листьев, далее смешивается с опадом тополя и поступает на микробиологическую переработку.

Технологический процесс производства биопрепаратов состоит из следующих стадий:

- получение чистой культуры гриба в лабораторных условиях;
- приготовление посевного материала;
- твердофазное культивирование грибов на растительном субстрате;
- сушка и измельчение ферментированного субстрата.

Получение посевного материала грибов проводят глубинным способом культивирования. Для культивирования РР-3.2 *Pleurotus pulmonarius* используется среда Норкранса, для К6-15 *Trichoderma spp.* – среда Чапека.

Послеэкстракционный остаток и опад в соотношении 1:1 перемешиваются, увлажняются, стерилизуются и охлаждаются до температуры (25±2) °С. Стерилизация осуществляется насыщенным паром при давлении 0,1 МПа в течение 60 мин. Выраженный в отделении чистой культуры посевной материал по стерильному трубопроводу подается в аппарат при непрерывном перемешивании. Конечная влажность субстрата составляет 65-70 %. Затем инокулированный растительный субстрат выгружается в перфорированные лотки, которые помещаются в специальные климатические камеры для выращивания грибов, где поддерживается заданная влажность.

Для получения биопрепарата типа «Триходермин» штамм К6-15 *Trichoderma spp.* вносится из расчета $1 \cdot 10^6$ спор/г а.с.с., температура культивирования (28±2) °С. Для получения белкового продукта мицелий продуцента РР-3.2 *P. pulmonarius* вносится в субстрат в соотношении 1:10 по массе, температура культивирования (25±2) °С.

По истечении 10 сут культивирования биомассу высушивают до остаточной влажности 10 %, измельчают на дезинтеграторе, полученный продукт фасуют, упаковывают и отправляют на склад готовой продукции.

При поверхностном культивировании подготовка воздуха для аэрации проводится в отделении кондиционирования воздуха.

Таким образом, данная схема переработки листьев тополя позволяет получить ряд продуктов: водный экстракт, спиртовой экстракт, биопрепарат типа «Триходермин» (титр $2,1 \cdot 10^9$ КОЕ/г, содержание гуминовых кислот не менее 13 %), белковый кормовой продукт (содержание белка не менее 20,0 %). Рентабельность производства составляет 49,3 %, ориентировочный срок окупаемости один год.

Заключение

1. Обоснованы технологические решения, позволившие впервые разработать и апробировать способ комплексной химической и микробиологической переработки листьев тополя бальзамического с получением экстрактивных веществ, обладающих биологической активностью, и лигноуглеводных остатков с получением продуктов с добавленной стоимостью.

2. Методами химического и физико-химического анализа установлено наличие белков, углеводов, липидов, фенольных веществ, терпенов, макро- и микроэлементов, которые в совокупности определяют свойства и направление использования экстрактов из листьев тополя.

3. Получены новые сведения о ростостимулирующих и фунгицидных свойствах экстрактов листьев тополя бальзамического. Установлено, что при обработке водным экстрактом семян сосны обыкновенной увеличивается всхожесть (в 2,3 раза), длина проростков (1,9 раза) и корня (в 1,3 раза). Спиртовые экстракты листьев и его отдельные фракции подавляют рост и развитие грибов рода *Penicillium* зараженных семян мягкой яровой пшеницы сорта Новосибирская 31.

4. Установлен состав продуктов, полученных в результате конверсии листьев тополя базидиальными грибами. Продукт имеет высокий уровень белка (до 25-30 %), включающего от 51 до 87 % незаменимых аминокислот; содержит витамины, биологически ценные элементы, клетчатку (15-22 %), менее 1 % нуклеиновых кислот. Продукт нетоксичен, перевариваемость более 50 %, что позволяет рекомендовать его в качестве белковой кормовой добавки для сельскохозяйственных животных.

5. Определены условия культивирования базидиальных грибов на листьях тополя, обеспечивающие высокий выход продукта: крупность сырья 5-6 мм (PP-3.2 *P. pulmonarius*) и 7-8 мм (Fr5-15 *F. pinicola*); температура (25±2) °C; продолжительность культивирования 8-10 сут. Установлено, что под действием ферментного комплекса грибов деструкции подвергаются как полисахариды, так и лигниновые вещества. В большей степени грибы утилизируют водорастворимые экстрактивные вещества (до 56 %), легкогидролизуемую часть полисахаридов (до 36 %), в меньшей – лигниновые вещества (9-18 %).

6. С использованием сибирских штаммов M99-9 *Trichoderma aspirellum* и K6-15 *Trichoderma spp.* получен препарат с высоким титром (до $3,4 \cdot 10^9$ КОЕ/г), соответствующий нормам для биопрепарата типа «Триходермин». Процесс деструкции лигноуглеводного комплекса сопровождается образованием до 22 % гуминовых кислот. Установлено, что при внесении биопрепарата (на основе K6-15 *Trichoderma spp.* с титром не менее $7,1 \cdot 10^8$ КОЕ/г) в почву улучшается всхожесть семян и снижается их зараженность. Кроме того препарат возможно использовать для гумификации почвы.

7. Проведенные технико-экономические расчеты показали экономическую целесообразность комплексной переработки листьев тополя бальзамического по разработанной схеме. Рентабельность производства 49,3 %, ориентировочный срок окупаемости до одного года.

Основные материалы диссертации изложены в следующих работах:

Статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК:

1 Мамаева, О. О. Компонентный состав продуктов ферментации вегетативной части древесных растений базидиальными грибами *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst (Fp5-15) / О. О. Мамаева, Е. В. Исаева // Хвойные бореальной зоны. – 2020. – Т. – XXXVIII. – № 5-6. – С. 259-264 (автора 0,2 п.л.).

2 Леконцева, И. В. Древесная зелень пихты как субстрат для биоконверсии базидиальных грибов / И. В. Леконцева, О. О. Мамаева, Е. В. Исаева // Хвойные бореальной зоны. – 2019. – Т. 37. – № 3-4. – С. 265-270 (автора 0,1 п.л.).

Статьи, опубликованные в журналах, входящих в базу данных Scopus и Web of Science:

3 Мамаева, О. О. Конверсия отходов переработки вегетативной части тополя аборигенными штаммами грибов рода *Trichoderma* / О. О. Мамаева, Е. В. Исаева, Т. В. Рязанова // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Химия. – 2019. – Т. 12. – № 2. – С. 296-303 (автора 0,3 п.л.).

4 Мамаева, О. О. Аминокислотный состав продуктов биоконверсии послеэкстракционных остатков вегетативной части растений грибами *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst (Fp5-15) / О. О. Мамаева, Е. В. Исаева // Химия растительного сырья. – 2020. – № 4. – С. 425-432 (автора 0,3 п.л.).

5 Исаева, Е. В. Состав, свойства и переработка отходов вегетативной части тополя после извлечения экстрактивных веществ. Сообщение 3. Получение биопрепаратов на основе грибов рода *Trichoderma* / Е. В. Исаева, О. О. Мамаева, Т. В. Рязанова // Химия растительного сырья. – 2020. – № 4. – С. 413-423 (автора 0,2 п.л.).

6 Компонентный состав продукта биодеструкции опавших листьев базидиальными грибами *Pleurotus pulmonarius* (штамм PP-3.2) / О. О. Мамаева, Е. В. Исаева, С. Р. Лоскутов [и др.] // Химия растительного сырья. – 2021. – № 1. – С. 277-285 (автора 0,3 п.л.).

7 Mamaeva, O. O. Use of Post-extraction Fir Wood Greenery Residues by the Bioconversion Method with the Production of Feed Additives / O. O. Mamaeva, E. V. Isaeva // Forests. – 2021. – № 12 (3). – P. 272-283 (автора 0,5 п.л.).

8 Мамаева, О. О. Утилизация листьев тополя (*Populus balsamifera* L.) методом биоконверсии / О. О. Мамаева, Е. В. Исаева // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Химия. – 2022. – Т. 15. – № 1. – С. 102-109 (автора 0,3 п.л.).

Патенты

9 Патент № 2763403 С1 РФ, МПК С12N 1/14. Способ комплексной переработки вегетативной части тополя бальзамического методом биоконверсии : № 2021107848 : заявл. 23.03.2021 : опубл. 28.12.2021 / Е. В. Исаева, Т. В. Рязанова, О. О. Мамаева ; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнева» (автора 0,3 п.л.).

10 Патент № 2763177 С1 РФ, МПК А23К 10/10. Способ переработки опавших листьев тополя бальзамического методом биоконверсии : №

2021112037 : заявл. 26.04.2021 : опубли. 28.12.2021 / Е. В. Исаева, Т. В. Рязанова, О. О. Мамаева ; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнева» (автора 0,2 п.л.).

Некоторые труды в прочих изданиях:

11 Mamaeva, O. O. Vegetative part of balsamic poplar as a substrate for bio-conversion / O. O. Mamaeva // Молодежь. Общество. Современная наука, техника и инновации: материалы XVIII Междунар. науч. конф. – Красноярск, 2019. – № 18. – С. 376-378 (автора 0,2 п.л.).

12 Mamaeva, O. O. Solid-state fermentation of *Trichoderma* fungi on post-extraction residues of the poplar vegetative part to receive *Trichodermin* / O. O. Mamaeva, E. V. Isaeva // Biologically active preparations for plant growing: Scientific background – Recommendations – Practical results: материалы XVI Междунар. науч.-практ. конф. – Минск. – 2020. – С. 100-102 (автора 0,1 п.л.).

13 Мамаева, О. О. Групповой состав липидов опавших листьев тополя после биодеструкции грибами PP-3.2 *Pleurotus pulmonarius* / О. О. Мамаева. Е. В. Исаева // Решетневские чтения: материалы XXIV Междунар. науч.-практ. конф. – СибГУ им. М.Ф. Решетнева. – Красноярск. – 2020. – Ч. 2. – С. 115-116 (автора 0,1 п.л.).

Благодарность

Автор выражает глубокую благодарность д.т.н., профессору Т.В. Рязановой за ценные советы на всех этапах выполнения работы; д.б.н., доценту Ю.А. Литовке за любезно предоставленные штаммы Fp5-15 *Fomitopsis pinicola*, M99-9 *Trichoderma aspirellum* и K6-15 *Trichoderma spp.*