

УДК 676.08:67.08:577.19

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРОДУКТОВ ДЕСТРУКЦИИ КОРОДРЕВЕСНЫХ ОТХОДОВ ДЛИТЕЛЬНОГО СРОКА ХРАНЕНИЯ

© Т.И. Ширшова^{1*}, И.В. Бешлей¹, К.Г. Уфимцев¹, З.Ю. Самойлова², Г.В. Смирнова²

¹ Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Коммунистическая ул., 28,
Сыктывкар, 167982, Россия, shirshova@ib.komisc.ru

² Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, ул. Голева,
13, Пермь, 614081, Россия

Исследована антиоксидантная активность этилацетатных и гексановых экстрактов продуктов деструкции кородревесных отходов (КДО) из короотвала ОАО «Сыктывкарский ЛДК», расположенного в микрорайоне Лесозавод Сыктывкара. Установлено, что общее содержание в них фенольных соединений было довольно высоким и варьировало от 46 до 74 мг (ГАЕ) / г сухого экстракта. Однако результаты определения способности исследуемых субстанций из КДО к связыванию радикалов ДФПГ и хелатированию ионов Fe^{2+} не выявили как радикалсвязывающей, так и значимой железохелатирующей активности. Показано, что экстракты оказывали ингибирующий эффект на удельную скорость роста бактериальных культур *Escherichia coli*, а также стимулировали экспрессию гена *katG*. Установлено, что сила ответа на окислительный стресс в присутствии испытуемых экстрактов, т.е. их способность оказывать антиоксидантное действие, зависела от момента времени, в который добавлялся оксидант. Короткий временной промежуток между инкубацией с экстрактами и добавлением пероксида приводил к аддитивному эффекту, в результате которого оксидативное действие на бактериальные культуры усиливалось. Более длительная инкубация с экстрактами до добавления пероксида, напротив, обесценивала стимуляцию антиоксидантного гена *katG*, что в итоге способствовало защите от действия пероксида.

Ключевые слова: кородревесные отходы, экстрактивные вещества, этилацетатные, гексановые экстракты, фенольные соединения, дигидрокверцетин, антиоксидантная активность.

Для цитирования: Ширшова Т.И., Бешлей И.В., Уфимцев К.Г., Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В. Антиоксидантные свойства экстрактивных веществ продуктов деструкции кородревесных отходов длительного срока хранения // Химия растительного сырья. 2024. №2. С. 284–292. DOI: 10.14258/jcprn.20240213463.

Введение

В системе комплексного использования древесного сырья наиболее слабым звеном является утилизация древесных отходов целлюлозно-бумажной промышленности, лесозаготовок и деревообработки. Основная доля отходов окорки древесины целлюлозно-бумажных предприятий вывозится в отвал, где при длительном хранении происходит частичное разложение их с выделением различных токсичных соединений.

Утилизация отходов целлюлозно-бумажной и лесоперерабатывающей промышленности в нашей стране представляет большую и наболевшую проблему, которая чрезвычайно актуальна и для Республики Коми [1, 2]. Глубокая переработка древесины с превращением ее основных компонентов в товарные продукты с высокой добавленной стоимостью является одним из направлений биорефайнинга, к которому можно отнести и использование для этих целей отвалов кородревесных отходов.

Наиболее известным и востребованным направлением переработки древесных отходов является производство различных видов прессованной древесной продукции [3]. В то же время данные технологии не являются экологичными в полной мере, так как в производственном процессе используются формальдегиды, смолы и прочие связующие вещества.

Некоторые авторы предлагают использовать древесные отходы с различными добавками в качестве сорбента для очистки сточных вод. При этом отработанный сорбционный материал можно использовать в последующем при изготовлении органических удобрений, содержащих микроэлементы, без вреда для экологии [4, 5].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Биомасса хвойных пород деревьев содержит экстрактивные вещества с широким спектром полезных свойств. Большой интерес исследователей связан с изучением фенольных соединений. При изучении химического состава полифенольного комплекса некоторых видов пихты, ели и сосны было показано, что он является сложной смесью фенольных соединений, включающих флавоноиды, привлекающие все возрастающий интерес из-за необычайно широкого спектра биологической активности, их значимости как с экологической точки зрения, так и с точки зрения использования в качестве биологически активных препаратов [6–8]. Например, было обнаружено, что в древесине лиственницы сибирской содержится до 2.5% биологически активных флавоноидов, из которых основными являются дигидрокверцетин и дигидрокемпферол. Особое место среди природных полисахаридов, благодаря высокому содержанию в растительном сырье и уникальным свойствам, занимает водорастворимый полисахарид арабиногалактан (АГ). Совместно присутствующие в древесине и отходах деревоперерабатывающей промышленности дигидрокверцетин и полисахарид АГ представляют интересную перспективу для использования в фармацевтической и пищевой промышленности [9–11].

Комплексное исследование содержания биологически активных веществ в продуктах деструкции кородревесных отходов, взятых на разной глубине короотвала ОАО «Сыктывкарский ЛДК», расположенного в микрорайоне Лесозавод г. Сыктывкара, существующего почти 100 лет (с 1926 г.) и представляющего собой отвал площадью до 11 га, высотой от 17 до 27 м, объемом до 1120 тыс. м³, при экстракции растворителями различной полярности показало, что компонентный состав фенольных фракций всех исследованных нами образцов КДО, взятых на разной глубине, идентичен. Количественное содержание различается, но закономерностей в зависимости от глубины залегания не обнаружено, что объясняется неоднородностью сбрасываемых отходов. На основании данных тонкослойной (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) показано, что в состав фенольной фракции входит от 4 до 8 соединений, из которых четыре относятся к фенолокислотам и идентифицированы как протокатеховая, ванилиновая, *транс-п*-кумаровая кислоты и ее *цис*-изомер, а также вещество, по хроматографическим и спектральным характеристикам идентифицированное как дигидрокверцетин – вещество, принятое за эталон высокой антиоксидантной активности. Это открывает перспективы использования различных фракций КДО для разработки субстанций различного народнохозяйственного назначения [12, 13].

Цель настоящей работы – исследование антиоксидантной активности экстрактов продуктов деструкции КДО из короотвала ОАО «Сыктывкарский ЛДК», представляющих интерес, как перспективные источники для разработки субстанций различной направленности.

Экспериментальная часть

Этилацетатный экстракт получали по известной методике [6, 7] путем трехкратной обработки сухих измельченных образцов КДО, полученных просеиванием через сито с диаметром ячеек 1 мм, этилацетатом при температуре кипения растворителя в течение 4 ч при соотношении твердого вещества и экстрагента 1 : 10. Экстракт концентрировали на ротормном испарителе ($t=40\text{ }^{\circ}\text{C}$) досуха и определяли массу (экстракт Э1) гравиметрическим методом. Выход Э1 составил 2.1% от массы КДО [12].

Сухие этилацетатные экстракты настаивали с гексаном в течение трех суток при соотношении твердого вещества и экстрагента 1 : 100. Гексановые экстракты сливали декантацией, упаривали в вакууме на ротормном испарителе досуха и определяли массу (экстракт Э2) гравиметрическим методом. Выход Э2 составил 50.1% массы сухого этилацетатного экстракта.

Выпавшие из гексановых экстрактов при стоянии на холоду осадки белого цвета отделяли фильтрацией на складчатом фильтре, сушили досуха в вакуумном эксикаторе и определяли массу (экстракт Э3) гравиметрическим методом. Масса выпавших осадков составила 40.5% сухого гексанового экстракта Э2.

Полученные сухие экстракты (Э1, Э2, Э3) исследовали на содержание полифенолов и антиоксидантную активность (табл.).

Тонкослойную хроматографию проводили на пластинах «Sorbfil» (Россия) размером 10×10 см и DC-Fertigfolien Alugram® Xtra SIL G/UV₂₅₄ размером 20×20 см (Germany) в системе растворителей этилацетат – толуол – муравьиная кислота – вода 30 : 10 : 5 : 1. Проявитель – 10% раствор фосфорномолибденовой кислоты (ФМК) в 95% этиловом спирте. В качестве растворов сравнения (ТСХ и ВЭЖХ) использовали стандартные образцы кверцетина, дигидрокверцетина, ванилиновую кислоту (Fluka), *транс-п*-кумаровую (Alfa Aesar), протокатеховую (Alfa Aesar), сиреневую (Acros), феруловую (Acros), кофейную (Sigma) кислоты.

Высокоэффективную жидкостную хроматографию осуществляли в изократическом режиме на хроматографе Smartline (Knauer, Германия), снабженном аналитической колонкой Kromasil 100-5C 18, 4×250 мм, петля – 20 мкл и детектор Smartline 2600 на диодной матрице. Детекцию проводили при длине волны 254 нм. В качестве подвижной фазы использовали смесь вода : ацетонитрил : фосфорная кислота 85 : 15 : 0.05. Скорость элюирования – 0.7 мл/мин, температура колонки 25 °С. Образцы перед анализом очищали методом твердофазной экстракции на патронах ДИАПАК С16.

Определение суммарного содержания фенольных соединений проводили спектрофотометрическим методом с использованием реактива Фолина-Чокальтеу [14]. Результат определения выражали в мг-эквивалентах галловой кислоты (ГАЕ) на 1 г сухого экстракта.

Радикалсвязывающую активность экстрактов определяли по их способности связывать стабильные радикалы 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ[•]). Определение проводили модифицированным методом [15] в реакционной смеси, содержащей 3 мл 0.3 мМ этанольного раствора ДФПГ[•], 1 мл 50 мМ Tris-HCl буфера (рН 7.4) и 100–500 мкл растворов исследуемых образцов. После 30 мин инкубации при комнатной температуре измеряли поглощение при 517 нм на спектрофотометре Bio-Rad SmartSpec Plus. Радикалсвязывающую активность рассчитывали согласно формуле:

$$РСА (\%) = (1 - \text{поглощение образца} / \text{поглощение контроля}) \times 100.$$

Строили график зависимости РСА от концентрации исследуемого соединения и определяли величину IC₅₀ как концентрацию, при которой связывается 50% свободных радикалов ДФПГ[•]. В качестве стандартов использовался тролокс – водорастворимый аналог витамина Е и флавоноид кверцетин (табл.).

Хелатирующая способность (ХС). Способность экстрактов хелатировать ионы Fe²⁺ определяли модифицированным методом [16]. Реакционную смесь, содержащую 900 мкл 0.1–1 мМ образца и 60 мкл 1 мМ FeSO₄, активировали добавлением 120 мкл 5 мМ феррозина в ацетатном буфере. Раствор перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин, после чего определяли поглощение при длине волны 562 нм, используя спектрофотометр Bio-Rad SmartSpec Plus. Хелатирующую способность рассчитывали, используя уравнение:

$$ХС (\%) = (1 - \text{поглощение образца} / \text{поглощение контроля}) \times 100.$$

Строили график зависимости ХС от концентрации исследуемого соединения и определяли величину EC₅₀ как концентрацию, при которой связывается 50% ионов Fe²⁺. В качестве стандартов использовали хелатор железа дипиридил и флавоноид кверцетин.

Определение АОА с применением микробных тест-систем. Штамм бактерий *Escherichia coli* NM3021, несущий генное слияние *katG::lacZ*, инкубировали при 37 °С с аэрацией 150 об./мин в колбах в 20 мл минеральной среды М9 с добавлением 4 г/л глюкозы до оптической плотности OD₆₀₀ = 0.4. Добавляли растворенные в ДМСО экстракты так, чтобы действующая доза составила 0.03 мг/мл (инкубация с более высокими дозами не позволяет осуществлять спектрофотометрические измерения оптической плотности из-за образования осадка, а меньшие дозы оказывали незначительные эффекты).

Антиоксидантную активность экстрактов оценивали по их способности подавлять аэробный рост бактерий *E. coli* в присутствии 2 мМ перекиси водорода. Полученные экспериментальные данные использовали для подсчета удельной скорости роста (μ):

$$\mu = \Delta \ln OD_{600} / \Delta t,$$

где OD₆₀₀ – оптическая плотность среды, t – время, ч.

Уровень экспрессии генного слияния *katG::lacZ* в культуре *E. coli* определяли путем измерения активности β-галактозидазы с применением модифицированного метода Миллера [17]. Активность (АГ) выражали в единицах Миллера, рассчитанных по формуле:

$$АГ = (OD_{420} - 1.75 \times OD_{550} / OD_{600}) \times 100,$$

где OD₄₂₀ и OD₅₅₀ – оптическая плотность образцов, OD₆₀₀ – оптическая плотность бактериальной культуры, 100 – коэффициент, учитывающий продолжительность экспозиции с 2-нитрофенил β-D-галактопиранозидом и разведение исходной культуры.

Экспериментальные данные обрабатывали, вычисляя стандартную ошибку и доверительный интервал. Каждый результат показан как среднее значение из не менее чем трех независимых экспериментов $\pm \Delta$ стандартная ошибка среднего. Достоверность различий оценивали согласно *t*-критерию Стьюдента, различия считались значимыми при $p < 0.05$.

Обсуждение результатов

Как показали наши исследования [12, 13], содержание фенольных соединений в этилацетатных экстрактах КДО лежит в интервале 45–64% сухой массы экстрактов. Методами ТСХ и ВЭЖХ было показано, что основными компонентами фенольных фракций КДО являются фенолоксиды, обладающие довольно высокой антиоксидантной активностью (протокатеховая, ванилиновая, *цис*- и *транс*-*n*-кумаровые кислоты), а также дигидрокверцетин, считающийся эталонным антиоксидантом, что открывает перспективы разработки субстанций для использования их в медицине, животноводстве и других отраслях народного хозяйства.

Установлено, что соединения фенольной природы проявляют высокую антиоксидантную активность за счет большого количества гидроксильных групп. Например, флавоноиды, представляющие большую группу фенольных соединений, служат ловушками для свободных радикалов и функционируют, как «эффективные хелаторы», связывающие ионы переходных металлов. Обладая способностью хелатировать ионы металлов с переменной валентностью, флавоноиды связывают ионы токсичных тяжелых металлов, способствуя их элиминированию из организма [18].

В наших образцах общее содержание фенольных соединений было довольно высоким и варьировало от 46 до 74 мг (GAE)/г сухого экстракта (табл.). Наибольшим количеством полифенолов отличался гексановый экстракт (Э2). Однако несмотря на высокое содержание фенольных соединений, результаты определения способности этилацетатных и гексановых экстрактов к связыванию радикалов ДФПГ и хелатированию ионов Fe^{2+} не выявили как РСА, так и значимой железохелатирующей активности (табл.).

Известно, что антиоксидантные свойства фенольных соединений реализуются по комбинированному механизму и зависят от структуры этих веществ. Помимо прямого действия на оксиданты (хелатирование ионов металлов переменной валентности, ингибирование активных форм кислорода и свободных радикалов), они активируют или оказывают защитное действие на антиоксидантные ферменты [18]. Поэтому для оценки биологической активности экстрактов были проведены тесты с использованием генно-инженерного штамма бактерий *Escherichia coli*, несущего слияние промотора гена *katG* со структурным геном β -галактозидазы, что позволяет судить о степени экспрессии этого гена по уровню активности β -галактозидазы. У *E. coli* ген *katG* кодирует каталазу гидропероксидазу НР1, которая индуцируется в ответ на повышение концентрации H_2O_2 . *katG* вместе с рядом других генов входит в состав регулона, контролируемого транскрипционным фактором ОхуR, координирующим адаптацию бактерий к окислительному стрессу, индуцируемому действием H_2O_2 [19].

Антиоксидантную активность экстрактов (АОА) оценивали по их способности поддерживать аэробный рост бактерий *E. coli* в присутствии 2 мМ перекиси водорода. За первые 30 мин инкубации при отсутствии оксиданта испытуемые экстракты Э1 и Э3 снижали удельную скорость роста приблизительно в 1.5 раза. Бактериостатический эффект экстракта Э2 «был растянут» во времени и проявился на 60 минуте инкубации в виде снижения скорости роста на 33% (рис. 1).

Наблюдаемое бактериостатическое действие может быть следствием прооксидантной активности экстрактов, о чем свидетельствует индукция экспрессии антиоксидантного гена *katG*. В наших условиях, в отсутствие пероксида, повышение экспрессии слияния *katG::lacZ* экстрактами наблюдалось через час после обработки (рис. 2). Наибольший эффект отмечен в присутствии Э2 (в 1.35 раза).

Также была исследована способность экстрактов оказывать защитное действие от окислительного стресса, вызванного добавлением 2мМ перекиси водорода. Были рассмотрены две ситуации. В первом случае пероксид добавляли через 30 мин, во втором – через 60 мин инкубации с экстрактами. В первой ситуации Э2 и Э3 в дозе 0.03 мг/мл усиливали действие пероксида в 2 раза после 60 мин инкубации (рис. 3).

В контроле через 30 мин после добавления пероксида экспрессия слияния *katG::lacZ* увеличивалась в 1.8 раза (рис. 4).

В случае, когда бактериальные культуры инкубировали в присутствии экстрактов в течение 60 мин, а затем добавляли 2мМ перекиси водорода, испытуемые экстракты оказывали слабое антиоксидантное действие через полчаса после обработки пероксидом. На это указывает незначительное повышение скорости роста в образцах, обработанных экстрактами и пероксидом, в 1.2–1.5 раза по сравнению с образцами, обработанными только пероксидом (рис. 5).

Антиоксидантная активность и общее содержание полифенолов в испытуемых экстрактах

Образец/стандарт	Общее содержание полифенолов, мг (GAE)/г сухого экстракта	IC ₅₀ , мг/мл ¹	EC ₅₀ , мг/мл ²
Экстракт Э1	56±5	11±2	3.5±0.05
Экстракт Э2	74±3	23±2	5.0±0.01
Экстракт Э3	46±2	35±3	6.0±0.03
Тролокс (станд. антиоксидант)	...	0.008±0.0001	...
Кверцетин (флавоноид)	...	0.016±0.0002	0.1±0.01
Дипиридил (хелатор железа)	0.2±0.001

Примечания: ¹ – концентрация вещества, необходимая для связывания 50% радикалов ДФПГ в тесте на определение радикалсвязывающей активности; ² – концентрация вещества, необходимая для связывания 50% ионов Fe²⁺ в тесте на измерение железохелатирующей способности.

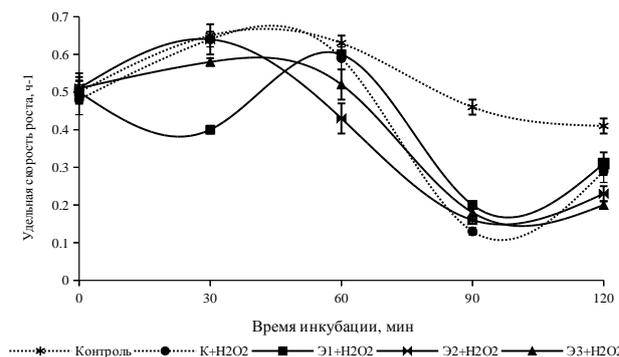


Рис. 1. Влияние 0.03 мг/мл экстрактов из отходов КДО на скорость роста бактериальных культур *E. coli* NM3021 (экстракты добавляли в точке 0, для учета осмотических эффектов сразу измеряли оптическую плотность и учитывали эту разницу в дальнейшем при подсчете удельной скорости роста)

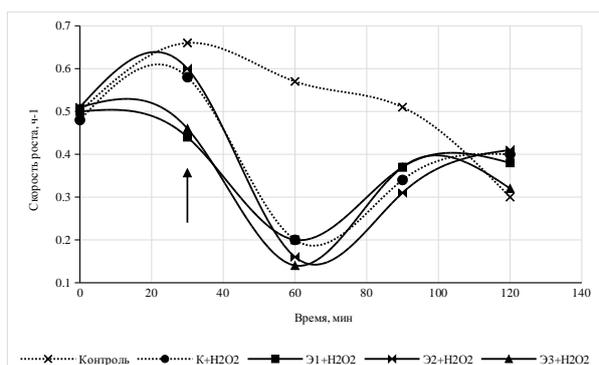


Рис. 3. Влияние 0.03 мг/мл экстрактов из отходов КДО на скорость роста бактерий *E. coli* NM3021. Экстракты добавляли в точке 0, для учета осмотических эффектов сразу измеряли оптическую плотность и учитывали эту разницу в дальнейшем (стрелкой отмечено время добавления 2мМ перекиси водорода)

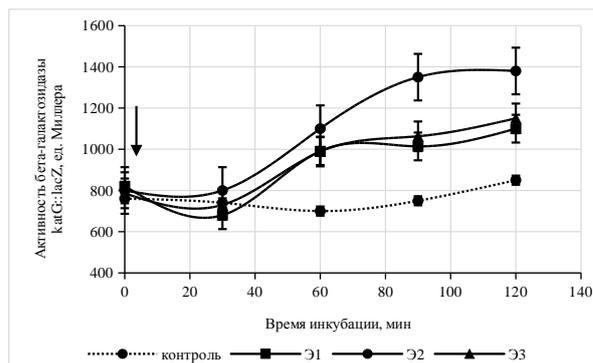


Рис. 2. Действие 0.03 мг/мл экстрактов на экспрессию слияния *katG::lacZ*. время добавления экстрактов обозначено стрелкой

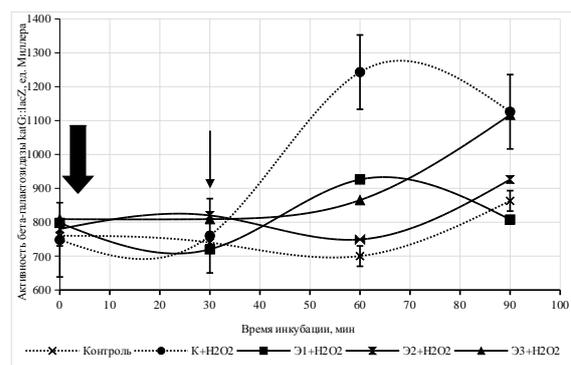


Рис. 4. Действие 0.03мг/мл экстрактов на экспрессию слияния *katG::lacZ*. Время добавления экстрактов обозначено жирной стрелкой. Время добавления пероксида – тонкой стрелкой

Индекс АОА испытуемых экстрактов рассчитывали как отношение удельной скорости роста в образце, обработанном пероксидом и экстрактом, к значению удельной скорости роста в образце, обработанном только пероксидом (рис. 6).

В наших условиях наименьшее значение индекса АОА демонстрировал Э2, наибольшее – экстракт Э1.

Антиоксидантное действие биологически активных веществ может быть связано с их прооксидантными свойствами. В частности, предварительная обработка испытуемыми экстрактами может стимулировать экспрессию антиоксидантного гена *katG*, кодирующего каталазу гидропероксидазу НР1, и способствовать устойчивости к последующему пероксидному стрессу. Чтобы проверить эту гипотезу, нами были измерены уровни экспрессии слияния *katG::lacZ* через 60 мин инкубации с испытуемыми экстрактами. Как показали результаты, представленные на рисунке 7, все три экстракта проявляли способность снижать скорость роста бактериальных культур, а также стимулировать экспрессию антиоксидантного гена *katG* в 1.5 раза.

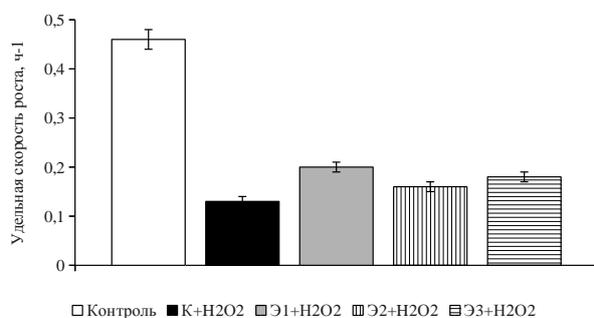


Рис. 5. Влияние 0.03 мг/мл экстрактов из отходов КДО на скорость роста бактерий *E. coli* NM3021 через 30 мин после добавления 2мМ перекиси водорода

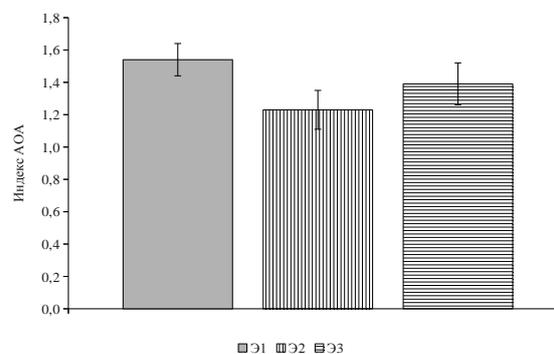


Рис. 6. Индекс антиоксидантной активности испытуемых экстрактов

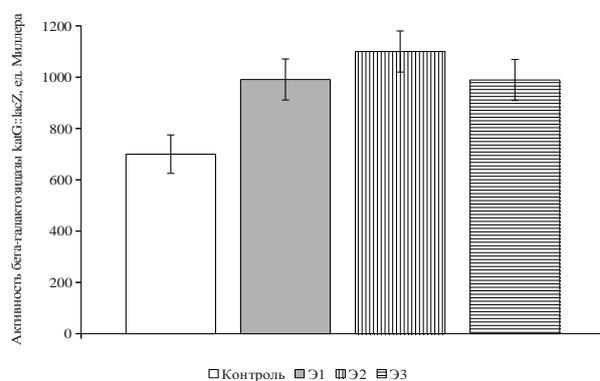


Рис. 7. Экспрессия гена *katG* через 60 минут инкубации с экстрактами

Выводы

1. Экстракты, содержащие полифенольные соединения, полученные из КДО, оказывали ингибирующий эффект на удельную скорость роста бактериальных культур, а также стимулировали экспрессию гена *katG*.

2. Сила ответа на окислительный стресс в присутствии испытуемых экстрактов, т.е. их способность оказывать антиоксидантное действие, зависела от момента времени, в который добавлялся оксидант. Короткий временной промежуток между инкубацией с экстрактами и добавлением пероксида приводил к аддитивному эффекту, в результате которого оксидативное действие на бактериальные культуры усиливалось. Более длительная инкубация с экстрактами до добавления пероксида, напротив, обеспечивала стимуляцию антиоксидантного гена *katG*, что в итоге способствовало защите от действия пероксида.

3. Результаты исследования антиоксидантной активности экстрактов, полученных из КДО с использованием органических растворителей различной полярности, содержащих комплекс фенольных соединений, обладающих антиоксидантными свойствами, позволяют считать перспективным использование различных фракций КДО для разработки субстанций антиоксидантной направленности.

Финансирование

Работа выполнена в рамках тем госзаданий: «Научно-обоснованные биотехнологии для улучшения экологической обстановки и здоровья человека на Севере». Регистрационный номер в системе ЕГИСУ 1021051101411-4-1.6.23; «Молекулярные механизмы адаптации микроорганизмов к факторам среды». Регистрационный номер АААА-А19-119112290009-1.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Государственный подход к утилизации отходов лесной промышленности: опыт Республики Коми [Электронный ресурс]. URL: <https://lesprominform.ru/jarticles.html?id=5071>.
2. Володин В.В., Шубаков А.А., Володина С.О., Шергина Н.Н., Василев Р.Г. Тенденции в развитии методов утилизации коры и кородревесных отходов длительного хранения (обзор) // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2022. Т. 23, №5. С. 611–632. DOI: 10.30766/2072-9081.2022.23.5.611-632.
3. Зырянов М.А., Чистова Н.Г., Швецов В.А., Зарипов З.З. Переработка древесных отходов в производстве древесноволокнистых плит // *Вестник КрасГАУ*. 2010. №4. С. 288–291.
4. Липунов И.Н., Никифоров А.Ф., Первова И.Г., Толмачева Н.О. Извлечение фенола из сточных вод сорбентами на основе древесных отходов // *Водное хозяйство России: проблемы, технологии, управление*. 2018. №6. С. 101–112. DOI: 10.35567/1999-4508-2018-6-8.
5. Шиббека Л.А., Протас М.В. Модифицированные сорбенты на основе древесных отходов для извлечения тяжелых металлов из сточных вод // *Труды Кольского научного центра РАН*. 2020. Т. 11, №3–4. С. 223–226. DOI: 10.37614/2307-5252.2020.3.4.048.
6. Бабкин В.А., Остроухова Л.А., Трофимова Н.Н. Биомасса лиственницы: от химического состава до инновационных продуктов. Новосибирск, 2011. 236 с.
7. Бабкин В.А. Экстрактивные вещества древесины лиственницы: химический состав, биологическая активность, перспективы практического использования // *Иноватика и экспертиза*. 2017. Вып. 2. С. 210–224.
8. Metsämuuronen S., Sirén H. Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: a review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce // *Phytochemistry Reviews*. 2019. Vol. 18. Pp. 623–664. DOI: 10.1007/s11101-019-09630-2.
9. Левданский В.А., Левданский А.В., Кузнецов Б.Н. Выделение дигидрокверцетина и арабиногалактана из древесины лиственницы водно-этанольными растворами // *Химия растительного сырья*. 2022. №4. С. 107–113. DOI: 10.14258/jcprm.20220411959.
10. Dion C., Chappuis E., Rippl C. Does larch arabinogalactan enhance immune function? A review of mechanistic and clinical trials // *Nutrition and Metabolism*. 2016. Vol. 13. Article 28. DOI: 10.1186/s12986-016-0086-x.
11. Larch Arabinogalactan // *Alternative Medicine Review*. 2000. Vol. 5, no. 5. Pp. 463–466.
12. Уфимцев К.Г., Бешлей И.В., Ширшова Т.И. Содержание экстрактивных веществ в продуктах деструкции кородревесных отходов, образующихся при длительном хранении, с учетом высотного градиента // *Теоретическая и прикладная экология*. 2022. №4. С. 132–138. DOI: 10.25750/1995-4301-2022-4-144-150.
13. Ширшова Т.И., Бешлей И.В., Уфимцев К.Г. Комплексное исследование содержания биологически активных веществ в продуктах деструкции кородревесных отходов, образующихся при длительном хранении // *Теоретическая и прикладная экология*. 2023. №4. С. 91–98. DOI: 10.25750/1995-4301-2023-4-091-098.
14. Wu L.-C., Hsu H.-W., Chen Y.-C., Chiu C.-C., Lin Y.-I., Ho J.-A.A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya // *Food Chemistry*. 2006. Vol. 95, no. 2. Pp. 319–327. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.01.002.
15. Shyur L.-F., Tsung J.-H., Chen J.-H., Chiu C.-Y., Lo C.-P. Antioxidant properties of extracts from medicinal plants popularly used in Taiwan // *International Journal of Applied Science and Engineering*. 2005. Vol. 3. Pp. 195–202. DOI: 10.6703/IJASE.2005.3(3).195.
16. Kim H.-J., Chen F., Wang X., Chung H.-Y., Jin Z. Evaluation of antioxidant activity of Vetiver (*Vetiveria zizanioides* L.) oil and identification of its antioxidant constituents // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005. Vol. 53, no. 20. Pp. 7691–7695. DOI: 10.1021/jf050833e.
17. Безматерных К.В., Ширшова Т.И., Бешлей И.В., Матистов Н.В., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н., Володин В.В. Оценка антиоксидантной активности экстрактов некоторых видов растений родов *Allium* L. и *Rubus* L., произрастающих в Республике Коми // *Химико-фармацевтический журнал*. 2014. Т. 48, №2. С. 36–40.
18. Шабаров А.В., Дадали В.А., Макаров В.Г. Биохимические основы действия микрокомпонентов пищи. М., 2003. 184 с.

19. Storz G., Imlay J.A. Oxidative stress // *Current Opinion in Microbiology*. 1999. Vol. 2, no. 2. Pp. 188–194. DOI: 10.1016/S1369-5274(99)80033-2.

Поступила в редакцию 28 августа 2023 г.

После переработки 7 сентября 2023 г.

Принята к публикации 3 октября 2023 г.

Shirshova T.I.^{1*}, Beshley I.V.¹, Ufimtsev K.G.¹, Samoylova Z.Yu.², Smirnova G.V.² ANTIOXIDANT PROPERTIES OF EXTRACTIVE SUBSTANCES OF DESTRUCTION PRODUCTS OF BARK-WOOD WASTE OF LONG SHELF LIFE

¹ Institute of Biology, Federal Research Center Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Kommunisticheskaya st., 28, Syktyvkar, 167982, Russia, shirshova@ib.komisc.ru

² Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Goleva st., 13, Perm, 614081, Russia

The antioxidant activity of ethyl acetate and hexane extracts of the products of the destruction of bark-wood waste (BWW) from the bark dump of Syktyvkar LDK OJSC, located in the Forestry district of Syktyvkar, was investigated. It was found that the total content of phenolic compounds in them was quite high and varied from 46 to 74 mg (GAE) /g of dry extract. However, the results of determining the ability of the studied substances from BWW to bind DPH radicals and chelate Fe²⁺ ions did not reveal either radical-binding or significant iron-chelating activity. It was shown that the extracts had an inhibitory effect on the specific growth rate of *Escherichia coli*, and also stimulated the expression of the *katG* gene. It was found that the strength of the response to oxidative stress in the presence of the tested extracts, i.e. their ability to exert an antioxidant effect, depended on the time at which the oxidant was added. The short time interval between incubation with extracts and the addition of peroxide led to an additive effect, as a result of which the oxidative effect on bacterial cultures was enhanced. A longer incubation with extracts before the addition of peroxide, on the contrary, provided stimulation of the antioxidant gene *katG*, which ultimately contributed to protection from the action of peroxide.

Keywords: Bark-wood waste, extractive substances, ethyl acetate, hexane extracts, phenolic compounds, dihydroquercetin, antioxidant activity.

For citing: Shirshova T.I., Beshley I.V., Ufimtsev K.G., Samoylova Z.Yu., Smirnova G.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 2, pp. 284–292. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240213463.

References

1. Gosudarstvennyy podkhod k utilizatsii otkhodov lesnoy promyshlennosti: opyt Respubliki Komi [State approach to the disposal of forest industry waste: experience of the Komi Republic]. URL: <https://lesprominform.ru/jarticles.html?id=5071>. (in Russ.).
2. Volodin V.V., Shubakov A.A., Volodina S.O., Shergina N.N., Vasilov R.G. *Agramaya nauka Yevro-Severo-Vostoka*, 2022, vol. 23, no. 5, pp. 611–632. DOI: 10.30766/2072-9081.2022.23.5.611-632. (in Russ.).
3. Zyryanov M.A., Chistova N.G., Shvetsov V.A., Zaripov Z.Z. *Vestnik KrasGAU*, 2010, no. 4, pp. 288–291. (in Russ.).
4. Lipunov I.N., Nikiforov A.F., Pervova I.G., Tolmacheva N.O. *Vodnoye khozyaystvo Rossii: problemy, tekhnologii, upravleniye*, 2018, no. 6, pp. 101–112. DOI: 10.35567/1999-4508-2018-6-8. (in Russ.).
5. Shibeka L.A., Protas M.V. *Trudy Kol'skogo nauchnogo tsentra RAN*, 2020, vol. 11, no. 3–4, pp. 223–226. DOI: 10.37614/2307-5252.2020.3.4.048. (in Russ.).
6. Babkin V.A., Ostroukhova L.A., Trofimova N.N. *Biomassa listvenitsy: ot khimicheskogo sostava do innovatsionnykh produktov*. [Larch biomass: from chemical composition to innovative products]. Novosibirsk, 2011, 236 p. (in Russ.).
7. Babkin V.A. *Innovatika i ekspertiza*, 2017, vol. 2, pp. 210–224. (in Russ.).
8. Metsämuuronen S., Sirén H. *Phytochemistry Reviews*, 2019, vol. 18, pp. 623–664. DOI: 10.1007/s11101-019-09630-2.
9. Levdanskiy V.A., Levdanskiy A.V., Kuznetsov B.N. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2022, no. 4, pp. 107–113. DOI: 10.14258/jcprm.20220411959. (in Russ.).
10. Dion C., Chappuis E., Rippol C. *Nutrition and Metabolism*, 2016, vol. 13, article 28. DOI: 10.1186/s12986-016-0086-x.
11. *Alternative Medicine Review*, 2000, vol. 5, no. 5, pp. 463–466.
12. Ufimtsev K.G., Beshley I.V., Shirshova T.I. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*, 2022, no. 4, pp. 132–138. DOI: 10.25750/1995-4301-2022-4-144-150. (in Russ.).

* Corresponding author.

13. Shirshova T.I., Beshley I.V., Ufimtsev K.G. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*, 2023, no. 4. pp. 91–98. DOI: 10.25750/1995-4301-2023-4-091-098. (in Russ.).
14. Wu L.-C., Hsu H.-W., Chen Y.-C., Chiu C.-C., Lin Y.-I., Ho J.-A.A. *Food Chemistry*, 2006, vol. 95, no. 2, pp. 319–327. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.01.002.
15. Shyur L.-F., Tsung J.-H., Chen J.-H., Chiu C.-Y., Lo C.-P. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 2005, vol. 3, pp. 195–202. DOI: 10.6703/IJASE.2005.3(3).195.
16. Kim H.-J., Chen F., Wang X., Chung H.-Y., Jin Z. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, vol. 53, no. 20, pp. 7691–7695. DOI: 10.1021/jf050833e.
17. Bezmaternykh K.V., Shirshova T.I., Beshley I.V., Matistov N.V., Smirnova G.V., Oktyabr'skiy O.N., Volodin V.V. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2014, vol. 48, no. 2, pp. 36–40. (in Russ.).
18. Shabarov A.V., Dadali V.A., Makarov V.G. *Biokhimicheskiye osnovy deystviya mikrokomponentov pishchi*. [Biochemical basis of the action of food microcomponents]. Moscow, 2003, 184 p. (in Russ.).
19. Storz G., Imlay J.A. *Current Opinion in Microbiology*, 1999, vol. 2, no. 2, pp. 188–194. DOI: 10.1016/S1369-5274(99)80033-2.

Received August 28, 2023

Revised September 7, 2023

Accepted October 3, 2023

Сведения об авторах

Ширшова Татьяна Ивановна – кандидат химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии, shirshova@ib.komisc.ru

Бешлей Игорь Васильевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии, beshley@ib.komisc.ru

Уфимцев Кирилл Геннадьевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии, ufimtsev@ib.komisc.ru

Самойлова Зоя Юрьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и генетики микроорганизмов, samoilova.z@iegm.ru

Смирнова Галина Васильевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и генетики микроорганизмов, smirnova@iegm.ru

Information about authors

Shirshova Tatyana Ivanovna – Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Leading Researcher at the Laboratory of Biochemistry and Biotechnology, shirshova@ib.komisc.ru

Beshley Igor Vasilievich – Candidate of Biological Sciences, Researcher at the Laboratory of Biochemistry and Biotechnology, beshley@ib.komisc.ru

Ufimtsev Kirill Gennadievich – Candidate of Biological Sciences, Researcher at the laboratory of biochemistry and biotechnology, ufimtsev@ib.komisc.ru

Samoilova Zoya Yurievna – Candidate of Biological Sciences, senior researcher at the Laboratory of Physiology and Genetics of Microorganisms, samoilova.z@iegm.ru

Smirnova Galina Vasilievna – Doctor of Biological Sciences, leading researcher at the Laboratory of Physiology and Genetics of Microorganisms, smirnova@iegm.ru