

На правах рукописи

Никонов

НИКОНОВА НАТАЛЬЯ НИКОЛАЕВНА

**ВЫДЕЛЕНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
ДРЕВЕСНОЙ ЗЕЛЕНИ СОСНЫ И ЛИСТВЕННИЦЫ
МЕТОДОМ ЭМУЛЬСИОННОЙ ЭКСТРАКЦИИ**

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

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата
технических наук

Сыктывкар - 2022

Работа выполнена в лаборатории органического синтеза и химии природных соединений Института химии ФИЦ Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Сыктывкар

Научный руководитель:

академик РАН, доктор химических наук, профессор

Кучин Александр Васильевич

Официальные оппоненты:

Левданский Владимир Александрович – доктор химических наук, доцент, Институт химии и химической технологии Сибирского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, лаборатория химии природного органического сырья, ведущий научный сотрудник;

Кутакова Наталья Алексеевна – кандидат технических наук, доцент, Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, г. Архангельск, кафедра целлюлозно-бумажных и лесохимических производств, профессор.

Ведущая организация: Сыктывкарский лесной институт (филиал) ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С.М. Кирова»

Защита диссертации состоится 23 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. Решетнёва», 660049, г. Красноярск, пр. Мира, 82, ауд. Ц-110.

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. Решетнёва, 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 ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнёва» и на сайте <https://www.sibsau.ru/disfiles/32257/>

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Исаева Елена Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Рациональное природопользование относится к стратегии научно-технологического развития Российской Федерации, которая предусматривает переход к высокопродуктивному и экологически чистому агро- и аквахозяйству, разработку и внедрение систем рационального применения средств химической и биологической защиты сельскохозяйственных растений и животных, хранение и эффективную переработку сельскохозяйственной продукции, создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания.

Обеспечение рационального природопользования и переход к современным ресурсосберегающим технологиям связан с поиском высокоэффективных способов переработки возобновляемого растительного сырья, комплексному использованию лесных ресурсов. Лесной кодекс, принятый в 2006 году, предполагает использование не только древесины, но и недревесного лесного сырья для получения высококачественной продукции. В лесопромышленном комплексе древесная биомасса используется весьма нерационально. На 1 м³ вывезенной из леса древесины приходится до 500 кг отходов биомассы в виде пней, ветвей, древесной зелени (ДЗ).

Объектами исследования является ДЗ сосны обыкновенной и лиственницы сибирской. Разнообразие биологически активных компонентов ДЗ хвойных пород определяет широкие возможности ее применения. Разработаны различные способы переработки ДЗ для извлечения высоко- и низкомолекулярных экстрактивных веществ (ЭВ). Низкомолекулярные соединения – одна из самых многочисленных и распространенных групп природных соединений. Это терпеноиды, жирные, смоляные, фенолкарбоновые и тритерпеновые кислоты, флавоноиды, стильбены, лигнаны. Совершенствование технологий комплексной переработки хвойной ДЗ позволит наиболее полно извлекать ценнейшие природные вещества и получать биологически активные препараты для фармакологии, ветеринарии, сельского хозяйства.

Традиционные способы выделения низкомолекулярных соединений характеризуются длительностью и использованием пожароопасных и токсичных органических растворителей (бензин, этанол, ацетон, этилацетат). Разработанный в Институте химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН экологически безопасный эмульсионный метод экстракции растительного сырья в водно-щелочной среде по эффективности не уступает традиционным методам извлечения низкомолекулярных компонентов и позволяет эффективно выделять гидрофильные и гидрофобные соединения без применения органических растворителей.

Таким образом, определение оптимальных условий выделения низкомолекулярных соединений из хвойной ДЗ является актуальной задачей.

Диссертация соответствует специальности 05.21.03 – Технология и оборудование химической переработки биомассы дерева; химия древесины. Область исследований: п. 12. Химия и технология лесохимических продуктов и

биологически активных веществ; п. 13. Химия и технология переработки ДЗ, однолетних растений, водорослей и т. д.

Цель исследования. Выделение ЭВ из ДЗ сосны обыкновенной и лиственницы сибирской методом эмульсионной экстракции, изучение компонентного состава и биологической активности.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- определить влияние концентрации водно-щелочного раствора и гидромодуля на эффективность эмульсионной экстракции ДЗ сосны обыкновенной и лиственницы сибирской в лабораторных условиях;
- исследовать химический состав ЭВ, выделенных эмульсионным методом из исследуемого сырья;
- определить оптимальные параметры выделения ЭВ в гравитационном и роторно-пульсационном аппаратах;
- исследовать биологическую активность эмульсионных экстрактов и предложить возможные направления их практического применения.

Научная новизна. Впервые выделены ЭВ из ДЗ сосны и лиственницы экологически безопасным эмульсионным методом.

Впервые исследован состав эмульсионных экстрактов ДЗ сосны и лиственницы. Установлено, что мажорными компонентами эмульсионного экстракта ДЗ сосны являются пинифоловая кислота, метиловый эфир пинифоловой кислоты и изоабиенол, ДЗ лиственницы – *n*-кумаровая кислота.

Впервые для эмульсионной экстракции растительного сырья использован аппарат гравитационного типа. Установлена высокая эффективность эмульсионного метода выделения ЭВ из ДЗ сосны и лиственницы.

Теоретическая и практическая значимость. Установлены условия эффективного выделения низкомолекулярных соединений ДЗ сосны и лиственницы экологически безопасным эмульсионным методом.

Получены и охарактеризованы эмульсионные экстракты ДЗ сосны и лиственницы, обладающие антиоксидантной активностью.

Получены новые данные об индивидуальном составе нейтральной и кислотной фракций эмульсионных экстрактов исследуемого сырья. Благодаря высокой концентрации дитерпеноидов, ароматических соединений, и полипренолов экстракты могут использоваться как готовый продукт, или перерабатываться с получением индивидуальных компонентов. Данные продукты могут найти применение в качестве лекарственного средства в фармакологии, растениеводстве и животноводстве.

Методология и методы исследования. Для выделения низкомолекулярных соединений использован метод эмульсионной экстракции. Исследование химического состава экстрактов проведено методами кислотно-основного разделения, препаративной колоночной хроматографии, современных спектральных методов анализа ГХ-МС, ИК, ЯМР ^1H и ^{13}C -спектроскопии.

Положения, выносимые на защиту:

1. Влияние условий эмульсионной экстракции ДЗ сосны обыкновенной и лиственницы сибирской на степень извлечения ЭВ в лабораторном экстракторе и аппаратах роторно-пульсационного и гравитационного типа.

2. Результаты комплексных исследований индивидуального и группового химического состава эмульсионных экстрактов ДЗ сосны и лиственницы.

3. Оценка биологической активности эмульсионных экстрактов и отдельных фракций кислых и нейтральных компонентов ДЗ сосны и лиственницы.

Достоверность и обоснованность результатов обеспечены проведением параллельных экспериментов и их воспроизводимостью, применением методов статистической обработки результатов исследований при определении влияния технологических параметров на степень извлечения ЭВ. Идентификацию и строение соединений осуществляли с использованием современного аналитического оборудования, сравнением полученных результатов с литературными данными.

Апробация результатов исследования. Основные результаты работы докладывались на всероссийских и международных конференциях: «Химия и технология новых веществ и материалов» (Сыктывкар, 2017), «Химия и технология растительных веществ» (Сыктывкар, 2018, 2019), «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности» (Бийск, 2018, 2019), «Экстракция и мембранные методы в разделении веществ» (Москва, 2018), XIII биотехнологический форум-выставка «Росбиотех-2019» (Москва, 2019), «Актуальные вопросы современного материаловедения» (Уфа, 2019), «Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии» (Киров, 2019, 2020); «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (Екатеринбург, 2020), «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (Москва, 2020), XXIII Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (с международным участием) (Нижний Новгород, 2020), «Вершины науки – покорять молодым! Современные достижения химии в работах молодых ученых» (Уфа, 2021).

Публикации. Результаты диссертационной работы отражены в 23 печатных работах, 2 из которых опубликованы в научных журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, выводов и списка используемой литературы из 182 источника. Работа изложена на 108 страницах машинописного текста, содержит 12 рисунков, 13 таблиц и 5 приложений.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Химия» Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта «Аспиранты» № 19-38-90283 («Технология выделения низкомолекулярных компонентов древесной зелени сосны и лиственницы методом эмульсионной экстракции», 2019 г.).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении диссертации обоснована актуальность работы, теоретическая и практическая значимость, определены цели и задачи исследования.

В первой главе «Литературный обзор» приведены краткие сведения о химическом составе ДЗ сосны обыкновенной и лиственницы сибирской, биологической активности соединений, входящих в состав исследуемого сырья.

Охарактеризованы наиболее распространенные методы переработки растительного сырья с получением биологически активных веществ.

Во второй главе «Методическая часть» приведены объекты и методы исследования. Описаны методики проведения эмульсионной экстракции низкомолекулярных соединений в лабораторном экстракторе, на аппаратах роторно-пульсационного и гравитационного типов, методика фракционирования эмульсионных экстрактов на кислые и нейтральные вещества. Описаны методы извлечения и идентификации структуры индивидуальных соединений. Приведены физико-химические характеристики выделенных компонентов и их спектральные данные. Приведены основные характеристики приборов и условия проведения анализов.

Третья глава «Обсуждение результатов» посвящена анализу полученных результатов исследования. Определены эффективные параметры эмульсионной экстракции низкомолекулярных соединений из ДЗ сосны и лиственницы в лабораторном экстракторе, в аппаратах роторно-пульсационного и гравитационного типа. Приведен качественный и количественный состав эмульсионных экстрактов и их биологическая активность.

1. Методы проведения эксперимента и объекты исследования

Объектом исследования являлась ДЗ — охвоенные побеги сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и лиственницы сибирской (*Larix sibirica* (Led.)). Сырье было собрано: ДЗ сосны в пригородных лесах г. Сыктывкара; лиственницы — в пригородных лесах г. Печора.

Для эмульсионной экстракции использовали лабораторный экстрактор объемом 1 л с механическим перемешиванием (1000 об/мин), аппараты роторно-пульсационный (S-эмульгатор) и гравитационного типа.

Выделение ЭВ из ДЗ эмульсионным методом состоит из следующих стадий: измельчение ДЗ, смешивание измельченного сырья с водным раствором NaOH, перемешивание смеси и образование эмульсии, фильтрация смеси, отделение твердой фазы.



Схема 1.

Выход ЭВ определяли, суммируя выходы кислых и нейтральных компонентов, выделенных из полученных эмульсионных экстрактов кислотно-

основным методом. Выделение нейтральных компонентов из эмульсионного раствора проводили экстракцией петролейным эфиром, кислых компонентов – после подкисления раствора и перевода солей в кислоты – экстракцией диэтиловым эфиром.

Для исследования компонентного состава кислых компонентов проводили разделение на «сильные» и «слабые» кислоты. Для этого фракцию кислых компонентов последовательно обрабатывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 для извлечения группы «сильных» кислот, затем 1 %-ным водным раствором NaOH для извлечения группы «слабых» кислот.

Фракция нейтральных компонентов была разделена на омыляемые и неомыляемые компоненты спиртовым раствором KOH .

Для разделения «сильных» и «слабых» кислот, неомыляемых нейтральных веществ использовали метод колоночной хроматографии на силикагеле. В качестве элюентов использовали петролейный эфир, смесь петролейного и диэтилового эфиров с градиентным увеличением последнего, хлороформ и смесь хлороформа и этанола с градиентным увеличением доли последнего. Строение выделенных соединений устанавливали методами ГХ-МС, ИК, ЯМР ^1H и ^{13}C -спектроскопии.

2. Эмульсионная экстракция низкомолекулярных соединений из ДЗ сосны в лабораторном экстракторе

Эмульсионный метод экстракции заключается в обработке измельченного растительного сырья водным раствором основания (NaOH). В процессе обработки образуется прямая эмульсия первого рода – масло в воде, где дисперсионной (непрерывной) средой является водно-щелочной раствор. Неполарные углеводородные фрагменты таких компонентов ДЗ, как жирные и смоляные кислоты и их соли, образуют гидрофобное ядро, изолированное от водного окружения гидрофильными группами этих соединений. Нерастворимые в воде липиды попадают внутрь мицеллы. Таким образом, мицеллы солубилизируют неполярные липиды.

Эффективность процесса эмульсионной экстракции (при заданных температуре $50\text{ }^\circ\text{C}$ и продолжительности обработки 90 мин) зависит от следующих параметров: концентрация водного раствора NaOH , гидромодуль (ГМ) – соотношение объема щелочного раствора к массе сырья. Значения изучаемых параметров представлены в таблице. Сырьем являлась ДЗ сосны обыкновенной.

Таблица. Значения варьирования параметров

Параметр	Значения параметра				
Концентрация водного раствора NaOH , %,	3,6	4	5	6	6,4
ГМ	7:1	8:1	10:1	12:1	13:1

На основе результатов исследований построен трехмерный график, изображающий зависимость между выходом ЭВ и двумя независимыми переменными (рисунок 1). Наибольшее влияние в заданном интервале варьирования факторов на выход ЭВ оказывает ГМ, а меньшее влияние – концентрация водного раствора NaOH. Выход ЭВ повышается при увеличении ГМ до 10:1. Далее устанавливается равновесная концентрация в системе «сырье – экстрагент». Также, концентрация раствора NaOH ниже 5% не обеспечивает эффективной экстракции из-за дефицита щелочи, необходимой для эмульгирования липофильных веществ, гидролиза сложных эфиров, а также нейтрализации кислот, содержащихся в ДЗ.

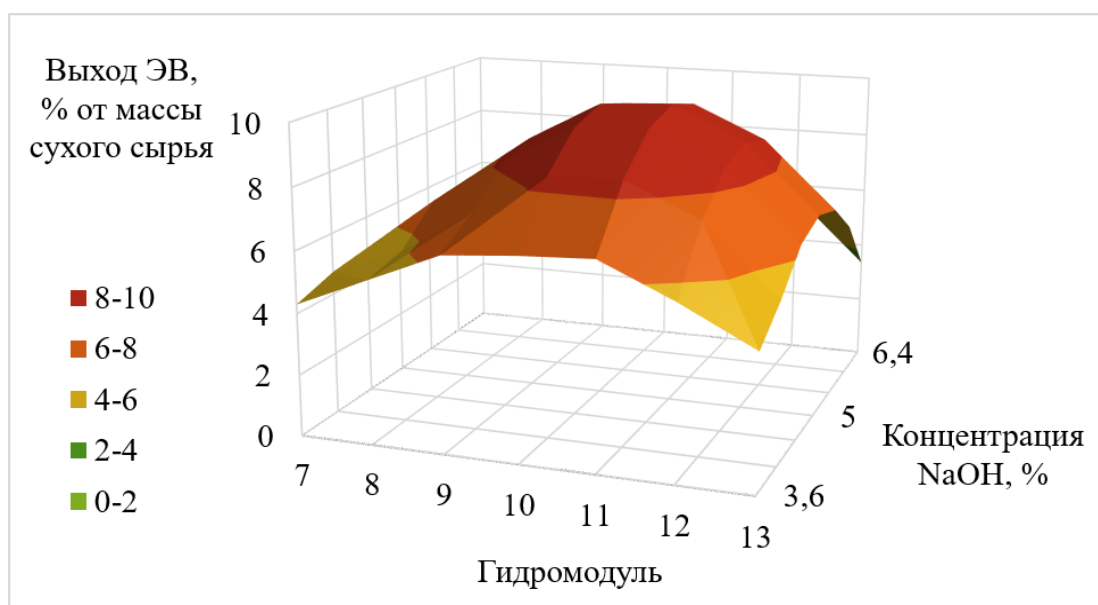


Рисунок 1 – Зависимость выхода экстрактивных веществ от концентрации раствора NaOH и гидро модуля

Определены условия эмульсионной экстракции в выбранном диапазоне переменных, при которых достигается максимальный выход ЭВ (9,72 % от массы сухого сырья): концентрация NaOH – 5 %, ГМ – 10:1. Полученные результаты выхода ЭВ из ДЗ сосны методом эмульсионной экстракции сопоставимы с литературными данными: прямой экстракцией диэтиловым эфиром из ДЗ сосны выделяется ЭВ 9,3 %¹ от массы сухого сырья, ацетоном – 9,9 %².

При изучении метода эмульсионной экстракции в качестве сырья также использовали ДЗ лиственницы. Опыты проводили в установленных оптимальных условиях: концентрация NaOH – 5 %, ГМ – 10:1. Выход ЭВ составил 6,94 % от массы сухого сырья. По данным литературы петролевым эфиром из ДЗ лиственницы ЭВ выделяется 2,5 % от массы сухого сырья, диэтиловым эфиром – до 7 %³.

¹ Teng, J., et al. (2010). *Nat. Prod. Res.* 24: 1587–1591. <https://doi.org/10.1080/14786410802696684>

² Routa J, et al. (2021). *BioEnergy Res.* 14: 575–587. <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10206-8>

³ Миксон, Д.С., Рошин, В.И. (2019). *Хим. Раст. Сырья.* 4: 207–214. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2019045477>

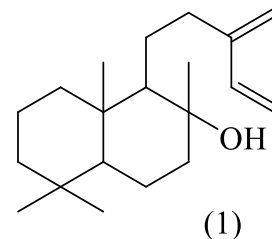
3. Исследование химического состава эмульсионных экстрактов

3.1. Анализ нейтральных компонентов

Для анализа состава эмульсионных экстрактов ДЗ сосны и лиственницы нейтральные компоненты обработкой спиртовой щелочью разделили на омыляемые (из сосны 26,36 % от суммы нейтральных веществ, из лиственницы 14,84 %) и неомыляемые вещества (71,19 % и 79,13 % соответственно).

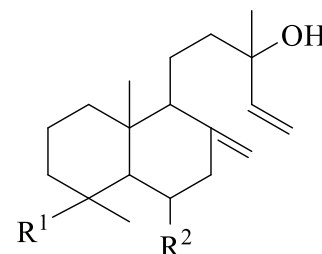
Группу неомыляемых веществ разделили методом колоночной хроматографии.

Установлено, что основными компонентами в обоих экстрактах являются дитерпеновые спирты (28,6 % от суммы нейтральных компонентов экстракта сосны и 25,9 % лиственницы). В экстракте сосны преобладает изоабиенол (1) (0,53 % от массы сухого сырья).

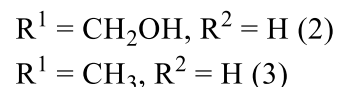


Из экстракта ДЗ лиственницы выделены соединения, характерные для рода *Larix* – эпитурулозол (2) (0,03 % от массы сухого сырья) и эпиманоол (3) (0,03 %).

Из фракции трициклических дитерпеноидов выделен основной компонент – дегидроабиетинол. В экстракте ДЗ сосны его содержание составило 0,14 % от массы сухого сырья, что в 2,5 раза выше, чем в экстракте лиственницы (0,06 %).



С высоким выходом выделена фракция полипренолов – из ДЗ сосны 0,41 % от массы сухого сырья и 0,13 % из ДЗ лиственницы.



Фракция тетрациклических тритерпеновых спиртов в обоих исследуемых образцах представлена β -ситостерином – в ДЗ сосны 0,14 % от массы сухого сырья, в экстракте ДЗ лиственницы – 0,08 %.

В состав нейтральных компонентов эмульсионного экстракта ДЗ сосны входят ароматические монотерпеноиды *n*-цимол (0,06 %) и *n*-цимен-8-ол (0,07 %).

Фракция альдегидов составила наименьшую долю неомыляемых компонентов обоих экстрактов, основной компонент – дитерпеновый альдегид изопимариналь.

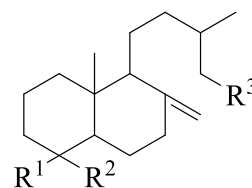
3.2. Анализ кислых компонентов

В результате разделения суммы кислых компонентов эмульсионных экстрактов ДЗ сосны и лиственницы выделены «сильные» и «слабые» кислоты. Выход «сильных» кислот составил 20,5 % от суммы кислых компонентов ДЗ сосны и 14,6 % ДЗ лиственницы, «слабых» – 26,7 % и 59,4 % соответственно.

Состав «слабых» кислот был изучен методом ГХ-МС метиловых эфиров. Они представлены суммой жирных кислот. В обоих экстрактах преобладала линоленовая кислота, ее выход составил 1,02 % от массы сухого сырья из экстракта сосны и 0,78 % из экстракта лиственницы. «Слабые» кислоты лиственницы отличались высоким содержанием пальмитиновой кислоты (0,66 %), выход которой в 2 раза выше, чем в экстракте сосны (0,34 %). Содержание

линолевой кислоты в обоих образцах было практически одинаково и составляло около 0,45 % от массы сухого сырья.

Смесь «сильных» кислот была разделена методом колоночной хроматографии. Основными компонентами суммы «сильных» кислот ЭВ сосны являются дитерпеновые кислоты и эфиры: пинифоловая кислота (4) (1,98 % от массы сухого сырья), метиловый эфир пинифоловой кислоты (5) (1,91 %) и метиловый эфир имбрикатоловой кислоты (6) (1,78 %).



$R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = R^3 = \text{COOH}$ (4)

$R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{COOCH}_3$, $R^3 = \text{COOH}$ (5)

$R^1 = \text{COOCH}_3$, $R^2 = \text{CH}_3$, $R^3 = \text{CH}_2\text{OH}$ (6)

Во фракции дитерпеновых кислот экстракта лиственницы основной компонент – изопимаровая кислота (0,64 % от массы сухого сырья), в экстракте сосны – 0,33 %.

Кислые компоненты экстракта ДЗ лиственницы отличаются высоким содержанием фенолокислот (2,9 % от массы сухого сырья), их содержание в ДЗ сосны 1,64 %. Мажорным компонентом в обоих образцах является *n*-кумаровая кислота (1,26 % в ДЗ сосны и 1,09 % в ДЗ лиственницы). Из экстракта сосны выделена *p*-гидроксibenзойная кислота с выходом 0,38 %, из экстракта лиственницы – феруловая кислота (0,24 %).

Таким образом показан многокомпонентный состав эмульсионного экстракта из ДЗ сосны и лиственницы и возможность получать биологически активные природные соединения в индивидуальном виде.

Для укрупненной наработки эмульсионных экстрактов и проведения исследований их биологической активности была изучена эффективность эмульсионной экстракции ДЗ в аппаратах роторно-пульсационного и гравитационного типа.

4. Эмульсионная экстракция низкомолекулярных соединений из ДЗ сосны в роторно-пульсационном аппарате

Способ экстрагирования на установке с роторно-пульсационным аппаратом (РПА) основан на многократной циркуляции сырья и экстрагента по замкнутому контуру через аппарат и стеклянную емкость объемом 10 л. Экстракцию низкомолекулярных соединений из ДЗ сосны на установке проводили при следующих параметрах: концентрация раствора NaOH 5 %, ГМ 15:1. Для подбора оптимальной продолжительности экстракции, опыты проводили в течение 15, 20 и 30 мин с контролем температуры с интервалом 5 мин (рисунок 2).

Установлено, что при обработке сырья в течение 30 мин происходит разогрев смеси выше 60°C, вызванный спецификой работы аппарата. Это ведет к снижению выхода ЭВ из-за разрушения эмульсии и потери летучих веществ. Максимальный выход ЭВ (6,08±0,15) % от массы сухого сырья достигается при экстракции сырья в РПА в течение 20 мин.

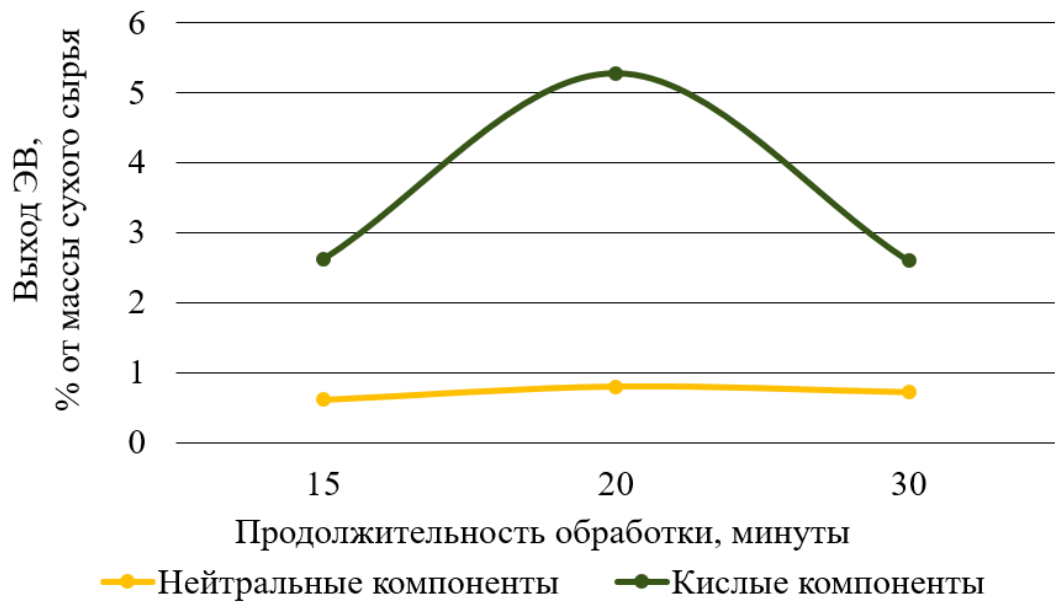


Рисунок 2 - Влияние продолжительности эмульсионной экстракции ДЗ сосны на выход экстрактивных веществ в роторно-пульсационном аппарате

При исследовании влияния ГМ на выход ЭВ (рисунок 3) процесс осуществляли при ГМ 10:1, 12:1 и 15:1, концентрации NaOH 5 %, продолжительности экстракции 20 мин.



Рисунок 3 – Влияние ГМ эмульсионной экстракции ДЗ сосны на выход экстрактивных веществ в роторно-пульсационном аппарате

Установлено, что при ГМ 12:1 и продолжительности обработки сырья в течение 20 мин выход ЭВ выше, чем при ГМ 15:1 в 2 раза, при этом выход нейтральных компонентов остается неизменным – 0,6 % от массы сухого сырья. Максимальный выход ЭВ ($6,65 \pm 0,05$) % достигается при концентрации NaOH 5 %, ГМ 12:1 в течение 20 мин.

5. Эмульсионная экстракция низкомолекулярных соединений из ДЗ лиственницы в роторно-пульсационном аппарате

При исследовании эмульсионной экстракции низкомолекулярных соединений из ДЗ лиственницы в РПА определяли влияние концентрации NaOH и ГМ на выход ЭВ (рисунок 4). Концентрацию NaOH варьировали от 4 до 7 %, ГМ – от 10:1 до 14:1, продолжительность обработки была постоянной – 20 мин.

Установлено, что максимальный выход ЭВ достигается при концентрации NaOH 6 % и ГМ 14:1. При дальнейшем увеличении концентрации NaOH выход ЭВ снижается.

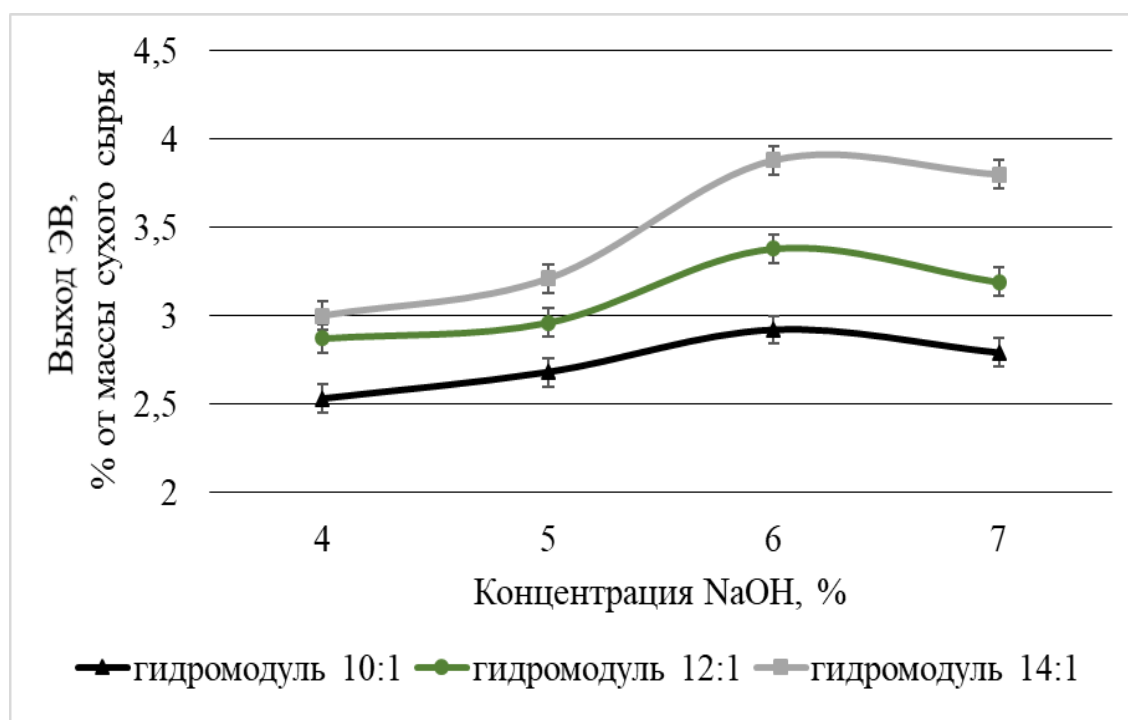


Рисунок 4 – Зависимость выхода экстрактивных веществ ДЗ лиственницы от концентрации NaOH и гидромодуля в роторно-пульсационном аппарате

С целью определения влияния продолжительности обработки на выход ЭВ, опыты были проведены в интервале от 10 до 25 мин (рисунок 5).

При увеличении продолжительности обработки до 25 мин выход ЭВ снижается из-за разогрева смеси выше 60 °С. Таким образом, проведение экстракции раствором щелочи на установке с РПА более 15 мин нецелесообразно, т.к. выход ЭВ при более длительной экстракции уменьшается из-за деструкции компонентов, входящих в состав сырья.



Рисунок 5 - Влияние продолжительности обработки ДЗ лиственницы на выход экстрактивных веществ в роторно-пульсационном аппарате

Таким образом, максимальный выход ЭВ ($4,15 \pm 0,16$) % достигается при концентрации раствора NaOH 6 %, ГМ 14:1 и продолжительности обработки 15 мин.

6. Эмульсионная экстракция низкомолекулярных соединений из ДЗ сосны и лиственницы в аппарате гравитационного типа

Впервые проведены опыты по эмульсионной экстракции низкомолекулярных соединений из ДЗ сосны и лиственницы в аппарате гравитационного типа (АГТ), разработанном в Институте химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН. Корпус аппарата выполнен в виде барабана грушевидной формы объемом 500 л, вращающегося под наклоном. При вращении барабана сырье поднимается лопастями, а затем под действием гравитационных сил падает, что обеспечивает интенсификацию массообменных процессов за счет улучшения гидродинамических условий экстракции.

Экстракцию сырья в АГТ проводили при ГМ 10:1, температуре 50 °С, продолжительности экстракции 4 ч, концентрации NaOH 4 и 5 % (рисунок 6, 7). Условия экспериментов (концентрация NaOH и ГМ) аналогичны опытам в лабораторном аппарате, при которых достигался максимальный выход ЭВ.

Наибольший выход ЭВ при использовании 4 %-го раствора NaOH составил: из ДЗ сосны ($7,67 \pm 0,12$) % от массы сухого сырья, из ДЗ лиственницы – ($5,44 \pm 0,2$) %.

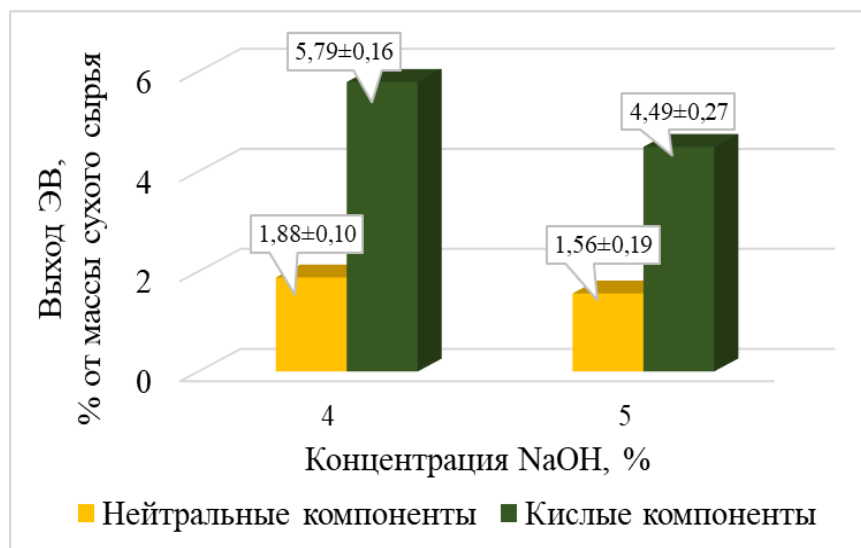


Рисунок 6 – Влияние концентрации NaOH на выход экстрактивных веществ ДЗ сосны в аппарате гравитационного типа

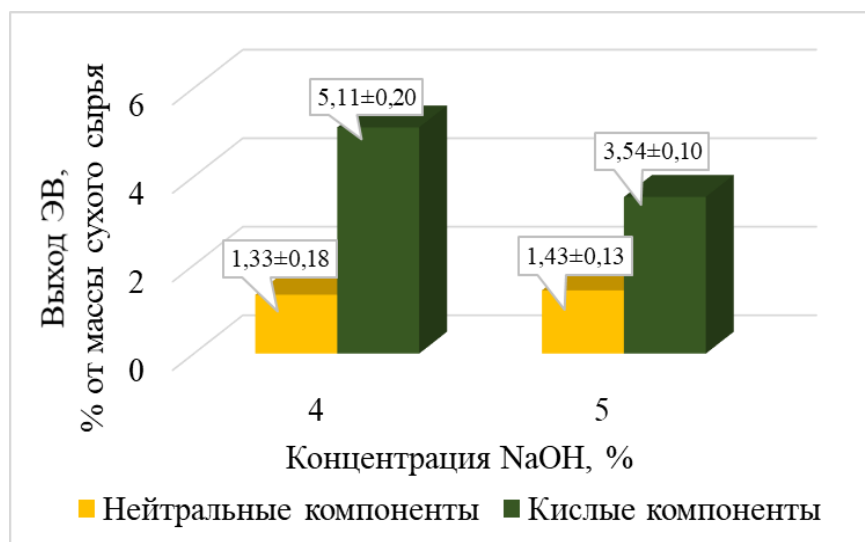


Рисунок 7 – Влияние концентрации NaOH на выход экстрактивных веществ ДЗ лиственницы в аппарате гравитационного типа

Таким образом, переработка ДЗ сосны и лиственницы методом эмульсионной экстракции на аппарате гравитационного типа обеспечивает получение 165 л экстракта с высоким выходом ЭВ при ГМ 10:1, концентрации NaOH 4%, продолжительности экстракции 4 ч. Использование РПА позволяет проводить переработку сырья в небольших объемах (3 л) за 15-20 мин обработки при ГМ 12:1 и 14:1.

7. Исследование биологической активности эмульсионных экстрактов ДЗ сосны и лиственницы

В Институте биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН проведены исследования биологической активности фракций нейтральных и кислых компонентов эмульсионных экстрактов ДЗ сосны и лиственницы.

Наибольшую антирадикальную активность проявили кислые компоненты эмульсионного экстракта ДЗ обеих пород. Образцы, выделенные из лиственницы, оказались более активными, чем из сосны. Это обусловлено как более высокой концентрацией ароматических соединений, так и различиями в качественном составе кислот.

Кислая фракция эмульсионного экстракта сосны проявила высокую гемолитическую активность благодаря высокому содержанию дитерпеноидов лабданового строения (пинифоловой кислоты и ее монометилового эфира).

Нейтральные компоненты лиственницы обладали высокой мембранопротекторной и антиоксидантной активностью, что может быть обусловлено высоким содержанием дитерпеновых спиртов и полипренолов.

Благодаря богатому составу и высокой биологической активности, эмульсионные экстракты ДЗ сосны и лиственницы перспективны для применения в качестве биологически активных препаратов.

8. Исследование влияния эмульсионного экстракта ДЗ сосны на рост семян овса методом водно-бумажной культуры

Для исследования ростостимулирующей активности эмульсионного экстракта ДЗ сосны были проведены опыты по проращиванию семян овса в растворах эмульсионного экстракта ДЗ сосны (разведенного в воде в соотношении от 1:10000 до 1:1, контроль – дистиллированная вода) (рисунок 8).

Высокая всхожесть (90 %) отмечена при обработке семян овса раствором экстракта при соотношении 1:10000. Повышение концентрации экстракта оказало угнетающее действие на всхожесть овса.

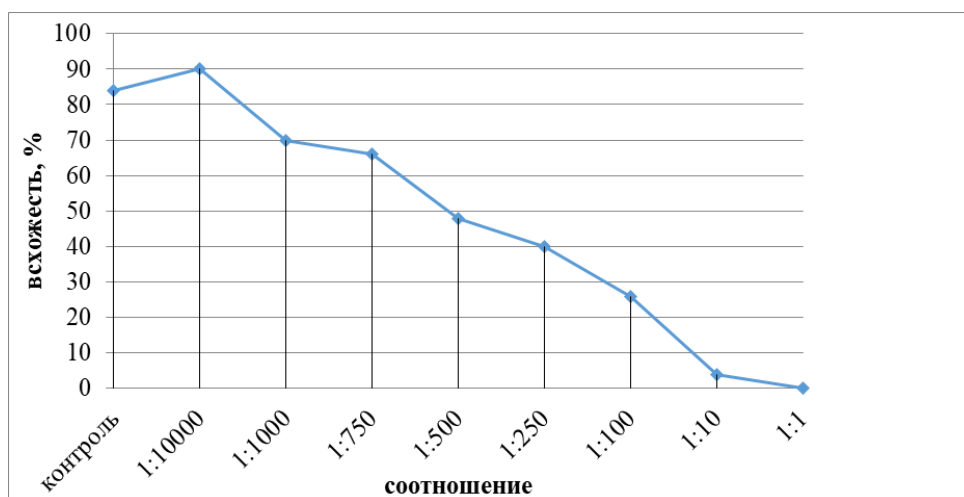


Рисунок 8 - Влияние эмульсионного экстракта ДЗ сосны на всхожесть семян

Таким образом, использование эмульсионного экстракта сосны при максимальном разведении возможно в сельском хозяйстве в качестве стимулятора роста растений, а в более высоких концентрациях – в качестве природного биологически активного гербицида.

ВЫВОДЫ

1. Впервые экологически безопасным методом эмульсионной экстракции выделены низкомолекулярные соединения древесной зелени сосны и лиственницы. Подобраны оптимальные условия эффективного выделения ЭВ в лабораторных условиях.

2. Выходы экстрактивных веществ в оптимальных условиях не уступают традиционным методам и составляют: 9,7 % от массы сухого сырья из древесной зелени сосны, 6,94 % от массы сухого сырья из древесной зелени лиственницы.

3. Исследования многокомпонентного химического состава эмульсионных экстрактов ДЗ сосны и лиственницы показали возможность выделения ценных природных соединений, обладающих широким спектром биологической активности.

4. Впервые показано, что мажорными компонентами эмульсионного экстракта древесной зелени сосны являются пинифоловая кислота и изоабиенол, древесной зелени лиственницы – *n*-кумаровая кислота.

5. Определены оптимальные условия эмульсионной экстракции низкомолекулярных соединений из хвойного сырья в гравитационном и роторно-пульсационном аппаратах.

6. Установлено, что фракции эмульсионных экстрактов исследованных хвойных пород обладают высокой антиоксидантной активностью.

7. Благодаря богатому составу и высокой биологической активности, эмульсионные экстракты древесной зелени сосны и лиственницы перспективны для применения в качестве биологически активных препаратов.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Никонова Н.Н., Хуршкайнен Т.В., Кучин А.В. Технология выделения низкомолекулярных компонентов древесной зелени сосны и лиственницы методом эмульсионной экстракции // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. – 2022. – Вып. 239. – С. 220-235.
2. Nikonova N.N., Hurshkainen T.V., Shevchenko O.G., Kuchin A.V. “Green technology” processing of pine (*Pinus sylvestris* L.) and larch (*Larix sibirica* Ledeb.) wood greenery to produce bioactive extracts // *Holzforschung*. – 2022. – Vol. 76. – No. 3. – P. 276-284.
3. Никонова Н.Н., Хуршкайнен Т.В., Кучин А.В. Математическое планирование эксперимента для оптимизации выделения экстрактивных веществ из древесной зелени *Pinus Sylvestris* // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. – 2021. – Вып. 235. – С. 221-237.
4. Никонова Н.Н., Хуршкайнен Т.В., Кучин А.В. Нейтральные компоненты эмульсионного экстракта из древесной зелени сосны // Бутлеровские сообщения. – 2021. – Т. 68. – № 12. – С. 128-135.
5. Никонова Н.Н., Хуршкайнен Т.В., Кучин А.В. Дитерпеновые кислоты древесной зелени *Pinus sylvestris* L. // Бутлеровские сообщения. – 2016. – Т. 47. – № 9. – С. 25-28.

Материалы конференций

6. Никонова Н.Н., Хуршкайнен Т.В. Выделение кислых компонентов из древесной зелени сосны // V Всерос. молод. науч. конф. «Химия и технология новых веществ и материалов» (г. Сыктывкар, 2015 г.). – С. 183-185.
7. Никонова Н.Н., Хуршкайнен Т.В. Биологически активные соединения древесной зелени сосны для защиты растений // III Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых и аспирантов «Научное обеспечение инновационных технологий производства и хранения сельскохозяйственной и пищевой продукции» (г. Краснодар, 2016 г.) – С. 119-122.
8. Никонова Н.Н., Хуршкайнен Т.В. Выделение и исследование кислых компонентов древесной зелени сосны // XXVI Менделеевская конф. молодых ученых (г. Самара, 2016 г.). – С. 83.
9. Никонова Н.Н., Хуршкайнен Т.В. Исследование экстрактивных соединений древесной зелени *Pinus sylvestris* // VII Всерос. молод. науч. конф. «Химия и технология новых веществ и материалов» (г. Сыктывкар, 2017 г.). – С. 86-87.
10. Никонова Н.Н., Кучин А.В., Хуршкайнен Т.В. Древесная зелень сосны - перспективное сырьё для выделения биологически активных соединений // X Всерос. науч. конф. с междунар. участием «Химия и технология растительных веществ» (г. Сыктывкар, 2018 г.). – С. 45-46.
11. Никонова Н.Н., Хуршкайнен Т.В., Кучин А.В. Извлечение биологически активных веществ из растительного сырья методом эмульсионной экстракции // Междунар. конф. «Экстракция и мембранные методы в разделении веществ» (г. Москва, 2018 г.). – С. 29-31.

12. Никонова Н.Н., Хуршайнен Т.В. Эмульсионная технология выделения экстрактивных соединений сосны // XI Всерос. науч.-практ. Конф. студентов, аспирантов и молодых ученых с междунар. участием «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности» (г. Бийск, 2018 г.). – С. 432-433.

13. Кучин А.В., Скрипова Н.Н., Никонова Н.Н., Ерофеевский Н.И., Хуршайнен Т.В. Комплексная переработка отходов лесозаготовок для получения ценных продуктов // Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии» (г. Киров, 2019 г.). – С. 167-170.

14. Никонова Н.Н., Хуршайнен Т.В., Кучин А.В. Выделение низкомолекулярных веществ из хвойной древесной зелени // XII Всерос. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых с междунар. участием «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности» (г. Бийск, 2019 г.). – С. 75-77.

15. Никонова Н.Н., Хуршайнен Т.В., Кучин А.В. Применение эмульсионной технологии для переработки хвойной древесной зелени сосны и лиственницы // XIII Междунар. биотехнологическая форум-выставка «Росбиотех-2019» (г. Москва, 2019 г.). – С. 194-199.

16. Никонова Н.Н., Хуршайнен Т.В., Кучин А.В. Сравнительный анализ компонентного состава древесной зелени сосны и лиственницы // XI Всерос. науч. конф. с междунар. участием «Химия и технология растительных веществ» (г. Сыктывкар, 2019 г.). – С.163.

17. Никонова Н.Н., Хуршайнен Т.В., Кучин А.В. Переработка хвойной древесной зелени для практического применения // VI Междунар. молодежная науч.-практ. конф. «Актуальные вопросы современного материаловедения» (г. Уфа, 2019 г.). – С. 260-264.

18. Никонова Н.Н., Хуршайнен Т.В., Кучин А.В. Технология выделения биологически активных веществ из хвойной древесной зелени водным раствором щелочи // XXXII зимняя молодежная науч. школа «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (г. Москва. 2020 г.). – С. 137.

19. Никонова Н.Н., Хуршайнен Т.В., Кучин А.В. Подбор условий проведения эмульсионной экстракции древесной зелени сосны обыкновенной // XXIII Всеросс. Конф. молодых учёных-химиков (с междунар. участием) (г. Нижний Новгород, 2020 г.) – С. 513.

20. Никонова Н.Н., Хуршайнен Т.В., Скрипова Н.Н., Кучин А.В. Технологии переработки растительного сырья для обеспечения устойчивого природопользования // II Всерос. науч.-практ. конф. «Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии» (г. Киров, 2020 г.). – С. 291-295.

21. Никонова Н.Н., Хуршайнен Т.В., Кучин А.В. Разработка технологии выделения биологически активных компонентов древесной зелени сосны методом эмульсионной экстракции // Междунар. науч. конф. «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (г. Екатеринбург, 2020 г.). – С. 618-620.

22. Никонова Н.Н., Хуршайнен Т.В., Кучин А.В. Состав нейтральных компонентов эмульсионных экстрактов древесной зелени сосны и лиственницы // II Всерос. молодежная науч.-практ. конф. «Вершины науки – покорять молодым! Современные достижения химии в работах молодых ученых» (г. Уфа, 2021 г.). – С. 48-50.

23. Nikonova N.N., Hurshkainen T.V., Kuchin A.V. Development of a technological process of isolation bioactive compounds from the wood greenery of *Pinus sylvestris* using emulsion extraction // AIP Conference Proceedings. – 2022. – 2390, 030064.