

## СУБ- И СВЕРХКРИТИЧЕСКАЯ ЭКСТРАКЦИЯ ЭТАНОЛОМ ПЛОДОВОГО ТЕЛА ГРИБА *FOMES FOMENTARIUS*

**О.С. Бровко** — Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики им. академика И.П. Лаверова УрО РАН, Архангельск, Россия. ORCID: 0000-0002-1961-78311. Эл.почта: brovko-olga@rambler.ru

**А.Д. Ивахнов** — Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики им. академика И.П. Лаверова УрО РАН, Архангельск, Россия; Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия. ORCID: 0000-0003-2822-9192. Эл.почта: ivahnov-tema@yandex.ru

**Т.А. Бойцова** — Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики им. академика И.П. Лаверова УрО РАН, Архангельск, Россия. ORCID: 0000-0002-3899-7243. Эл.почта: tboitsova@yandex.ru (*для переписки*)

**Д.В. Жильцов** — Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики им. академика И.П. Лаверова УрО РАН, Архангельск, Россия. Эл. почта: dnorton.usa@gmail.com

©2021 г. Поступила в редакцию 27.01.2021 г. Прошла рецензирование 02.02.2021 г.  
Принята к публикации 02.02.2021 г.

Исследован процесс суб- и сверхкритической флюидной экстракции этанолом биомассы плодового тела трутового гриба вида *Fomes fomentarius*. Определено влияние условий экстракции (температура, давление, время) на выход твердого экстракта, фенольных соединений и стероидов. Установлена более высокая эффективность суб- и сверхкритической экстракции по сравнению с традиционными методами выделения биологически активных веществ (мацерация и перколяция). Выход твердого экстракта достигает 43 мас. % при содержании в нем фенольных соединений до 50 мас. %. Показана высокая антирадикальная активность полученных экстрактов (до 350 мкмоль тролокса-экв/г). Установлено наличие корреляции между антирадикальной активностью экстрактов и содержанием в них фенольных соединений.

**Ключевые слова:** суб- и сверхкритическая флюидная экстракция, этанол, трутовый гриб, *Fomes fomentarius*, полифенолы, антирадикальная активность.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время актуален поиск новых лекарственных средств растительного происхождения, имеющих высокую биологическую активность, не токсичных и не вызывающих нежелательных побочных эффектов. Одним из перспективных источников таких веществ являются базидиальные грибы (класс *Basidiomycetes*), поскольку они обладают широким набором ценных компонентов, содержащихся в базидиомах [1–3].

Среди более чем 16 тыс. видов базидиальных грибов, наиболее значимых для использования в лечебных целях и обладающих высоким ресурсным потенциалом, перспективны следующие виды грибов-трутовиков: скошенный чага (*Inonotus obliquus*), настоящий (*Fomes fomentarius*), плоский (*Ganoderma applanatum*), окаймленный (*Fomitopsis pinicola*) и серножелтый (*Laetiporus sulphureus*) [4]. Одним из наиболее распространенных дереворазрушающих

грибов среди лесных базидиомицетов (от 50 до 76 %) является трутовик настоящий *Fomes fomentarius* [5].

Для выделения биологически активных веществ (БАВ) из грибов *F. fomentarius* (трутовик настоящий) используют экстракцию водой и этиловым спиртом [6, 7]. Получаемые экстракты обладают высокой антиоксидантной, антимикробной и цитотоксической активностью. Последняя проявляется, в основном, в отношении раковых клеток: компоненты гриба ингибируют рост опухолей, а также снижают концентрацию липидов в крови и предотвращают высокое кровяное давление [8]. На российском рынке представлено несколько препаратов на основе высших грибов: Микотон, Бефунгин, Ганодермин, Мипро-ВИТ, Мифлавин, Крестин, Vita Cell и некоторые другие.

Особенностью БАВ грибов *F. fomentarius* является широкий спектр содержащихся в них фенольных соединений (ФС) [9, 10], которые оказывают на организм человека противовоспалительное, антигистаминное, антиоксидантное, противоотечное и противораковое действие, стабилизируют клеточные мембраны, тормозят процессы старения, положительно влияют на функцию сердечно-сосудистой системы вследствие их включения в биохимические и физиологические процессы в плазме крови и тканях человека [11–14].

Одними из биологически активных компонентов плодового тела гриба являются стероиды. Основной стероид гриба — эргостерол — обладает антиоксидантными и противовоспалительными свойствами и является предшественником витаминов D<sub>1</sub> и D<sub>2</sub> [15, 16].

Традиционно БАВ из растительного сырья выделяли экстракцией органическими растворителями, часто токсичными и экологически небезопасными. В настоящее время основными экстрагентами служат этанол и вода [17–21]. Кроме того активно развиваются альтернативные методы — суб- и сверхкритическая флюидная экстракция (СбКФЭ и СКФЭ) [22–25]. Преимущество этих методов — использование нетоксичных растворителей (углекислый газ, вода, этанол), повышенное качество и чистота получаемых экстрактов [26–30]. С целью увеличения выхода экстракта при обработке плодовых тел перспективным представляется использование этанола в суб- и сверхкритическом состоянии. Однако в литературе отсутствуют данные о применении этого способа в процессах выделения БАВ из трутового гриба *F. fomentarius*. При этом известно, что технологические параметры экстракционного процесса (температура, давление, время) оказывают определяющее влияние как на выход экстракта, так и на содержание в нем целевых компонентов.

Цель данной работы — сравнительная оценка применения традиционных (мацерация и перколяция) и альтернативных (СбКФЭ и СКФЭ этанолом) методов для извлечения БАВ из плодового тела гриба *F. fomentarius*.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта выбран дереворазрушающий гриб вида *Fomes fomentarius* (рис. 1, см. цв. вкладку), отобранный в смешанном лесу на территории Холмогорского района Архангельской области. *Fomes fomentarius* (L.) Fr. — прочный многолетний полип, который с возрастом принимает форму копыта. Внешняя часть плодового тела имеет сероватые зоны, коричневые включения на поверхности имеют круглые поры. *F. fomentarius* — паразитический и сапрофитный

Вкладка к статье О.С. Бровко, А.Д. Ивахнова, Т.А. Бойцовой,  
Д.В. Жильцова «Суб- и сверхкритическая экстракция этанолом плодового  
тела гриба *Fomes fomentarius*»



Рис. 1. Внешний вид плодового тела *F. fomentarius*

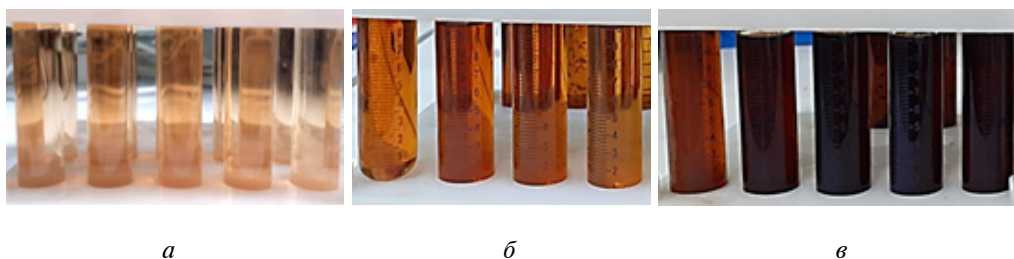


Рис. 4. Экстракты из биомассы плодового тела *F. fomentarius*, полученные различными методами:

*a* — исчерпывающая экстракция этанолом в аппарате Сокслета, *б* — СбКФЭ, *в* — СКФЭ

организм, заселяющий в основном живые листовенные породы древесины (особенно березу и бук).

Плодовое тело гриба очищали от посторонних примесей (частиц коры) и высушивали на воздухе в отсутствие прямого солнечного света. Влажность (12,7 %) и зольность (2,1 %) определяли по стандартным методикам [31]. Биомассу гриба хранили в плотных бумажных пакетах в темноте при комнатной температуре не более одного месяца. Перед экстракцией плодовые тела гриба размалывали на лабораторной мельнице ЛН-201. Для исследования использовали фракцию размером 2,0—0,2 мм, составляющую 80 % от размолотого образца.

Экстракцию суб- и сверхкритическим этанолом проводили на установке, состоящей из насоса высокого давления НРР 4001 (Laboratorní Pístroje Praha, Czechoslovakia), термостата Memmert UF 66 (Memmert, Germany) и ручного регулятора давления ВР 66 (GO Regulator, USA). Давление поддерживали с точностью 0,1 МПа, температуру –0,5°С. Навеску сырья (~1 г) помещали в автоклав объемом 10 мл (Waters, USA); для вытеснения воздуха и предотвращения окисления вводили этанол и нагревали термостат до заданной температуры за время, не более 20 мин. После достижения температуры (180 или 250 °С) проводили процесс экстракции при скорости потока этанола 0,5 мл/мин, давлении 10,0 или 25,0 МПа и варьировании времени процесса 30, 60, 90, 120 и 150 мин.

В качестве традиционных методов экстракции применяли мацерацию (настаивание) этанолом и экстракцию в аппарате Сокслета этанолом или водой (перколяционная обработка). При этом ее проводили в 50 %-ном (по объему) этаноле при гидромодуле 100 (5 г сырья в 500 мл растворителя) в течение 1, 2, 3 или 4-х суток при 28—30 °С и периодическом перемешивании. Кубовый остаток отделяли от прозрачного экстракта фильтрацией через бумажный фильтр «синяя лента» [32]. Экстракцию в аппарате Сокслета при температуре кипения растворителя (насадка НЭТ-250) проводили 96 %-ным (по объему) этанолом или водой в течение 3 ч (навеска сырья 5 г, объем растворителя 500 мл) [33].

Полученные различными методами экстракты лиофильно высушивали после замораживания при температуре –195 °С в жидком азоте с использованием установки лиофилизатора Lyovarog L-200 (Buchi, Индия). Выход твердого экстракта определяли гравиметрически.

Содержание ФС в полученных экстрактах оценивали с использованием метода Пирла—Бенсона [34, 35], который основан на реакции их нитрозирования в кислой среде и фотометрическом определении окрашенной ионизированной хинонмонооксимной формы при подщелачивании раствора. Для построения калибровочного графика использовали природный полифенол — танин (Sigma-Aldrich, США).

Содержание тетрациклических тритерпеноидов (ТТ) в экстрактах определяли спектрофотометрическим методом [36] после их извлечения обработкой петролейным эфиром (т. кип. 40—70 °С). Эфирный экстракт высушивали в вакууме и твердый остаток снова растворяли в этаноле. При добавлении к этанольному раствору ТТ (1 мас. %) раствора ванилина в 96 %-ном (по объему) этаноле и концентрированной серной кислоты получали окрашенное соединение, анализ которого проводили с использованием спектрофотометра UV-1800 (Shimadzu, Япония) при длине волны 550 нм. Для построения калибровочного графика использовали ланостерол (№S3626-10ML Sigma-Aldrich, США).

Эффективность экстракции оценивали по выходу твердого экстракта, ФС и тетрациклических тритерпеноидов (стероидов), также определяли

антирадикальную активность (АРА) высушенных экстрактов и молекулярно-массовое распределение соединений, перешедших в экстракт.

Оценку молекулярно-массового распределения выполняли с использованием ВЭЖХ-системы Стайер (Россия) в режиме гелепроникающей хроматографии (ГПХ). Разделение проводили в колонке Phenogel 10 мкм,  $l = 300$  мм,  $d = 7,8$  мм (Phenomenex, США). В качестве элюента использовали ДМФА, содержащий 0,1М LiBr и 1,0 % уксусной кислоты. Объем пробы 100 мкл. Концентрация в пробе 10 мг/л. Скорость потока элюента — 0,4 мл/мин. Фотометрическое детектирование проводили при аналитической длине волны — 275 нм. Градуировку системы осуществляли по стандартным образцам полистиролов (EasiVial PS-L, Agilent Technologies) в интервале масс 150—10000 Да и полидисперсности 1,1—1,3. Твердый экстракт растворяли в элюенте (1 г/л) и после фильтрования через шприцевой нейлоновый фильтр с диаметром пор 4,5 мкм вводили в хроматографическую систему.

Антиоксидантную (антирадикальную) активность экстрактов оценивали по методике [37] с применением катион-радикала 2,2-азинобис(3-этилбензотиазолина-6-сульфоната) (ABTS). Для построения калибровочного графика использовали тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота, водорастворимый аналог витамина E) (Sigma-Aldrich, США).

Все аналитические измерения выполнены трехкратно, результаты представлены в виде средних арифметических величин и их абсолютной ошибки. Для установления статистической взаимосвязи между параметрами использовали *t*-критерий Стьюдента при доверительном уровне  $P_i = 95$  %.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены результаты мацерации плодовых тел гриба вида *F. fomentarius* в 50 %-ном (по объему) водном растворе этанола и исчерпывающей экстракции в аппарате Сокслета 96 %-ным (по объему) этанолом и водой.

Метод мацерации позволяет получать твердый экстракт с выходом 12,3—19,0 мас. %, в котором содержится 51—63 мас. % ФС. С увеличением продолжительности процесса мацерации наблюдается увеличение выходов экстрактов, ФС и ТГ. При экстракции биомассы гриба в аппарате Сокслета содержание

Таблица 1

Сравнение традиционных методов экстракции по выходу сухих веществ, ФС и стероидов из плодового тела гриба *F. fomentarius*

Способ экстракции	Экстрагент	Продолжительность экстракции, мин	Выход, мас. %*		Выход стероидов (ТГ), мг %*
			твердого экстракта	ФС	
Мацерация	50 %-ный водный раствор этанола	1440	12,3 ± 0,1	6,3 ± 0,1	4,2 ± 20,1
		2880	15,4 ± 0,1	9,4 ± 0,1	6,63 ± 0,1
		4320	17,6 ± 0,3	10,7 ± 0,2	8,53 ± 0,3
		5760	19,0 ± 0,2	12,0 ± 0,3	10,22 ± 0,5
Исчерпывающая экстракция в аппарате Сокслета	96 %-ный этанол вода	360	14,3 ± 0,1	7,1 ± 0,1	15,33 ± 0,6
		360	9,0 ± 0,5	4,2 ± 0,1	8,42 ± 0,4

\* В расчете на абсолютно сухое сырье.

ФС в экстракте также составляет 50 мас. % при выходе самого экстракта 14,3 мас. %. Таким образом, эффективность экстракции в аппарате Сокслета сопоставима с двухсуточной мацерацией, но продолжительность процесса при этом сокращается в восемь раз. Следует отметить, что выход ТТ при исчерпывающей экстракции этанолом в аппарате Сокслета составляет 15 мг %, что превышает аналогичный показатель для процесса мацерации в 1,5–3,6 раза. Использование в качестве экстрагента в аппарате Сокслета воды также позволяет получить экстракт, содержащий 47 мас. % ФС, но с выходом в 1,4 раза меньшим, чем даже при суточной мацерации.

Выход ТТ при экстракции водой сопоставим с таковым при трехсуточной мацерации и составляет 8,5 мас. %. Наибольшие выходы экстракта (19,0 мас. %) и ФС (12,0 мас. %) отмечены для четырехсуточной мацерации. В этих же условиях получен экстракт, максимально обогащенный фенольными соединениями (63 мас. %). Однако существенным недостатком этого метода является его длительность.

Влияние условий экстракции плодовых тел гриба суб- и сверхкритическим этанолом на выходы экстракта, ФС и стероидов представлено в табл. 2, где серии 1 и 2 соответствуют экстракции субкритическим этанолом, а 3 и 4 — сверхкритическим.

В целом, можно сделать вывод, что сверхкритический этанол в сравнении с субкритическим более эффективно извлекает ФС, и при его использовании общий выход экстракта достигает 42–43 мас. %.

Увеличение продолжительности экстракции во всех случаях положительно сказывается на выходе твердого экстракта, ФС и стероидов. Выход экстракта при проведении процесса в сверхкритических условиях (42–43 мас. %) в 2–2,5 раза превышает таковой в сравнении с экстракцией субкритическим этанолом (12–16 мас. %). В субкритических условиях повышение давления приводит к незначительному снижению выхода экстракта (с 16 до 12 мас. %), а в сверхкритических условиях подобный факт не отмечен. Заметное влияние увеличения давления (от 10,0 до 25,0 МПа) при экстракции как в суб-, так и в сверхкритических

Таблица 2

Сравнение СбКФЭ и СКФЭ по выходу сухих веществ, ФС и стероидов из биомассы плодового тела *F. fomentarius*

№ серии	T, °C	P, МПа	Продолжительность экстракции, мин	Выход, мас. %*		Выход стероидов (ТТ), мг %*
				твердого экстракта	ФС	
1	180	10,0	30	4,7 ± 0,1	2,8 ± 0,1	6,69 ± 0,1
			60	8,7 ± 0,1	4,8 ± 0,2	17,0 ± 0,1
			90	12,0 ± 0,3	6,1 ± 0,1	29,26 ± 0,2
			120	14,2 ± 0,2	7,0 ± 0,2	42,86 ± 0,2
			150	16,4 ± 0,4	7,7 ± 0,1	57,57 ± 0,1
2	180	25,0	30	3,3 ± 0,1	1,8 ± 0,0	1,36 ± 0,1
			60	6,8 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,39 ± 0,1
			90	9,0 ± 0,1	5,7 ± 0,1	8,76 ± 0,1
			120	10,8 ± 0,2	6,9 ± 0,2	14,19 ± 0,2
			150	11,9 ± 0,3	7,8 ± 0,2	20,68 ± 0,4

\* В расчете на абсолютно сухое сырье.

Окончание таблицы 2

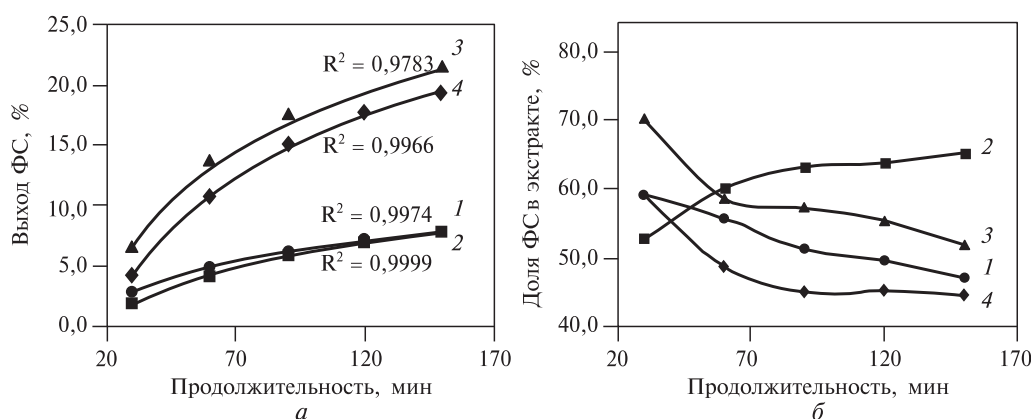
№ серии	T, °C	P, МПа	Продолжительность экстракции, мин	Выход, мас. %*		Выход стероидов (ТТ), мг %*
				твердого экстракта	ФС	
3	250	10,0	30	9,2 ± 0,1	6,5 ± 0,1	3,64 ± 0,1
			60	23,2 ± 0,2	13,6 ± 0,1	11,40 ± 0,1
			90	30,7 ± 0,1	17,5 ± 0,1	22,11 ± 0,1
			120	32,5 ± 0,1	18,0 ± 0,1	34,73 ± 0,2
			150	41,9 ± 0,2	21,7 ± 0,1	48,75 ± 0,3
4	250	25,0	30	6,7 ± 0,1	4,0 ± 0,1	2,24 ± 0,1
			60	21,8 ± 0,3	10,6 ± 0,2	8,46 ± 0,2
			90	33,6 ± 0,2	15,1 ± 0,1	17,55 ± 0,4
			120	39,6 ± 0,1	17,9 ± 0,2	28,45 ± 0,1
			150	43,0 ± 0,1	19,2 ± 0,2	40,75 ± 0,2

\* В расчете на абсолютно сухое сырье.

условиях на выход ФС не наблюдается. Повышение температуры (от 180 до 250 °C) при переходе от субкритической к сверхкритической экстракции интенсифицирует процесс извлечения ФС, их выход возрастает от 7,7–7,8 до 20,8–21,7 мас. %. Зависимость выхода ФС от продолжительности экстракции (рис. 2а) аппроксимируется логарифмической функцией с высоким значением коэффициента парной детерминации (0,978–0,999).

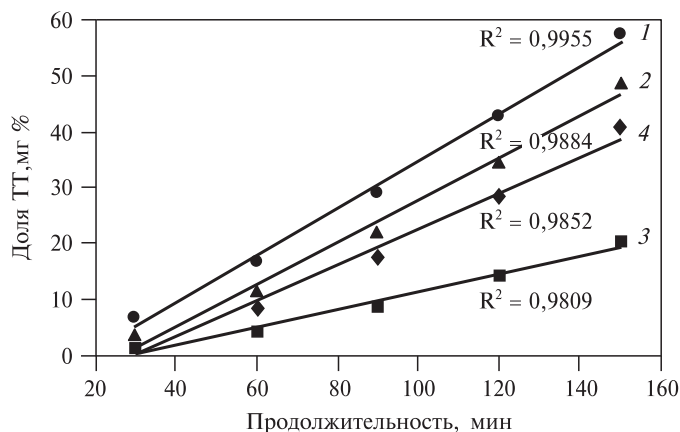
Как следует из зависимости содержания ФС в экстракте от времени процесса (рис. 2б), наблюдается снижение их доли среди твердых веществ, что, вероятно, связано как с возможной их деградацией, так и с переходом в экстракт соединений другой природы. Исключением является аномальная зависимость, полученная во второй серии опытов при 180 °C и 25,0 МПа.

Увеличение температуры и давления экстракции в обоих случаях отрицательно влияет на выход стероидов. Повышение давления при субкритической экстракции приводит к более значительному снижению выхода ТТ (с 57,6 до



**Рис. 2.** Выход фенольных соединений ФС (а) и зависимость их доли в экстракте (б) от времени экстракции биомассы плодового тела *F. fomentarius* для различных серий в соответствии с табл. 2:

1, 2, 3, 4 — номера серий опытов



**Рис. 3.** Зависимость выхода тетрациклических тритерпеноидов ТТ от времени экстракции биомассы плодового тела *F. fomentarius* для различных серий опытов в соответствии с табл. 2:

1, 2, 3, 4 — номера серий опытов

20,7 мг %), по сравнению с экстракцией сверхкритическим этанолом (с 48,8 до 40,8 мг %). Зависимость выхода ТТ от продолжительности экстракции (рис. 3) имеет линейный характер и аппроксимируется уравнением прямой с высоким значением коэффициента парной детерминации (более 0,98). Выход ТТ при использовании суб- и сверхкритической экстракции этанолом (20,7—57,6 мг %) значительно превышает таковой для классических методов экстракции (4,2—15,3 мг %).

В отличие от экстрактов, полученных с применением классических методов экстракции, суб- и сверхкритические экстракты окрашены более интенсивно, и их цвет меняется от желтого до темно-коричневого (рис. 4 на цв. вкладке).

Известно, что экстракты трутовых грибов содержат хромогенные комплексы [17] и танины, которые относятся к группе ФС и придают экстрактам характерный коричневый цвет. УФ-спектры экстрактов, полученных как традиционными методами, так и методом суб- и сверхкритической экстракции, выглядят однотипно. На всех спектрах наблюдается пик при длине волны 280 нм, характерный для соединений фенольной природы [38, 39].

Результаты определения молекулярных масс различных органических соединений, входящих в состав полученных экстрактов, представлены в табл. 3. Существенных отличий в среднемассовой молекулярной массе экстрагированных соединений для суб- и сверхкритической экстракции не обнаружено. Увеличение продолжительности суб- и сверхкритической экстракции приводит к возрастанию  $M_w$  извлекаемых соединений с 3,5 до 5,5 кДа. Вероятно, с увеличением времени процесса в экстракт переходит большее количество более высокомолекулярных веществ. Экстрагируемые ФС могут быть отнесены к классу полифенолов, и их «степень полимеризации» может быть оценена в 21—30 ед. галловой кислоты. Экстракты, получаемые классическими способами, характеризуются несколько большими величинами среднемассовых молекулярных масс экстрагированных соединений (до 7 кДа), что, вероятно, связано с возможной деградацией полифенольных соединений при суб- и сверхкритической экстракциях.

Спиртовые экстракты, полученные из биомассы плодового тела *F. fomentarius*, содержат большое количество антиоксидантов — ФС и являются перспективными источниками БАВ. В табл. 4 представлены результаты определения активности

Таблица 3

**Сравнение молекулярных масс фракции ФС в зависимости от условий экстракции**

Тип экстракции	Условия экстракции	Продолжительность экстракции, мин	M <sub>w</sub> кДа	Степень полимеризации, ед. галловой кислоты
Субкритическая флюидная экстракция	180 °С; 25,0 МПа, 2 серия	30	3,6	21,2
		60	4,1	24,1
		90	4,3	25,3
		120	4,6	27,1
		150	5,2	30,6
Исчерпывающая экстракция в аппарате Сокслета	экстрагент: 96 % этанол	360	7,1	41,8

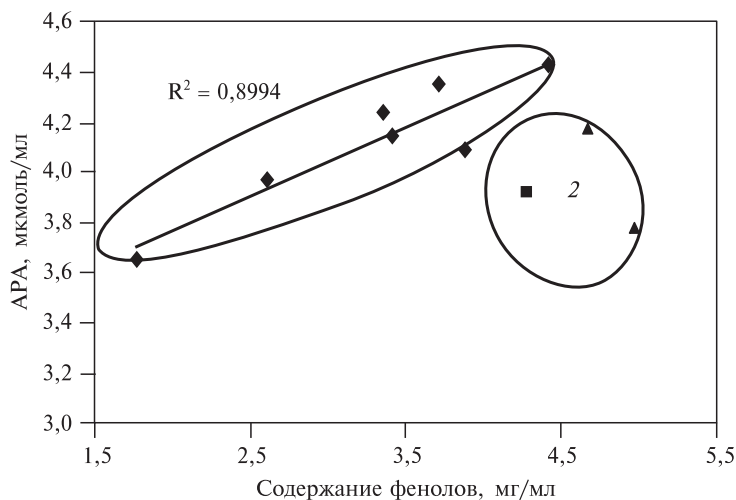
экстрактов АРА для сверхкритических экстрактов (серия 3 и 4), как наиболее обогащенных ФС, так и для спиртовых экстрактов, полученных классическими методами.

Классические методы экстракции приводят к получению экстрактов с незначительной АРА (9,7—38,6 мкмоль тролокса-экв/г) при высокой продолжительности процесса. Сверхкритическая флюидная экстракция при уменьшении времени в 50—100 раз позволяет получить экстракт с увеличенной вдвое АРА в сравнении с методом мацерации. В сравнении с исчерпывающей экстракцией в аппарате Сокслета СКФЭ обеспечивает сокращение времени процесса в 12 раз при увеличении АРА экстракта в 8 раз. Увеличение продолжительности сверхкритической экстракции приводит к возрастанию АРА экстракта в 4,4 раза, причем давление (10,0 и 25,0 МПа) практически не оказывает влияния

Таблица 4

**Антирадикальная активность экстрактов из биомассы плодового тела *F. fomentarius*, полученных различными методами экстракции**

Тип экстракции	Условия экстракции	Продолжительность, экстракции, мин	АРА, мкмоль тролокса-экв/г
Исчерпывающая экстракция в аппарате Сокслета	экстрагент: 96 % этанол	360	9,7 ± 0,2
Мацерация	экстрагент: 50 % этанол	1440	32,5 ± 0,9
		2880	38,6 ± 0,2
Сверхкритическая флюидная экстракция	250 °С; 25,0 МПа 4 серия	30	81,7 ± 2,8
		60	161,6 ± 4,2
		90	240,5 ± 1,2
		120	300,5 ± 1,3
		150	347,6 ± 5,4
	250 °С; 10,0 МПа 3 серия	30	78,8 ± 1,2
		60	160,0 ± 2,2
		90	240,2 ± 1,9
		120	300,8 ± 2,8
		150	348,0 ± 1,4



**Рис. 5.** Зависимость антирадикальной активности от содержания ФС, полученных в результате сверхкритической экстракции, в разных областях:

1 — корреляция; 2 — исключение

на величину антиоксидантной активности экстракта. Установленный факт, вероятно, связан с практически одинаковым выходом ФС в 3-ей и в 4-ой экстракционных сериях.

На рис. 5. представлена зависимость АРА экстрактов от содержания в них ФС, полученных в сверхкритических условиях. В области корреляции (рис. 5, 1) выявлена линейная зависимость между содержанием ФС в экстрактах и их АРА с высоким коэффициентом детерминации (0,8994). В области 2 располагаются точки, соответствующие продолжительности экстракции 120—150 мин серии 3 и 150 мин серии 4. Отклонение от линейности, вероятно, вызвано протеканием конденсационных превращений ФС, приводящих к снижению их АРА. Аналогичное увеличение среднемассовых молекулярных масс ФС с течением времени наблюдается и для 2-ой серии экстракции (табл. 3).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Суб- и сверхкритическая экстракции 96 %-ным (по объему) этанолом являются более эффективным методом извлечения ФС из биомассы плодового тела *F. fomentarius* в сравнении с классическими методами (мацерация 50 %-ным (по объему) этанолом или исчерпывающая экстракция в аппарате Сокслета).

Установлена зависимость выхода экстракта, содержания в нем ФС и стероидов от параметров экстракционного процесса. Показано, что наибольший выход твердого экстракта (41,9— 43,0 мас. %) и ФС (19,2—21,7 мас. %) наблюдается при реализации процесса в сверхкритической области состояния экстрагента. При этом выход ФС практически не меняется при повышении давления от 10,0 до 25,0 МПа при экстракции как в суб-, так и в сверхкритических условиях. Увеличение продолжительности экстракции во всех случаях положительно влияет на выход твердого экстракта, ФС и стероидов. Повышение температуры и давления отрицательно влияет на выход стероидов, при этом их наибольший выход (57,57 мг %) получен в ходе субкритической экстракции.

Сверхкритические экстракты из биомассы плодового тела *F. fomentarius* обладают высокой антирадикальной активностью (82—348 мкмоль тролокса-экв/г), причем наблюдается положительная корреляционная связь АРА экстрактов и содержания в них фенольных соединений ( $R^2=0,899$ ).

### БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования проведены в ходе выполнения государственного задания ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН ФНИ 2018-2020 г. «Физико-химические, генетические и морфологические основы адаптации растительных объектов в условиях изменяющегося климата высоких широт» (№ АААА-А18-118012390231-9) с использованием оборудования ЦКП НО «Арктика» (САФУ) и ЦКП КТ РФ-Арктика (ФИЦКИА УрО РАН).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Краснопольская Л.М. Современные проблемы микологии, фитопатологии. Сб. науч. трудов. М., 1998. 230 с.
2. Булах Е.М. Грибы — источник жизненной силы. Владивосток: Русский остров, 2001. 64 с.
3. Переведенцева Л.Г. Лекарственные грибы Пермского края. Пермь: Проектное бюро «Рейкьявик», 2011. 146 с.
4. Кочунова Н.А. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Выпуск 51. С. 112.
5. Арефьев С.П. Системный анализ биоты дереворазрушающих грибов. Новосибирск: Наука, 2010. 261 с.
6. Проценко М.А. // Медицина и образование в Сибири. 2013. №4. С. 11.
7. Ооржак У.С., Уианова В.М., Репях С.М. // Химия растительного сырья. 2003. № 1. С. 69.
8. Вассер С.П. // Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера». 2015. Т. 7. № 2. С. 238.
9. Проценко М.А., Костина Н.Е. // Химия растительного сырья. 2015. № 3. С. 117.
10. Трошкова Г.П., Костина Н.Е., Проценко М.А., Скарнович М.А. // Современные проблемы науки и образования. 2012. № 4. URL: <http://www.scienceeducation.ru/104-6885>
11. Packer L., Sies H. Oxidative stress and inflammatory mechanisms in obesity, diabetes, and the metabolic syndrome. New York: CRC Press, 2008. 344 p.
12. Макарова Н.В., Валулина Д.Ф., Азаров О.И., Кузнецов А.А. Химия растительного сырья. 2018. № 2. С. 115.
13. Andersen O.M., Markham K.R. Flavonoids, chemistry, biochemistry and applications. London: RC Press, 2005. 1197 p.
14. Денисенко Т.А., Вишник А.Б., Цыганок Л.П. Аналитика и контроль. 2015. Т. 19. № 3. С. 242.
15. Vukojević V., Djurdjić S., Švorc L., Velicković T.Ć., Mutić J., Stanković D.M. // Food Anal. Methods. 2018. Vol. 11. P. 2590.
16. Feldman D., Pike J.W., Adams J. Vitamin D. Stanford: Imprint Academic Press, 2011. 2144 p.
17. Носов А.И., Сысоева М.А., Гревцев В.А., Халитов Ф.Г. // Химия растительного сырья. 2013. № 3. С. 195.
18. Сысоева М.А., Юмаева Л.Р., Гамаюрова В.С., Зиятдинова Г.К., Будников Г.К., Халитов Ф.Г. // Химия растительного сырья. 2009. № 2. С. 121.
19. Сысоева М.А., Носов А.И. // Бутлеровские сообщения. 2012. Т. 30. № 4. С. 147.
20. Коничев А.С., Баурин П.В., Федоровский Н.Н., Марахова А.И., Якубович Л.М., Черникова М.А. Вестник МГОУ. 2011. № 3. С. 49.
21. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск: Наука, 1990. 330 с.
22. Залепугин Д.Ю., Тилькунова Н.А., Чернышова И.В., Поляков В.С. // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. 2006. Т. 1. № 1. С. 27.
23. Гришин А.А., Зорина Н.В., Луцкий В.И. // Известие вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2015. № 4 (15). С. 36.

24. Бровко О.С., Паламарчук И.А., Бойцова Т.А., Боголицын К.Г., Вальчук Н.А., Ивахнов А.Д. // *Фундаментальные исследования*. 2015. № 11. С. 659.
25. Жильцов Д.В., Бровко О.С., Боголицын К.Г., Ивахнов А.Д., Паламарчук И.А., Бойцова Т.А. // *Успехи современного естествознания*. 2018. № 11—12. С. 210.
26. Prasad S., Rathore H., Sharma S., Yadav A.S., Naik S.N. // *Research J. of Pharmaceutical, Biological and Chemical*. 2017. № 8 (4). P. 1145.
27. Бровко О.С., Ивахнов А.Д., Паламарчук И.А., Боцова Т.А. // *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*. 2017. Т. 12. № 1. С. 41.
28. Амосова А.С., Ивахнов А.Д., Скребец Т.Э., Ульяновский Н.В., Боголицын К.Г. // *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*. 2013. Т. 8. № 3. С. 36.
29. Ivakhnov A.D., Sadkova K.S., Sobashnikova A.S., Skrebets T.E. // *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*. 2018. Т. 13. № 3. С. 90.
30. Бойцова Т.А., Бровко О.С., Ивахнов А.Д., Жильцов Д.В. // *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*. 2019. № 4. С. 9.
31. *Практикум по биохимии* / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. М.: Изд. МГУ, 1989. 509 с.
32. *Машковский М.Д.* Государственная фармакопея СССР. М.: Медицина, 1989. 400 с.
33. *Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы: [Учеб. пособие для вузов по спец. «Хим.-мех. технология древесины и древес. материалов»]* / Под ред. А.В. Оболенской, З.П. Ельницкой, А.А. Леонович. М.: Экология, 1991. 319 с.
34. ПНД Ф 14.1:2.216-06. М.: Изд-во ФГУ «ФЦАО», 2006. 9 с.
35. Бровко О.С., Орлов А.С., Zubov I.N., Parfenova L.N. // *Вода: химия и экология*. 2016. № 1. С. 62.
36. *Никитина С.А.* Состав и свойства тритерпеноидных, стероидных и сопутствующих им соединений *Inonotus obliquus*. Автореф. дис. ... канд. хим. наук. КГТУ. Казань. 2015.
37. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. // *Free Radic. Biol. Med.* 1999. Vol. 26. P. 1231.
38. *Марчишин С.М., Козачок С.С.* // *Медицина и образование в Сибири*. 2014. № 1. С. 128.
39. *Мусеев Д.В.* // *Химия растительного сырья*. 2014. № 3. С. 171.

---

---

## SUB- AND SUPERCRITICAL EXTRACTION WITH ETHANOL FOR FRUIT BODY MUSHROOM *FOMES FOMENTARIUS*

**O.S. Brovko** — N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1961-78311. E-mail: brovko-olga@rambler.ru

**A.D. Ivakhnov**— N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, Russia; Northern (Arctic) Federal University named after Lomonosov, Arkhangelsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2822-9192. E-mail: ivahnov-tema@yandex.ru

**T.A. Boitsova** — N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, Russia ORCID: 0000-0002-3899-7243. E-mail: tboitsova@yandex.ru (*for correspondence*)

**D.V. Zhiltsov** — N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, Russia. E-mail: dnorton.usa@gmail.com

---

---

The process of sub- and supercritical fluid extraction with ethanol of the fruiting body biomass of the tinder fungus *F. fomentarius* was studied. The evaluation of the extraction conditions (temperature, pressure and duration) for the yield of the solid extract, phenolic compounds and steroids was carried out. It was found that sub- and supercritical extraction was more efficient in comparison with traditional methods of biologically active substances isolation (maceration and percolation). The yield of the solid extract reaches 43 wt. %.

The content of phenolic compounds in the extract was up to 50 wt. %. It was shown that the extracts have high antiradical activity (up to 350  $\mu$ mol trolox-equiv/g). The positive correlation between the antiradical activity of the extracts and the content of phenolic compounds in them was established.

**Key words:** sub- and supercritical fluid extraction, ethanol, tinder mushroom, *Fomes fomentarius*, polyphenols, antiradical activity.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This research was funded from the project agreement No AAAA-A18-118012390231-9 «Physic-chemical, genetic and morphological bases of the plant objects adaptation under the conditions of the changing climate of high latitudes» Instrumentation of the Core Facility Center «Arktika» of Northern (Arctic) Federal University and «Critical technologies of the Russian Federation in the field of environmental safety of the Arctic» (N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research) was used in this work.

## REFERENCES

1. *Krasnopol'skaya L.M.* Modern problems of mycology, phytopathology: collection of articles. Scientific. Works. M., 1998. 230 p.
2. *Bulakh E.M.* Mushrooms are the source of vitality. Vladivostok: Russian Island, 2001. 64 p.
3. *Perevedentseva L.G.* Medicinal mushrooms of the Perm region. Perm: Design Bureau «Reykjavik», 2011. 146 p.
4. *Kochunova N.A.* // Bulletin Physiology and Pathology of Respiratory. 2014. Issue 51. P. 112.
5. *Arefiev S.P.* System analysis of the biota of wood-destroying fungi. Novosibirsk: Nauka, 2010. 261 p.
6. *Protsenko M.A.* // Medicine and Education in Siberia. 2013. No 4. P. 11.
7. *Oorzhak U.S., Ushanova V.M., Repyakh S.M.* // Chemistry of Plant Raw Materials. 2003. No 1. P. 69.
8. *Wasser S.P.* Interdisciplinary scientific and applied journal «Biosphere». 2015. Vol. 7. No 2. P. 238.
9. *Protsenko M.A., Kostina N.E.* // Chemistry of Plant Raw Materials. 2015. No 3. P. 117.
10. *Troshkova G.P., Kostina N.E., Protsenko M.A., Skarnovich M.A.* // Modern Problems of Science and Education. 2012. No 4. URL: <http://www.scienceeducation.ru/104-6885>
11. *Packer L., Sies H.* Oxidative stress and inflammatory mechanisms in obesity, diabetes, and the metabolic syndrome. New York: CRC Press, 2008. 344 p.
12. *Makarova N.V., Valiulina D.F., Azarov O.I., Kuznetsov A.A.* // Chemistry of Plant Raw Materials. 2018. No 2. P. 115.
13. *Andersen O.M., Markham K.R.* Flavonoids, chemistry, biochemistry and applications. London: CRC Press, 2005. 1197 p.
14. *Denisenko T.A., Vishnikin A.B., Tsyganok L.P.* // Analytics and Control. 2015. Vol. 19. No 3. P. 242.
15. *Vukojević V., Djurdjić S., Švorc L., Velicković T.Ć. Mutić J., Stanković D.M.* // Food Anal. Methods. 2018. Vol. 11. P. 2590.
16. *Feldman D., Pike J. W., Adams J.* Vitamin D. Stanford: Imprint Academic Press, 2011. 2144 p.
17. *Nosov A.I., Sysoeva M.A., Grevtsev V.A., Khalitov F.G.* // Chemistry of Plant Raw Materials. 2013. No 3. P. 195.
18. *Sysoeva M.A., Yumaeva L.R., Gamayurova V.S., Ziyatdinova G.K., Budnikov G.K., Halitov F.G.* // Chemistry of Plant Raw Materials. 2009. No 2. P. 121.
19. *Sysoeva M.A., Nosov A.I.* // Butlerov Messages. 2012. V. 30. No 4. P. 147.
20. *Konichev A.S., Baurin P.V., Fedorovsky N.N., Marakhova A.I., Yakubovich L.M., Chernikova M.A.* // MGOU Bulletin. 2011. No 3. P. 49.

21. *Georgievsky V.P., Komissarenko N.F., Dmitruk S.E.* Biologically active substances of medicinal plants. Novosibirsk: Nauka, 1990. 330 p.
  22. Zalepugin D.Yu., Tilkunova N.A., Chernyshova I.V., Polyakov V.S. // *Sverkhkriticheskie Flyuidy: Teoriya i Praktika*. 2006. V. 1. No 1. P. 27.
  23. *Grishin A.A., Zorina N.V., Lutskiy V.I.* // News of universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2015. No 4 (15). P. 36.
  24. *Brovko O.S., Palamarchuk I.A., Boitsova T.A., Bogolitsyn K.G., Valchuk N.A., Ivakhnov A.D.* // Fundamental research. 2015. No 11. P. 659.
  25. *Zhiltsov D.V., Brovko O.S., Bogolitsyn K.G., Ivakhnov A.D., Palamarchuk I.A., Boitsova T.A.* // Advances in current natural sciences. 2018. No 11–12. P. 210.
  26. *Prasad S., Rathore H., Sharma S., Yadav A.S., Naik S.N.* // Research J. of Pharmaceutical, Biological and Chemical. 2017. No 8 (4). P. 1145.
  27. *Brovko O.S., Ivakhnov A.D., Palamarchuk I.A., Boitsova T.A.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2017. No 11. P. 1306.
  28. *Amosova A.S., Ivakhnov A.D., Skrebets T.E., Ulyanovskiy N.V., Bogolitsyn K.G.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2014. No 8. P. 963.
  29. *Ivakhnov A.D., Sadkova K.S., Sobashnikova A.S., Skrebets T.E.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2019. No 13. P. 1135.
  30. *Boitsova T.A., Brovko O.S., Ivakhnov A.D., Zhiltsov D.V.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2020. No 7. P. 1135.
  31. Workshop on Biochemistry / Ed. S.E. Serenin, G.A. Solovieva. Moscow: Publishing house. Moscow State University, 1989. 509 p.
  32. *Mashkovsky M.D.* State Pharmacopoeia of the USSR. M.: Medicine, 1989. 400 p.
  33. Laboratory work on the chemistry of wood and cellulose: [Textbook. manual for universities on spec. «Chemical and mechanical technology of wood and wood materials»] / Ed. A.V. Obolenskaya, Z.P. Elnitskaya, A.A. Leonovich. M. Ecology, 1991. 319 p.
  34. PND F 14.1: 2.216-06. M.: Publishing house of FGU «FTSAO», 2006. 9 p.
  35. *Brovko O.S., Orlov A.S., Zubov I.N., Parfenova L.N.* // Water: Chemistry and Ecology. 2016. No 1. P. 62.
  36. *Nikitina S.A.* Composition and properties of triterpenoid, steroid and related compounds *Inonotus obliquus*: author. dis. ... cand. chem. sciences: 14.04.02 / KSTU. Kazan. 2015.
  37. *Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.* // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 26. P. 1231.
  38. *Marchishin S.M., Kozachok S.S.* // Medicine and Education in Siberia. 2014. No 1. P. 128.
  39. *Moiseev D.V.* // Chemistry of Plant Raw Materials. 2014. No 3. P. 171.
- 
-