

УДК 54.056; 577.11

СРАВНЕНИЕ ЭКСТРАКЦИОННОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ И БИНАРНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПЛЕКСОВ АРКТИЧЕСКИХ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

© А.Э. Паршина^{1*}, Х.Б. Маматмуродов¹, К.Г. Боголицын^{1,2}, Д.А. Поломарчук¹, Н.В. Попов¹

¹ Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова, наб. Северной Двины, 17, Архангельск, 163002 (Россия), e-mail: a.parshina@narfu.ru

² Институт экологических проблем Севера ФИЦКИА УрО РАН, пр. Никольский, 20, Архангельск, 163020 (Россия)

Арктические бурые водоросли – ценный источник широкого спектра биологически активных соединений, в том числе липидно-пигментного комплекса, основу которого составляют пигменты (хлорофиллы, каротиноиды) и жирные кислоты. Используемые в настоящее время схемы переработки бурых водорослей подразумевают использование лишь части биомассы, так как обычно нацелены на селективное выделение индивидуальных компонентов или узких фракций, что осложняет выполнение требований к комплексной высокоэффективной переработке растительного сырья. Физико-химическая природа сольвента (изопропанол, этанол, ацетон, диметилсульфоксид) оказывает большое влияние на выход компонентов состава бурых водорослей. Большинство компонентов макрофитов являются полярными веществами, что определяет необходимость использования для их извлечения сред с высоким показателем индекса полярности. Липофильные компоненты (пигменты) проявляют склонность к выходу в умеренно полярные сольвенты. Таким образом, целью данного исследования является разработка способа получения комплексного экстракта арктических бурых водорослей с использованием систем органических растворителей и воды. Обоснована приоритетность использования изопропанола для получения вытяжек биологически активных веществ. Показано, что бинарная система изопропанол-вода (40 : 60) обладает наилучшей экстрагирующей способностью по отношению к большинству компонентов состава арктических бурых водорослей.

Ключевые слова: Белое море, бурые водоросли, экстракция, биологически активные вещества, сольватация.

Научно-исследовательская работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 22-23-20046).

Введение

Бурые водоросли (БВ) – природное быстровозобновляемое сырье, которое в настоящее время привлекает все больше внимания как со стороны исследователей, так и промышленности. В первую очередь, данный интерес обусловлен способностью водорослей к биосинтезу комплекса уникальных природных со-

Паршина Анастасия Эдуардовна – кандидат химических наук, младший научный сотрудник, e-mail: a.parshina@narfu.ru

Маматмуродов Хуриед Бегмахмадович – аспирант, e-mail: mamatmurodov.h@edu.narfu.ru

Боголицын Константин Григорьевич – доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой, директор, e-mail: k.bogolitsin@narfu.ru

Поломарчук Дарья Алексеевна – аспирант, e-mail: PiratkaSlastoyna@yandex.ru

Попов Николай Владимирович – студент, e-mail: 3019159@edu.narfu.ru

единений с высокой ценностью как биологически активных веществ (БАВ). Важным фактором также является большая стабильная сырьевая база, в том числе в морях Арктики.

В общих чертах химический состав может быть представлен двумя группами соединений: органическими и неорганическими (минеральные компоненты, зола). Органическая фракция отличается большим разнообразием и включает группы азотсодержащих компонентов (белки, свободные

* Автор, с которым следует вести переписку.

аминокислоты), липофильных (жирные кислоты, пигменты, полифенолы или флоротаннины), углеводы. В свою очередь, углеводный комплекс характеризуется двумя подгруппами компонентов: структурные (целлюлоза, альгинаты, фукоидан) и запасные (ламинаран, маннит). Обычно переработка морских водорослей предполагает селективное и целенаправленное выделение индивидуальных соединений или узких групп биоактивных веществ [1–5], что существенно снижает потенциал данного природного растительного ресурса и сокращает спектр получаемой ценной продукции.

Экстракция – один из самых распространенных способов получения концентрированных субстанций биоактивных соединений. Среди многочисленных факторов, определяющих ее эффективность, особое внимание должно быть уделено специфике подбора растворителя с учетом возможных сольватационных взаимодействий, полярности изучаемых сред. Растворитель играет определяющую роль в эффективности экстракции. При выборе растворителя необходимо полагаться на свойства и природу взаимодействующих компонентов. Здесь работает универсальное правило «подобное растворяется в подобном»: наилучшей сольватирующей способностью полярных веществ в таком случае будут полярные растворители, неполярных – неполярные. Для многих сложных природных соединений под термином «полярность» зачастую имеется в виду не просто наличие у молекулы большого дипольного момента (который в таком случае сложно определить), а скорее способность эффективно взаимодействовать с другими полярными молекулами [6]. Растительные объекты, в том числе морские водоросли, в своем составе содержат разнообразные соединения, которые при этом нельзя четко классифицировать как полярные или неполярные. Вещества, которые в своей структуре содержат как гидрофильные, так и гидрофобные участки, характеризуют как амфифильные. Они способны эффективно переходить в растворители умеренной полярности. Таким образом, основываясь на структурно-функциональных особенностях компонентов биомассы бурых водорослей, можно предположить их растворимость в различных экстракционных средах (табл. 1).

Процесс растворения всегда сопровождается разрывом связей, существующих в матрице объекта, и сопряжен с образованием новых связей с растворителем. Взаимодействие растворителя и растительной матрицы чаще всего обусловлено возникновением водородных связей, междипольных взаимодействий, в результате чего формируются сольваты, ассоциированные комплексы. Сольватация – комплексный процесс, который заключается в образовании вокруг целевого соединения сольватной оболочки. За счет диссоциации и ассоциации молекул, конформационных изменений растворяемого вещества и растворителя протекают сольватационные процессы, характеризующиеся в основном полярностью и поляризуемостью растворителя, его способностью к специфическим, донорно-акцепторным взаимодействиям. Количественной мерой их выражения являются разнообразные параметры, характеризующие сольватирующую способность различных растворителей: энергия сольватации Димрота-Райхардта (E_T) [7, 8], электроноакцепторная/донорная способность (α и β), поляризуемость (π^*) по Камлету-Тафту [9–11], донорное и акцепторное числа по Гутману [12, 13]. Оценка растворимости полимеров может быть проведена путем сопоставления показателей растворимости. Согласно представлениям Хансена [14], в показатель растворимости входят три переменные, характеризующие энергию дисперсионного взаимодействия (δ_d), диполь-дипольного взаимодействия (δ_p) и энергию образования водородной связи (δ_h). Несмотря на существование многочисленных параметров, описывающих сольватационные механизмы с участием растворителей, большинство из них в своей основе имеют связь с полярностью/поляризуемостью экстрагента, способностью его выступать донором или акцептором во взаимодействии с целевыми веществами. Вышеописанные характеристики сольвентов являются ключевыми в процессе поиска новых эффективных экстрагирующих систем растительного сырья.

Таким образом, целью настоящей работы является оптимизация экстракционного извлечения биологически активного комплекса с использованием растворителей и их бинарных систем из биомассы арктических бурых водорослей. Данный комплекс биоактивных соединений обладает перспективами практического использования в области агрохимии в качестве принципиального компонента фитостимуляторов роста и развития растений.

Экспериментальная часть

Объекты исследования. В качестве объектов исследования использовали образцы четырех бурых водорослей двух семейств: Fucaceae (*Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*) и Laminariaceae (*Laminaria digitata*, *Saccharina latissima*). Водоросли были собраны вручную в акватории Соловецкого архипелага в Белом море, промыты от внешних загрязнений и высушены естественным способом до воздушно-сухого состояния. Сухие образцы измельчали в гриндере, фракционировали. Фракцию с размером частиц 0.25–0.50 мм использовали для дальнейшей работы.

Получение экстрактов биологически активных компонентов бурых водорослей. Экстракцию биомассы бурых водорослей изопропанолом (х.ч., Вектон, Россия), этанолом (ректиф., Россия), ацетоном (х.ч., Вектон, Россия) и диметилсульфоксидом (х.ч., Вектон, Россия), а также их бинарными смесями с водой проводили в статическом режиме с перемешиванием в термостате (ЛОИР, Россия). Для этого в колбы внесли навеску водорослей 2.5 г (размер частиц 0.25–0.50 мм), добавляли 50 мл экстрагента и помещали в термостат. Процесс экстракции осуществляли при температуре 60 °С (экстракция 100% ацетоном при 50 °С) в течение 60 мин, после чего смесь разделяли путем центрифугирования при 10595 g 5 мин (Universal 320, Hettich, Германия).

Определение содержания пигментов. Концентрацию пигментов в биомассе водоросли анализировали спектрофотометрически согласно методу, описанному в работе [15]. Эксперимент проводили в трех повторностях, результат выражали в %масс ± стандартное отклонение (СО).

Определение содержания полифенолов. Полифенолы в экстрактах бурых водорослей определяли спектрофотометрически согласно модифицированному методу Wang и др. [16] с использованием реактива Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, США). Концентрацию полифенолов в растворе рассчитывали согласно калибровочной кривой, построенной по стандартным растворам флороглюцина ($\geq 99.0\%$, Sigma Aldrich, США). Эксперимент проводили в трех повторностях, результат выражали в %масс ± стандартное отклонение (СО).

Определение содержания маннита. Содержание маннита в биомассе устанавливали согласно методу [17]. Суть метода заключается в образовании окрашенных комплексов маннита с ионами меди и последующим спектрофотометрическим определением его количеств по оптической плотности получаемых растворов. Эксперимент проводили в трех повторностях, результат выражали в %масс ± стандартное отклонение (СО).

Определение содержания полисахаридов. Содержание легкогидролизуемых полисахаридов оценивали по количеству редуцирующих веществ, определенных спектрофотометрически по реакции с 3,5-динитросалициловой кислотой (98%, Acros Organics, Бельгия) [18]. Эксперимент проводили в трех повторностях, результат выражали в %масс ± стандартное отклонение (СО).

Определение содержания альгинатов. Содержание альгинатов в массе водоросли определяли спектрофотометрическим методом по связыванию с красителем альциановым синим (AppliChem, Италия), описанному в работе [19]. Эксперимент проводили в трех повторностях, результат выражали в %масс ± стандартное отклонение (СО).

Определение содержания белка. Содержание белка в экстрактах оценивали колориметрическим методом Брэдфорд с использованием красителя Coomassie Brilliant Blue G-250. Эксперимент проводили в трех повторностях, результат выражали в %масс ± стандартное отклонение (СО).

Таблица 1. Растворимость компонентов бурых водорослей

Группа компонентов	Химическая природа	Растворимость в средах		
		Полярных	Умеренно полярных	Неполярных
<i>Пигменты</i>				
Хлорофиллы	Магниево-цинковые комплексы тетрапирролов	+	+	+
Каротины	Линейные полиены	–	–	+
Ксантофиллы	Кислород содержащие линейные полиены	+	+	+
<i>Липиды</i>				
Гликолипиды	Сложные липиды (липид+углевод)	+	+	–
Нейтральные	Сложные эфиры глицерина и высших жирных кислот	–	+	+
Фосфолипиды	Сложные эфиры многоатомных спиртов и высших жирных кислот	+	+	–
<i>Жирные кислоты</i>				
Насыщенные	Алифатические одноосновные карбоновые кислоты	–	+	+
Ненасыщенные	Алифатические одноосновные карбоновые кислоты с двойными связями в алифатической цепи	–	+	+
Полифенолы	Полимеры 1,3,5-тригидроксибензола	+	+	+
Аминокислоты и белки	Полимеры аминокислот	+	+	–
<i>Углеводы</i>				
Маннит	Шестиатомный спирт	+	+	–
Фукоиданы	Сульфатированные гетерополисахариды	+	+	–
Ламинараны	Полиглюканы	+	+	–
Альгинаты	Соли полиуроновых кислот	+	+	–

Обсуждение результатов

Компонентный состав бурых водорослей, использованных в качестве объектов исследования при разработке экстракционного процесса, приведен в таблице 2.

Традиционными экстрагентами для водорослевой массы являются водные растворы кислот, щелочей, солей, а также органических веществ (чаще всего спиртов, ацетона) [20–24]. Большинство таких экстракционных систем ориентированы на селективное выделение узких групп компонентов, что приводит к невозможности реализации комплексной переработки сырья или существенно усложняет технологические схемы необходимостью сочетания стадий с использованием различных сольвентов.

Подбирая экстрагирующую систему, стоит обратить внимание не только на возможность их применения в промышленных масштабах (что не позволяет использовать эфиры, метанол), но и на физикохимическую природу сольвента, на свойства извлекаемых веществ. Большая часть биомассы бурых водорослей – гидрофильные вещества, которые хорошо растворимы в полярных и умеренно полярных системах.

Самыми удобными и широко используемыми сольвентами в таком случае являются растворы этанола. В то же время использование этанола сопряжено с высокой стоимостью данного экстрагента и трудностями, связанными с его приобретением/использованием. Таким образом, необходим подбор элюента, который обладал бы схожей растворяющей способностью, но был бы лишен данных недостатков. На основе физико-химических характеристик (табл. 3) подобраны четыре органических растворителя, которые как традиционно применимы в переработке морских водорослей (этанол, ацетон), так и являются новыми и слабоизученными в плане практической применимости к экстракции БАВ бурых макрофитов (ДМСО и изопропиловый спирт).

Исходя из структуры молекул, можно отметить, что этанол сочетает в себе полярные и неполярные качества. Гидроксильная группа отвечает за полярные свойства, тогда как две метиленовые группы придают молекуле неполярные характеристики. Изопропанол, алкильная цепочка которого больше, чем у этилового спирта, обладает более выраженными неполярными качествами, чем этанол, что соответствует значениям индексов полярности 4.3 и 5.2 для изопропанола и этанола, соответственно. Ацетон и диметилсульфоксид химически различаются только лишь одним атомом (сера в случае ДМСО и углерод в случае ацетона). Ацетон – представитель полярных (индекс полярности 5.4) апротонных растворителей, который в растворе выступает акцептором водородной связи [29]. Диметилсульфоксид, обладающий высоким значением полярности (6.5) и донорным числом (28.9), является самым основным из выбранных растворителей.

Для выбора наиболее предпочтительного растворителя с целью селективного извлечения комплекса биоактивных соединений бурых водорослей провели эксперимент по экстракции биомассы изопропанолом, ДМСО, этанолом и ацетоном. Результаты определения компонентного состава полученных экстрактов представлены на рисунке 1.

Наиболее насыщенные экстракты получены при извлечении диметилсульфоксидом (выход сухих веществ составляет 11–29% масс.), тогда как насыщенность компонентами других экстрактов не превышает 9%. Эффективность извлечения пигментной фракции с использованием четырех растворителей существенно различается. Исследуемые БВ в значительной степени обогащены хлорофиллом (в 3 раза выше концентрация в фукусах и в 5–10 раз – в ламинариях). В случае экстракции хлорофилла этанольные экстракты оказались самыми обогащенными. Следом идут ацетоновый и изопропанольный экстракты. Диметилсульфоксид показал самую низкую эффективность извлечения данного пигмента из биомассы БВ, что, вероятно, указывает на склонность хлорофилла к экстракции веществами умеренной полярности. Молекула хлорофилла не является исключительно неполярной благодаря присутствию в структуре эфирных и карбонильных групп. Эффективность изопропанола как экстрагента хлорофилла и каротиноидов находится на сопоставимом уровне с этанолом и ацетоном. Выход пигментов в экстрактах 100% ДМСО из фукусов оказался на крайне низком уровне (2–6% отн).

Полученные результаты согласуются с данными из исследований других авторов, которые показали, что концентрация хлорофилла существенно различается в экстрактах ацетона и ДМСО из водоросли *Laminaria digitata* [30]. Ацетоновый экстракт содержит более высокие концентрации хлорофилла (более чем в 10 раз), чем экстракт ДМСО. При этом концентрация фукоксантина для двух вытяжек примерно одинакова. В статье [31] авторы оценивали влияние растворителя (этанол, ацетон, хлороформ, этилацетат и гексан) на получение экстрактов пигментов бурых водорослей. Наибольший выход пигментов авторы получили в этанольном экстракте (самом полярном растворителе), следом за ним по эффективности идет ацетон. Гексан – самый неполярный среди выбранных растворителей показал худший результат.

Таблица 2. Химический состав образцов бурых водорослей, % масс

Компонент	<i>A. nodosum</i>	<i>F. vesiculosus</i>	<i>L. digitata</i>	<i>S. latissima</i>
Хлорофилл <i>a</i>	0.070±0.002	0.116±0.005	0.048±0.004	0.040±0.002
Каротиноиды	0.021±0.002	0.036±0.002	0.005±0.001	0.009±0.001
Маннит	13.4±0.8	14.2±0.2	9.1±0.1	9.2±0.1
Полисахариды	22.7±0.6	17.8±0.2	22.2±1.0	27.3±0.7
Альгинаты	22.7±1.8	30.7±1.4	23.5±5.3	25.5±4.9
Полифенолы	11.9±0.5	11.0±0.3	0.13±0.01	0.22±0.03
Белок	1.09±0.05	2.82±0.14	0.66±0.04	3.35±0.24

Таблица 3. Физико-химические параметры применяемых органических растворителей [25–28]

Характеристика	Вода	Этиловый спирт	Изопропиловый спирт	Ацетон	ДМСО
Формула	H ₂ O	C ₂ H ₅ OH	C ₃ H ₇ OH	(CH ₃) ₂ CO	(CH ₃) ₂ SO
Природа	Протонный	Протонный	Протонный	Апротонный	Апротонный
Молекулярная масса, г/моль	18.01	46.07	60.10	58.08	78.14
T _{кип} , °C	100.0	78.2	82.3	56.1	189.0
T _{плав} , °C	0	-114.1	-89.5	-94.7	18.45
T _{крит} , °C	373.9	243.0	235.6	235.0	447
P _{крит} , атм	217.7	63	53	46.4	56.3
pK _a (25 °C)	14.0	15.9	17.1	20.0	35.1
Растворимость в воде (25 °C), мг/л	–	10 ⁶	10 ⁶	10 ³	10 ³
Плотность (20 °C), г/см ³	1.000	0.7895	0.7851	0.788	1.096
Вязкость (20 °C), спз	1.0	1.20	2.39	0.306	2.47
Поверхностное натяжение (20 °C), дин/см	71.97	22.0	21.2	23.46	45.53
Показатель преломления, n _D ²⁰	1.333	1.3613	1.3773	1.3587	1.4783
Диэлектрическая проницаемость (25 °C), Ф/м	78.5	24.5	17.9	20.7	46.7
Индекс полярности P'	9.0	5.2	4.3	5.4	6.5
Дипольный момент	1.8	1.69	1.66	2.7	3.9
Липофильность logP	-1.380	-0.235	0.074	-0.208	-1.378
Энергия сольватации Димрота-Рейхардта E _t	63.1	51.9	48.6	42.2	45.1
Донорное число D _N	18.0	19.6	21.1	17.0	28.9
Акцепторное число A _N	54.8	37.9	33.5	12.5	19.3
<i>Параметры Камлета-Тафта</i>					
Константа основности β	0.5	0.77	0.88	0.54	0.76
Константа кислотности α	1.2	0.83	0.76	0.08	0
Полярзуемость π*	1.2	0.54	0.48	0.71	1
<i>Параметры растворимости Хансена</i>					
Дисперсионный δ _d	15.5	15.8	15.8	15.5	18.4
Полярный δ _p	16.0	8.8	6.1	10.4	16.4
Водородная связь δ _h	42.3	19.4	16.4	7.0	10.2

Каротиноиды – довольно разнообразная группа соединений, различающихся по своим свойствам. Так, например, β-каротин обладает выраженными неполярными характеристиками, тогда как лютеин и фукоксантин (ксантофиллы) – полярными за счет присутствия кислород-содержащих групп (гидроксильные, кетонные, эпокси-группы) [32]. Экстракция каротиноидов, среди которых преобладающим является фукоксантин, наиболее эффективно протекает из биомассы фукусов, в которых их содержание в 4 раза выше. Экстракция этанолом и ацетоном показала схожую эффективность (для фукусов). В целом, тенденция в экстракционном извлечении каротиноидов схожа с той, что была продемонстрирована для хлорофилла – склонность к переходу в умеренно полярные среды.

Несмотря на разную химическую природу, этанол (протонный растворитель) и ацетон (апротонный растворитель) обладают сопоставимыми показателями экстракционной эффективности. Это, вероятно, обусловлено схожестью их показателей полярности: индекс полярности для этанола – 5.2, ацетона – 5.4. Таким образом, при экстракции пигментов из биомассы бурых водорослей решающим фактором в подборе растворителя является показатель полярности растворителя: чем он выше, тем выше эффективность экстракции [33]. Извлечение фукоксантина метанолом, этанолом и этилацетатом показало, что данный пигмент склонен к переходу в более полярные фазы – самым обогащенным был экстракт метанола, обладающего самым высоким среди исследованных растворителей индексом полярности [34].

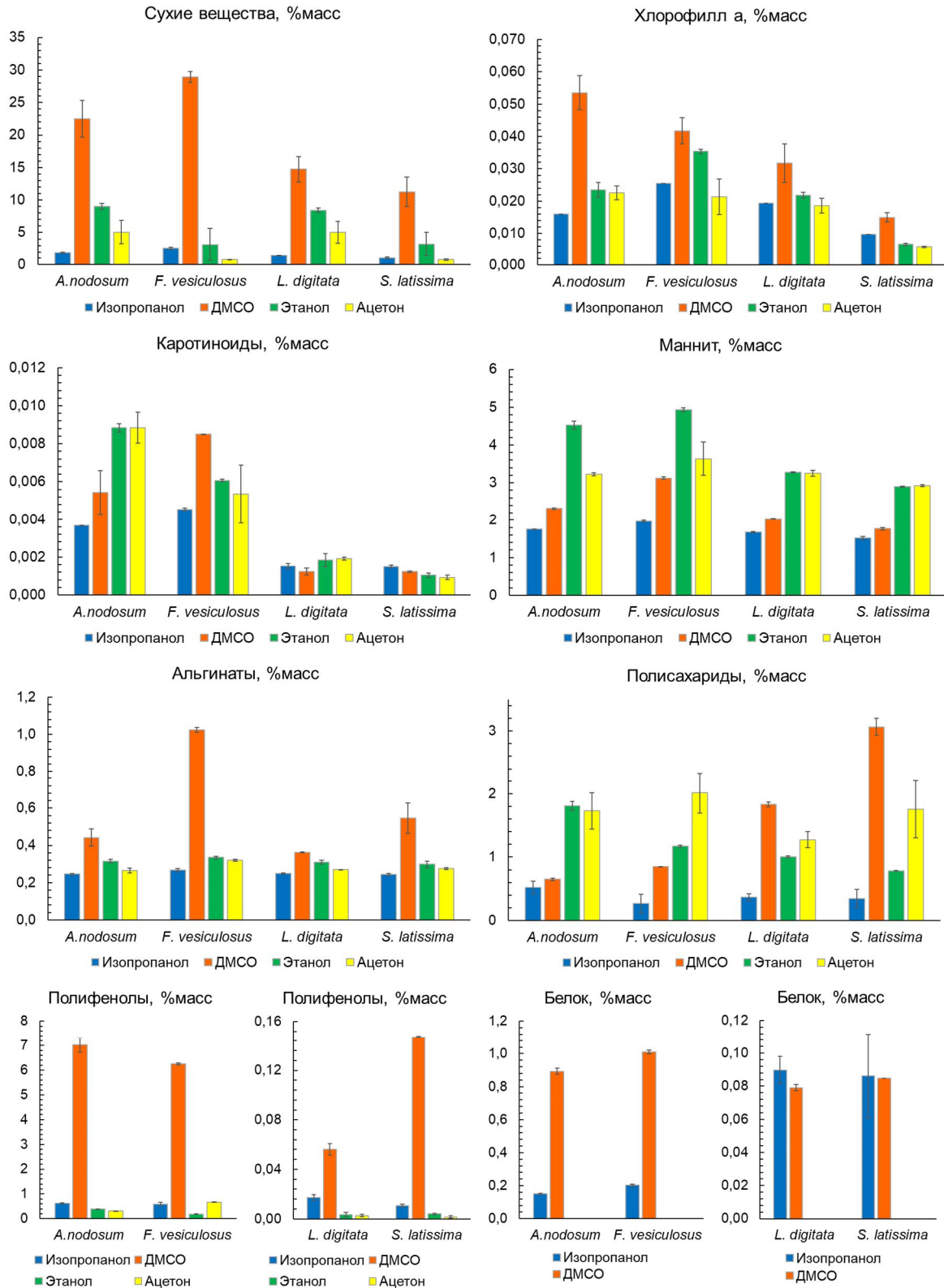


Рис. 1. Выход компонентов биомассы бурых водорослей в экстрактах изопропанола, этанола, ацетона и ДМСО

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что исследуемые фукусы (в особенности *Ascophyllum nodosum*) преимущественно содержат ксантофиллы, которые могут быть извлечены растворителями с умеренной полярностью.

Экстракция белка 100%-ными растворителями осложнена ввиду их денатурации в присутствии органических сольвентов. Следовательно, подобные системы являются неподходящими для экстракционного извлечения данной группы соединений, что продемонстрировано на примере нулевого выхода белков в экстрактах этанола и ацетона – хорошо известных денатурирующих агентов.

Экстракция углеводов имеет тенденцию различаться для двух групп бурых макрофитов. Так, для фукусов наибольшим выходом отличаются этанольный и ацетоновый экстракты, в то время как для ламинарий – диметилсульфоксид. Более высокая эффективность ДМСО также отмечена в случае экстракции альгинатов. Мономерный маннит во всех случаях наиболее активно извлекается в этанольной и ацетоновой среде, далее следует ДМСО и изопропанол, что также отражает склонность углеводных компонентов к переходу в умеренно полярные и полярные растворители. Выход альгинатов составляет 0.9–3.3% отн. Подобный низкий выход обусловлен тем, что ввиду специфической природы данной группы полимеров, экстракция которых должна сопровождаться переводом нерастворимых альгинатов кальция, присутствующих в клеточной стенке водоросли, в растворимую форму альгината натрия, что происходит при воздействии кислот и щелочей, солей натрия [35]. Установлено, что этанол и ацетон в среднем более эффективно извлекают из биомассы такие компоненты, как маннит (все виды БВ), пигменты и полисахариды (фукусы) – 25–100% отн.

Полифенолы являются липофильными соединениями с умеренной полярностью, благодаря чему способны эффективно сольватироваться как водой, так и водными растворами органических растворителей, их смесями [21]. Водные растворы этанола и ацетона – наиболее часто применяемые типы экстрагентов для селективного извлечения полифенолов. В полученных нами результатах видно, что индивидуально этанол и ацетон не способны к эффективной сольватации фенолов бурых водорослей. В то время как самый полярный из представленных растворителей – диметилсульфоксид позволяет выделять 6–7% масс. полифенолов из массы фукусовых водорослей (~58% отн.). Установлено, что для эффективной экстракции полифенолов требуются более высокие показатели полярности растворителей, чего также можно достичь путем создания бинарных смесей с водой.

Таким образом, на примере четырех растворителей (изопропанол, диметилсульфоксид, этанол и ацетон) продемонстрирована эффективность извлечения компонентов химического состава бурых водорослей. Они обладают различной растворяющей способностью, что приводит к существенной вариации химического состава экстрактов. Поскольку использование 100%-ных растворителей недопустимо с точки зрения фармакопеи [36], а также экономически нецелесообразно, возникает необходимость определения оптимального состава экстракционной системы с целью получения обогащенных экстрактов.

В качестве второго компонента в бинарной системе предлагается использовать воду как компонент с высоким значением полярности и высокой склонностью к образованию водородных связей с гидрофильными компонентами матрицы водорослей для лучшего извлечения.

Определение оптимальной концентрации растворителя. Ввиду хорошей эффективности экстракции большого числа компонентов биомассы, а также высокого выхода сухих веществ, изопропанол и диметилсульфоксид выбраны для эксперимента по оптимизации состава экстрагента с целью получения обогащенных биоактивными субстанциями вытяжек бурых водорослей.

Состав экстракционной системы варьировали в диапазоне 100–10% органического растворителя в бинарной системе с водой. Результаты анализа компонентного состава полученных экстрактов приведены на рисунках 2 и 3.

Выявлено значительное влияние состава экстракционной системы на выход отдельных компонентов биомассы, которое может быть охарактеризовано с использованием коэффициента корреляции Пирсона. Данный показатель описывает уровень связи между переменными (содержание компонента в экстракте и доля органического сольвента в бинарной системе). Чем ближе значение коэффициента Пирсона к единице (по модулю) – тем более сильно выражена линейная зависимость. Его значения могут быть также отрицательными, что говорит о наличии обратной зависимости между величинами. Для полифенолов, маннита, полисахаридов, альгинатов и белка характерна тенденция снижения выхода с увеличением доли изопропилового спирта со значениями коэффициентов Пирсона в среднем от -0.530 до -0.946 (табл. 4). Для хлорофилла а характерна обратная зависимость, что обусловлено свойствами молекулы и ее нерастворимостью в воде.

Варьирование концентрации диметилсульфоксида также приводит к получению вытяжек различного количественного состава (рис. 3), однако с меньшей вариабельностью, чем для изопропанола. Наиболее отрицательные корреляции выявлены для маннита и полисахаридов (табл. 4). При этом содержание белка имеет тенденцию к возрастанию с увеличением доли органического сольвента (коэффициент Пирсона 0.754–0.881).

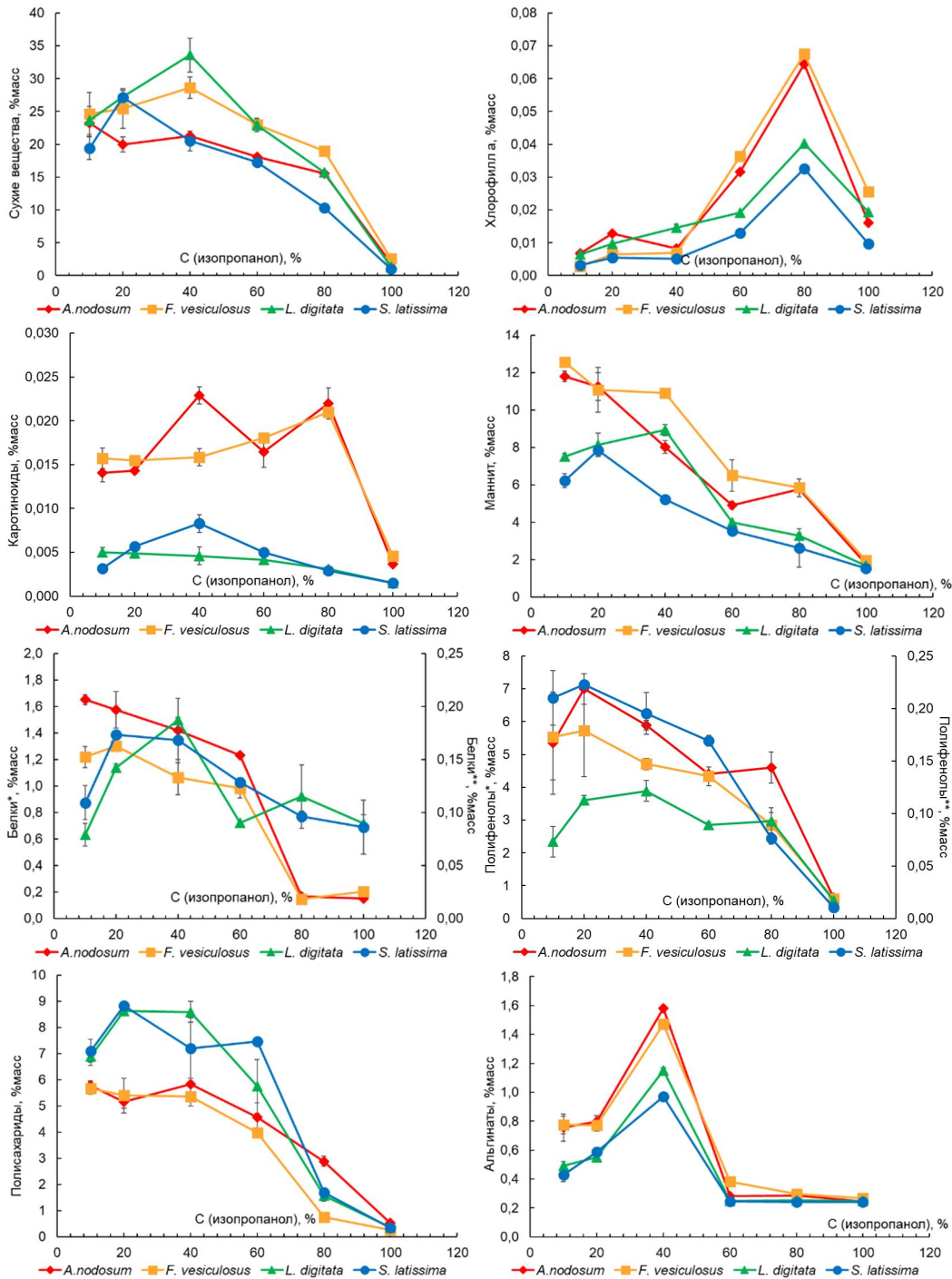


Рис. 2. Зависимость выхода компонентов (% масс) биомассы бурых водорослей от концентрации изопропанола в бинарной смеси с водой, * фукусовые виды, ** ламинариевые виды

Для альгинатов, присутствующих в клеточной стенке в форме нерастворимых солей (преимущественно кальция), также наблюдается обратная зависимость содержания в экстракте от концентрации органического растворителя, хотя общий выход данной группы компонентов остается низким (1–4% отн.).

В бинарной системе изопропанол-вода с увеличением доли воды наблюдается рост выхода большинства компонентов (рис. 2, табл. 4). Одновременно существенно возрастает полярность (индекс полярности изопропанола – 4,3, воды – 9). Следовательно, такие компоненты, как углеводы, полифенолы и белки склонны к сольватации в более полярных, гидрофильных средах (выход компонентов возрастает от 2 до 23 раз).

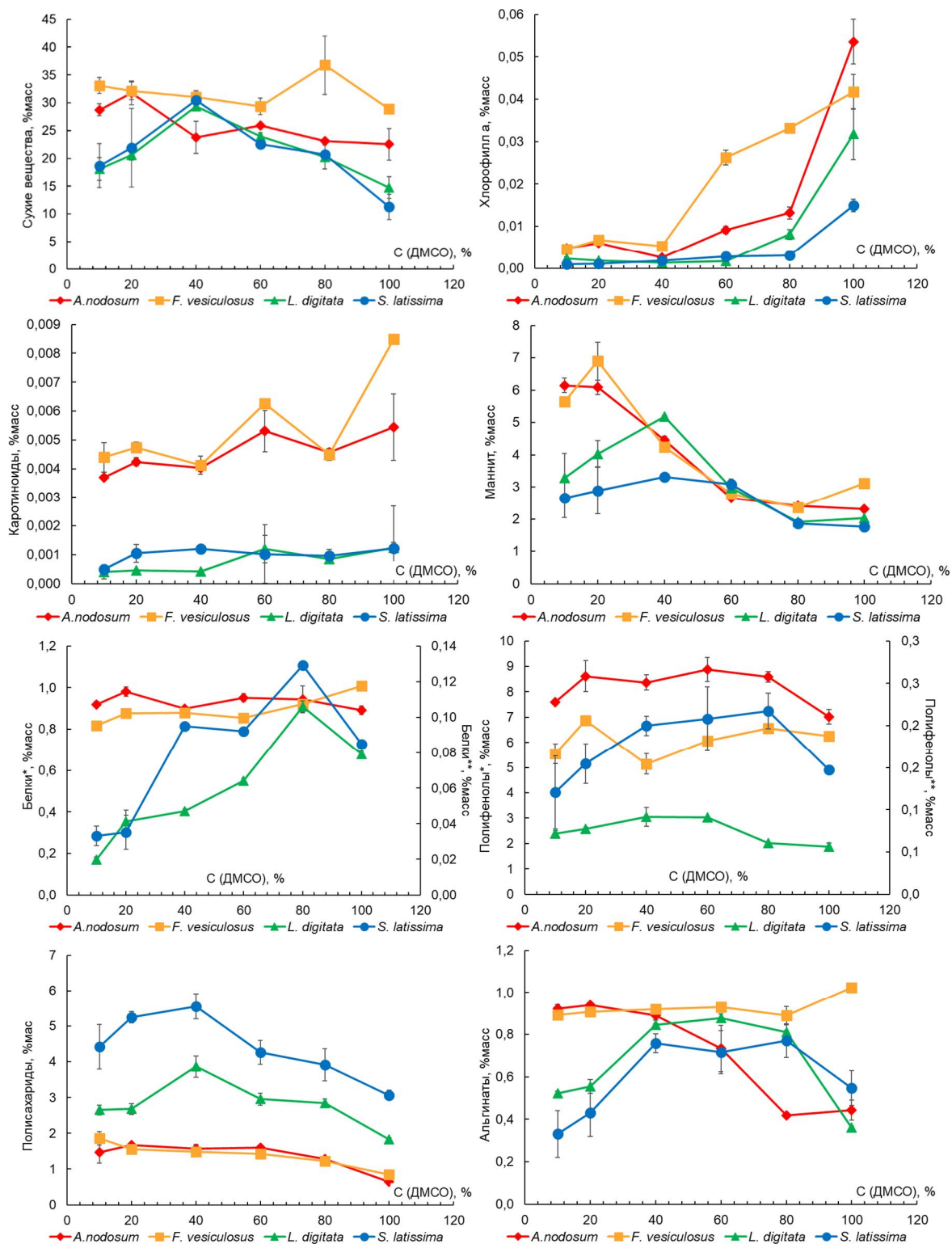


Рис. 3. Зависимость выхода компонентов (% масс) от концентрации диметилсульфоксида в бинарной смеси с водой, * фукусовые виды, ** ламинариевые виды

Данный факт обусловлен химическим строением этих веществ – они содержат большое количество гидрофильных, полярных функциональных групп (-ОН, -С=О, -S=O), что позволяет охарактеризовать их как полярные вещества. Для изопропанола, полярность которого существенно модулируется добавкой воды, характерны наибольшие отклики в изменениях концентрации анализов в экстрактах. Для диметилсульфоксида, физикохимические характеристики которого ближе к таковым для воды, эффект изменения выхода целевых компонентов от содержания ДМСО будет не таким выраженным.

Таблица 4. Значения коэффициентов Пирсона для зависимостей концентрации компонента (% масс) от концентрации изопропанола и ДМСО в бинарных системах органический растворитель – вода

	<i>A. nodosum</i>	<i>F. vesiculosus</i>	<i>L. digitata</i>	<i>S. latissima</i>
Изопропанол				
Сухие вещества	-0.869	-0.804	-0.791	-0.896
Хлорофилл а	0.541	0.702	0.715	0.595
Каротиноиды	-0.304	-0.372	-0.942	-0.503
Маннит	-0.965	-0.973	-0.898	-0.949
Белок	-0.936	-0.921	-0.225	-0.630
Полифенолы	-0.830	-0.948	-0.593	-0.944
Полисахариды	-0.906	-0.942	-0.890	-0.871
Альгинаты	-0.588	-0.619	-0.493	-0.537
Диметилсульфоксид				
Сухие вещества	-0.823	-0.147	-0.301	-0.468
Хлорофилл а	0.777	0.958	0.769	0.783
Каротиноиды	0.827	0.711	0.847	0.593
Маннит	-0.947	-0.843	-0.684	-0.683
Белок	-0.356	0.855	0.881	0.754
Полифенолы	-0.240	0.269	-0.507	0.404
Полисахариды	-0.774	-0.952	-0.410	-0.764
Альгинаты	-0.941	0.665	-0.039	0.555

Исходя из химического анализа полученных экстрактов с широким диапазоном варьирования состава бинарной смеси органический растворитель-вода, наиболее представительные и обогащенные различными фракциями компонентного состава экстракты удается получить при использовании экстракционной системы органический растворитель-вода, содержащей 40% изопропилового спирта.

Предлагаемый в рамках данной работы подход, основанный на экстракции водорослевого сырья 40%-ным раствором изопропанола, не только не исключает возможности использования водорослевого экстракционного остатка как источника альгинатов, но и путем объединения с традиционными схемами извлечения полисахаридной компоненты позволяет расширить спектр получаемых соединений в одном производственном цикле. Ввиду того, что предлагаемая водно-спиртовая среда является плохим растворителем для альгинатов, но эффективным для остальных компонентов, остаток после экстракции представляет собой природный целлюлозный материал, обогащенный альгинатной составляющей, который может найти самостоятельное применение в качестве энтеросорбционных фармсубстанций, либо стать новым сырьем для селективного извлечения альгинатов.

Выводы

На основании анализа фундаментальных физико-химических характеристик, а также сопоставительного анализа состава экстрактов, продемонстрированы перспективы использования 40%-ного раствора изопропилового спирта (изопропанол : вода 40 : 60) для получения комплексных экстрактов арктических бурых водорослей. Необходимость введения в экстракционную систему высокополярного соединения (воды) определяется полярностью и липофильностью компонентов биомассы водорослей. Выявлена зависимость выхода комплекса биологически активных веществ арктических бурых водорослей от состава бинарной системы органический растворитель-вода. Бинарная смесь изопропанол-вода позволяет получать обогащенные всеми компонентами биомассы водорослей вытяжки, что делает ее перспективным растворителем для получения комплексных экстрактов морских макрофитов, обладающих потенциалом использования к области агрохимии.

Список литературы

1. Kumari P., Reddy C.R.K., Jha B. Comparative evaluation and selection of a method for lipid and fatty acid extraction from macroalgae // *Analytical Biochemistry*. 2011. Vol. 415. Pp. 134–144. DOI: 10.1016/j.ab.2011.04.010.
2. Pardilhó S.L., Machado S., Bessada S.M.F., Almeida M.F., Oliveira M.B., Dias J.M. Marine macroalgae waste from Northern Portugal: a potential source of natural pigments? // *Waste and Biomass Valorization*. 2021. Vol. 12. Pp. 239–249. DOI: 10.1016/j.bcab.2021.102087.

3. El-Sheekh M.M., Bases E.A., El-Shenody R.A., El Shafay S.M. Lipid extraction from some seaweeds and evaluation of its biodiesel production // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2021. Vol. 35. Pp. 1–8. DOI: 10.1016/j.bcab.2021.102087.
4. Allwood J.W., Evans H., Austin C., McDougall G.J. Extraction, enrichment, and LC-MSⁿ-based characterization of phlorotannins and related phenolics from the brown seaweed, *Ascophyllum nodosum* // *Marine Drugs*. 2020. Vol. 18. 448. DOI: 10.3390/MD18090448.
5. Jayawardena T.U., Shanura Fernando I.P., Lee W.W., Asanka Sanjeeva K.K., Kim H-S., Lee D-S., Jeon Y-J. Isolation and purification of fucoidan fraction in *Turbinaria ornata* from the Maldives; Inflammation inhibitory potential under LPS stimulated conditions in *in-vitro* and *in-vivo* models // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. Vol. 131. Pp. 614–623. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.105.
6. Kumoro A.C., Hasan M., Singh H. Effects of solvent properties on the Soxhlet extraction of diterpenoid lactones from *Andrographis paniculata* leaves // *ScienceAsia*. 2009. Vol. 35. Pp. 306–309. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2009.35.306.
7. Dimroth K. et al. Über pyridinium-N-phenol-betaïne und ihre verwendung zur charakterisierung der polarität von lösungsmitteln // *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. 1963. Vol. 661. Pp. 1–37. DOI: 10.1002/jlac.19636610102.
8. Reichardt C. Solvatochromic dyes as solvent polarity indicators // *Chemical Reviews*. 1994. Vol. 94. Pp. 2319–2358. DOI: 10.1021/cr00032a005.
9. Kamlet M.J., Taft R.W. The solvatochromic comparison method. I. The β -scale of solvent hydrogen-bond acceptor (HBA) basicities // *Journal of the American Chemical Society*. 1976. Vol. 98. Pp. 377–383. DOI: 10.1021/ja00418a009.
10. Taft R.W., Kamlet M.J. The solvatochromic comparison method. 2. The α -scale of solvent hydrogen-bond donor (HBD) acidities // *Journal of the American Chemical Society*. 1976. Vol. 98. Pp. 2886–2894. DOI: 10.1021/ja00426a036.
11. Kamlet M.J. et al. Linear solvation energy relationships. 23. A comprehensive collection of the solvatochromic parameters, π^* , α , and β , and some methods for simplifying the generalized solvatochromic equation // *The Journal of Organic Chemistry*. 1983. Vol. 48. Pp. 2877–2887. DOI: 10.1021/jo00165a018.
12. Gutmann V. Empirical parameters for donor and acceptor properties of solvents // *Electrochimica Acta*. 1976. Vol. 21. Pp. 661–670. DOI: 10.1016/0013-4686(76)85034-7.
13. Gutmann V. The donor-acceptor approach to molecular interactions. New York: Springer New York, 1978. 279 p.
14. Hansen C.M., Durkee J., Kontogeorgis G., Panayiotou C., Williams L., Poulsen T., Priebe H., Redelius P. Hansen solubility parameters: A user's handbook. 2nd ed. Florida, 2007. 544 p.
15. Ismail G.A. Biochemical composition of some Egyptian seaweeds with potent nutritive and antioxidant properties // *Food Science and Technology*. 2017. Vol. 37. Pp. 294–302. DOI: 10.1590/1678-457X.20316.
16. Wang T., Jónsdóttir R., Liu H., Gu L., Kristinsson H.G., Raghavan S., Ólafsdóttir G. Antioxidant capacities of phlorotannins extracted from the brown algae *Fucus vesiculosus* // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012. Vol. 60. Pp. 5874–5883. DOI: 10.1021/jf3003653.
17. Облучинская Е.Д. Сравнительное исследование бурых водорослей Баренцева моря // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2008. Т. 44. №3. С. 337–342.
18. Garriga M., Almaraz M., Marchiaro A. Determination of reducing sugars in extracts of *Undaria pinnatifida* (Harvey) algae by UV-visible spectrophotometry (DNS method) // *Actas de Ingeniería*. 2017. Vol. 3. Pp. 173–179.
19. Schiener P., Black K.D., Stanley M.S., Green D.H. The seasonal variation in the chemical composition of the kelp species *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea*, *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta* // *Journal of Applied Phycology*. 2015. Vol. 27. Pp. 363–373. DOI: 10.1007/s10811-014-0327-1.
20. Gonçalves-Fernández C., Sineiro J., Moreira R., Gualillo O. Extraction and characterization of phlorotannin-enriched fractions from the Atlantic seaweed *Bifurcaria bifurcata* and evaluation of their cytotoxic activity in murine cell line // *Journal of Applied Phycology*. 2019. Vol. 31. Pp. 2573–2583. DOI: 10.1007/s10811-018-1729-2.
21. Leyton A., Pezoa-Conte R., Barriga A., Buschmann A.H., Mäki-Arvela P., Mikkola J-P., Lienqueo M.E. Identification and efficient extraction method of phlorotannins from the brown seaweed *Macrocystis pyrifera* using an orthogonal experimental design // *Algal Research*. 2016. Vol. 16. Pp. 201–208. DOI: 10.1016/j.algal.2016.03.019.
22. Kadam S.U., Tiwari B.K., O'Donnell C.P. Extraction, structure and biofunctional activities of laminarin from brown algae // *International Journal of Food Science Technology*. 2015. Vol. 50. Pp. 24–31. DOI: 10.1111/ijfs.12692.
23. Belattmania Z., Kaidi S., El Atouani S., Katif C., Bentiss F., Jama C., Reani A., Sabour B., Vasconcelos V. Characterization of alginates from the main alginophyte species of the Atlantic coast of Morocco // *Molecules*. 2020. Vol. 25. 4335. DOI: 10.3390/molecules25184335.
24. Sharma P.P., Baskaran V. Polysaccharide (laminaran and fucoidan), fucoxanthin and lipids as functional components from brown algae (*Padina tetrastromatica*) modulates adipogenesis and thermogenesis in diet-induced obesity in C57BL6 mice // *Algal Research*. 2021. Vol. 54. 102187. DOI: 10.1016/j.algal.2021.102187.
25. Вайсбергер А., Проскауэр Э., Риддик Д., Тупс Э. Органические растворители: физические свойства и методы очистки. М., 1958. 519 с.
26. Березин Б.Д., Березин Д.Б. Курс современной органической химии. М., 2003. 768 с.
27. Справочник химика / под ред. Б.П. Никольского. М., 1982. 1071 с.
28. Lide D.R. Handbook of chemistry and physics. CRC Press, 2004. 2712 p.

29. McLain S.E., Soper A.K., Luzar A. Investigations on the structure of dimethyl sulfoxide and acetone in aqueous solution // *Journal of Chemical Physics*. 2007. Vol. 127. DOI: 10.1063/1.2784555.
30. Wang W.J., Wang G-C., Zhang M., Tseng C.K. Isolation of fucoxanthin from the rhizoid of *Laminaria japonica* Aresch // *Journal of Integrative Plant Biology*. 2005. Vol. 47. Pp. 1009–1015. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2005.00054.x.
31. Garcia-Perez P., Lourenço-Lopes C., Silva A., Pereira A.G., Fraga-Corral M., Zhao C., Xiao J., Simal-Gandara J., Prieto M.A. Pigment composition of nine brown algae from the Iberian northwestern coastline: influence of the extraction solvent // *Marine Drugs*. 2022. Vol. 20. 113. DOI: 10.3390/md20020113.
32. Lefebvre T., Destandau E., Lesellier E. Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review // *Journal of Chromatography A*. 2021. Vol. 1635. 461770. DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461770.
33. Dianursanti A.S., Maeda Y., Yoshino T., Tanaka T. The effects of solvents and solid-to-solvent ratios on ultrasound-assisted extraction of carotenoids from *Chlorella vulgaris* // *International Journal of Technology*. 2020. Vol. 11. Pp. 941–950. DOI: 10.14716/ijtech.v11i5.4331.
34. Savira A.D.R., Amin M.N.G., Alamsjah M.A. The effect of different type of solvents on the antioxidant activity of fucoxanthin extract from brown seaweed *Sargassum duplicatum* // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021. Vol. 718. 012010. DOI: 10.1088/1755-1315/718/1/012010.
35. 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. Pp. 191–196. DOI: 10.1007/s10811-010-9533-7.
36. Чуешов В.И., Гладух Е.В., Сайко И.В., Ляпунова О.А., Сичкарь А.А., Крутских Т.В., Рубан Е.А., Черняев С.В. *Технология лекарств промышленного производства*. Винница, 2014. 696 с.

Поступила в редакцию 9 февраля 2023 г.

После переработки 15 марта 2023 г.

Принята к публикации 29 мая 2023 г.

Для цитирования: Паршина А.Э., Маматмуродов Х.Б., Боголицын К.Г., Поломарчук Д.А., Попов Н.В. Сравнение экстракционной эффективности органических растворителей и бинарных систем для получения биологически активных комплексов арктических бурых водорослей // *Химия растительного сырья*. 2023. №4. С. 165–178. DOI: 10.14258/jcrpm.20230412553.

Parshina A.E.^{1*}, Mamatmurodov Kh.B.¹, Bogolitsyn K.G.^{1,2}, Polomarchuk D.A.¹, Popov N.V.¹ EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPLEXES OF ARCTIC BROWN ALGAE

¹ Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosova, nab. Severnoy Dviny, 17, Arkhangelsk, 163002 (Russia), e-mail: a.parshina@narfu.ru

² Institute of Environmental Problems of the North, FITSKIA Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, pr. Nikolsky, 20, Arkhangelsk, 163020 (Russia)

Arctic brown algae are a valuable source of a wide range of biologically active compounds, including the lipid-pigment complex, which is composed of pigments (chlorophylls, carotenoids) and fatty acids. The currently used brown algae processing technologies use only a part of the biomass, since they are usually aimed at the selective isolation of individual components or narrow fractions. It complicates the achievement of the requirements for a highly efficient processing of plant materials. The physicochemical nature of the solvent (isopropyl alcohol, ethyl alcohol, acetone, dimethyl sulfoxide) has a significant effect on the yield of components of the brown algae. Most macroalgae components are polar substances; therefore, it requires usage of solvents with a high polarity index for their extraction. Lipophilic components (pigments) tended to be solubilized by moderately polar solvents. Thus, the aim of this study is to develop a method for obtaining a complex extract of Arctic brown algae using binary systems of organic solvents with water. The advantages of using isopropyl alcohol to obtain extracts of biologically active substances is substantiated. It is shown that the binary system isopropyl alcohol-water (40 : 60) has the best extracting ability with respect to most components of the composition of the Arctic brown algae.

Keywords: White sea, brown algae, extraction, bioactive compounds, salvation.

References

1. Kumari P., Reddy C.R.K., Jha B. *Analytical Biochemistry*, 2011, vol. 415, pp. 134–144. DOI: 10.1016/j.ab.2011.04.010.
2. Pardilhó S.L., Machado S., Bessada S.M.F., Almeida M.F., Oliveira M.B., Dias J.M. *Waste and Biomass Valorization*, 2021, vol. 12, pp. 239–249. DOI: 10.1016/j.bcab.2021.102087.
3. El-Sheekh M.M., Bases E.A., El-Shenody R.A., El Shafay S.M. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2021, vol. 35, pp. 1–8. DOI: 10.1016/j.bcab.2021.102087.
4. Allwood J.W., Evans H., Austin C., McDougall G.J. *Marine Drugs*, 2020, vol. 18, 448. DOI: 10.3390/MD18090448.
5. Jayawardena T.U., Shanura Fernando I.P., Lee W.W., Asanka Sanjeeva K.K., Kim H-S., Lee D-S., Jeon Y-J. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, vol. 131, pp. 614–623. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.105.
6. Kumoro A.C., Hasan M., Singh H. *ScienceAsia*, 2009, vol. 35, pp. 306–309. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2009.35.306.
7. Dimroth K. et al. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 1963, vol. 661, pp. 1–37. DOI: 10.1002/jlac.19636610102.
8. Reichardt C. *Chemical Reviews*, 1994, vol. 94, pp. 2319–2358. DOI: 10.1021/cr00032a005.
9. Kamlet M.J., Taft R.W. *Journal of the American Chemical Society*, 1976, vol. 98, pp. 377–383. DOI: 10.1021/ja00418a009.
10. Taft R.W., Kamlet M.J. *Journal of the American Chemical Society*, 1976, vol. 98, pp. 2886–2894. DOI: 10.1021/ja00426a036.
11. Kamlet M.J. et al. *The Journal of Organic Chemistry*, 1983, vol. 48, pp. 2877–2887. DOI: 10.1021/jo00165a018.
12. Gutmann V. *Electrochimica Acta*, 1976, vol. 21, pp. 661–670. DOI: 10.1016/0013-4686(76)85034-7.
13. Gutmann V. *The donor-acceptor approach to molecular interactions*. New York: Springer New York, 1978, 279 p.
14. Hansen C.M., Durkee J., Kontogeorgis G., Panayiotou C., Williams L., Poulsen T., Priebe H., Redelius P. *Hansen solubility parameters: A user's handbook. 2nd ed.* Florida, 2007, 544 p.
15. Ismail G.A. *Food Science and Technology*, 2017, vol. 37, pp. 294–302. DOI: 10.1590/1678-457X.20316.
16. Wang T., Jónsdóttir R., Liu H., Gu L., Kristinsson H.G., Raghavan S., Ólafsdóttir G. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, vol. 60, pp. 5874–5883. DOI: 10.1021/jf3003653.
17. Obluchinskaya Ye.D. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2008, vol. 44, no. 3, pp. 337–342. (in Russ.).
18. Garriga M., Almaraz M., Marchiaro A. *Actas de Ingeniería*, 2017, vol. 3, pp. 173–179.
19. Schiener P., Black K.D., Stanley M.S., Green D.H. *Journal of Applied Phycology*, 2015, vol. 27, pp. 363–373. DOI: 10.1007/s10811-014-0327-1.
20. Gonçalves-Fernández C., Sineiro J., Moreira R., Gualillo O. *Journal of Applied Phycology*, 2019, vol. 31, pp. 2573–2583. DOI: 10.1007/s10811-018-1729-2.
21. Leyton A., Pezoa-Conte R., Barriga A., Buschmann A.H., Mäki-Arvela P., Mikkola J-P., Lienqueo M.E. *Algal Research*, 2016, vol. 16, pp. 201–208. DOI: 10.1016/j.algal.2016.03.019.
22. Kadam S.U., Tiwari B.K., O'Donnell C.P. *International Journal of Food Science Technology*, 2015, vol. 50, pp. 24–31. DOI: 10.1111/ijfs.12692.
23. Belattmania Z., Kaidi S., El Atouani S., Katif C., Bentiss F., Jama C., Reani A., Sabour B., Vasconcelos V. *Molecules*, 2020, vol. 25, 4335. DOI: 10.3390/molecules25184335.
24. Sharma P.P., Baskaran V. *Algal Research*, 2021, vol. 54, 102187. DOI: 10.1016/j.algal.2021.102187.
25. Vaysberger A., Proskauer E., Riddik D., Tups E. *Organicheskiye rastvoriteli: fizicheskiye svoystva i metody ochistki*. [Organic solvents: physical properties and methods of purification]. Moscow, 1958, 519 p. (in Russ.).

* Corresponding author.

26. Berezin B.D., Berezin D.B. *Kurs sovremennoy organicheskoy khimii*. [Course of modern organic chemistry]. Moscow, 2003, 768 p. (in Russ.).
27. *Spravochnik khimika* [Chemist's Handbook], ed. B.P. Nikol'skogo. Moscow, 1982, 1071 p. (in Russ.).
28. Lide D.R. *Handbook of chemistry and physics*, CRC Press, 2004, 2712 p.
29. McLain S.E., Soper A.K., Luzar A. *Journal of Chemical Physics*, 2007, vol. 127, DOI: 10.1063/1.2784555.
30. Wang W.J., Wang G-C., Zhang M., Tseng C.K. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2005, vol. 47, pp. 1009–1015. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2005.00054.x.
31. Garcia-Perez P., Lourenço-Lopes C., Silva A., Pereira A.G., Fraga-Corral M., Zhao C., Xiao J., Simal-Gandara J., Prieto M.A. *Marine Drugs*, 2022, vol. 20, 113. DOI: 10.3390/md20020113.
32. Lefebvre T., Destandau E., Lesellier E. *Journal of Chromatography A*, 2021, vol. 1635, 461770. DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461770.
33. Dianursanti A.S., Maeda Y., Yoshino T., Tanaka T. *International Journal of Technology*, 2020, vol. 11, pp. 941–950. DOI: 10.14716/ijtech.v11i5.4331.
34. Savira A.D.R., Amin M.N.G., Alamsjah M.A. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, vol. 718, 012010. DOI: 10.1088/1755-1315/718/1/012010.
35. Chee S.Y., Wong P.K., Wong C.L. *Journal of Applied Phycology*, 2011, vol. 23, pp. 191–196. DOI: 10.1007/s10811-010-9533-7.
36. Chuyeshov V.I., Gladukh Ye.V., Sayko I.V., Lyapunova O.A., Sichkar' A.A., Krutskikh T.V., Ruban Ye.A., Chernyayev S.V. *Tekhnologiya lekarstv promyshlennogo proizvodstva*. [Technology of industrial drugs]. Vinnitsa, 2014, 696 p. (in Russ.).

Received February 9, 2023.

Revised March 15, 2023

Accepted May 29, 2023

For citing: Parshina A.E., Mamatmurodov Kh.B., Bogolitsyn K.G., Polomarchuk D.A., Popov N.V. *Khimiya Ras-titel'nogo Syr'ya*, 2023, no. 4, pp. 165–178. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20230412553.