

УДК 66.061.3; 582.29

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА СКФ-ЭКСТРАКЦИИ УСНИНОВЫЙ КИСЛОТЫ ИЗ ЛИШАЙНИКА *USNEA SUBFLORIDANA*

©2019 г. ¹Т.А. Бойцова, ¹О.С. Бровко, ^{1,2}А.Д. Ивахнов,
¹Д.В. Жильцов*

¹Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики
РАН им. академика Н.П. Лаверова, Архангельск, Россия

²Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова,
Архангельск, Россия

*dnorton.usa@gmail.com

Поступила в редакцию 05.08.2019 г. Прошла рецензирование 20.08.2019 г.

Принята к публикации 20.08.2019 г.

С использованием ротатабельного композиционного униформ-плана 2-го порядка оптимизирован процесс СКФ-экстракции усниновой кислоты из лишайника *Usnea subfloridana*, в котором проведена оценка влияния давления, температуры и продолжительности процесса на выход экстракта. Согласно использованной модели оптимальные условия составляют: продолжительность экстракции 80 мин, температура 85 °C и давление 150 атм. В этих условиях получено экспериментальное подтверждение выхода экстракта (1,11 %) в соответствии с прогнозом (1,19 %). Выявлена антибактериальная активность экстракта относительно бактерии *Escherichia coli* и микроорганизмов вида *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*.

Ключевые слова: лишайник, уснея, усниновая кислота, сверхкритическая флюидная экстракция, ротатабельный композиционный униформ-план.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы во всем мире наблюдается устойчивый рост интереса к продуктам, получаемым из возобновляемого сырья, как альтернативе продукции промышленного органического синтеза. Такой интерес обусловлен рядом причин, одной из которых является невозможность синтеза многих сложных по составу природных соединений, содержащихся в биомассе, а также уникальные свойства препаратов, выделяемых из растительных объектов, и, в первую очередь, их высокая биологическая активность [1]. Интересным и перспективным направлением с точки зрения промышленного использования является экстракция биологически-активных веществ (БАВ) широкого спектра применения из лишайникового сырья. Одним из наиболее доступных вторичных метаболитов (лишайниковых кислот) является усниновая кислота (УК), которая продуцируется преимущественно в лишайниках родов *Cladonia* (*Cladoniaceae*), *Usnea* (*Usneaceae*), *Lecanora* (*Lecanoraceae*), *Ramalina* (*Ramalinaceae*), *Evernia*, *Parmelia* (*Parmeliaceae*), *Alectoria* (*Alectoriaceae*) [2]. УК, продуцируемая микробионтом лишайника, впервые была выделена в 1843 г. из лишайников родов *Ramalina* и *Usnea* [3]. Содержание УК в талломах лишайников зависит от особенностей их местообитания [4] и сезона сбора [5] лишайникового сырья. Многочисленными исследованиями показано, что УК обладает широким спектром биологической активности, включая проти-

вомикробные, противомикотические, анальгетические, противовирусные, антипротозойные, фунгицидные, антибиотические, противораковые свойства [6, 7]. Весомым преимуществом УК по сравнению с другими антибиотиками является ее термостабильность. Рядом исследований показано, что биологическая активность УК может зависеть от того, какой энантиомер усниновой кислоты УК-(+) или УК(-) тестируется. Благодаря высокой биологической активности УК находит применение в косметологии, сельском хозяйстве, а также фармацевтике, стоматологии и других областях медицины [8].

Перспективным источником УК является род лишайника *Usnea*, в котором это соединение является основным метаболитом. Все виды этого рода — эпифиты, обитающие на коре и ветвях деревьев boreальных лесов. При рубке деревьев эти лишайники являются отходами вместе с корой и ветвями деревьев.

Для выделения лишайниковых кислот из слоевищ лишайников традиционно используют методы экстракции различными органическими растворителями (хлороформ, диэтиловый и петролейный эфиры, ацетон и другие) [9, 10], лишь в некоторых работах экстракцию проводят в сверхкритическом диоксиде углерода [11–14]. Сверхкритическая флюидная экстракция (СКФ-экстракция) позволяет выделять УК из лишайникового сырья без применения органических растворителей и кислотно-щелочных реагентов в одну технологическую стадию. При этом возможно получение экстракта в твердом виде. Отпадает необходимость очистки БАВ от следов растворителей, что существенно упрощает технологический процесс и положительно сказывается на применении подобных экстрактов, например, в фармацевтической промышленности. Следует отметить, что в обсуждаемых исследованиях не проводится оптимизация процесса СКФ-экстракции, что не позволяет грамотно регулировать процесс и подбирать оптимальные параметры проведения экстракции с целью получения высокого выхода целевого компонента.

Традиционный способ оптимизации технологического процесса (OVAT) подразумевает одновременное изменение величины только одного из влияющих факторов и его оценку на изменение оптимизируемой сложной системы в целом [15]. Этот подход требует проведения большого числа экспериментов для получения математической модели, адекватно описывающей исследуемый процесс. Кроме того, данный метод не учитывает взаимное влияние факторов и обычно приводит к неправильным оптимальным условиям. В связи с этим, в настоящее время особое внимание уделяется применению методов активного планированного многофакторного эксперимента (CCD). Обсуждаемые методы основаны на общих подходах в получении и анализе поверхностей отклика (RSM), однако основное преимущество CCD-методов в сравнении с OVAT состоит в том, что они требуют меньшего количества выполненных экспериментов, что выражается, прежде всего, в сокращении времени проведения полного эксперимента и меньшем расходе материалов и реактивов.

В работе Kassama [16] использован CCD-метод для оптимизации процесса СКФ-экстракции диоксидом углерода ликопина из кожуры томатов, являющейся отходом пищевых производств. Аналогичный подход применяли для оптимизации экстракции отходов переработки винограда [17], граната [18], выделения фосфолипидов из пальмового волокна [19], растительных масел из масличного сырья [20, 21]. Как правило, в подобных работах используются методы построения униформ-планов второго порядка, позволяющие получить квадратичную регрессионную модель в виде полинома второй степени, учитывающую влияние на процесс не менее трех факторов [22]. Полученная регрессионная модель изучается обычными методами исследования функций.

Таким образом, целью работы явилась оптимизация условий СКФ-экстракции УК из лишайника вида *Usnea subfloridana*. Основные оптимизируемые параметры: выход экстракта (W , %), содержание УК в экстракте (A , %) и выход УК от абсолютно сухого (а.с.) сырья (B , %).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта исследования использован кустистый эпифитный лишайник вида *Usnea subfloridana Stir.*, отобранный в брусличных сосняках на территории Вельского района Архангельской области. *U. subfloridana* (Уснея почти цветущая) — широко распространенный в России и в северном полушарии вид. Таллом лишайника прямостоящий в виде растопыренного кустика достигает 7 см в длину. Особенностью строения этого лишайника является центральный довольно жесткий осевой тяж (осевой цилиндр) от которого отходят многочисленные боковые веточки (см. рис. 1, цв. вкладка). Основным вторичным метаболитом лишайника *U. subfloridana* является УК, причем этот лишайник является продуcentом правовращающего энантиомера УК.

Талломы лишайника отделяли от посторонних примесей (частичек коры, почвы и др.) и высушивали на воздухе в отсутствие прямого солнечного света. Влажность образца составила $9,0 \pm 0,1\%$, зольность $0,53 \pm 0,08\%$. Образец лишайника хранили в плотных бумажных пакетах в темноте при комнатной температуре. Перед экстракцией лишайниковое сырье размалывали на лабораторной мельнице ЛН-201; для исследования отобрана фракция размером 2,0—0,2 мм, составляющая 80 % от размолотого образца.

СКФ-экстракция выполнена на установке MV-10ASFE (Waters, США). Навеску сырья (измельченные талломы лишайника, осевой тяж или боковые веточки (~1 г) помещали в автоклав объемом 10 мл и обрабатывали диоксидом углерода при скорости потока CO_2 2 мл/мин (температура головок насоса и измерителя потока $2,5^\circ\text{C}$). В ходе эксперимента варьировали температуру, давление и продолжительность обработки в соответствии с заданными условиями по плану эксперимента. Точность поддержания температуры составляла $\pm 1^\circ\text{C}$, флуктуация давления не превышала 5 атм. В качестве параметров, характеризующих эффективность СКФ-экстракции УК из талломов лишайника, выбраны следующие: выход твердого экстракта (W , % от а.с. сырья), содержание УК в твердом экстракте (A , %) и выход УК (B , % от а.с. сырья). Экстракт принимали в стеклянные виалы. Выход твердого экстракта определяли гравиметрически.

УК в СКФ-экстрактах количественно определяли методом ВЭЖХ с использованием жидкостного хроматографа LCMS—2020 (Shimadzu, Япония) при спектрофотометрическом детектировании. Условия хроматографического анализа: подвижная фаза — 0,5 %-ный водный раствор муравьиной кислоты : ацетонитрил (30 : 70); колонка RestekUltra C18 3,0×100 мм, зерно 3 мкм; скорость потока подвижной фазы 0,5 мл/мин, объем вводимой пробы 5 мкл. В качестве стандарта использована усниновая кислота фирмы Sigma-Aldrich.

Экстракцию органическими растворителями проводили на аппарате Сокслета, куда помещали патрон с навеской ~5 г лишайника. В качестве экстрагента использовали: ацетон, петролейный эфир и этанол (марка «х.ч.»), продолжительность перколяции — 30—60 мин. Выход твердого экстракта определяли гравиметрически.

Биологическую (антибактериальную) активность СКФ-экстрактов лишайника определяли диско-диффузионным методом. В качестве тест-культур использовали

Вкладка к статье Т.А. Бойцовой, О.С. Бровко, А.Д. Ивахнова, Д.В. Жильцова
«Оптимизация процесса СКФ-экстракции усниновой кислоты из лишайника *Usnea Subfloridana*»



Рис. 1. Внешний вид таллома лишайника *Usnea subfloridana*

штаммы трех видов грамположительных микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и *Bacillus subtilis* ATCC 6633, а также грамотрицательной палочкообразной бактерии *Escherichia coli* ATCC 25922 и условно патогенного представителя микрофлоры человека *Proteus mirabilis* ATCC 3177.

Инокулянт тест-микроорганизмов соответствовал по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда, которая отвечает концентрации примерно $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. Для получения бактериального газона проводили посев 1 мл инокулянта на чашку Петри со средой АГВ. Сверху стерильным инструментом накладывали бумажный диск диаметром 6,0 мм, пропитанный раствором определенной концентрации твердого СКФ-экстракта (растворитель ацетон). Чашки Петри с исследуемыми образцами инкубировали при температуре 37 °C (*Bacillus subtilis* культивировали при 30 °C) в течение 24 ч. Степень антибактериальной активности (чувствительность микроорганизмов к компонентам СКФ-экстракта) оценивали по диаметру зоны задержки роста тест-культуры: очень высокая чувствительность — 20 мм, умеренная — 15—19 мм, слабая — 9—14 мм, отсутствие чувствительности — менее 8 мм. Диаметр зон задержки роста измеряли с точностью до 1 мм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для математического описания процесса СКФ-экстракции УК из *U. subfloridana* в зависимости от выбранных переменных и определения оптимальных параметров проведения процесса был поставлен и реализован планированный эксперимент с построением ротатабельного композиционного униформ-плана второго порядка [23]. При построении плана в качестве основного уровня давления (X), температуры опыта (Y) и продолжительности (Z) выбраны соответственно: 250 атм, 60 °C и 55 мин. Интервалы варьирования составили 6 МПа, 15 °C и 15 мин. Звездное плечо плана (α) 1,682. Матрица планирования эксперимента в натуральном виде и полученные результаты представлены в табл. 1.

Всего в процессе реализации эксперимента проведено 20 опытов, 6 из которых в центре плана. В опытах отмечено варьирование выхода экстракта от 0,31 до 1,1 %. Анализ опытов центра плана показал высокую сходимость результатов

Таблица 1

Матрица планирования и результаты эксперимента

№ опыта	Величина фактора в натуральном виде			Величина фактора в кодированном виде			Выход экстракта	Содержание УК в экстракте $A, \%$	Выход УК от лишайника $B, \%$
	X , атм	Y , °C	Z , мин	x^*	y^*	z^*			
1	190	45	40	-1	-1	-1	0,93	17,53	0,16
2	310	45	40	+1	-1	-1	0,78	29,42	0,23
3	190	75	40	-1	+1	-1	0,93	35,28	0,33
4	310	75	40	+1	+1	-1	0,78	25,35	0,20
5	190	45	70	-1	-1	+1	0,75	23,32	0,17
6	310	45	70	+1	-1	+1	0,89	37,49	0,33
7	190	75	70	-1	+1	+1	1,03	43,90	0,45
8	310	75	70	+1	+1	+1	0,79	37,56	0,30

Окончание таблицы 1

№ опыта	Величина фактора в натуральном виде			Величина фактора в кодированном виде			Выход экстракта <i>W</i> , %	Содержание УК в экстракте <i>A</i> , %	Выход УК от лишайника <i>B</i> , %
	<i>X</i> , атм	<i>Y</i> , °C	<i>Z</i> , мин	<i>x</i> *	<i>y</i> *	<i>z</i> *			
9	149	60	55	- <i>α</i>	0	0	0,78	27,86	0,22
10	351	60	55	+ <i>α</i>	0	0	0,31	31,89	0,10
11	250	35	55	0	- <i>α</i>	0	0,87	32,39	0,28
12	250	85	55	0	+ <i>α</i>	0	0,56	30,31	0,17
13	250	60	30	0	0	- <i>α</i>	1,10	30,56	0,34
14	250	60	80	0	0	+ <i>α</i>	0,79	39,31	0,31
15	250	60	55	0	0	0	0,79	40,06	0,31
16	250	60	55	0	0	0	0,80	39,92	0,32
17	250	60	55	0	0	0	0,84	37,99	0,32
18	250	60	55	0	0	0	0,77	34,18	0,26
19	250	60	55	0	0	0	0,60	42,12	0,25
20	250	60	55	0	0	0	0,65	44,31	0,29

$$* x = (X - 250)/60; y = (Y - 60)/15; z = (Z - 55)/15.$$

экстракции, дисперсия (Se) для параметра выхода экстракта не превысила 0,05. Относительная ошибка опыта, включающая в себя ошибку определения выхода экстрактов и сумму ошибок проведения процесса экстракции, определенная при анализе результатов центра плана по методу t-статистики, составила 18,2 %.

В результате математической обработки экспериментальных данных с помощью пакета MSExcel получено уравнение регрессии (1), адекватно описывающее процесс экстракции по параметру «выход экстракта»:

$$W = 0,735 - 0,0861x - 0,0237y - 0,0352z + 0,0462xy + 0,098z^2. \quad (1)$$

Величина критерия Фишера составила 3,03 при пороговом значении 4,62, коэффициент множественной корреляции 0,75 при средней относительной ошибке аппроксимации экспериментальных данных 15,5 %.

На рис. 2 представлена поверхность отклика функции *W* на изменение температуры и давления при продолжительности экстракции 80 мин.

Из анализа поверхности отклика следует, что в области исследованных высоких давлений (более 250 атм) увеличение температуры экстракции приводит к снижению выхода экстракта. Это может быть объяснено затруднением диффузии продуктов экстракции из клеточного пространства ввиду сжатия клеточных пор. Данный процесс может быть вызван как механическим воздействием диоксида углерода, так и характерным для растительного сырья уплотнением клеточной структуры при повышении температуры [24]. В области более низких давлений выход экстракта закономерно увеличивается с ростом температуры.

Аналогично получены уравнения регрессии (2 и 3) для параметров *A* и *B*.

$$A = 9,730 + 1,213x + 2,259y + 3,616z - 5,291xy - 3,560x^2 - 3,038y^2 - 1,772z^2. \quad (2)$$

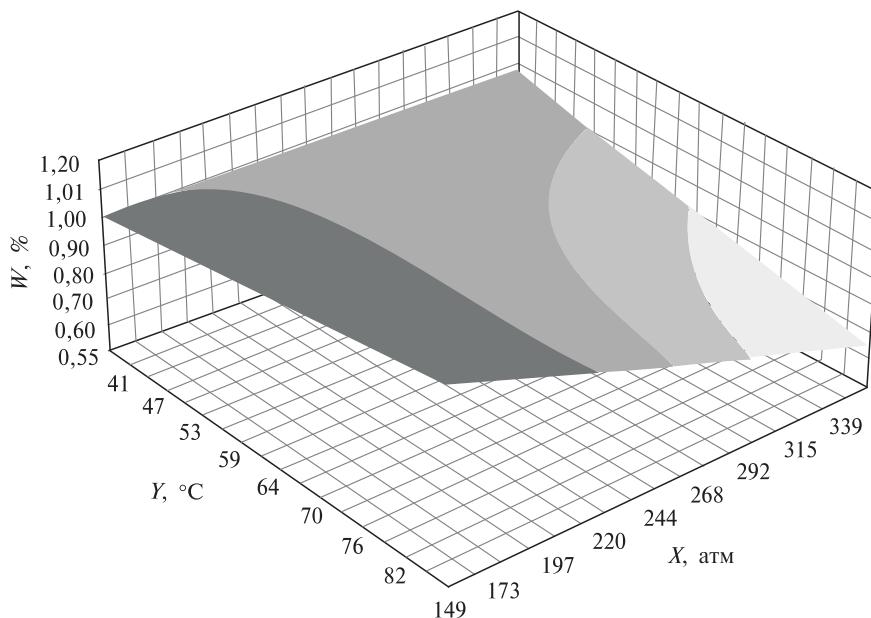


Рис. 2. Поверхность отклика функции W на изменение температуры и давления (продолжительность экстракции 80 мин)

Для аппроксимационного уравнения (2), описывающего зависимость содержания УК в экстракте от условий экстракции, величина критерия Фишера составила 2,25 при пороговом значении 4,62, коэффициент множественной корреляции 0,88 при средней относительной ошибке аппроксимации экспериментальных данных 9,8 %.

Поверхность отклика функции A от параметров давления и температуры, при постоянной продолжительности экстракции 80 мин, представленная на рис. 3, имеет вид, аналогичный поверхности отклика функции W . В области низких температур (35–50 °C) наблюдается монотонное увеличение содержания целевого компонента в экстракте при увеличении давления. Увеличение температуры до 70–85 °C приводит к появлению максимума функции при значении давления 220–280 атм. Указанные закономерности также могут быть объяснены процессами уплотнения клеточных структур, как и при анализе поверхности отклика функции W .

$$B = 0,291 - 0,019x + 0,014y + 0,022z - 0,063xy - 0,039x^2. \quad (3)$$

Аппроксимационное уравнение (3) для параметра B статистически недостоверно, величина критерия Фишера составила 6,34 при пороговом значении 4,62, коэффициент множественной корреляции 0,74 при средней относительной ошибке аппроксимации экспериментальных данных 17 %. Анализ полученного уравнения не имеет практического смысла.

При анализе полученных уравнений регрессии (1 и 2) определены оптимальные значения факторов процесса, соответствующие максимально возможным значениям параметров W и A , представленные в табл. 2.

Из представленных в табл. 2 результатов следует, что оптимизация процесса по параметрам W и A приводит к максимальной величине продолжительности экстракции (80 мин) и близким значениям температуры (85 и 75 °C, соответственно).

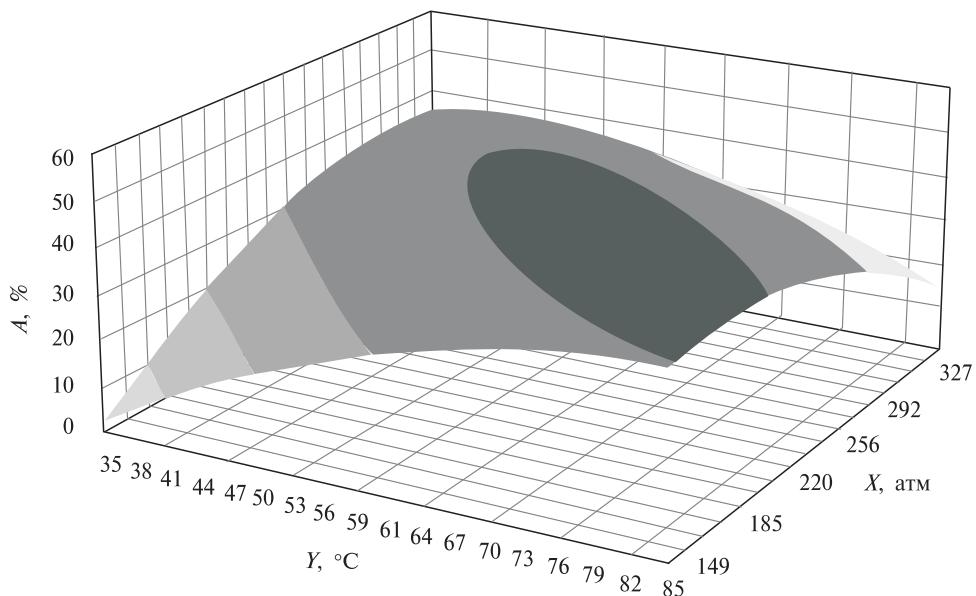


Рис. 3. Поверхность отклика функции A на изменение температуры и давления (продолжительность экстракции 80 мин)

Оптимальная, с точки зрения максимума выхода экстракта, величина давления составляет 149 атм, однако максимальное содержание УК в экстракте ожидается при давлении диоксида углерода 232 атм. С технологической точки зрения преимущество имеет процесс, проводимый при меньшем давлении; поэтому оптимальным выбрано давление 150 атм при температуре 85 °С. Исходя из математической модели (2), ожидаемое содержание УК в экстракте составляет 41,0 %.

В табл. 3 представлены результаты проведения проверочного эксперимента.

При проведении подтверждающего эксперимента получен экстракт с ожидаемым выходом и ожидаемым содержанием в нем УК. Ошибка оптимизации параметра W составила 6,7 %, что свидетельствует о корректности выбранной математической модели для описания процесса экстракции в заданном диапазоне факторов варьирования. Полученный экстракт содержал 40,5 % УК, что соответствует ошибке прогнозирования 1,2 %.

Так как особенностью строения лишайника *U. subfloridana* является центральный довольно жесткий осевой тяж, от которого отходят многочисленные

Таблица 2

Оптимальные значения факторов процесса СКФ-экстракции УК из лишайника (*U. subfloridana*)

Фактор	Параметры	
	W	A
Максимальное значение параметров, %	1,19	42,10
X , атм	149,00	232,00
Y , °С	85,00	75,00
Z , мин	80,00	80,00

Таблица 3

Результаты проверочного эксперимента

Показатели	Параметры	
	<i>W</i>	<i>A</i>
Расчетное значение, %	1,19	41,0
Экспериментальное значение, %	1,11	40,5
Ошибка (δ), %	6,70	1,2

боковые веточки, была выполнена раздельная СКФ-экстракция элементов таллома лишайника (тяж и боковые веточки) при оптимальных значениях факторов процесса. Результаты экстракции элементов таллома лишайника показаны в табл. 4.

Установлено, что выход экстракта в боковых растущих веточках выше в 1,3 раза, чем в осевом тяже. Наибольшее количество УК синтезируется в молодой растущей части слоевища. Выход УК от абсолютно сухого лишайника в боковых веточках 0,35 %, что значительно выше, чем в осевых тяжах (0,23 %).

Результаты экстракции УК из талломов лишайника *U. subfloridana* в аппарате Сокслета органическими растворителями представлены в табл. 5.

Выход УК в ходе СКФ-экстракции составил 0,45 % от а.с. сырья, что сравнимо с выходом УК при экстракции петролейным эфиром (0,57 %) и превышает данный показатель при экстракции этанолом (0,19 %). Следует отметить, что экстракция ацетоном показала лучшие результаты по параметру *B* (0,77 %). Увеличение степени извлечения УК из талломов лишайника возможно при проведении СКФ-экстракции диоксидом углерода, модифицированном сорасторителем.

Результаты исследования антибактериальной активности СКФ-экстрактов лишайника *U. subfloridana* представлены в табл. 6. Экстракт, выделенный из лишайника, показал наиболее высокую антибактериальную активность в отношении *Escherichia coli* (зона отсутствия роста тест-культуры находится в диапазоне от 12 до 41 мм). Для *Staphylococcus aureus* зона отсутствия роста тест-культуры находится в диапазоне от 9 до 33 мм. Для *Bacillus subtilis* во всех исследованных

Таблица 4

Выход экстракта и содержание в нем УК при раздельной СКФ экстракции

Элементы таллома лишайника	Выход экстракта <i>W</i> , % от а.с. сырья	Содержание УК в экстракте <i>A</i> , %	Выход УК от лишайника <i>B</i> , % от а.с. сырья
Осевой тяж	0,83	28,32	0,23
Боковые веточки	1,10	31,47	0,35

Таблица 5

Выход экстракта и содержание в нем УК при экстракции органическими растворителями в аппарате Сокслета

Растворитель	Выход экстракта <i>W</i> , % от а.с. сырья	Содержание УК в экстракте <i>A</i> , %	Выход УК от лишайника <i>B</i> , % от а.с. сырья
Ацетон	5,56	13,91	0,77
Петролейный эфир	1,79	31,65	0,57
Этанол	2,79	6,81	0,19

Таблица 6

Антибактериальная активность экстракта, выделенного из лишайника *U. subfloridana*

Вид микроорганизма	Концентрация экстракта (мг/мл)/ содержание УК (мг/мл)			
	0,1/0,03	0,5/0,15	1,0/0,3	10,0/3,0
	Зона подавления роста, мм			
<i>Escherichia coli</i>	Сплошной рост	Сплошной рост	12±2	41±3
<i>Staphylococcus aureus</i>	9±2	11±1	13±2	33±1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Сплошной рост	Сплошной рост	4±1	6±3
<i>Bacillus subtilis</i>	15±3	35±1	37±3	45±2
<i>Proteus mirabilis</i>	Сплошной рост	Сплошной рост	Сплошной рост	Сплошной рост

концентрациях от 0,1 до 10 мг/мл зона отсутствия роста тест-культуры находится в диапазоне от 15 до 45 мм. Наименьший ингибирующий эффект наблюдается на тест культуре *Pseudomonas aeruginosa* (от 4 до 6 мм). Не выявлена антибактериальная активность в отношении *Proteus mirabilis*. Для всех исследуемых культур микроорганизмов антибактериальная активность экстрактов увеличивается с увеличением их концентрации и содержанием УК в экстрактах.

Таким образом, выявлена наиболее высокая антибактериальная активность при концентрации экстракта 10 мг/мл (очень высокая чувствительность) против грамотрицательной палочкообразной бактерии *Escherichia coli* и грамположительных микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом активного планированного эксперимента определены оптимальные параметры процесса извлечения УК из лишайника *U. subfloridana* с помощью сверхкритической флюидной экстракции с использованием в качестве растворителя сверхкритического диоксида углерода в заданном диапазоне варьирования факторов. Оптимальными условиями проведения экстракционного процесса являются: давление — 150 атм; температура — 85 °C; продолжительность — 80 мин. Полученный экстракт усниновой кислоты из эпифитного лишайника *U. subfloridana* оказывает антибактериальное действие различной степени интенсивности по отношению к бактериальным культурам.

Исследования проведены в ходе выполнения государственного задания ФГБУН ФИЦКИА РАН ФНИ 2018—2020 г. «Физико-химические, генетические и морфологические основы адаптации растительных объектов в условиях изменяющегося климата высоких широт» (№ АААА-А18-118012390231-9) и при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Архангельской области (грант № 18-44-292002 р_мк) с использование оборудования ЦКП НО «Арктика» (САФУ) и ЦКП КТ РФ «Арктика» (ФИЦКИА РАН).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mikhopadhyay M.* Natural extracts using supercritical dioxide. CRC Press, 2000. 327 p.
2. *Ingolfsdottir K.* // Phytochemistry. 2002. Vol. 61. P. 729.
3. *Rochleider F., Heldt W.* // LiebigsAnn. Chem. 1843. Vol. 48. P. 1.
4. Бровко О.С., Паламарчук И.А., Слобода А.А., Бойцова Т.А., Гагушкина А.А., Вальчук Н.А. // Успехи современного естествознания. 2016. № 8. С. 20.

5. Прокопьев И.А., Шеин А.А., Филиппова Г.В., Филиппов Э.В., Шашурин М.М., Гладкина Н.П. // Химия растительного сырья. 2015. № 4. С. 45.
 6. Соколов Д.Н., Лузина О.А., Салахутдинов Н.Ф. // Усп. Хим. 2012. Т. 81. Вып. 8. С. 747.
 7. Щербакова А.И., Коттина А.В., Канарский А.В. // ИВУЗ Лесной журнал. 2013. № 3. С. 7.
 8. Žižović I., Ivanović J., Mišić D., Stamenic M., Djordjević S., Kukic-Marković J., Petrović S.D. // J. of Supercritical Fluids. 2012. Vol. 72. P. 7.
 9. Бровко О.С., Паламарчук И.А., Бойцова Т.А., Ивахнов А.Д., Боголицын К.Г., Вальчук Н.А. // Фундаментальные исследования. 2015. № 11. С. 659.
 10. Cansaran D., Kahyab D., Yurdakulol E., Atakol O.Z. // Naturforsch. 2006. Vol. 61. P. 61.
 11. Бровко О.С., Ивахнов А.Д., Паламарчук И.А., Бойцова Т.А. // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. 2017. № 1. С. 41.
 12. Кершенгольц Е.Б., Шеин А.А., Кершенгольц Б.М. // Наука и образование. 2005. № 2. С. 13.
 13. Пат. РФ № 2582978. 2016.
 14. Кершенгольц Б.М., Ремигайло П.А., Шеин А.А., Кершенгольц Е.Б. // Дальневосточный медицинский журнал. 2004. № 1. С. 25.
 15. Kokosa J. M., Przyjazny A., Jeannot M. Solvent Microextraction: Theory and Practice. NY: JohnWiley and Sons, 2009. 344 p.
 16. Kassama L.S., Shi J., Mittal G.S. // Separation and Purification Technology. 2008. Vol. 60. P. 278.
 17. Ghafoor K., Choi Y.H., Jeon J.Y., Jo I.H. // J. of Agricultural and Food Chemistry. 2009. Vol. 57. P. 4988.
 18. Amyrgialaki E., Makris D.P., Mauromoustakos A., Kefalas P. // Industrial Crops and Products. 2014. Vol. 59. P. 216.
 19. Chua S.C., Tan C.P., Mirhosseini H., Lai O.M. // J. of Food Engineering. 2009. Vol. 92. P. 403.
 20. Ивахнов А.Д., Садкова К.С., Собашникова А.С., Скребец Т.Э., Богданов М.В. // Химия растительного сырья. 2019. № 2. С. 91.
 21. Ивахнов А.Д., Скребец Т.Э., Садкова К.С., Собашникова А.С. // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. 2018. Т. 13. № 3. С. 90.
 22. Savic I.M., Stojiljkovic S.T., Stojanovic S.B., Moder K. // Chemical Engineering and Technology. 2012. Vol. 35. P. 2007.
 23. Назаров Н.Г. Измерение: планирование и обработка результатов. М.: Изд-во стандартов, 2000. 304 с.
 24. Фенгел Д., Вегенер Г. Древесина (химия, ультраструктура, реакции) / Под ред. А.А. Леоновича. М.: Лесная пром-сть, 1988. 512 с.
-

OPTIMIZATION OF THE SCF-EXTRACTION PROCESS OF USNIC ACID FROM *USNEA SUBFLORIDANA*

¹T.A. Boitsova, O.S. ¹Brovko, ^{1,2}A. D. Ivakhnov, ¹D.V. Zhiltsov

¹N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Arkhangelsk, Russia

²Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, Arkhangelsk, Russia

The process of SCF-extraction of usnic acid from *Usnea subfloridana* has been optimized using a rotatable compositional uniform plan of the 2nd order. The effect of pressure, temperature and the duration of the process on the yield of the extract is evaluated. According to the model used, the optimal conditions for the extraction process are proposed: duration 80 minutes, temperature 85 °C and pressure 150 atm. The predicted yield of the extract (1.19 %) under these conditions is experimentally confirmed (1.11 %). Antibacterial activity against *Escherichia coli* bacteria and microorganisms of the species *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* was revealed.

Keywords: lichen, *Usnea subfloridana*, usnic acid, supercritical fluid extraction, rotatable compositional uniform plan.