

**Н.Н. Никонова, Т.В. Хуршкайнен, А.В. Кучин**

**МАТЕМАТИЧЕСКОЕ ПЛАНИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТА  
ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ВЫДЕЛЕНИЯ  
ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ  
ИЗ ДРЕВЕСНОЙ ЗЕЛЕНИ *PINUS SYLVESTRIS***

*Введение.* Леса России состоят в основном из деревьев хвойных пород, при этом наиболее распространенным видом является сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris L.*). Для решения проблемы рационального природопользования важными и актуальными являются научные исследования, направленные на комплексное использование лесных ресурсов. Они предусматривают переработку всей биомассы дерева, включая древесную зелень (ДЗ), богатую биологически активными веществами (БАВ). Древесина сосны используется в целлюлозно-бумажном производстве, деревообрабатывающей и лесохимической промышленности, при этом практически не использованными на лесосеке остаются 16–22% древесных отходов в виде пней, ветвей, древесной зелени (хвоя, кора и одревесневшие побеги) от общего объема заготовленной и вывезенной для реализации древесины [Михайлов и др., 2016; Репах и др., 2000].

Для практического применения проводятся исследования различных частей сосны: коры, хвои, древесины, шишек [Kilic et al., 2011; Ucar, 2008; Пермякова и др., 2008; Metsamuuronen et al., 2019]. Хвоя сосны содержит многочисленные и разнообразные по своей структуре биологически активные вещества изопrenoидной природы, фитостерины, фенолкарбоновые кислоты, стильбены, лигнин, хлорофилл, пектины [Teng et al., 2010; Oliveira dos Santos et al., 2013; Tanaka et al., 2008]. Сумма кислот, выделяемых из экстрактов хвойного сырья, используется в настоящее время в виде хлорофилл-каротиновой и бальзамической пасты. Монометиловый эфир пинифоловой кислоты обладает сильными репеллентными свойствами против грызунов, благодаря чему он нашел применение в качестве экологически безопасного средства защиты растений [Teng et al., 2010; Рошин и др., 1991; Султанов и др., 2019].

Основным технологическим приемом выделения БАВ из хвойного сырья является процесс экстракции. Выход экстрактивных веществ (ЭВ) яв-

ляется одной из важных характеристик, которая дает возможность оценить эффективность применяемой технологии. Традиционно используют различные методы экстракции с применением органических растворителей: этанол, ацетон, этилацетат, бензин и т. д. [Arrabal et al., 2014; Hou et al., 2019; Venkatesan et al., 2019]. Классические методы выделения экстрактивных соединений из растительного сырья – мацерация (настаивание), перколяция (непрерывная фильтрация экстрагента сквозь слой сырья) – как правило, недостаточно эффективны, так как не обеспечивают полноту извлечения БАВ из сырья. Кроме того, они характеризуются высокой длительностью и использованием пожароопасных и токсичных органических растворителей, удаление которых необходимо проводить при высокой температуре, что отрицательно сказывается на качестве извлекаемого продукта [Ушанова и др., 2006; Тюлькова и др., 2013]. Поэтому важно подобрать подходящий метод экстракции растительного сырья, который эффективно извлекает БАВ и помогает сохранить их свойства [Rombaut et al., 2014]. Кроме того, в соответствии с экологическими требованиями предпочтительно использовать экологически чистые методы экстракции и обработки, чтобы гарантировать высококачественный и безопасный экстракт или продукт [Chemat et al., 2012].

Таким образом, разработка эффективных методов экстракции без применения токсичных растворителей для получения экологически безопасных биопрепаратов является актуальной задачей. В Институте химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН разработан эмульсионный метод экстракции [Кучин и др., 1998] растительного сырья в водно-щелочной среде, который не уступает традиционным методам извлечения низкомолекулярных компонентов и позволяет эффективно выделять как гидрофильные, так и гидрофобные соединения. В процессе обработки растительного сырья липидная часть переходит в водную среду вместе с водорастворимыми компонентами. Этот эффект достигается за счет эмульсионных систем, которые создаются в процессе извлечения из сырья поверхностно-активных веществ (солей смоляных и жирных кислот, фосфолипидов, глицеридов и т. д.) при действии щелочного раствора [Кучин и др., 2007]. Преимуществом этого метода являются мягкие температурные режимы и экологическая безопасность процесса.

Процесс извлечения низкомолекулярных соединений методом эмульсионной экстракции зависит от следующих технологических факторов: степени измельчения сырья, концентрации щелочного раствора, отноше-

ния объема щелочного раствора к массе сырья (гидро модуля), температуры и времени экстракции [Хуришкайнен и др., 2017; Кучин и др., 2007]. Так, например, значение используемого Г/М зависит от типа исследуемого сырья и применяемого растворителя. При экстракции различных частей хвойных деревьев используют Г/М в диапазоне 10:1–20:1 [Тюлькова и др., 2013; Анашенков и др., 2008; Левин и др., 2006]. Изменяя технологические параметры экстракции, можно регулировать данный процесс и влиять на выход биологически активных веществ. Для оптимизации параметров наиболее эффективно используются математико-статистические методы планирования. Эти методы позволяют сократить количество экспериментов за счет оптимизации хода исследования [Tranquilino-Rodriguez et al., 2020; Yim et al., 2012].

Среди большого количества технологических факторов экстракции основное внимание в настоящем исследовании было уделено концентрации водного раствора NaOH и гидро модулю (Г/М). Целью работы являлось определение оптимальных условий выделения суммы ЭВ из ДЗ сосны обыкновенной методом эмульсионной экстракции с использованием математического планирования многофакторного эксперимента.

*Материалы и методика исследования.* ДЗ сосны заготавливали вручную осенью в пригородных лесах г. Сыктывкара. Размол веток проводили на шнековом измельчителе до фракции 2–5 мм. Измельченное сырье хранили в морозильной камере. Перед проведением опытов определяли влажность сырья по методу Дина и Старка [Колесников, 1966].

В качестве метода экстракции применяли эмульсионный способ [Кучин и др., 1998], экстрагентом служил водный раствор NaOH. Опыты проводили в лабораторном экстракторе объемом 1 л с механическим перемешиванием (1000 об/мин).

Измельченное сырье (50 г) настаивали в 5%-м водном растворе NaOH при соотношении объема щелочного раствора к массе сырья 10:1 в течение 60 мин. Далее проводили перемешивание смеси, процесс осуществляли в течение 30 мин. Полученную гетерогенную смесь фильтровали на воронке Бюхнера для отделения твердой фазы. Остальные опыты в исследовании проводили при варьировании значений Г/М и концентрации водного раствора NaOH.

*Анализ экстракта.* Выход ЭВ (% от массы сухого сырья) определяли, суммируя массу кислых и нейтральных компонентов, выделенных из полученного эмульсионного экстракта кислотно-основным методом [Кучин и

др., 1998]. Нейтральные компоненты выделяли петролевым эфиром. Оставшийся после выделения нейтральных веществ водно-щелочной раствор подкисляли 12%-м раствором серной кислоты до  $\text{pH} = 3$  и экстрагировали кислые компоненты диэтиловым эфиром.

*Математический анализ.* Комплексную оценку влияния выбранных технологических параметров на выход ЭВ осуществляли методом математического планирования многофакторного эксперимента с построением ротatableльного композиционного униформ – плана второго порядка для двух факторов [Богданович и др., 2010].

Независимыми переменными, изученными в этом эксперименте, были концентрация водного раствора  $\text{NaOH}$ , % ( $X_1$ ) и Г/М ( $X_2$ ), в то время как переменной ответа был выход ЭВ ( $Y$ ), % от массы сухого сырья. Задача оптимизации сводилась к определению значений технологических параметров, обеспечивающих максимальный выход ЭВ. Значения изучаемых факторов и интервалы их варьирования представлены в табл. 1. Для обеспечения ортогональности плана были добавлены звездные (дополнительные) точки. Величина звездного плеча  $\alpha$  для ротatableльного плана второго порядка зависит от факторного пространства, то есть количества независимых переменных, влияющих на процесс. Так, табличное значение звездного плеча  $\alpha$  в плане для двух факторов равно 1,414 [Богданович и др., 2010] и соответствующие ему значения переменных в натуральном виде приведены в табл. 1.

Таблица 1

**Уровни и интервалы варьирования факторов**

**Levels and intervals of variation of factors**

Фактор	Шаг варьирования, $\lambda$	Характеристики плана				
		Уровни факторов				
		-1,414	-1	0	+1	+1,414
Концентрация водного раствора $\text{NaOH}$ , $X_1$ , %	1	3,6	4	5	6	6,4
Г/М, $X_2$	2	7:1	8:1	10:1	12:1	13:1

По полученным данным рассчитывали коэффициенты уравнения регрессии и оценивали их значимость по критерию Стьюдента. Уравнения регрессии со значимыми коэффициентами представляют собой математи-

ческую модель зависимости выходных параметров от заданных варьируемых факторов, представленных в кодированных значениях.

Модель включала 13 опытов, 5 из которых находились в центре плана. Данные анализировались регрессиями с использованием метода наименьших квадратов. Полиномиальное уравнение II степени было следующим:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{22} X_2^2,$$

где  $Y$  – прогнозируемый ответ;  $\beta_0$  – коэффициент свободного члена уравнения;  $\beta_1, \beta_2$  – линейные коэффициенты;  $\beta_{12}$  – коэффициент взаимодействия двух исследуемых факторов;  $\beta_{11}, \beta_{22}$  – квадратичные коэффициенты;  $X_1$  и  $X_2$  – значения независимых переменных (концентрация водного раствора NaOH и Г/М).

Адекватность полученного уравнения со значимыми коэффициентами проверяли по критерию Фишера.

*Результаты исследования.* Определение оптимальных условий экстракции ДЗ сосны эмульсионным способом в данном исследовании было проведено методом поверхности отклика с использованием ротатабельного композиционного равномерного плана второго порядка, который включал 13 экспериментальных опытов со всеми возможными комбинациями уровней двух изучаемых факторов, при этом 5 из них были в центре плана.

Основные факторы, влияющие на процесс экстракции и их диапазон, были отобраны на основании литературных данных и серии ранее проведенных исследований по переработке ДЗ пихты и ели методом эмульсионной экстракции [Карманова и др., 2002; Хуришкайнен и др., 2017; Кучин и др., 2007].

Выход ЭВ (% от массы сухого сырья) рассматривался как параметр оптимизации, а независимыми переменными были концентрация водного раствора NaOH (%) и Г/М. Все опыты проводили в соответствии с матрицей плана, изображенной в табл. 2. Чтобы исключить влияние систематических ошибок, вызванных внешними условиями, порядок экспериментов был полностью рандомизирован. Условия планированного эксперимента в кодированном виде и результаты реализации матрицы приведены в табл. 2.

Нами был проведен регрессионный анализ [Богданович и др., 2010] полученных экспериментальных данных, в результате чего получены коэффициенты и уравнение регрессии в кодированных значениях:

$$Y = 9,84 + 0,19 X_1 + 0,58 X_2 - 1,67 X_1^2 - 0,64 X_1 X_2 - 2,62 X_2^2. \quad (1)$$

Таблица 2

**Матрица планирования эксперимента в кодированном виде  
и результаты ее реализации**

**The matrix of planning the experiment in coded form  
and the results of its implementation**

№ опыта	$X_1$	$X_2$	Выход ЭВ (Y), % от массы сухого сырья
1	-1	-1	3,10
2	1	-1	6,05
3	-1	1	5,96
4	1	1	6,36
5	-1,414	0	7,33
6	1,414	0	6,02
7	0	-1,414	4,26
8	0	1,414	5,29
9	0	0	9,06
10	0	0	9,72
11	0	0	10,40
12	0	0	10,04
13	0	0	9,98

Примечание. Опыты с 1 по 4 основные; с 5 по 8 – звездные точки; с 9 по 13 – центр плана («0»).

На следующем этапе оценивалась значимость полученных коэффициентов по критерию Стьюдента. Для этого были определены доверительные интервалы для дисперсий групп коэффициентов ( $\delta_i = 0,49$ ,  $\delta_{ij} = 0,69$ ,  $\delta_{ii} = 0,53$ ) при критическом распределении Стьюдента ( $t_{кр}$ ) для уровня значимости  $\alpha = 0,05$  и числе степеней свободы  $f_2 = 4$ , равном 2,77, и проведено сравнение полученных значений со значениями коэффициентов уравнения регрессии (1).

Все коэффициенты в уравнении регрессии (1), превышающие доверительные интервалы для дисперсий групп коэффициентов, являются значимыми. Соответственно, коэффициенты:  $\beta_1 (0,19) < \delta_i (0,49)$  и  $\beta_{12} (0,64) < \delta_{ij} (0,69)$  являются незначимыми, и их следует исключить из уравнения, остальные же коэффициенты  $\beta_2$ ,  $\beta_{11}$  и  $\beta_{22}$  являются значимыми, и мы оставим их для оценки адекватности полученной модели.

В результате, после исключения из уравнения эффектов с незначимыми коэффициентами получено уравнение, используемое нами для оценки адекватности модели:

$$Y = 9,84 - 1,67X_1^2 - 2,62X_2^2 \quad (2)$$

Для проверки адекватности модели проведено сравнение рассчитанного критерия Фишера с табличным значением. Рассчитанное значение критерия Фишера  $F = 4,75$  для полученного уравнения (2) не превосходит табличного  $F_{кр} = 6,26$  для уровня значимости  $\alpha = 0,05$  (95%) и числа степеней свободы  $f_1 = 5$ ,  $f_2 = 4$ . Таким образом, можно считать, что полученное эмпирическое уравнение верно описывает опытные данные.

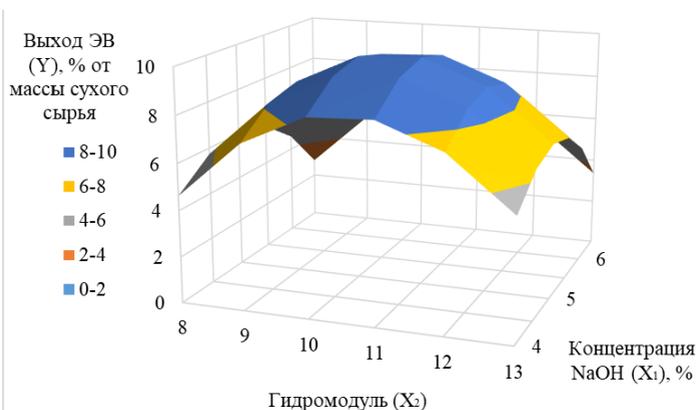
Однако можно предположить, что некоторые из коэффициентов уравнения, не являясь значимыми, правильно прогнозируют изменения в факторном пространстве в условиях опытов. Незначимое их влияние не всегда свидетельствует о том, что тот или иной параметр в уравнении искажает информацию, а значит необходимо эту информацию исключать из анализа. Во многих случаях незначительное влияние коэффициента на прогнозирующую способность модели объясняется слабой, но по существу верной его информативностью [Богданович и др., 2010].

Для проверки высказанного предположения нами в уравнение был введен коэффициент  $\beta_{12}$  как самый больший из незначимых коэффициентов по абсолютному значению. В результате повторного расчета, значение расчетного критерия Фишера уменьшилось с 4,75 до 4,2. Таким образом, делаем вывод о необходимости оставить произвольно введенного в модель коэффициента  $\beta_{12}$  и использовать новое уравнение регрессии для анализа поверхности отклика.

$$Y = 9,84 - 1,67X_1^2 - 0,64X_1X_2 - 2,62X_2^2 \quad (3)$$

Для наглядности, на основе полученного уравнения регрессии (3) построен трехмерный график поверхности отклика (рисунок), графически изображающий зависимость между выходом ЭВ и двумя независимыми переменными.

Согласно регрессионному анализу, коэффициенты при независимых переменных указывают на силу влияния факторов. Чем больше численная величина коэффициента, тем большее влияние оказывает фактор. Анализ модели показал, что наибольшее влияние в заданном интервале варьирования факторов на параметр оптимизации оказывает Г/М ( $X_2$ ), а меньшее влияние – концентрация водного раствора NaOH ( $X_1$ ) соответственно.



Поверхность отклика выхода экстрактивных веществ в зависимости от натуральных значений рассматриваемых факторов (концентрация водного раствора NaOH и Г/М)

The response surface of the yield of extractive substances depending on the natural values of the factors under consideration (concentration of alkaline solution of NaOH and hydromodule)

Известно, что если коэффициент имеет положительный знак, то с увеличением значения фактора параметр оптимизации увеличивается, а если отрицательный, то уменьшается. Соответственно, при увеличении Г/М выход ЭВ увеличивается. Согласно экспериментальным данным значение выхода ЭВ растет при увеличении Г/М до 10:1. Далее устанавливается равновесная концентрация в системе «сырье – экстрагент», что подтверждается литературными данными [Пономарев, 1976]. При увеличении объема экстрагента все больше ЭВ переходит из растительной ткани в растворитель, но до определенного предела, которым является момент, когда все легко связанные вещества клетки перешли в раствор, и остаются только прочно связанные и трудно доступные растворителю [Левин и др., 2006].

Значимые коэффициенты при квадратичных эффектах  $X_1^2$  и  $X_2^2$  в уравнении регрессии (3) свидетельствуют о наличии экстремальных значений функции в выбранном диапазоне переменных. Причем отрицательный знак коэффициента свидетельствует о наличии максимума на кривых, характеризующих изменение выхода ЭВ в зависимости от концентрации NaOH и Г/М, что подтверждается экстремумом функции на графике поверхности отклика (см. рисунок).

На основе результатов анализа регрессионного уравнения, а также в соответствии с характером поверхности отклика и рассмотрения влияния

технологических параметров на процесс выделения ЭВ был определен следующий оптимальный режим в выбранном диапазоне переменных: концентрация водного раствора NaOH – 5%, Г/М – 10:1. В оптимальном режиме был получен экстракт с выходом ЭВ 9,84% от массы сухого сырья, что сопоставимо с результатами, полученными при экстракции сырья органическими растворителями. При экстракции ДЗ сосны гексаном выделяется до 14% от массы сухого сырья экстрактивных веществ [Рошин, Султанов, 2004], диэтиловым эфиром 9,3 – 14,8% [Васильев и др., 1995], ацетоном 9,9% [Routa et al., 2020].

*Выводы.* На основе матрицы, полученной с помощью метода математического планирования с построением ротатабельного композиционного униформ – плана второго порядка для двух факторов, проведен многофакторный эксперимент. Оценено влияние концентрации водного раствора NaOH и гидромодуля на выход ЭВ на основе полученного уравнения регрессии II порядка. Установлено, что наибольшее влияние оказывает Г/М. С помощью метода поверхности отклика определены оптимальные для рассматриваемого диапазона значений факторов условия процесса экстрагирования ДЗ сосны эмульсионным способом: концентрация водного раствора NaOH – 5%, Г/М – 10:1. В оптимальных условиях получен экстракт с выходом ЭВ 9,84% от массы сухого сырья. Полученная модель является адекватной и может быть использована для оптимизации процесса эмульсионной экстракции ДЗ сосны.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-38-90283.

### Библиографический список

*Arrabal Carlos, Concepcion Garcia-Vallejo Maria, Cadahia Estrella, Manuel Cortijo.* Seasonal variations of lipophilic compounds in needles of two chemotypes of *Pinus pinaster* // *Plant Syst Evol.* 2014. P. 359–367. URL: <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0888-5>.

*Chemat F., Vian M.A., & Cravotto G.* Green extraction of natural products: Concept and principles. *International Journal of Molecules Sciences*, 13, 2012. P. 8615–8627. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms13078615>

*Hou K., Bao M., Wang L., Zhang H., Yang L., Zhao H., & Wang Z.* Aqueous enzymatic pretreatment ionic liquid–lithium salt based microwave–assisted extraction of essential oil and procyanidins from pinecones of *Pinus koraiensis* // *Journal of Cleaner Production.* 2019. Vol. 236. P. 1–13. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.07.056>.

*Kilic A., Hafizoglu H., Dönmez I.E., Tümen I., Sivrikaya H., Reunanen M., Hemming J.* *HolzalsRoh- und Werkstoff.* Extractives in the cones of *Pinus* species // *Eur. J. Wood Prod.* 2011. Vol. 69, no. 1. P. 37–40. URL: <https://doi.org/10.1007/s00107-010-0421-2>.

*Metsamuuronen Sari., Heli Sire'n.* Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: a review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce // *Phytochemistry Reviews*. 2019. No. 18(3). P. 623–664. URL: <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09630-2>.

*Oliveira dos Santos A., Izumi E., Ueda-Nakamura T., Prado Dias-Filho B., Valdir Florencio da Veiga-Junior, Celso Vataru Nakamura.* Antileishmanial activity of diterpene acids in copaiba oil // *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013. Vol. 108. P. 59–64. URL: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762013000100010>.

*Rombaut N., Tixier A.-S., Bily A., Chemat F.* Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 2014. No. 8, P. 530–544. URL: <https://doi.org/10.1002/ bbb.1486>

*Routa Johanna, Brännström Hanna, Hellström Jarkko, Laitila Juha.* Influence of storage on the physical and chemical properties of Scots pine bark // *BioEnergy Research*. 2020. PagesAhead of Print. <https://doi.org/10.1007/s12155-020- 10206-8>

*Tanaka R., Tokuda H., Ezaki Y.* Cancer chemopreventive activity of “rosin” constituents of *Pinus sp.* and their derivatives in two-stage mouse skin carcinogenesis test // *Phyto-medicine*. 2008. No. 15. P. 985–992. URL: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.02.020>.

*Teng Jie, Zhang Rong, Zhang Yan-Wen, Hong-Quan Duan and Yoshihisa Takashi.* A new labdanic norditerpene from *Pinus sylvestris* // *Natural Product Research*. 2010. Vol. 24. P. 1587–1591. DOI: 10.1080/14786410802696684.

*Tranquilino-Rodriguez E., Martinez-Flores H.E., Rodiles-Lopez J.O.* Optimization in the extraction of polyphenolic compounds and antioxidant activity from *Opuntia ficus-indica* using response surface methodology // *Journal of Food Processing and Preservation*. 2020. No. 44(6). URL: <https://doi.org/10.1111/jffpp.14485>

*Ucar M.B., Ucar G.* Lipophilic extractives and main components of black pine cones // *Chemistry of Natural Compounds*. 2008. Vol. 44, no. 3. P. 380–383. URL: <https://doi.org/10.1007/s10600-008-9071-6>.

*Venkatesan T., Choi Y.-W., & Kim Y.-K.* Impact of Different Extraction Solvents on Phenolic Content and Antioxidant Potential of *Pinus densiflora* Bark Extract // *Biomed Research International*. 2019. P. 1–14. <https://doi.org/10.1155/2019/3520675>.

*Yim H.S., Chye F.Y., Koo S.M., Matanjun P., How S.E., & Ho C.W.* Optimization of extraction time and temperature for antioxidant activity of edible wild mushroom *Pleurotus porrigens* // *Food and Bioproducts Processing*. 2012. No. 2. P. 235–242. URL: <https://doi.org/10.1016/j. fbp.2011.04.001>

*Анашенков С.Ю., Роцин В.И., Чернышова О.А.* Водно-щелочная экстракция древесной зелени. I. Влияние конструктивных особенностей экстракторароторно-пульсационного типа и гидромодуля на выход экстрактивных веществ // *Химия растительного сырья* №3. 2008. С. 65–70.

*Богданович Н.И., Кузнецова Л.Н., Третьяков С.И., Жабин В.И.* Планирование эксперимента в примерах и расчетах. Архангельск: АГТУ, 2010. 126 с.

Васильев С.Н., Роцин В.И., Ягодин В.И. Экстрактивные вещества древесной зелени *Pinus Sylvrstris* L. // Растительные ресурсы. 1995. Т. 31. В.2. С. 79–119.

Карманова Л.П., Кучин А.В., Королёва А.А., Хуришкайнен Т.В., Кучин В.А. Экстракция водным раствором основания как основа новой технологии получения фунгицидов и стимуляторов роста растений // Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения. 2002. № 7. С. 61–64.

Колесников А.Л. Технический анализ продуктов органического синтеза. М.: Высшая школа. 1966. С.22.

Кучин А.В., Карманова Л.П., Королёва А.А., Хуришкайнен Т.В., Сычёв Р.Л. Патент № 2298327 Российская Федерация, МПК А01N 65/00 (2006.01), А01P 21/00, А01P 3/00 Регулятор роста растений с фунгицидным действием «Вэрва» : № 2006101648/04 : заявл. 20.01.2006 : опубл. 10.05.2007. 10 с.

Кучин А.В., Карманова Л.П., Королёва А.А., Хуришкайнен Т.В., Сычёв Р.Л. Патент № 2117487 Российская Федерация, МПК А61К 35/78 (1995.01) Эмульсионный способ выделения липидов : № 96120436/14 : заявл. 04.10.1996 : опубл. 20.08.1998. 3 с.

Левин Б.Д., Федюлин А.С. Влияние гидромодуля на выход биологически активных веществ // Вестник КрасГАУ. 2006. № 2. С. 266–269

Михайлов К.Л., Гуцин В.А., Тараканов А.М. Организация сбора и переработки лесосечных отходов и дров на лесосеке // Изв. вузов. Лесной журнал, 2016. № 4. С.98. DOI: 10.17238/issn0536-1036.20 16.6.98.

Пермякова Г.В., Лоскутов С.Р., Семенович А.В. Экстракция коры хвойных водой с добавлением моноэтаноламина // Химия растительного сырья. 2008. №1. С. 37–40.

Пономарев В.О. Экстрагирование лекарственного сырья / В.О. Пономарев. М., 1976. С. 73.

Репях С.М., Ушанова В.М., Ушанов В.С., Ушанов С.В. Закономерности изменения состава древесной зелени хвойных от диаметра побегов // Химия растительного сырья. 2000. №1. С. 37–42.

Роцин В.И., Колодынская Л.А., Павлуцкая И.С., Соловьев В.А., Нагибина Н.Ю., Васильев С.Н. Патент № SU 1650681 МПК С09F 1/00(2006.01), С11В 1/10(2006.01) Способ переработки сосновой древесной зелени : № 4432710 : заявл. 15.03.1988 : опубл. 23.05. 1991. 4 с.

Роцин В.И., Султанов В.С. Патент № 2238291 Российская Федерация, МПК С 09F 1/00, С 11В 1/10 Способ переработки растительного сырья : № 2003117227/04 : заявл. 06.06.2003 : опубл. : 20.10.2004. 14с.

Султанов В.С., Куляшова Л.Б., Никитина Т.В. Патент № 2677686 Российская Федерация, МПК А61К 36/15(2006.01), А61К 31/00(2006.01), А61P 13/00(2006.01) Лекарственное средство, фармацевтическая композиция, способ лечения урогенитальных заболеваний организма человека, вызванных микроор-

ганизмами вида *Ureaplasma urealyticum* : № 2017141869 : заявл. 30.11.2017 : опубли. 21.01.2019. 16 с.

*Тюлькова Ю.А., Рязанова Т.В., Еременко О.Н., Ушанов С.В.* Моделирование процесса экстракции коры сосны водно-щелочным раствором // Журнал сибирского федерального университета. Серия: Химия. 2013. №6(3). С. 321–327.

*Ушанова В.М., Ченцова Л.И., Горчаковский В.К.* Влияние вида экстрагента на количественный и качественный состав экстрактов, получаемых из коры хвойных // Известия высших учебных заведений. Серия: Химия и химическая технология. 2006. Т. 49. № 6. С. 82–87.

*Хуришайнен Т.В., Скрипова Н.Н., Кучин А.В.* Сравнительная оценка экстракционного оборудования для эффективного выделения экстрактивных веществ хвойной древесной зелени // Теоретическая и прикладная экология. №1. 2017. С.25–30.

### References

*Anashenkov S.Ju., Roshhin V.I., Chernyshova O.A.* Vodno-shhelochnaja jekstrakcija drevesnoj zeleni. I. Vlijanie konstruktivnyh osobennostej jekstraktorarotorno-pul'sacionnogo tipa i gidromodulja na vyhod jekstraktivnyh veshhestv. *Himija rastitel'nogo syr'ja*, 2008, no. 3, pp. 65–70. (In Russ.)

*Arrabal Carlos, Concepcion Garcia-Vallejo Maria, Cadahia Estrella, Manuel Cortijo.* Seasonal variations of lipophilic compounds in needles of two chemotypes of *Pinus pinaster*. *Plant Syst Evol.*, 2014, pp. 359–367. URL: <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0888-5>.

*Bogdanovich N.I., Kuznecova L.N., Tretjakov S.I., Zhabin V.I.* Planirovanie jekspеримента v primerah i raschetah: uchebnoe posobie. [Planning an experiment in examples and calculations: a tutorial]. Arhangel'sk: AGTU, 2010. 126 p. (In Russ.)

*Chemat F., Vian M.A., & Cravotto G.* Green extraction of natural products: Concept and principles. *International Journal of Molecules Sciences*, 2012, no. 13, pp. 8615–8627. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms13078615>.

*Hou K., Bao M., Wang L., Zhang H., Yang L., Zhao H., & Wang Z.* Aqueous enzymatic pretreatment ionic liquid–lithium salt based microwave–assisted extraction of essential oil and procyanidins from pinecones of *Pinus koraiensis*. *Journal of Cleaner Production*, 2019, vol. 236, pp. 1–13. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.07.056>.

*Hurshkajnen T.V., Skripova N.N., Kuchin A.V.* Sravnitel'naja ocenka jekstrakcionnogo oborudovanija dlja jeffektivnogo vydelenija jekstraktivnyh veshhestv hvojnoj drevesnoj zeleni. *Teoreticheskaja i prikladnaja jekologija*, 2017, no. 1, pp. 25–30. (In Russ.)

*Karmanova L.P., Kuchin A.V., Koroljova A.A., Hurshkajnen T.V., Kuchin V.A.* Jekstrakcija vodnym rastvorom osnovanija kak osnova novej tehnologii poluchenija fungicidov i stimulatorov rosta rastenij. *Himija i komp'juternoe modelirovanie. Butlerovskie soobshhenija*, 2002, no. 7, pp. 61–64. (In Russ.)

Kilic A., Hafizoglu H., Dönmez I.E., Tümen I., Sivrikaya H., Reunanen M., Hemming J. *HolzalsRoh- und Werkstoff*. Extractives in the cones of Pinus species. *Eur. J. Wood Prod.*, 2011, vol. 69, no. 1, pp. 37–40. <https://doi.org/10.1007/s00107-010-0421-2>.

Kolesnikov A.L. Tehnicheskij analiz produktov organicheskogo sinteza. M.: Vysshaja shkola, 1966, p.22. (In Russ.)

Kuchin A.V., Karmanova L.P., Koroljova A.A., Hurshkajnen T.V., Sychjov R.L. Patent № 2298327 Rossijskaja Federacija, MPK A01N 65/00 (2006.01), A01P 21/00, A01P 3/00 Reguljator rosta rastenij s fungicidnym dejstviem «Vjerva» : № 2006101648/04 : zajavl. 20.01.2006 : opubl. 10.05.2007. 10 p. (In Russ.)

Kuchin A.V., Karmanova L.P., Koroljova A.A., Hurshkajnen T.V., Sychjov R.L. Patent № 2117487 Rossijskaja Federacija, MPK A61K 35/78 (1995.01) Jemul'sionnyj sposob vydelenija lipidov : № 96120436/14 : zajavl. 04.10.1996 : opubl. 20.08.1998. 3 p. (In Russ.)

Levin B.D., Fedjulin A.S. Vlijanie gidromodulja na vyhod biologicheski aktivnyh veshhestv. *Vestnik KrasGAU*, 2006, no. 2, pp. 266–269. (In Russ.)

Metsamuuronen Sari., Heli Sire'n. Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: a review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce. *Phytochemistry Reviews*, 2019, no. 18(3), pp. 623–664. URL: <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09630-2>.

Mihajlov K.L., Gushhin V.A., Tarakanov A.M. Organizacija sbora i pererabotki lesosechnyh othodov i drov na lesoseke. *Izvestija vysshih uchebnyh zavedenij. Lesnoj zhurnal*, 2016, no. 4, p. 98. DOI: 10.17238/issn0536-1036.20 16.6.98. (In Russ.)

Oliveira dos Santos A., Izumi E., Ueda-Nakamura T., Prado Dias-Filho B., Valdir Florencio da Veiga-Junior, Celso Vataru Nakamura. Antileishmanial activity of diterpene acids in copaiba oil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2013, vol. 108, pp. 59–64. URL: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762013000100010>.

Permjakova G.V., Loskutov S.R., Semenovich A.V. Jekstrakcija kory hvojnnyh vodoj s dobavleniem monojetanolamina. *Himija rastitel'nogo syr'ja*, 2008, no. 1, pp. 37–40. (In Russ.)

Ponomarev V.O. Jekstragirovanie lekarstvennogo syr'ja. M., 1976, p. 73. (In Russ.)

Repjah S.M., Ushanova V.M., Ushanov V.S., Ushanov S.V. Zakonomernosti izmenenija sostava drevesnoj zeleni hvojnnyh ot diametra pobegov. *Himija rastitel'nogo syr'ja*, 2000, no. 1, pp. 37–42. (In Russ.)

Rombaut N., Tixier A.-S., Bily A., Chemat F. Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2014, no. 8, pp. 530–544. URL: <https://doi.org/10.1002/bbb.1486>

Roshhin V.I., Kolodjynskaja L.A., Pavluckaja I.S., Solov'ev V.A., Nagibina N.Ju., Vasil'ev S.N. Patent № SU 1650681 MPK C09F 1/00(2006.01), C11B 1/10(2006.01) Sposob pererabotki sosnoj drevesnoj zeleni : no. 4432710 : zajavl. 15.03.1988 : opubl. 23.05.1991. 4 p. (In Russ.)

Roshhin V.I., Sultanov V.S. Patent № 2238291 Rossijskaja Federacija, MPK C 09F 1/00, C 11B 1/10 Sposob pererabotki rastitel'nogo syr'ja : no. 2003117227/04 : zajavl. 06.06.2003 : opubl. : 20.10.2004. 14p. (In Russ.)

Routa Johanna, Brännström Hanna, Hellström Jarkko, Laitila Juha. Influence of storage on the physical and chemical properties of Scots pine bark. *BioEnergy Research. PagesAhead of Print*, 2020. URL: <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10206-8>

Sultanov V.S., Kuljashova L.B., Nikitina T.V. Patent № 2677686 Rossijskaja Federacija, MPK A61K 36/15(2006.01), A61K 31/00(2006.01), A61P 13/00(2006.01) Lekarstvennoe sredstvo, farmacevtičeskaja kompozicija, sposob lečenija urogenital'nyh zaboljevanij organizma čeloveka, vyzvannyh mikroorganizmami vida Ureaplasma urealyticum: no. 2017141869 : zajavl. 30.11.2017: opubl. 21.01.2019. 16 p. (In Russ.)

Tanaka R., Tokuda H., Ezaki Y. Cancer chemopreventive activity of “rosin” constituents of Pinus spez. and their derivatives in two-stage mouse skin carcinogenesis test. *Phytomedicine*, 2008, no. 15, pp. 985–992. URL: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.02.020>.

Teng Jie, Zhang Rong, Zhang Yan-Wen, Hong-Quan Duan and Yoshihisa Takaishi. A new labdanic norditerpene from Pinus sylvestris. *Natural Product Research*, 2010, vol. 24, pp. 1587–1591. DOI: 10.1080/14786410802696684.

Tjul'kova Ju. A., Rjazanova T. V., Eremenko O. N., Ushanov S. V. Modelirovanie processa jekstrakcii kory sosny vodno-shhelochnym rastvorom. *Zhurnal sibirskogo federal'nogo universiteta. Serija: Himija*, 2013, no. 6(3), pp. 321–327. (In Russ.)

Tranquilino-Rodriguez E., Martinez-Flores H.E., Rodiles-Lopez J.O. Optimization in the extraction of polyphenolic compounds and antioxidant activity from Opuntia ficus-indica using response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2020, no. 44(6). URL: <https://doi.org/10.1111/jfpp.14485>

Ucar M.B., Ucar G. Lipophilic extractives and main components of black pine cones. *Chemistry of Natural Compounds*, 2008, vol. 44, no. 3, pp. 380–383. <https://doi.org/10.1007/s10600-008-9071-6>.

Ushanova V.M., Chencova L.I., Gorchakovskij V.K. Vlijanie vida jekstragenta na količestvennyj i kachestvennyj sostav jekstraktov, polučaemyh iz kory hvojnnyh. *Izvestija vysshih učebynyh zavedenij. Serija: Himija i himičeskaja tehnologija*, 2006, vol. 49, no. 6, pp. 82–87. (In Russ.)

Vasil'ev S.N., Roshhin V.I., Jagodin V.I. Jekstraktivnye veshhestva drevesnoj zeleni Pinus Sylvrstris L. *Rastitel'nye resursy*, 1995, vol. 31, B.2, pp. 79–119. (In Russ.)

Venkatesan T., Choi Y.-W., & Kim Y.-K. Impact of Different Extraction Solvents on Phenolic Content and Antioxidant Potential of Pinus densiflora Bark Extract. *BioMed Research International*, 2019, pp. 1–14. URL: <https://doi.org/10.1155/2019/3520675>.

Yim H.S., Chye F.Y., Koo S.M., Matanjun P., How S.E., & Ho C.W. Optimization of extraction time and temperature for antioxidant activity of edible wild mushroom Pleurotus porrigens. *Food and Bioproducts Processing*, 2012, no. 2, pp. 235–242. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.04.001>

Материал поступил в редакцию 01.02.2021

**Никонова Н.Н., Хуршкайнен Т.В., Кучин А.В.** Математическое планирование эксперимента для оптимизации выделения экстрактивных веществ из древесной зелени *Pinus Sylvestris* // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2021. Вып. 235. С. 221–237. DOI: 10.21266/2079-4304.2021.235.221-237

Представленная работа посвящена определению оптимальных условий выделения суммы экстрактивных веществ из древесной зелени сосны методом эмульсионной экстракции. Экологически безопасный эмульсионный метод экстракции растительного сырья в водно-щелочной среде не уступает традиционным методам извлечения низкомолекулярных компонентов и позволяет эффективно выделять как гидрофильные, так и гидрофобные соединения. Объектом данного исследования являются отходы лесозаготовок – древесная зелень сосны обыкновенной – источник природных биологически активных веществ, имеющих практическое применение. Определение оптимальных условий экстракции ДЗ сосны эмульсионным способом в данном исследовании было проведено методом поверхности отклика с использованием ротатабельного композиционного равномер-плана второго порядка, который включал 13 экспериментальных опытов со всеми возможными комбинациями уровней двух изучаемых факторов: концентрации водного раствора NaOH и гидромодуля – отношения объема щелочного раствора к массе сырья. Анализ результатов исследований показал, что в заданном интервале варьирования факторов наибольшее влияние на выход экстрактивных веществ оказывает гидромодуль, при увеличении которого до 10:1 выход увеличивается, далее устанавливается равновесная концентрация в системе «сырье – экстрагент». Установлены оптимальные условия эмульсионной экстракции древесной зелени сосны: концентрация водного раствора NaOH – 5%, гидромодуль – 10:1. В оптимальных условиях выход экстрактивных веществ составил 9,84% от массы сухого сырья, что сопоставимо с результатами, полученными традиционными методами экстракции сырья органическими растворителями.

**Ключевые слова:** древесная зелень сосны обыкновенной, экстрактивные вещества, эмульсионный метод, математическое планирование.

**Nikonova N.N., Hurshkainen T.V., Kuchin A.V.** Mathematical planning of experiments to optimize the extraction of extractive substances from needles of *Pinus sylvestris*. *Izvestia Sankt-Peterburgskoj Lesotehniceskoy Akademii*, 2021, is. 235, pp. 221–237 (in Russian with English summary). DOI: 10.21266/2079-4304.2021.235.221-237

The presented work is devoted to the determination of the optimal conditions for the isolation of the sum of extractives from wood greenery (WG) of *Pinus sylvestris*

by the method of emulsion extraction. The environmentally friendly emulsion method for the extraction of plant raw materials in an aqueous-alkaline medium is not inferior to the traditional methods of extracting low molecular weight components and makes it possible to effectively isolate both hydrophilic and hydrophobic compounds. The object of this study is logging waste – woody greenery of *Pinus sylvestris* – a source of natural biologically active substances that have practical application. The determination of the optimal conditions for the extraction of WG pine by the emulsion method in this study was carried out by the response surface method using a rotatable compositional uniform plan of the second order, which included 13 experiments with all possible combinations of the levels of two studied factors: the concentration of an aqueous solution of NaOH and the hydromodule – ratio of the volume of water-alkaline solution to the mass of raw materials. Analysis of the research results showed that in a given range of variation of factors, the greatest influence on the yield of extractive substances is exerted by the hydromodule, with an increase of which to 10: 1, the yield increases, then an equilibrium concentration is established in the "raw material – extractant" system. The optimal conditions for emulsion extraction of WG pine were established: concentration of an aqueous solution of NaOH – 5%, hydromodule 10:1. Under optimal conditions, the yield of extractive substances was 9,84% of the weight of the dry raw material, which is comparable with the results obtained by traditional methods of raw material extraction with organic solvents.

Key words: wood greenery, *Pinus sylvestris*, extractives, emulsion method, mathematical planning.

---

**НИКОНОВА Наталья Николаевна** – младший научный сотрудник, аспирант Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение Института химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. ORCID: 0000-0002-7972-214X. SPIN-код: 6052-8573, AuthorID: 1072349. Scopus AuthorID: 57211011942. Web of Science ResearcherID: AAD-6099-2021.

167000, г. Сыктывкар, Россия. E-mail: lifedream123456789@gmail.com,

**NIKONOVA Natalya N.** – junior researcher, PhD student, Federal Research Center «Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences», a separate subdivision of the Institute of Chemistry of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. ORCID: 0000-0002-7972-214X. SPIN-код: 6052-8573, AuthorID: 1072349. Scopus AuthorID: 57211011942. Web of Science ResearcherID: AAD-6099-2021.

167000, Syktyvkar, Russia. E-mail: lifedream123456789@gmail.com

**ХУРШКАЙНЕН Татьяна Владимировна** – старший научный сотрудник Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, кандидат химических наук. ORCID: 0000-0003-2710-243X. SPIN-код: 4713-9792, AuthorID: 48939. Scopus AuthorID: 57195526871. Web of Science ResearcherID: ААН ААН-6945-2020.

167000, г. Сыктывкар, Россия. E-mail: hurshkainen@chemi.komisc.ru

**HURSHKAINEN Tatyana V.** – PhD (Chemistry), Senior Researcher, Federal Research Center «Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences», a separate subdivision of the Institute of Chemistry of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. ORCID: 0000-0003-2710-243X. SPIN-код: 4713-9792, AuthorID: 48939. Scopus AuthorID: 57195526871. Web of Science ResearcherID: ААН ААН-6945-2020

167000. Syktyvkar. Russia. E-mail: hurshkainen@chemi.komisc.ru

**КУЧИН Александр Васильевич** – заведующий лаборатории органического синтеза и химии природных соединений, Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, доктор химических наук. ORCID: 0000-0003-4322-7961. SPIN-код: 8516-0721, AuthorID: 44198. Scopus AuthorID: 7005638696.

167000, г. Сыктывкар, Россия. E-mail: kutchin-av@chemi.komisc.ru

**KUCHIN Alexander V.** – DSc (Chemical), Head of the Laboratory of Organic Synthesis and Chemistry of Natural Compounds, Federal Research Center «Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences», a separate subdivision of the Institute of Chemistry of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. ORCID: 0000-0003-4322-7961. SPIN-код: 8516-0721, AuthorID: 44198. Scopus AuthorID: 7005638696

167000. Syktyvkar. Russia. E-mail: kutchin-av@chemi.komisc.ru