

ИЗВЛЕЧЕНИЕ АВЕРМЕКТИНА ИЗ *STREPTOMYCES AVERMITILIS* СВЕРХКРИТИЧЕСКИМ ДИОКСИДОМ УГЛЕРОДА

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

Т.Э. Скребец — Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия. ORCID: 0009-0001-7515-8705. Эл. почта: tskrebets@mail.ru

© 2024 г. Поступила в редакцию 18.12.2023 г. Прошла рецензирование 25.01.2024 г. Принята к публикации 25.01.2024 г.

Методом полного факторного эксперимента с использованием ротатабельного униформ-плана второго порядка проведена оптимизация извлечения авермектина из бактериальной биомассы *Streptomyces avermitilis* методом сверхкритической флюидной экстракции диоксидом углерода. При планировании в качестве основных уровней выбраны давление 25 МПа, температура 60 °С, продолжительность экстракции 100 мин. Анализ уравнения регрессии позволил установить оптимальные параметры процесса: 30 МПа, 85 °С, продолжительность 133 мин. В контрольном эксперименте получен экстракт с выходом 13 %, содержащий 41 % авермектина. Выход авермектина составил 5,36 % от абсолютно сухого сырья, что превышает выход при экстракции органическими растворителями.

Ключевые слова: авермектин, бактерия *Streptomyces avermitilis*, сверхкритическая флюидная экстракция, диоксид углерода, ротатабельный план, оптимизация.

ВВЕДЕНИЕ

Авермектин входит в состав мицелия *Streptomyces avermitilis* — вида почвенных актиномицетов из рода стрептомицетов (*Streptomyces*), который является самым большим родом актинобактерий семейства (*Streptomycetaceae*) и повсеместно встречается в окружающей среде. Ранее стрептомицеты относили к царству грибов [1, 2].

Оно представляет собой комплекс из восьми близкородственных компонентов, принадлежащих к классу 16-членных макролидов и имеющих в положении С13 дисахарид, состоящий из фрагментов L-олеандрозы — 2,6-дидезокси-3-O-метил- α -L-арабиногексопиранозы. Структурные формулы [3] некоторых из них представлены на рис. 1.

Авермектин характеризуется высокой противоопухолевой, противовирусной и антидиабетической активностью, способностью укреплять иммунитет [2]. Он является универсальным средством для борьбы с различными членистоногими в сельском хозяйстве и ветеринарии, привлекательным для коммерческого применения благодаря низкой токсичности, высокой эффективности и высокой селективности, и занимают важное место в комплексной системе борьбы с вредителями. В то же время, есть данные [4] о том, что загрязнение авермектином водных систем негативно сказывается на

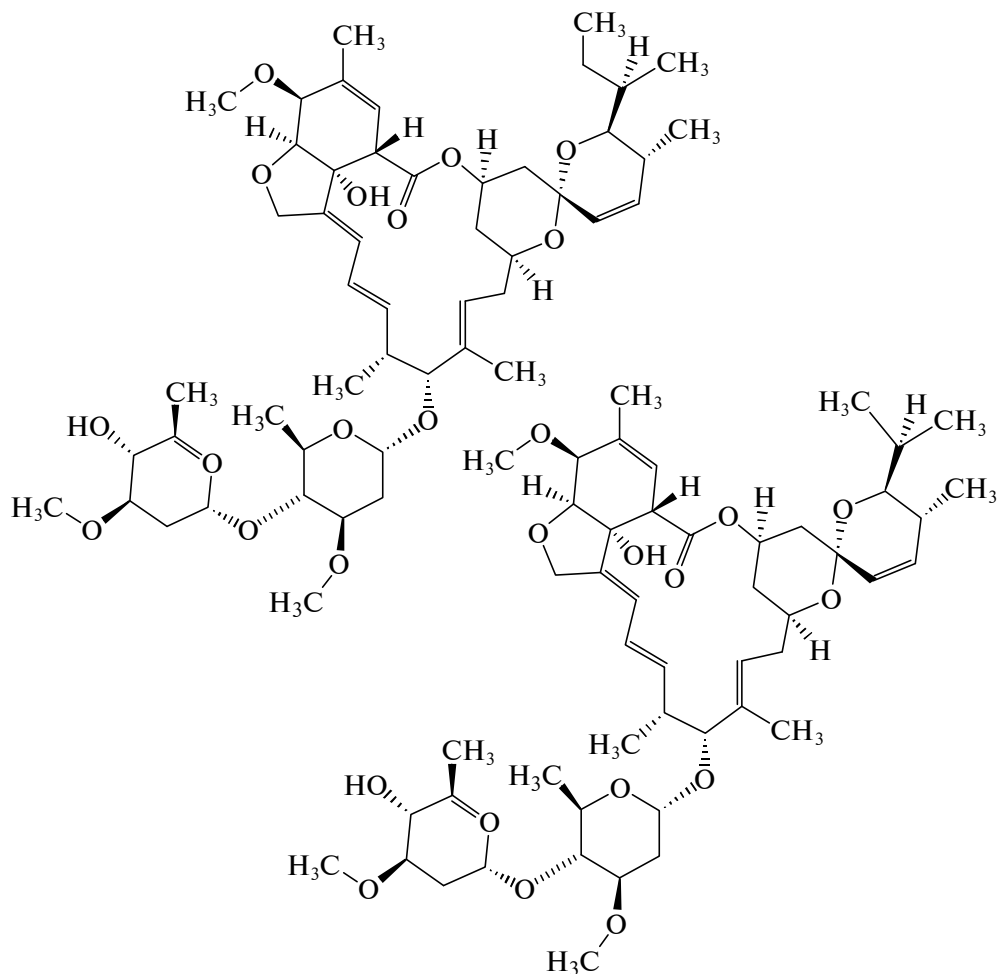


Рис. 1. Структурные формулы некоторых авермектинов

водных организмах. Таким образом, воздействие авермектина на экологическую обстановку может быть в целом отрицательным.

Благодаря высокой способности к химической модификации, компоненты авермектина являются исходными соединениями для синтеза различных фармацевтических препаратов. На данный момент исследования направлены на модификацию авермектина с целью получения продуктов, обладающих новыми свойствами, а также на его эффективное извлечение из бактериальной культуры [5].

Основной метод выделения авермектина из влажной или сухой биомассы *Streptomyces avermitilis* или из культуральной жидкости продуцента — экстракция с дальнейшей очисткой экстракта, отделением липидной фракции и выделением целевого продукта. В качестве экстрагента применяют смесь, состоящую из воды и низко- и высококипящих растворителей, смешивающихся с водой в неограниченном соотношении. Данный способ позволяет выделять комплексы с различным содержанием индивидуальных авермектинов, активных в биологическом отношении [3]. Возможно также использовать

органический растворитель, не смешивающийся с водой (например, этилацетат) [3]. В работе [4] показано, что *n*-гексан способен извлечь не более 4,4 % авермектина, ацетон — до 6,2 %, а этанол — менее 0,5 % относительно абсолютно сухой биомассы.

Хотя данные способы и позволяют выделять комплексы авермектинов с различным содержанием индивидуальных авермектинов, большой интерес представляет разработка новых методов с применением других растворителей и условий, а также их варьированием. Немаловажной является оптимизация условий с целью выделения экстракта с наиболее высоким содержанием авермектина.

Сверхкритическая флюидная экстракция (СФЭ) давно известна как метод выделения полезных компонентов из растительной биомассы, в частности, извлечения антиоксидантов из лекарственных растений, водорослей, древесной зелени [6—8]. Поэтому метод вполне может быть применен для эффективного извлечения авермектиновых комплексов с подбором оптимальных условий для достижения максимального выхода при использовании одного из самых дешевых и безопасных растворителей — диоксида углерода [6]. Известны методы применения СФЭ для пробоподготовки при анализе остаточных количеств авермектина в различных природных матрицах [9—11]. Однако авторы не обнаружили публикаций, посвященных применению СФЭ для целевого извлечения авермектина из биомассы бактерии.

Благодаря многофункциональному характеру полисахаридных хитинсодержащих комплексов — основы клеточной стенки бактерии, образующийся в ходе экстракции шрот может найти применение в медицине, экологии, пищевой и химической промышленности в качестве сорбента токсикантов различной природы: катионов тяжелых металлов, радионуклидов, органических загрязнителей, канцерогенов [12]. Кроме того, отмечается биологическая активность хитинсодержащих комплексов, что предопределяет их использование в биомедицине, например для получения нетканых материалов, обладающих ранозаживляющей активностью, а также в качестве фильтров для очистки жидких и газообразных сред от аэро- и гидрозолей [13]. Поэтому была поставлена задача изучения сорбционных свойств образующегося отхода — шрота — с целью более комплексного использования биомассы продуцента. В качестве модельных амфифильных органических сорбатов при определении сорбционных свойств проэкстрагированного остатка были использованы водорастворимые красители: катионного типа — краситель метиленовый голубой (относится к гетероциклическим органическим соединениям феноксиазинового ряда) и анионного типа — азокраситель Конго красный — динатриевая соль 4,4'-бис(1-амино-4-сульфо-2-нафтилазо)бифенила.

Цель данной работы — разработка нового способа выделения авермектина из бактериальной биомассы *Streptomyces avermitilis* путем оптимизации условий СФЭ диоксидом углерода и изучение сорбционных свойств образующегося шрота.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта исследования использован образец промышленной воздушно-сухой биомассы бактерии *Streptomyces avermitilis* (штамм ВНИИСХМ-54 из коллекции культур полезных микроорганизмов ВНИИСХМ,

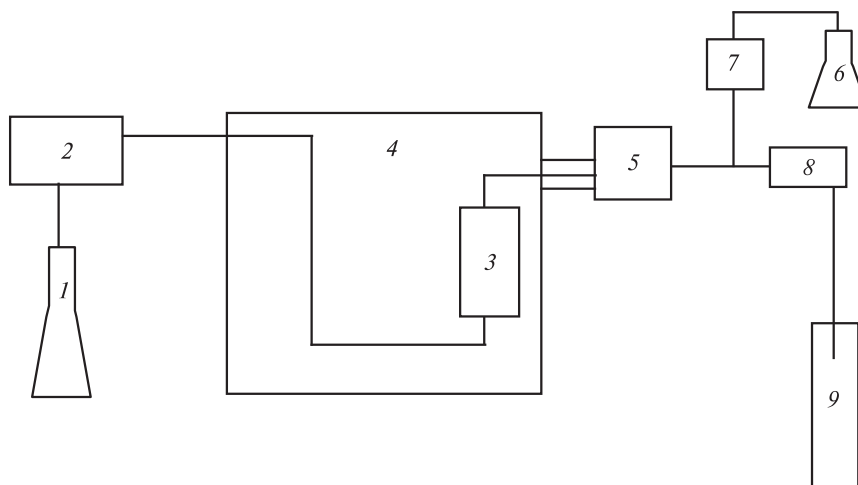


Рис. 2. Блок-схема экспериментальной установки MV-10ASFE (Waters, США):

1 — баллон; 2 — насос высокого давления; 3 — автоклав; 4 — блок термостата; 5 — регулятор давления; 6 — домывающий растворитель; 7 — насос домывающего растворителя; 8 — проточный регулятор; 9 — стеклянный сепаратор

г. Санкт-Петербург; образец бактериальной биомассы был предоставлен ООО НПЦ «Фармбиомед», РФ), представляющей собой порошок коричневого цвета. Влажность образца, определенная высушиванием в сушильном шкафу при 105 °С, равна 4,6 %.

Выделение целевого продукта из бактерии проводили на сверхкритическом экстракторе MV-10ASFE (Waters, USA), схема которого представлена на рис. 2.

Для нахождения оптимальных параметров процесса сверхкритической флюидной экстракции авермектина из бактериальной биомассы *Streptomyces avermitilis* был поставлен и реализован планированный эксперимент с построением ротатбельного композиционного униформ-плана второго порядка [14–17].

Навеску сырья (~2 г) помещали в автоклав и обрабатывали диоксидом углерода при скорости потока 2 мл/мин (при температуре головок насоса и измерителя потока 2,5 °С). В ходе эксперимента варьировали температуру, давление и продолжительность обработки в соответствии с заданными условиями по плану эксперимента. Точность поддержания температуры составляла ± 1 °С, флуктуация давления не превышала 0,5 МПа. В качестве параметров, характеризующих эффективность СКФ-экстракции, выбраны следующие: выход экстракта от абсолютно сухого (а.с) сырья (W , % от а.с. сырья), содержание авермектина в экстракте (A , %) и выход авермектина (B , % от а.с. сырья).

Выход экстракта определяли гравиметрически после дегазации в течение 24 ч при +4 °С и атмосферном давлении в отсутствие освещения.

Концентрацию авермектина в экстрактах определяли спектрофотометрически на спектрофотометре Specor S300 UV VIS (Shimadzu Corp., Япония) при длине волны 245 нм по градуировочному графику, построенному с использованием в качестве эталонного раствора авермектина препарата «Фитоверм» с концентрацией 2 г/л (предоставлен ООО НПЦ «Фармбиомед», РФ) [4, 18].

Выход авермектина от а.с. сырья определяли расчетным путем на основании данных о выходе экстракта и содержании в нем авермектина.

Для получения максимально возможного выхода авермектина при СКФ-экстракции была применена процедура оптимизации условий с использованием математического планирования эксперимента. Выходной параметр (выход экстракта и выход авермектина) зависит от выбранных независимых параметров — факторов, в данном случае — давления, температуры и продолжительности экстракции. Выбор начального уровня варьирования факторов производится на основании логической целесообразности. Отклонения величин факторов в центре плана соответствует интервалу варьирования. В центре плана производится все возможное комбинирование величин факторов в выбранном интервале варьирования. Оптимизация осуществляется на основании регрессионной модели полинома второго порядка. Для ее построения дополнительно вводятся точки плана, соответствующие нулевым (центральным) величинам двух из факторов и максимальному положительному или отрицательному отклонению третьего фактора (соответствует «звездному» плечу). Эксперимент в центре плана (нулевое значение факторов) выполняется шесть раз для оценки воспроизводимости полученных результатов и подтверждения влияния факторов на результат опыта.

Эксперимент по СКФ-экстракции авермектина CO_2 является активным многофакторным, более конкретно — трехфакторным, ввиду того, что определяющими выбраны три фактора (параметра) — давление (X), температура (Y) и продолжительность (Z) обработки. При составлении плана эксперимента в качестве основных уровней параметров процесса выбраны $X = 25$ МПа, $Y = 60$ °С и $Z = 100$ мин. Интервалы варьирования — 6 МПа, 15 °С и 20 мин, соответственно. «Звездное» плечо плана 1,682. Математическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием пакета MS Excel.

Экстракцию органическими растворителями проводили в аппарате Сокслета. В качестве экстрагента использовали n -гексан, этанол и хлористый метилен. Продолжительность обработки 8 ч.

Сорбционную способность остатка после экстракции (шрот) оценивали статическим методом по отношению к красителям Конго красному (КК) и метиленовому голубому (МГ), являющемуся имитатором эндотоксинов средней и малой молекулярной массы. Адсорбцию вели в течение 24 ч при комнатной температуре из раствора красителя; при массе сорбента 50 мг и объеме раствора красителя 25 мл концентрации при установившемся равновесии в случае КК и МГ составляли 0,002—0,5 и 0,005—2,2 г/л, соответственно. Остаточное (равновесное) содержание красителя в растворе определяли на спектрофотометре Specord S 300 UV VIS (Shimadzu, Япония) при длине волны 500 нм (КК) и 400 нм (МГ) в кюветках с длиной поглощающего слоя 10 мм. Величину адсорбции (a , мг/г) вычисляли по формуле:

$$a = 0,025 \cdot (C_1 - C_{\text{равн.}}) / m,$$

где C_1 и $C_{\text{равн.}}$ — массовые концентрации раствора красителя до и после проведения адсорбции, мг/л; 0,025 — объем раствора красителя, л; m — навеска шрота, г.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты, полученные при экстракции авермектина из бактерии *Streptomyces avermitilis* органическими растворителями в аппарате Сокслета, представлены в табл. 1.

Таблица 1

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

| Растворитель | Выход экстракта, % | Содержание авермектина, % | Выход авермектина, % |
|-------------------|--------------------|---------------------------|----------------------|
| Гексан | 23,4 ± 1,5 | 10,4 ± 0,1 | 2,43 ± 0,05 |
| Хлористый метилен | 33,6 ± 1,1 | 5,8 ± 0,1 | 1,95 ± 0,05 |
| Этанол | 38,2 ± 0,8 | 6,8 ± 0,1 | 2,60 ± 0,05 |

Исследованные органические растворители извлекают из субстрата 1,9–2,6 % авермектина. При использовании этанола — более полярного по сравнению с гексаном и метиленхлоридом растворителя — наблюдается значительно более высокий выход экстракта ввиду перехода в раствор балластных — менее липофильных — веществ. В этом случае извлекается до 2,6 % авермектина от массы абсолютно сухого сырья. При использовании хлористого метилена выход экстракта сопоставим с полученным при экстракции этанолом, но выход авермектина значительно ниже.

Эксперимент по СКФ-экстракции состоял из 20 опытов, 6 из которых в центре плана. Матрица планирования эксперимента в натуральном виде и полученные результаты представлены в табл. 2. Выход экстракта составил от

Таблица 2

Матрица планирования и результаты эксперимента

| № опыта | Величина фактора в натуральном виде | | | Величина фактора в кодированном виде | | | Выход экстракта, <i>W</i> , % | Содержание авермектина в экстракте <i>A</i> , % | Выход авермектина от массы сырья <i>B</i> , % |
|---------|-------------------------------------|---------------|----------------|--------------------------------------|----------|----------|-------------------------------|---|---|
| | <i>X</i> , МПа | <i>Y</i> , °С | <i>Z</i> , мин | <i>x</i> | <i>y</i> | <i>z</i> | | | |
| 1 | 20 | 45 | 80 | -1 | -1 | -1 | 4,45 | 30,8 | 1,37 |
| 2 | 30 | 45 | 80 | +1 | -1 | -1 | 9,59 | 11,6 | 1,11 |
| 3 | 20 | 75 | 80 | -1 | +1 | -1 | 4,12 | 21,1 | 0,87 |
| 4 | 30 | 75 | 80 | +1 | +1 | -1 | 7,34 | 27,7 | 2,04 |
| 5 | 20 | 45 | 120 | -1 | -1 | +1 | 3,55 | 34,7 | 1,23 |
| 6 | 30 | 45 | 120 | +1 | -1 | +1 | 10,4 | 35,3 | 3,67 |
| 7 | 20 | 75 | 120 | -1 | +1 | +1 | 1,61 | 53,1 | 0,86 |
| 8 | 30 | 75 | 120 | +1 | +1 | +1 | 8,88 | 59,0 | 5,24 |
| 9 | 16,59 | 60 | 100 | -α | 0 | 0 | 2,33 | 25,4 | 0,59 |
| 10 | 33,41 | 60 | 100 | +α | 0 | 0 | 10,7 | 38,9 | 4,17 |
| 11 | 25 | 34,77 | 100 | 0 | -α | 0 | 10,1 | 33,1 | 3,33 |
| 12 | 25 | 85,23 | 100 | 0 | +α | 0 | 5,43 | 26,3 | 1,43 |
| 13 | 25 | 60 | 66,36 | 0 | 0 | -α | 6,66 | 31,8 | 2,12 |
| 14 | 25 | 60 | 133,64 | 0 | 0 | +α | 13,7 | 31,1 | 4,26 |

Окончание таблицы 2

| № опыта | Величина фактора в натуральном виде | | | Величина фактора в кодированном виде | | | Выход экстракта, W , % | Содержание авермектина в экстракте A , % | Выход авермектина от массы сырья B , % |
|---------|-------------------------------------|----------|-----------|--------------------------------------|-----|-----|--------------------------|--|--|
| | X , МПа | Y , °С | Z , мин | x | y | z | | | |
| 15 | 25 | 60 | 100 | 0 | 0 | 0 | 9,19 | 38,2 | 3,51 |
| 16 | 25 | 60 | 100 | 0 | 0 | 0 | 10,4 | 33,7 | 3,50 |
| 17 | 25 | 60 | 100 | 0 | 0 | 0 | 10,5 | 38,4 | 4,01 |
| 18 | 25 | 60 | 100 | 0 | 0 | 0 | 9,21 | 44,4 | 3,65 |
| 19 | 25 | 60 | 100 | 0 | 0 | 0 | 10,3 | 35,9 | 3,70 |
| 20 | 25 | 60 | 100 | 0 | 0 | 0 | 8,98 | 53,5 | 3,73 |

3,55 до 13,69 %. В ходе анализа опытов, проводимых в центре плана при одинаковых условиях, была выявлена высокая воспроизводимость результатов: дисперсия (Se) для параметра выхода не превысила 11 %. 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 2,1 %.

Математической обработкой приведенных данных получено уравнение регрессии, описывающее зависимость выхода экстракта от параметров экстракции (1). Данное уравнение статистически адекватно описывает процесс экстракции по параметру «выход экстракта» в пределах указанной выше погрешности:

$$W = 9,305 + 2,678x - 1,012y + 0,789z - 1,353x^2 - 0,919y^2. \quad (1)$$

Величина критерия Фишера составила 2,92 при пороговом значении 5,05, коэффициент множественной корреляции 0,88 при средней относительной ошибке аппроксимации 25,5 %.

Полученные результаты показывают, что выбранные факторы (температура, давление и продолжительность процесса) являются значимыми, причем зависимость выхода экстракта от давления и температуры является нелинейной.

На рис. 3 (см. цв. вкладку) представлена поверхность отклика функции W на изменение температуры и давления при продолжительности экстракции 133 мин. На ней наблюдается точка максимума в области температуры 60 °С и давления 25 МПа.

Аналогично получено уравнение регрессии для параметра A :

$$A = 40,52 + 6,57z + 4,46yz. \quad (2)$$

Данное уравнение также статистически адекватно описывает процесс экстракции по параметру «содержание авермектина в экстракте» в пределах указанной выше погрешности. В данном случае величина критерия Фишера составила 3,17 при пороговом значении 5,05, коэффициент множественной корреляции 0,56 при средней относительной ошибке аппроксимации данных — 32,6 %.

Значимыми факторами являются температура и продолжительность процесса, причем эти факторы значимы в сочетании друг с другом.

Поверхность отклика содержания авермектина в экстракте от давления и температуры при постоянной продолжительности экстракции 133 мин

Вкладка к статье А.Д. Ивахнова и Т.Э. Скребец «Извлечение авермектина из *Streptomyces avermitilis* сверхкритическим диоксидом углерода»

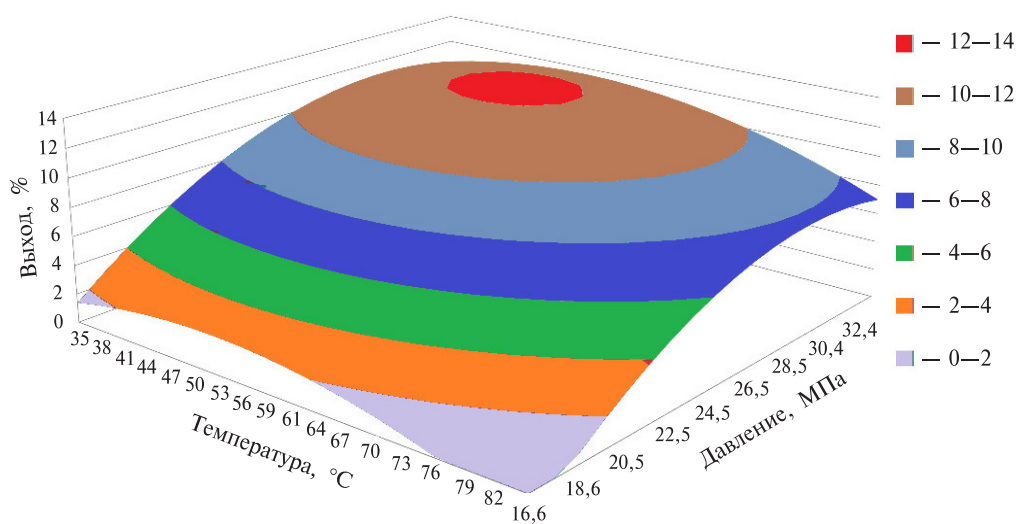


Рис. 3. Поверхность отклика функции W на изменение температуры и давления (продолжительность процесса 133 мин)

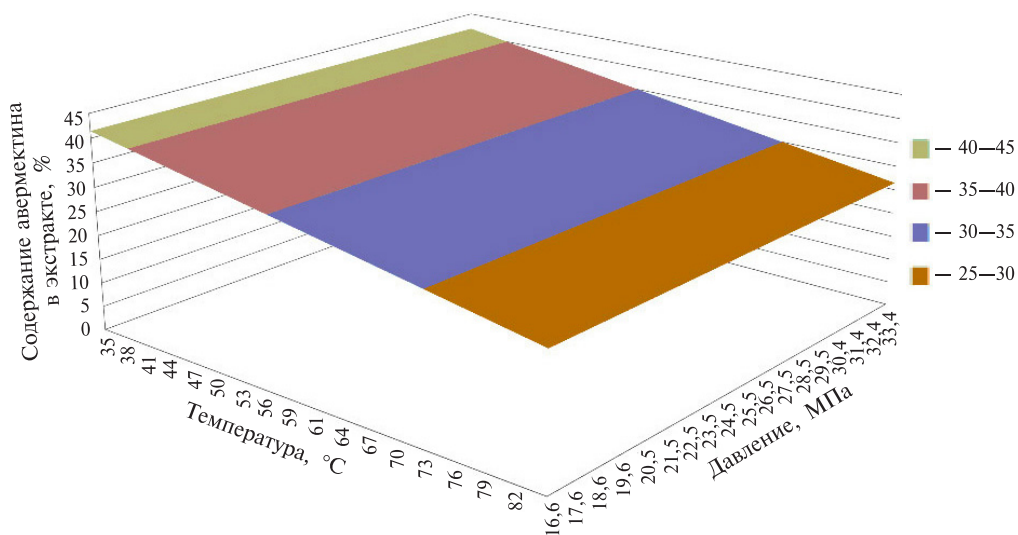


Рис. 4. Поверхность отклика функции A на изменение температуры и давления (продолжительность 133 мин)

Таблица 3

Оптимальные значения факторов процесса СКФ-экстракции авермектина из бактерии *Streptomyces avermitilis*

| Фактор | Параметры | |
|-------------------------------------|-----------|-----------|
| | <i>W</i> | <i>A</i> |
| Давление, МПа | 29,9 | 16,6—33,4 |
| Температура, °С | 52 | 85 |
| Продолжительность, мин | 134 | 134 |
| Максимальное значение параметров, % | 12,2 | 64,2 |

представлена на рис. 4 (см. цв. вкладку). Она имеет линейный вид, то есть при постоянной продолжительности процесса содержание авермектина в экстракте линейно уменьшается с ростом температуры в соответствии с уравнением (2).

Апроксимационное уравнение, описывающее выход авермектина от а.с. сырья (для параметра *B*), статистически недостоверно, так как величина критерия Фишера составила 16,2 при пороговом значении 5,05. Коэффициент множественной корреляции 0,96 при средней относительной ошибке аппроксимации экспериментальных данных 15,2 %. Анализ полученного уравнения не имеет практического смысла.

При анализе полученных уравнений регрессии (1 и 2) определены оптимальные значения определяющих факторов, соответствующие максимально возможному выходу экстракта (*W*) и содержанию в нем авермектина (*A*), представленные в табл. 3.

Из этого следует, что оптимизация процесса по параметрам *W* и *A* приводит к максимальной величине параметра продолжительности экстракции (133 мин) и значениям температуры 52 и 85 °С, соответственно.

Оптимальная с точки зрения максимума выхода экстракта величина давления составляет 29,9 МПа. Поскольку содержание авермектина в экстракте не зависит от давления в исследованном диапазоне, данная величина давления принята в качестве оптимальной и для параметра *A*. В качестве оптимальной принята температура 85 °С, при которой образуется экстракт наиболее богатый авермектином.

В табл. 4 представлены результаты подтверждающего эксперимента.

При проведении подтверждающего эксперимента получен экстракт с выходом 13,1 % и содержанием авермектина 40,9 %. Ошибка модели по параметру *W*

Таблица 4

Результаты подтверждающего эксперимента

| Показатели | Параметры | |
|-------------------------------|-----------|----------|
| | <i>W</i> | <i>A</i> |
| Расчетное значение, % | 11,6 | 64,2 |
| Экспериментальное значение, % | 13,1 | 40,9 |
| Ошибка (δ), % | 13,2 | 36,3 |

составила 13,2%, что свидетельствует о корректности выбранной математической модели для описания выхода экстракта в заданном диапазоне факторов варьирования. Содержание авермектина в экстракте (40,9%) соответствует ошибке прогнозирования по параметру A (35,3%). Полученный оптимум может быть уточнен с применением подхода крутого восхождения.

Выход авермектина в ходе контрольной СКФ-экстракции составил 5,36% от а.с. сырья, что превышает выходы, полученные при жидкостной экстракции в аппарате Сокслета, и получен более концентрированный по авермектину экстракт. Таким образом, увеличение степени извлечения авермектина из бактерии *Streptomyces avermitilis* возможно при проведении СКФ-экстракции диоксидом углерода.

При исследовании адсорбции красителей метиленового голубого (МГ) и Конго красного (КК) на шроте, остающемся после экстракции авермектина, показано, что полученные изотермы относятся к I типу в соответствии с классификацией Брунауэра—Деминга Т.—Деминга У.—Теллера (см. рис. 5). С использованием уравнения изотермы адсорбции Ленгмюра рассчитаны величины предельной сорбционной емкости и констант сорбционного равновесия. Сорбционная емкость по МГ — катионному красителю (192,2 мг/г) выше, чем по КК, имеющему анионный характер (142,5 мг/г). При этом устойчивость комплекса адсорбата с адсорбентом, определяемая величиной константы адсорбционного равновесия, выше для анионного красителя (для КК и МГ 24,4 и 4,43 л/г, соответственно). Величины сорбционной емкости полученного шрота близки к определенным ранее для полисахаридного комплекса бактерии *Streptomyces avermitilis* (181,8 и 138,9 мг/г по МГ и КК, соответственно) [4]; однако выход шрота в данной работе составляет 87%, что значительно превышает выход полисахаридного комплекса (17%), получаемого методом последовательного кислотного-щелочного гидролиза. В работе [19] изучены сорбционные свойства полисахаридного комплекса, выделенного из таллома лишайника *C. rangiferina* (65,6—67,6 и 18,2 мг/г по МГ и КК, соответственно).

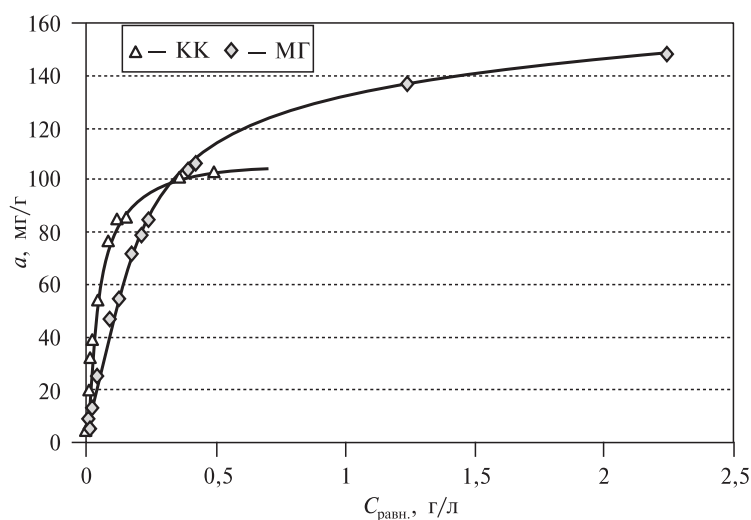


Рис. 5. Изотермы адсорбции (a) красителей КК и МГ на шроте, полученном после СКФ-экстракции биомассы бактерии *Streptomyces avermitilis*

Полученные данные показывают, что сорбционная емкость по отношению к красителям МГ и КК для шрота *S. avermitilis* существенно выше, что указывает на более высокое содержание в его структуре активных функциональных групп (сорбционных центров) и говорит о перспективности его использования в качестве сорбента (энтеросорбента).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показана возможность получения авермектина из биомассы бактерии *Streptomyces avermitilis* методом сверхкритической флюидной экстракции диоксидом углерода в отсутствие органических сорастворителей.

Методом полного факторного эксперимента с использованием ротационного равномерного плана второго порядка проведена оптимизация процесса СКФЭ и определены оптимальные условия извлечения авермектина: температура 85 °С, давление 30 МПа, продолжительность 133 мин. Получен экстракт с выходом 13 %, содержащий 41 % авермектина. Выход авермектина составил 5,36 % от абсолютно сухой биомассы.

Показана высокая сорбционная активность шрота биомассы бактерии *Streptomyces avermitilis* по отношению к красителям Конго красному (КК, анионному) и метиленовому голубому (МГ, катионному), моделирующим соединения-экотоксиканты. Определены параметры уравнения Ленгмюра для адсорбции красителей на шроте. Сорбционная емкость шрота по КК и МГ равна 112,5 и 162,2 мг/г, соответственно; константы равновесия адсорбции при комнатной температуре равны для КК и МГ 24,4 и 4,43 л/г, соответственно.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП НО «Арктика» САФУ имени М.В. Ломоносова при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект № FSRU-2024-0004).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Burg R.W., Miller B.M., Baker E.E., Birnbaum J., Currie S.A., Hartman R., Kong Y.L., Monaghan R.L., Olson G., Putter I., Tunac J.B., Wallick H., Stapley E.O., Oiwa R., Omura S. // Antimicrob. Agents and Chemother. 1979. No 15. P. 361.
2. Давыдова Е.М., Кругляк Е.Б. // Биотехнологии. 2000. № 6. С. 66.
3. Белявская Л.А., Галаган Т.А., Болтовская Е.В., Козырицкая В.Е., Валагурова Е.В., Сигарева Д.Д., Иутинская Г.А. // Stiinta Agricola. 2009. No 1. P. 29.
4. Бровка О.С., Жильцов Д.В., Ивахнов А.Д., Богданов М.В. // Химия растительного сырья. 2020. № 1. С. 57. DOI: 10.14258/jcrpm.2020015500
5. Джафаров М.Х., Василевич Ф.И., Мирзаев М.Н. // Сельскохозяйственная биотехнология. 2019. Т. 54. № 2. С. 199. DOI: 10.15389/agrobology.2019.2.199rus
6. Залепугин Д.Ю., Тилькунова Н.А., Чернышова И.В., Поляков В.С. // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. 2006. Т. 1. № 1. С. 27.
7. Ивахнов А.Д., Садкова К.С., Собашникова А.С., Скребец Т.Э. // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. 2018. Т. 13. № 3. С. 90. DOI: 10.34984/SCFTP.2018.13.3.010
8. Скребец Т.Э., Ивахнов А.Д., Репина В.И. // Химия растительного сырья. 2023. № 2. С. 253. DOI: 10.14258/jcrpm.20230211878

9. Danaher M., O'Keefe M., Glennon J.D. // J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl. 2001. Vol. 761. No 1. P. 115. DOI: 10.1016/s0378-4347(01)00315-2
10. Li Z.-Z., Chen J.-F., Li Y., Wen L.-X. // J. Nanosci. Nanotechnol. 2007. Vol. 7. No 2. P. 535. DOI: 10.1166/jnn.2007.148)
11. Park J.-H., Choi J.-H., Abd El-Aty A.M., Park J.-S., Kim Bo M., Na T.W., Park K.H., Yang A., Musfiqur Rahman, Shim J.-H. // J. Separ. Sci. 2013. Vol. 36. No 1. P. 148. DOI: 10.1002/jssc.201200600.
12. Унрод В.И., Солодовник Т.В. // Биополимеры и клетка. 2001. Т. 17. № 6. С. 526.
13. Rinaldo M. // Prog. Polym. Sci. 2006. P. 603. DOI:10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001
14. Скребец Т.Э., Ивахнов А.Д., Маматмуродов Х.Б. // Химия растительного сырья. 2022. № 2. С. 279. DOI: 10.14258/jcrpm.20220210520.
15. Джонсон Н., Лион Ф. Статистика и планирование эксперимента в технике и науке. М.: Мир, 1980. 610 с.
16. Назаров Н.Г. Измерение: планирование и обработка результатов. М.: Изд-во стандартов, 2000. 304 с.
17. Саутин С.Н. Планирование эксперимента в химии и химической технологии. Л.: Химия, 1975. 320 с.
18. Taspinar N. // Med Records. 2023. Vol. 5. No 1. P. 126. DOI: 10.37990/medr.1183807
19. Жильцов Д.В., Бровко О.С., Паламарчук И.А., Ивахнов А.Д., Бойцова Т.А., Чухчин Д.Г. // Известия Уфимского научного центра РАН. 2018. Т. 3. № 3. С. 9.

SUPERCritical FLUID EXTRACTION OF AVERMECTIN FROM *STREPTOMYCES AVERMITILIS* USING CARBON DIOXIDE

A.D. Ivahnov — N.P. Laverov Federal Research Center for Integrated Study of the Arctic, UrB RAS, Arkhangelsk, Russia; M.V. Lomonosov Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2822-9192. E-mail: Ivahnov-tema@yandex.ru (for reference).

T.E. Skrebets — M.V. Lomonosov Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk, Russia. ORCID: 0009-0001-7515-8705. E-mail: tskrebets@mail.ru

The process of supercritical fluid extraction of avermectin from the bacterial biomass of *Streptomyces avermitilis* with carbon dioxide was optimized by the method of a full factorial experiment using a second-order rotatable uniform plan. When planning, the main levels chosen were a pressure of 25 MPa, a temperature of 60 °C, and an extraction duration of 100 min. The analysis of the regression equation made it possible to establish the optimal process parameters: 30 MPa, 85 °C, and 133 min. In the control experiment, an extract was obtained with a yield of 13 %, containing 41 % avermectin. The yield of avermectin was 5.36 % of absolutely dry biomass, which exceeds the extraction yields obtained using organic solvents.

Keywords: avermectin, yield, *Streptomyces avermitilis*, supercritical fluid extraction, carbon dioxide, rotatable uniform plan, optimization.

ACKNOWLEDGEMENT

The work was performed using the equipment of the Central Research and Development Center NO «Arctic» of the M.V. Lomonosov NArFU with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project No FSRU-2024-0004).

REFERENCES

1. Burg R.W., Miller B.M., Baker E.E., Birnbaum J., Currie S.A., Hartman R., Kong Y.L., Monaghan R.L., Olson G., Putter I., Tunac J.B., Wallick H., Stapley E.O., Oiwa R., Omuraet S. // Antimicrob. Agents and Chemother. 1979. No 15. P. 361.
 2. Davidova E.V., Kruglyak E.B. // Biotekhnologiya. 2000. No 6. P. 66.
 3. Belyavskaya L.A., Galagan T.A., Boltovskaya E.V., Kozirickaya B.E., Valagurova E.V., Sigareva D.D., Iutinskaya G.A. // Stiinta Agricola. 2009. No 1. P. 29.
 4. Brovko O.S., Zil'cov D.V., Ivahnov A.D., Bogdanov M.V. // Himia rastitel'nogo sir'ya. 2020. No 1. P. 57 (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020015500
 5. Dzafarov M.Hr., Vasilevich F.I., Mirzaev M.N. // Sel'skohozyastvennaya biotekhnologiya. 2019. Vol. 54. No 2. P. 199 (in Russ.). DOI: 10.15389/agrobiology.2019.2.199rus
 6. Zulepugin D.Yu., Tilkunova N.A., Chernishova I.V., Polyakov V.S. // Sverhcriticheskie Fluidi: Teoriya i Praktika. 2006. Vol. 1. No 1. P. 27 (in Russ.).
 7. Ivahnov A.D., Sadkova K.S., Sobushnikova A.S., Skrebets T.E. // Rus. J. Phys.Chem. B. Vol. 13. P. 1135.
 8. Skrebets T.E., Ivahnov A.D., Repina V.I. // Chimia rastitel'nogo sir'ya. 2023. No 2. P. 253 (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20230211878
 9. Danaher M., O'Keefe M., Glennon J.D. // J. Chromatograp. B: Biomed. Sci. Appl. 2001. Vol. 761. No 1. P. 115. DOI: 10.1016/s0378-4347(01)00315-2
 10. Li Z.-Z., Chen J.-F., Li Y., Wen L.-X. // J. Nanosci. Nanotechnol. 2007. Vol. 7. No 2. P. 535. DOI: 10.1166/jnn.2007.148)
 11. Park J.-H., Choi J.-H., Abd El-Aty A.M., Park J.-S., Kim Bo M., Na T.W., Park K.H., Yang A., Musfiqur Rahman, Shim J.-H. // J. Separ. Sci. 2013. Vol. 36. No 1. P. 148. DOI: 10.1002/jssc.201200600
 12. Unrod V.I., Solodovnik T.V. // Biopolimeri i kletka. 2001. Vol. 17. No 6. P. 526 (in Russ.).
 13. Rinaudo M. // Prog. Polym. Sci. 2006. P. 60332. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001
 14. Skrebets T.E., Ivahnov A.D., Mamatmurodov H.B. // Himia rastitel'nogo sir'ya. 2022. No 2. P. 279 (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20220210520
 15. Dzonson N., Lion F. Statistika i planirovanie experimenta v tehnikе i nauke. M.: Mir, 1980. 610 p. (in Russ.).
 16. Nazarov N.G. Izmerenie: planirovanie i obrabotka rezul'tatov. M.: Izdatel'stvo standartov, 2000. 304 p. (in Russ.).
 17. Sautin S.N. Planirovanie experimenta v khimii i khimicheskoy tehnologii. L.: Khimiya, 1975. 320 p. (in Russ.).
 18. Taspinar N. // Med Records. 2023. Vol. 5. No 1. P. 126. DOI: 10.37990/medr.1183807
 19. Zil'cov D.V., Brovko O.S., Pulumurchuk I.A., Ivakhnov A.D., Boycova T.A., Chuhyin D.G. // Izvestiya Ufimskogo nauchnogo centra RAN. 2018. Vol. 3. No 3. P. 9 (in Russ.).
-
-