

¹ Государственный научный центр Российской Федерации Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, г. Москва, Российская Федерация

² Институт физической химии и электрохимии им. А.Н.Фrumкина Российской академии наук г. Москва, Российская Федерация

³ Северный филиал Государственного научного центра Российской Федерации Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, г. Архангельск, Российская Федерация

КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Татьяна Анатольевна Игнатова

E-mail: ignatova@vniro.ru

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Игнатова, Т.А., Байгильдиев, Т.М., Березина, М.О., Баскакова, Ю.А., Плакун, Л.К. (2025). Оценка возможности использования сверхкритической углекислотной экстракции при комплексной переработке морских водорослей. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 33(1), 95-115. <https://doi.org/10.36107/spfrp.2025.1.630>

ПОСТУПИЛА: 14.12.2024

ДОРАБОТАНА: 10.03.2025

ПРИНЯТА: 15.03.2025

ОПУБЛИКОВАНА: 31.03.2025

КОНФИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

ГХ-МС анализ CO₂-экстрактов из водорослей выполнен при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках госбюджетной темы № 124041900012-4.



Оценка возможности использования сверхкритической углекислотной экстракции при комплексной переработке морских водорослей

Т. А. Игнатова¹, Т. М. Байгильдиев², М. О. Березина³,
Ю. А. Баскакова¹, Л. К. Плакун¹

АННОТАЦИЯ

Введение: Водоросли представляют собой ценный источник разнообразных биологически активных веществ (БАВ), которые широко применяются в медицине, пищевой промышленности, косметологии и других областях, благодаря своим антиоксидантным, противовоспалительным и иммуномодулирующим свойствам. Несмотря на значительный потенциал водорослей в настоящее время отсутствуют комплексные технологические решения, обеспечивающие максимальное извлечение БАВ из данного вида сырья с использованием углекислотной экстракции, а также не имеется информации о химическом составе и биологической активности водорослевых CO₂-экстрактов. Разработка новых подходов, включающих оптимизацию процессов извлечения БАВ, станет ключевым фактором для повышения эффективности использования водорослей и расширения областей их применения.

Цель: Провести оценку возможности последовательного использования CO₂- и водной экстракций с целью получения при комплексной переработке водорослей-макрофитов полисахаридов, которые используются в пищевой промышленности в качестве загустителей и гелеобразователей, а также CO₂-экстрактов содержащие в своем составе вещества обладающие биологической активностью.

Материалы и методы: Для получения экстрактов использовали бурые и красные водоросли видов *Ascophyllum nodosum*, *Fucus distichus*, *F. vesiculosus*, *Ahnfeltia plicata*, *A. tobuchiensis*, *Vertebrata fucoides*. Получение CO₂-экстрактов водорослей осуществляли на установке КОЭРС1. Сравнение состава, антимикробных и антиоксидантных свойств CO₂-экстрактов проводили в сравнение со спиртовыми и эфирными экстрактами водорослей. Анализ состава экстрактов водорослей осуществляли с использованием современного аналитического оборудования (газового хромато-масс-спектрометра Shimadzu GCMS-TQ 8040, газового хроматографа Agilent 8890GC System Custom, спектрофотометра Cary 3500 Compact UV-Vis) с использованием общепринятых методик. Антимикробные свойства водорослевых экстрактов тестировали в отношении *Salmonella abony*, *Candida albicans*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* с использованием диско-диффузионного метода. Оценку антиоксидантной активности проводили в соответствии с патентом РФ № 2170930. Выделение полисахаридов из водорослей и шрота, образующегося после CO₂-экстракции, проводили путем их водного экстрагирования при температурах 98 и 120°C в нейтральной и щелочной среде.

Результаты: На состав полученных CO₂-экстрактов водорослей оказывает большее влияние условия экстракции, нежели чем вид используемой водоросли. По качественному составу CO₂-экстракты бурых и красных водорослей-макрофитов отличаются в основном только по двум компонентам гамма-ситостерол и стигмаста-5,24(28)-диен-3-ол, (3.бета.,24Z). Водорастворимые полисахариды, полученные из водорослевого шрота, по своим физико-химическим характеристикам практически не отличались от тех, что были выделены непосредственно из водорослей.

Выводы: Доказана возможность последовательного использования CO₂- и водной экстракций для извлечения БАВ и полисахаридов при комплексной переработке водорослей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Экстракты водорослей; антимикробная активность экстракта; антиоксидантные свойства экстракта; жирнокислотный состав липидов водорослей; ГХ-МС-анализ экстрактов водорослей; свойства водорастворимых полисахаридов водорослей

¹ State Science Center of the Russian Federation Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography «VNIRO», Moscow, Russian Federation

² Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

³ State Science Center of the Russian Federation North branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Russian Research Institute of Fisheries and oceanography" (North branch of «VNIRO» («Severnnyy»), Arkhangelsk, Russian Federation

CORRESPONDENCE:

Tatiana A. Ignatova

E-mail: ignatova@vniro.ru

FOR CITATIONS:

Ignatova, T.A., Baygildiev, T.M., Berezina, M.O., Baskakova, Yu.A., & Plakun, L.K. (2025). Possibility evaluation of using supercritical carbon dioxide extraction in complex processing of algae. *Storage and Processing of Farm Products*, 33(1), 95-115. <https://doi.org/10.36107/spfp.2025.1.630>

RECEIVED: 14.12.2024

REVISED: 10.03.2025

ACCEPTED: 15.03.2025

PUBLISHED: 31.03.2025

DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.

FUNDING

The GC-MS analysis of CO₂ extracts from algae was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (No. 124041900012-4).



Possibility Evaluation of Using Supercritical Carbon Dioxide Extraction in Complex Processing of Algae

Tatiana A. Ignatova¹, Timur M. Baygildiev², Marina O. Berezina³, Yulia A. Baskakova¹, Larisa K. Plakun¹

ABSTRACT

Introduction: Algae are a valuable source of various biologically active substances (BAS), which are widely used in medicine, food industry, cosmetology and other areas due to their antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulatory properties. Despite the significant potential of algae, there are currently no comprehensive technological solutions that ensure maximum extraction of BAS from this type of raw material using carbon dioxide extraction, and there is no information on the chemical composition and biological activity of algal CO₂ extracts. The development of new approaches, including optimization of BAS extraction processes, will be a key factor in increasing the efficiency of algae use and expanding the areas of their application.

Purpose: To evaluate the possibility of sequential use of CO₂ and water extractions for the purpose of obtaining polysaccharides during the complex processing of macrophyte algae, which are used in the food industry as thickeners and gelling agents, as well as CO₂ extracts containing substances with biological activity.

Materials and Methods: Brown and red algae of the following species were used to get the extracts: *Ascophyllum nodosum*, *Fucus distichus*, *F. vesiculosus*, *Ahnfeltia plicata*, *A. tobuchiensis*, *Vertebrata fucoides*. CO₂ extracts of algae were obtained using the KOERS1 unit. The composition, antimicrobial and antioxidant properties of the CO₂ extracts were compared with alcohol and ether extracts of algae. The composition of the algae extracts was analyzed using modern analytical equipment (Shimadzu GCMS-TQ 8040 gas chromatography mass spectrometry system, Agilent 8890GC System Custom gas chromatograph, Cary 3500 Compact UV-Vis spectrophotometer) using generally accepted techniques. The antimicrobial properties of algae extracts were tested against *Salmonella abony*, *Candida albicans*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* using the disk diffusion method. The antioxidant activity was assessed in accordance with Russian Patent No. 2170930. Polysaccharides were isolated from algae and meal formed after CO₂ extraction by their aqueous extraction at temperatures of 98 and 120°C in a neutral and alkaline environment.

Results: It was found that the composition of the obtained CO₂ extracts of algae is more influenced by the extraction conditions than by the type of algae used. In terms of qualitative composition, CO₂ extracts of brown and red macrophyte algae differ mainly in two components: gamma-sitosterol and stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, (3.β.,24Z). Water-soluble polysaccharides isolated from algal meal were practically no different in their physicochemical characteristics from those isolated from algae.

Conclusion: The possibility of sequential use of CO₂ and water extraction for the extraction of BAS and polysaccharides in the complex processing of algae was proved.

KEYWORDS

Algae extracts; antimicrobial activity of the extract; antioxidant properties of the extract; fatty acid composition of algae lipids; GC-MS analysis of algae extracts; properties of water-soluble polysaccharides of algae

ВВЕДЕНИЕ

Запасы водорослей в Российской Федерации

В морях Российской Федерации к промысловым водорослям относятся: виды рода *Saccharina* (*S. latissima*, *S. japonica*, *S. angustata*, *S. gurjanovae*, *S. bongardiana*), виды рода *Laminaria* (*L. digitata*, *L. hyperborea*, *L. dentigera*, *L. yezoensis*, *L. longipes*), виды рода *Fucus* (*F. vesiculosus*, *F. distichus*, *F. serratus*), *Ascophyllum nodosum*, виды рода *Cystoseira* (*Gongolaria barbata* (= *Cystoseira barbata*), *Ericaria crinita* (= *C. crinita*), *Ericaria bosphorica* (= *C. bosphorica*), и виды рода *Ahnfeltia* (*A. fastigiata* var. *tobuchiensis* (= *Ahnfeltia tobuchiensis*)), *A. plicata*). Общий запас промысловых водорослей в морях России ориентировочно оценивается в 1,3 млн. т сырой массы (Евсеева и соавт., 2024). В Белом море осуществляется добыча промысловых видов бурых водорослей — фукоидов и ламинариевых. Ежегодно заготавливают от 0,9 до 1,2 тыс. т сырой массы, в среднем — 1,0 тыс. т ламинариевых водорослей, что составляет 3 % от рекомендованного вылова, фукоидов — от 0,5 до 1,1 тыс. т сырой массы (в среднем 0,8 тыс. т, или 5 % от рекомендованного вылова) (Березина, 2024). В этом бассейне также разрешен сбор штормовых выбросов красной водоросли *Ahnfeltia plicata*. Освоение *Ahnfeltia tobuchiensis*, произрастающей в Дальневосточном регионе, не происходит, при этом величина общей биомассы анфельции составляет 119,3 тыс. т. (Евсеева и соавт., 2024).

Биологически активные вещества водорослей

Водоросли являются ценным источником биологически активных веществ (БАВ), включающих полисахариды, минералы, белки, аминокислоты, каротиноиды, полифенолы, липиды и витамины (Подкорытова & Игнатова, 2022). Липиды морских макрофитов содержат в своем составе моно-, ди- и триглицериды, фосфолипиды, каротиноиды, жирорастворимые витамины и стеринны (Holdt & Kraan, 2011; Schuhmann et al., 2012; Li et al., 2014). Длина цепи и степень ненасыщенности жирных кислот у морских водорослей выше, чем у растений (Kumari et al., 2013). Следует отметить, что липиды водорослей-макрофитов не имеют специфического рыбного привкуса, в отличие от жира, получаемого из рыбного сырья (Хотимченко, 2004). Эти компоненты об-

ладают ценными пищевыми, фармакологическими и косметическими свойствами, такими как антиоксидантная, антимикробная и противовоспалительная активности (Balk et al., 2004; Schacky, 2008; Jung et al., 2014; Thomsen et al., 2020).

Промышленная переработка водорослей, добываемых в Российских морях, в основном направлена на получение пищевой и косметической продукции, а также коммерческих полисахаридов пищевого назначения, таких как каррагинан, альгинат и агар (Pereira et al., 2012; Li et al., 2014; Machmudah et al., 2018, Подкорытова & Игнатова, 2022). Со временем возник интерес к получению масел пищевого, фармацевтического и косметического назначения из водорослей (Mendes, 2003; Wang, 2007; Ota et al., 2009; Mercer & Armenta, 2011). Отсутствие экономически эффективных и безопасных технологий выделения БАВ из водорослей сдерживает процесс расширения сфер применения таких высокоценных компонентов в различных отраслях деятельности человека.

Одним из наиболее перспективных подходов для извлечения биологически активных веществ является сверхкритическая CO₂-экстракция (Рубчевская, Ушанова, Журавлева, 2005). Эта технология отличается безопасностью, селективностью, экологичностью и позволяет минимизировать термическую деградацию и окисление извлекаемых веществ (Li et al., 2014; Lorenzen, 2017; Georgiopoulou et al., 2022). Однако преимущественно CO₂-экстракция изучалась в контексте переработки микроводорослей с целью получения биотоплива и отдельных БАВ (Metzger & Largeau, 2004; Santana et al., 2012; Pour Hosseini et al., 2017). Исследования на микроводорослях ограничены отдельными зарубежными работами (Cheung et al., 1998; Terme et al., 2018; Cid et al., 2021), и практически отсутствуют работы, посвященные использованию CO₂-экстракции в сочетании с другими методами для комплексной переработки промысловых видов водорослей российских морей.

Настоящее исследование направлено на устранение существующего пробела, связанного с отсутствием комплексного подхода к использованию CO₂-экстракции совместно с водной экстракцией для переработки морских макроводорослей, добываемых в российских водах. Цель: оценка возможности последовательного применения сверхкрити-

ческой углекислотной (CO₂) и водной экстракций при комплексной переработке морских макроводорослей для получения биологически активных веществ и гидроколлоидов с последующим изучением их химического состава и биологической активности.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ

Преимущества сверхкритической CO₂-экстракции

Сверхкритическая CO₂-экстракция представляет собой инновационный и эффективный подход к извлечению биологически активных веществ из растительного сырья. CO₂ в сверхкритическом состоянии объединяет свойства газа и жидкости, благодаря чему он обладает низкой вязкостью, высокой диффузионной способностью и повышенной растворяющей силой. Это позволяет эффективно извлекать липиды, каротиноиды, стерины и другие неполярные вещества без их термического разрушения и окисления, в отличие от традиционных методов экстракции органическими растворителями (Li et al., 2014; Georgiopoulou et al., 2022).

Условия и модификаторы сверхкритической CO₂-экстракции

Эффективность и селективность сверхкритической CO₂-экстракции существенно зависят от выбранных условий процесса: давления и температуры. Установлено, что подбор оптимальных параметров позволяет значительно повысить выход необходимых групп биологически активных веществ. Кроме того, использование модификаторов, таких как этанол, метанол и гексан, расширяет спектр экстрагируемых веществ за счет увеличения полярности CO₂. В результате модификации процесса экстракции возможным становится эффективное извлечение фосфолипидов, гликолипидов, каротиноидов и фенольных соединений, которые обладают высокой биологической активностью и практической значимостью (Pour Hosseini et al., 2017; Prafulla et al., 2018; Obeid et al., 2018; Georgiopoulou, 2022).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

Объектами исследования являлись морские виды бурых и красных водорослей, спиртовые, эфирные и CO₂-экстракты водорослей, водорослевый шрот, водорастворимые полисахариды водорослей.

Материалы

Для получения экстрактов использовали сушеные водоросли *Ascophyllum nodosum*, *Fucus distichus*, *F. vesiculosus*, *Ahnfeltia plicata*, собранные в прибрежной зоне Онежского залива Белого моря (у о. Большой Соловецкий и посёлка Рабочеостровск), а также *Ahnfeltia tobuchiensis*, заготовленную у острова Кунашир в заливе Измены (северо-западная часть Тихого океана). Данные образцы водорослей были заготовлены в августе 2019 г. Помимо основных промысловых видов были проанализированы образцы красной водоросли *Vertebrata fucoides*, собранной в прибрежной зоне Белого моря у посёлка Рабочеостровск в июле 2020 г. Данный вид водорослей содержит ряд веществ, обладающих антимикробными и антиоксидантными свойствами (Игнатова и соавт., 2023).

Методы, оборудование и процедура исследований

Для выявления различий в применении CO₂-экстракции и экстракции с использованием органических растворителей для извлечения БАВ из водорослей проводили сравнение состава, антимикробных и антиоксидантных свойств CO₂-, спиртовых и эфирных экстрактов, полученных из водоросли *V. fucoides*.

Для установления влияния использования CO₂-экстракции перед стадией водного экстрагирования на выход и реологические характеристики водорастворимых полисахаридов водорослей осуществляли выделение этих компонентов из исходных водорослей *A. plicata*, *A. tobuchiensis*, *V. fucoides* и их шрота, образуемого после проведения CO₂-экстракции и сравнении данных показателей.

Содержание воды, золы и общего азота в исследуемых образцах проводили согласно ГОСТ 33331¹. Содержание белка в образцах рассчитывали как произведение содержания общего азота на коэффициент 6,25.

Получение эфирного экстракта из *V. fucoides*

Навеску сушеной *V. fucoides* заливали диэтиловым эфиром при соотношении водоросль: эфир по объему 1:30. Экстракцию проводили при комнатной температуре в течение 7 дней. Затем экстракт сливали, а водорослевый остаток заливали новой партией эфира (соотношение водоросль:эфир 1:20 по объему). Вторую экстракцию проводили в течение 6 дней. После окончания экстракции обе фракции объединяли и фильтровали через бумажный фильтр. Полученный экстракт использовали для дальнейших исследований.

Получение спиртового экстракта № 1 из *V. fucoides*.

Навеску водорослей заливали 70% раствором этилового спирта при соотношении водоросль:спирт по объему 1:20. Процесс получения и дальнейшую очистку экстракта проводили аналогично, как при получении эфирного экстракта из *V. fucoides*.

Получение спиртового экстракта № 2 из *V. fucoides*

Навеску водорослей заливали 70% раствором этилового спирта при соотношении водоросль:спирт по объему 1:20. Экстрагирование проводили при температуре 70°C в течение 2 часов, после чего экстракт сливали и охлаждали. Охлажденный экстракт фильтровали через бумажный фильтр и использовали для анализа.

Получение CO₂-экстрактов из водорослей

Сушеные водоросли перед проведением экстракции измельчались до размера частиц от 2 до 5 мм, в зависимости от вида водоросли, а затем загружа-

лись в экстрактор. Экстрагирование компонентов из водорослей проводили сжиженным углекислым газом в течение 90 мин при температуре в экстракторе 50°C и давлении 300 атм (30 МПа) на установке КОЭРС1.

Определение антимикробной активности экстрактов

Спиртовой или эфирный экстракт водорослей полностью упаривали на ротаторном испарителе UL-1100 (КНДР). Сухой остаток экстракта растворяли в 6 мл экстрагента. Полученный концентрат экстракта наносили на стерильный бумажный диск диаметром 1 см и высушивали при комнатной температуре. В качестве контроля использовали диск, пропитанный экстрагентом и высушенный при комнатной температуре. Для выращивания микроорганизмов использовали «Питательный агар сухой для культивирования широкого спектра микроорганизмов». На поверхность питательной среды наносили бактериальную суспензию, а затем помещали подготовленный диск с экстрактом. Количество микробов в бактериальной суспензии ориентировочное соответствует по ОСО 10 МЕ. Инкубацию проводили при температуре 37°C в течение 24 ч. Тест-объектами являлись 8 штаммов микроорганизмов: *Salmonella abony* IHE 103/39, *Candida albicans* NCTC 885–653, *Proteus vulgaris* HX 19 (штамм 222), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* «Виотко», *Listeria monocytogenes* 766, *Pseudomonas aeruginosa* 27/99, *Escherichia coli* ATCC 25922.

Определение антиоксидантной активности

Антиоксидантную активность определяли в соответствии с патентом РФ № 2170930².

Определение содержания хлорофилла в водорослевых экстрактах

Содержание хлорофилла определяли по методам, изложенным в Rodriguez-Amaya (2001)³ и Кудря-

¹ ГОСТ 33331–2015. (2016). Водоросли, травы морские и продукция из них. Методы определения массовой доли воды, золы и постоянных примесей. Стандартинформ.

² Максимова Т. В., Никулина, И. Н., Пахомов, В. П. Шкарина, Е. И., Чумакова, З. В., Арзамасцев, А.П. (2001). Способ определения антиокислительной активности (патент Российская Федерация № 2170930). Федеральный институт промышленной собственности, отделение ВПТБ. https://rusneb.ru/catalog/000224_000128_0002170930_20010720_C1_RU/

³ Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). *A guide to carotenoid analysis in foods*. Basic Books

шов и др. (2011)⁴ на спектрофотометре Cary 3500 Compact UV-Vis (Малайзия).

Определение фракционного состава липидов водорослей

Фракционный состав липидов спиртового экстракта определяли после упаривания образца до полного удаления растворителя и разведением его в хлороформе до концентрации 10 мг/мл. CO₂-экстракты растворяли в гексане до концентрации 10 мг/мл. Подготовленный образец экстракта наносили на стеклянную пластину с кизельгелем и помещали ее в хроматографическую камеру с элюентом. В качестве элюента использовали смесь гексана, диэтилового эфира и уксусной кислоты концентрированной в соотношении 80:20:2. Пластины в камере оставляли на 30 мин. Затем для проявления пластину опускали в раствор, состоящий из фосфорномолибденовой кислоты в изопропиловом спирте (10 г на 200 мл спирта) подсушивали на воздухе и нагревали над плиткой. Проявленную пластину анализировали на денситометре CS-930 Shimadzu (Dual-wavelength tlc scanner) при длине волны 520 нм (Кейтс, 1975).

Определение жирнокислотного состава липидов

Спиртовые экстракты перед анализом на ЖКС упаривали на ротаторном испарителе до полного удаления растворителя. Для определения ЖКС липиды подвергались прямому метилированию с использованием в качестве катализатора хлористого ацетила в метаноле в соответствии с МУК,⁵ метиловые эфиры жирных кислот анализировали на хроматографе Agilent 8890GC System Custom (КНДР) в соответствии с ГОСТ 31663⁶ на капиллярной колонке MEGA-10 (100 м × 0,25 мм × 0,2 мкм). Температура ввода образца: 120 °С, режим ввода: с делением потока в отношении 1:50, газ-носитель: азот, скорость потока газа-носителя: 1 мл/мин, режим программирования температуры: нагрев с 120 до 180 °С со скоростью 3 °С/мин, время выдержки 15 мин, далее нагрев с 180 до 220 °С со скоростью 6 °С/мин

и выдержка 22 мин. Время выполнения анализа 63,667 мин.

ГХ-МС-анализ CO₂-экстрактов

Перед проведением анализа методом газовой хроматографии масс-спектрометрии (ГХ-МС) 50 мг образца CO₂-экстракта водоросли растворяли в 1 мл гексана. Далее экстракт пропускали через шприцевой мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Затем перед анализом полученный раствор разбавляли в 10 раз гексаном.

ГХ-МС анализ проводили при помощи газового хромато-масс-спектрометра Shimadzu GCMS-TQ 8040 (Япония). Для хроматографического разделения использовали капиллярную неполярную колонку Rtx-5MS (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм). Начальная температура колонки: 40 °С, температура ввода образца: 250 °С, режим ввода: с делением потока в отношении 1:5, газ-носитель: гелий, скорость потока газа-носителя: 1,21 мл/мин, режим программирования температуры: нагрев с 40 до 320 °С со скоростью 9 °С/мин, далее 9 мин температура удерживается на значении 320 °С, температура ионного источника: 200 °С, регистрация хроматограммы по полному ионному току проводилась в диапазоне от 40 до 500 m/z со скоростью сканирования: 0,3 сек/скан.

ГХ-МС-анализ спиртового экстракта № 2 *V. fucoides*

Спиртовой экстракт перед ГХ-МС анализом пропускали через шприцевой фильтр с диаметром пор 1 мкм.

ГХ-МС-анализ спиртового экстракта проводили на газовом хромато-масс-спектрометре Shimadzu GCMS-TQ 8040 (Япония). Для хроматографического разделения использовали капиллярную полярную колонку HP-INNOWAX (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм). Начальная температура колонки: 40 °С; температура ввода образца: 240 °С; режим ввода: с делением потока в отношении 1:3; газ-носитель: гелий; ско-

⁴ Кудряшов, А. П., Дитченко, Т. И., Молчан, О. В., Смолич, И. И., & Яковец, О. Г. (2011). *Физиология растений: лабораторный практикум для студентов биологического факультета*. Минск: БГУ.

⁵ Подкорытова, А. В., Кадникова, И. А. (2009) Качество, безопасность и методы анализа продуктов из гидробионтов. Руководство по современным методам исследований морских водорослей, трав и продуктов их переработки. Вып. 3., 108 с.

⁶ ГОСТ 31663–2012 (2019) Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот. М.: Стандартинформ.

рость потока газа-носителя: 0,9 мл/мин; градиентный режим хроматографирования: с 0 по 3 мин температура удерживается на значении 40 °С, далее нагрев 40 до 230 °С со скоростью 10 °С/мин, далее 20 мин температура удерживается на значении 230 °С; температура ионного источника: 250 °С; регистрация хроматограммы по полному ионному току проводилась в диапазоне от 40 до 600 m/z со скоростью сканирования: 0,3 сек/скан.

Методика выделения водорастворимого полисахарида из водоросли и шрота *V. fucoides* полученного после CO₂- и спиртовой экстракции

Шрот *V. fucoides* после спиртовой экстракции высушивали на воздухе при комнатной температуре в течение 24 часов, а затем измельчали и использовали для извлечения водорастворимого полисахарида.

Навеску водоросли или водорослевого шрота заливали водой (соотношение водоросль или шрот: вода 1:18) и настаивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем воду сливали, а водоросли или шрот промывали проточной водой. Промытые водоросли или шрот заливали водой при соотношении водоросли или шрот:вода 1:11 и проводили экстракцию в течение 5 часов при температуре 98 °С. Полученный экстракт фильтровали через капроновое сито и охлаждали. Полученный экстракт (раствор водорастворимого полисахарида) использовали для измерения вязкости.

Методика получения природного агара из шрота *A. plicata* и *A. tobuchiensis*

Навеску водорослей или водорослевого шрота заливали водой в соотношении водоросли или шрот:вода 1:40 и настаивали при комнатной температуре. Спустя 17 часов воду сливали, водоросли или шрот промывали проточной водой и снова заливали водой в соотношении водоросли или шрот:вода 1:40. Экстракцию природного агара из водорослей или шрота *A. plicata* проводили в течение 5 часов при температуре 98 °С или 1 ч при температуре 120 °С. Из водорослей или шрота *A. tobuchiensis* выделение агара проводили при температуре 120 °С в течение 1 часа. Извлечение агара при температуре 120 °С осуществляли в автоклаве марки СПВА-75-I-НН. Вторую экстракцию осуществляли при аналогичных условиях. Каждую фракцию

агара (экстракт 1 и экстракт 2) фильтровали через капроновое сито, а затем охлаждали. Гель, образовавшийся после охлаждения экстракта, нарезали на куски и замораживали, при температуре минус 20 °С. Спустя сутки гель размораживали на капроновом сите. Образовавшийся коагель промывали водой, затем подвергали прессованию для удаления несвязанной воды и использовали для приготовления геля 1% р-ра агара.

Методика получения модифицированного агара из водорослей и шрота *A. plicata* и *A. tobuchiensis*

Навеску водорослей или водорослевого шрота заливали суспензией окиси кальция (содержание СаО в суспензии 2 % к массе водорослей или шрота) в соотношении водоросли или шрот:суспензия 1:40 и настаивали при комнатной температуре в течение 17 часов. Затем суспензию сливали, а водоросли или шрот промывали проточной водой. Промытые водоросли или шрот помещали в емкость и заливали суспензией оксида кальция (содержание оксида кальция в суспензии 1 % к массе водоросли или шрота) и проводили экстракцию в течение 5 часов при температуре 98 °С или 1 ч при температуре 120 °С для водорослей или шрота *A. plicata* и 1 ч при температуре 120 °С для водорослей и шрота *A. tobuchiensis*. Вторую экстракцию проводили при тех же параметрах, как и первую. Дальнейшую очистку и концентрирование агаровых экстрактов осуществляли как в методе при получении природного агара.

Определение выхода CO₂-экстрактов

Выход CO₂-экстракта выражали как количество экстракта в % полученное из 100 г сырья.

Определение выхода водорастворимого полисахарида *V. fucoides*

Выход водорастворимого полисахарида вычисляли как соотношение произведения массы экстракта на содержания в нем сухих веществ к массе водоросли.

Определение выхода агара

Выход агара вычисляли как соотношение произведения массы коагеля на содержания в нем сухих веществ к массе водоросли.

Определение прочности геля 1% раствора агара

Коагель агара заливали необходимым количеством дистиллированной воды. Затем полученную смесь нагревали до температуры 98 °С и выдерживали при данной температуре до полного растворения коагеля в воде. Горячий раствор агара разливали в стаканчики и охлаждали при комнатной температуре, а затем выдерживали его при данных условиях в течение 3 часов. Измерение прочности агара проводили на универсальной испытательной машине ST-1000 фирмы SALT (Южная Корея). Измерение проводили с использованием цилиндрической насадки диаметром 12,7 мм.

Определение вязкости раствора водорастворимого полисахарида *V. fucoides*

Измерение вязкости раствора полисахарида *V. fucoides* проводили на вискозиметре BROOKFIELD DV-II+Pro при использовании насадки S61 и скорости её вращения 60 об/мин и температуре 22 ± 1 °С.

Анализ данных

Идентификацию жирных кислот при анализе жирнокислотного состава липидов проводили путем сравнением полученных пиков с пиками стандартной смеси Supelco 37 component FAME MIX.

В ГХ-МС-анализе для расчёта индексов удерживания использовали смесь алканов C_7 – C_{40} в гексане (1000 мкг/мл, Sigma-Aldrich, США), а также отдельные стандарты алканов C_5 , C_6 , C_8 (ХромЛаб, Россия).

Идентификацию в ГХ-МС-анализе соединений проводили путем сравнения зарегистрированных масс-спектров электронной ионизации с масс-спектрами из базы данных NIST 23 (NIST, США). Соединения со спектральным сходством менее 75 исключались из анализа. Для уточнения идентификации кандидатов из списка с уровнем спектрального сходства более 75 использовалось программное обеспечение SVEKLA (Sholokhova et al., 2023). Идентификация считалась успешной, если различие между экспериментальным и предсказанным индексами удерживания не превышало 75 единиц. Кандидаты, у которых предсказанные индексы удерживания отличались от экспериментальных на более чем 75 единиц, также исключались из рассмотрения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для комплексной переработки водорослевого сырья с целью получения полисахаридов и CO_2 -экстрактов, содержащих в своем составе БАВ, был применен технологический подход, который заключался в последовательном применении двух видов экстракции. На первом этапе из водорослевого сырья извлекались БАВ с использованием сжиженного CO_2 . В проведенных исследованиях представлены данные по выходу данного продукта из водорослей произрастающих в морях России. Изучение состава CO_2 -экстрактов показало наличие в них важных для человека, с физиологической точки зрения, БАВ. Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения CO_2 -экстрактов для производства БАД и лекарственных препаратов. В результаты анализа водорослевого шрота, образовавшегося после проведения углекислотной экстракции, показана целесообразность его использования для извлечения водорастворимых полисахаридов. Исследования подтвердили идентичность качественных показателей полисахаридов полученных из шрота и водорослевого сырья, что доказало возможность последовательного использования двух видов экстракции для комплексной переработки этого вида сырья.

Выход CO_2 -экстрактов из водорослей

В результате проведенных исследований были получены шесть образцов CO_2 -экстрактов из красных и бурых водорослей, выход которых варьировался от 2 до 3,8% к массе сушеных водорослей (Рисунок 1).

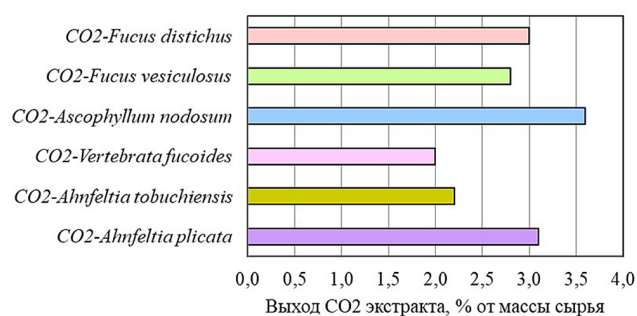
Таким образом, выход CO_2 -экстрактов не превышает 4% от массы сырья. Не установлена взаимосвязь выхода CO_2 -экстрактов с систематической принадлежностью водорослей. Содержание липидов в бурых и красных водорослях-макрофитах зависит от вида, места и времени их сбора и варьируется от 1 до 6% (Хотимченко, 2004, Наумов и соавт., 2015; Миронов и соавт., 2021). Таким образом, с помощью углекислотной экстракции из водорослей извлекается порядка 60% липидов.

Рисунок 1

Выход CO₂-экстрактов из водорослей

Figure 1

The Yield of the CO₂-Extracts from Algae



Состав экстрактов водорослей

Качественный состав исследуемых CO₂-экстрактов был проведен с использованием ГХ-МС-анализа. Хромато-масс-спектрометрические профили экстрактов показали, что анализируемые образцы были схожи между собой и содержали сведения, относящиеся к классам альдегидов, спиртов, кетонов, терпенов и терпеноидов, жирных кислот и их эфиров, углеводов, стеролов и витаминов, а также фенольных соединений. Всего было идентифицировано порядка 60 соединений (Рисунок 2).

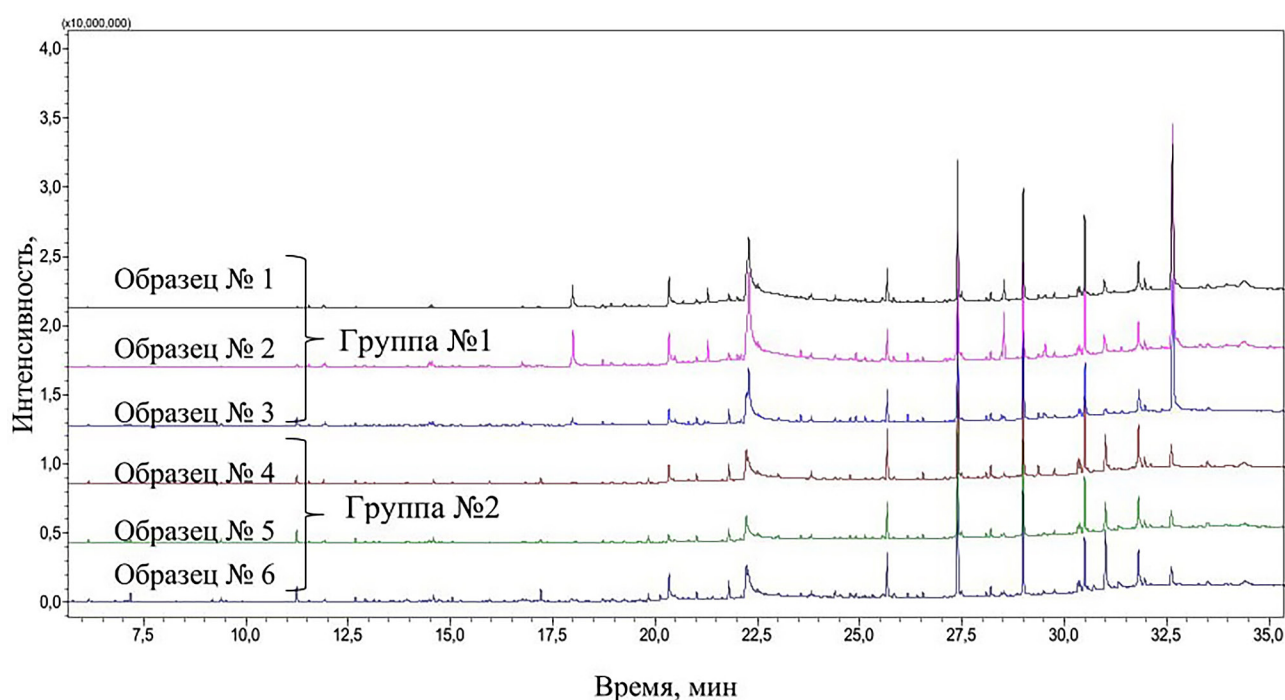
Детальный анализ профилей экстрактов, анализируемых образцов позволил разделить CO₂-экстракты на две группы по схожести: образцы 1, 2, 3 — группа №1 и образцы 4, 5, 6 — группа №2

Рисунок 2

ГХ-МС профили тестируемых CO₂-экстрактов водорослей в гексане

Figure 2

GC-MS Profiles of the Tested CO₂-Extracts of Algae in Hexane



№ образца	Наименование образца	№ образца	Наименование образца
1	CO ₂ <i>F. distichus</i>	4	CO ₂ <i>A. tobuchiensis</i>
2	CO ₂ <i>F. vesiculosus</i>	5	CO ₂ <i>A. plicata</i>
3	CO ₂ <i>A. nodosum</i>	6	CO ₂ <i>V. fucoides</i>

(Рисунок 2). Основными драйверами, вызывающими различие группы №1 от группы №2 являются следующие идентифицированные соединения: миристиновая кислота, метил стеаридонат, олеиновая кислота, сквален, витамин Е, дельта-токоферол, бета-токоферол и стигмаста-5,24(28)-диен-3-ол, (3.бета.,24Z), которые содержались в значительно больших количествах в группе №1. Стигмаста-5,24(28)-диен-3-ол, (3.бета.,24Z) полностью отсутствовал в образцах из группы №2, однако данная группа содержала соединение гамма-ситостерол, которое обладало очень близким временем удерживания по сравнению с стигмаста-5,24(28)-диен-3-олом, (3.бета.,24Z) из группы №1 и не содержалось в образце данной группы. Таким образом, описанные выше соединения, вызывающие различие групп, предположительно могут быть использованы в качестве маркеров,

по которым возможно проводить идентификацию водорослей (до уровня отдела) и CO₂-экстрактов.

В Таблице 1 представлен паспорт ГХ-МС-хроматограммы CO₂-экстракта *F. vesiculosus* и спиртового экстракта № 2 из *V. fucoides*, в котором отражены основные преобладающие вещества, обнаруженные в данных образцах.

В спиртовом экстракте, также как и в CO₂-экстракте, присутствуют ряд жирных кислот пальмитиновая, пальмитолеиновая и миристиновая. Одновременно с этим идентифицировано противовоспалительное вещество диметилсульфоксид и неофитадиен, который оказывает анксиолитическое и противосудорожное действие (Таблица 1) (Capriotti, Capriotti, 2012; Gonzalez-Rivera et al., 2023).

Таблица 1
Паспорт ГХ-МС-хроматограммы CO₂-экстракта *F. vesiculosus* и спиртового экстракта № 2 из *V. fucoides*
Table 1
GC-MS Chromatogram Protocol for the CO₂-Extract of *F. vesiculosus* and Alcoholic Extract No. 2 from *V. fucoides*

Наименование образца экстракта					
CO ₂ <i>F. vesiculosus</i>			Спиртовой экстракт № 2 из <i>V. fucoides</i>		
время удерживания, мин	площадь пика, %	название идентифицированного соединения	время удерживания, мин	площадь пика, %	название идентифицированного соединения
17,996	3,41	Миристиновая кислота	2,179	4,01	Диметилсульфид
20,339	3,12	Пальмитиновая кислота	12,302	3,17	Уксусная кислота
21,286	1,3	Метилстеаридонат	13,978	21,44	Диметилсульфоксид (ДМСО)
22,250	3,29	Линолевая кислота	14,667	4,79	2-Пропеновая кислота
22,293	17,66	Олеиновая кислота	15,279	4,82	Гептадекан
27,391	10,51	Гептакозан	17,866	1,92	Неофитадиен
28,523	3,24	Сквален	20,552	1,44	1,4:3,6-Диангидро-альфа-d-глюкопираноза
28,993	7,02	Нонакозан	21,876	2,24	Глицерин
29,532	1,02	Дельта-токоферол	26,306	4,33	Миристиновая кислота
30,237	0,11	Бета-токоферол	26,558	1,75	Дибутилфталат
30,494	4,97	Гентриаконтан	30,882	32,71	Пальмитиновая кислота
30,971	1,57	Витамин Е	31,986	8,51	Пальмитолеиновая кислота
31,806	3,28	1-Триакоктанол			
31,961	0,81	Тритриакоктан			
32,104	0,27	Стигмаста-4,22-диен-3.бета.-ол			
32,645	25,66	Стигмаста-5,24(28)-диен-3-ол, (3.бета.,24Z)			

Изучение фракционного состава липидов полученных экстрактов показало, что в CO₂-экстрактах водорослей более половины липидов представлены в виде триглицеридов, а на свободные жирные кислоты приходится от 15 до 24% от общей суммы липидов. Спиртовые экстракты *V. fucoides* в своем составе содержат в основном фосфолипиды (70–80% от общей суммы липидов), а эфирный — углеводороды и высшие алифатические спирты (Таблица 2).

Идентичность качественного состава исследуемых CO₂-экстрактов водорослей, полученных при одинаковых параметрах процесса, также подтверждается данными жирнокислотного состава полученных экстрактов (Таблица 3).

Из данных Таблицы 3 видно, что полученные CO₂-экстракты в основном состоят из олеиновой

и линолевой кислот независимо от вида сырья, из которого получен экстракт. В жирнокислотном составе эфирного экстракта доминировала олеиновая жирная кислота, а также почти в равных соотношениях содержалась миристиновая, пальмитиновая и арахидоновая кислоты. Жирные кислоты в спиртовых экстрактах *V. fucoides* представлены насыщенной и мононенасыщенной жирными кислотами, такими как пальмитиновая и пальмитолеиновая кислоты. Эйкозапентаеновая жирная кислота, которая относится к незаменимым жирным кислотам, была обнаружена в достаточном количестве только в спиртовом экстракте № 1. Таким образом, показано, что на селективность извлечение жирных кислот из водорослей влияет не только тип экстрагента, но температура и продолжительность процесса, поскольку спиртовой экстракт № 1 был получен при комнатной температуре в течение 14 дней (Таблица 3).

Таблица 2

Фракционный состав липидов экстрактов водорослей, % от общей суммы липидов

Table 2

Fractional Composition of Lipids in Algae Extracts, % of Total Lipid Content

Наименование фракции липидов	Наименование экстракта								
	Эфирный из <i>V. fucoides</i>	Спиртовой № 1 из <i>V. fucoides</i>	Спиртовой № 2 из <i>V. fucoides</i>	CO ₂ <i>V. fucoides</i>	CO ₂ <i>A. plicata</i>	CO ₂ <i>A. tobuch- iensis</i>	CO ₂ <i>A. nodo- sum</i>	CO ₂ <i>F. vesicu- losus</i>	CO ₂ <i>F. dis- tichus</i>
Фосфолипиды	5,00	80,00	70,00	0,75	0,43	0,47	0,66	0,97	0,76
Моноглицериды	н. о.	н. о.	20,00	0,54	0,27	0,43	0,45	0,74	0,43
Диглицериды	н. о.	10,00	н. о.	0,28	0,27	0,31	0,27	н. о.	н. о.
О-Диалкиловые эфиры глицерина	н. о.	н. о.	н. о.	4,68	5,20	7,25	3,62	8,17	8,27
Фитостерины	10,00	н. о.	10,00	4,79	5,91	7,03	8,72	14,50	6,64
Высшие алифати- ческие спирты	20,00	10,0	10,00	4,93	4,25	4,56	4,45	н. о.	6,43
Неидентифициро- ванная фракция	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.	8,32	8,94	н. о.	н. о.	н. о.
Свободные жир- ные кислоты	5,00	н. о.	н. о.	22,10	15,61	16,15	20,96	23,72	23,72
Триглицериды	н. о.	н. о.	н. о.	61,94	59,73	54,84	60,87	51,89	53,75
Углеводороды	60,00	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.

Примечание. н.о. — не обнаружено

Таблица 3

Жирнокислотный состав экстрактов водорослей, % от общей суммы жирных кислот

Table 3

Fatty Acid Composition of Algae Extracts, % of Total Fatty Acids

Жирные кислоты	Наименование экстракта								
	Эфирный из <i>V. fucoides</i>	Спиртовой 1 из <i>V. fucoides</i>	Спиртовой 2 из <i>V. fucoides</i>	CO ₂ <i>V. fucoides</i>	CO ₂ <i>A. plicata</i>	CO ₂ <i>A. tobuchiensis</i>	CO ₂ <i>A. nodosum</i>	CO ₂ <i>F. vesiculosus</i>	CO ₂ <i>F. distichus</i>
14:0 (Миристиновая)	12,81	5,12	7,97	1,46	н. о.	0,29	2,98	3,38	1,37
16:0 (Пальмитиновая)	15,43	34,25	42,53	11,58	7,07	7,26	7,25	9,26	8,22
С 16:1 n7-с9 Пальмитолеиновая	1,37	28,96	16,16	5,38	1,18	0,80	2,34	0,81	0,30
18:0 (Стеариновая)	0,99	н. о.	0,93	3,47	2,90	2,92	1,75	3,13	3,73
С 18:1 n9с Олеиновая	39,36	н. о.	5,16	20,75	18,28	16,96	20,28	28,99	24,35
С 18:2 n6с Линолевая	8,15	н. о.	1,46	43,31	48,78	42,53	27,47	41,99	56,49
С 18:3 n3-с9, с12, с15 альфа- Линоленовая	2,08	н. о.	0,83	2,92	12,17	17,51	21,88	3,12	1,08
С 20:1 Гондоиновая	0,24	н. о.	0,09	1,98	0,46	0,31	н. о.	1,20	0,46
С 20:2 с-11, 14 Эйкозодиеновая	1,31	н. о.	н. о.	0,15	н. о.	н. о.	н. о.	0,03	н. о.
С 20:4 n6с-5, с8, с11, с14 Арахидоновая	10,51	н. о.	1,85	0,32	7,61	10,42	13,46	2,86	1,53
С 22:1 n9с-13 Эруковая	0,30	н. о.	н. о.	0,84	н. о.	н. о.	н. о.	0,21	0,16
С 20:5 n3-5, 8,11,14,17 Эйкозопентаеновая	3,83	31,67	8,17	3,97	0,59	н. о.	1,47	2,06	0,82
С 22:6 n3с-4,7,10,13,16,19 Докозагексаеновая	0,05	н. о.	н. о.	1,50	н. о.	н. о.	н. о.	0,35	0,06
Прочие	3,57	0	14,85	2,37	0,96	1,00	1,12	2,61	1,43
ΣНасыщенные	30,49	39,37	55,23	17,93	10,95	11,48	13,11	17,36	14,50
ΣМононенасыщенные	41,88	28,96	30,95	29,60	19,91	18,07	22,61	31,48	25,33
ΣПолиненасыщенные	27,63	31,67	13,82	52,47	69,14	70,45	64,28	51,16	60,18
омега-3	6,39	31,67	9,77	8,45	12,75	17,51	23,35	5,63	1,96
омега-6	19,94	0	4,69	43,87	56,39	52,95	40,93	45,50	58,22
омега-9	39,65	0	5,16	21,59	18,28	16,96	20,28	29,20	24,52
омега-6/омега-3	3,12	0	0,48	5,89	4,42	3,02	1,75	8,08	29,70

Примечание. н.о. — не обнаружено

Биологическая активность экстрактов водорослей

Оценку биологической активности CO₂-экстрактов водорослей осуществляли по таким показателям, как антимикробная и антиоксидантная активность, и проводили в сравнении с экстрактами, полученными с использованием органических растворителей из *V. fucoides*. В результате исследований установлено, что только четыре CO₂-экстракта, полученных из *V. fucoides*, *A. tobuchiensis*, *A. nodosum*, *F. distichus*, обладали антимикробной активностью в отношении культуры *L. monocytogenes* (Таблица 4).

Спиртовой экстракт №2 из *V. fucoides* проявлял антимикробную активность в отношении четырех штаммов микроорганизмов, таких как *C. albicans*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa* (Таблица 4).

Оценка антиоксидантных свойств полученных экстрактов показала, что спиртовые экстракты содержат в своем составе больше антиоксидантов, по сравнению с CO₂-экстрактами. Так, в одном грамме сухих веществ спиртовых экстрактов содержится антиоксидантов от 40,11 до 41,72 мг экв. кверцетина (Таблица 5).

Таблица 4

Антибактериальная активность экстрактов водорослей

Table 4

Antibacterial Activity of the Algae Extracts

Наименование экстракта	Наименование культуры микроорганизма							
	<i>S. abon</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
Эфирный из <i>V. fucoides</i>	–	–	–	–	–	–	–	–
Спиртовой № 1 из <i>V. fucoides</i>	–	–	–	–	+	+	–	–
Спиртовой № 2 из <i>V. fucoides</i>	–	+	–	+	+	+	+	–
CO ₂ <i>V. fucoides</i>	–	–	–	–	–	+	–	–
CO ₂ <i>A. plicata</i>	–	–	–	–	–	–	–	–
CO ₂ <i>A. tobuchiensis</i>	–	–	–	–	–	+	–	–
CO ₂ <i>A. nodosum</i>	–	–	–	–	–	+	–	–
CO ₂ <i>F. vesiculosus</i>	–	–	–	–	–	–	–	–
CO ₂ <i>F. distichus</i>	–	–	–	–	–	+	–	–

Таблица 5

Антиоксидантные свойства экстрактов водорослей и содержания в них хлорофилла

Table 5

Antioxidant Properties of the Algae Extracts and their Chlorophyll Content

Наименование экстракта	Антиоксидантная активность, мг экв. кверцетина/г	Хлорофилл а, мг/г	Хлорофилл b, мг/г	Сумма хлорофиллов a+b, мг/г
Спиртовой 1 из <i>V. fucoides</i> ¹	40,11	0,78	0,65	1,43
Спиртовой 2 из <i>V. fucoides</i> ¹	41,72	0,95	0,78	1,73
CO ₂ <i>V. fucoides</i>	18,76	2,26	0,02	2,28
CO ₂ <i>A. plicata</i>	33,91	0,35	0,04	0,40
CO ₂ <i>A. tobuchiensis</i>	37,39	0,21	0,09	0,31
CO ₂ <i>A. nodosum</i>	22,89	1,18	0,04	1,22
CO ₂ <i>F. vesiculosus</i>	19,99	3,90	0,03	3,93
CO ₂ <i>F. distichus</i>	19,49	2,85	0,01	2,87

Примечание – для жидких экстрактов антиоксидантную активность и содержание хлорофилла выражали на 1 г сухих веществ экстракта.

Известно, что хлорофилл обладает антиоксидантными свойствами (Чупахина и др., 2016), в связи с чем были проведены исследования по оценке его содержания в полученных экстрактах водорослей. Из экспериментальных данных видно, что наибольшее содержание хлорофилла соответствовало экстрактам бурых водорослей и *V. fucoides*. В то же время в CO₂-экстракте *V. fucoides* содержание хлорофилла в 1,3–1,6 раза больше, чем в спиртовых, что указывает на преимущество использования сжиженного CO₂ для экстракции данного пигмента из водоросли по сравнению с этиловым спиртом (Таблица 5).

Химический состав водорослевого шрота

В результате CO₂-экстракции в качестве отхода образуется водорослевый шрот, который по химическому составу существенно не отличается от исходных водорослей и состоит в основном из углеводов (Таблица 6).

Выход и вязкость водорастворимых полисахаридов из шрота *V. fucoides*

На примере красных водорослей были проведены исследования по сравнению выхода и реологических характеристик водорастворимых полисахаридов, полученных из шрота, образовавшегося после CO₂- и спиртовой экстракций и исходных водорослей. Так, выход водорастворимого полисахарида из *V. fucoides* был на 5–6% больше из шрота, полученного после CO₂- и спиртовой экстракций по сравнению с исходными водорослями. Данное различие объясняется тем, что талломы у водорослевого шрота имеют меньше размер из-за предварительного их измельчения перед CO₂-экстракцией (Рисунок 3).

Разница в значении вязкости полученных образцов 1% растворов водорастворимого полисахарида *V. fucoides* составила порядка 15–20 сП, что не является существенным (Рисунок 3).

Таблица 6
Химический состав водорослей, шрота после CO₂ и спиртовой экстракции
Table 6
Chemical Composition of Algae and the Meal after CO₂ and Alcoholic Extraction

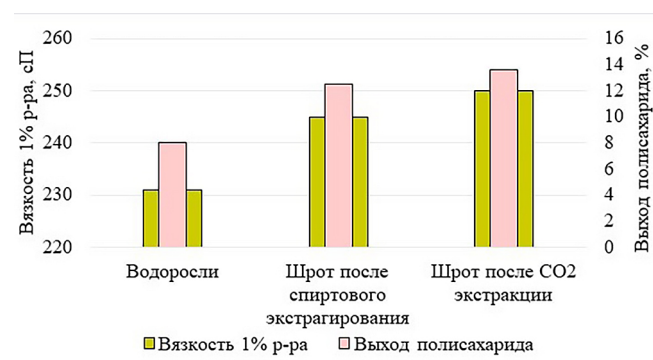
Наименование показателя	Вид водоросли					
	красные			бурые		
	<i>V. fucoides</i>	<i>A. plicata</i>	<i>A. tobuchiensis</i>	<i>A. nodosum</i>	<i>F. vesiculosus</i>	<i>F. distichus</i>
Водоросли						
Зола	28,6	14,0	21,4	17,3	20,6	16,8
Белок	18,25	16,34	19,67	8,55	6,86	9,70
Углеводы	53,2	69,7	58,9	74,1	72,5	73,5
Шрот после CO ₂ экстракции						
Зола	32,1	19,1	24,4	18,9	25,7	20,9
Белок	18,20	19,38	17,15	7,90	8,88	8,70
Углеводы	49,7	61,5	58,5	73,2	65,4	70,4
Шрот после спиртовой экстракции						
Зола	28,7	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.
Белок	20,20	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.
Углеводы	51,1	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.	н. о.
Примечание — н. о. — не определяли						

Рисунок 3

Выход и вязкость раствора водорастворимого полисахарида *V. fucoides*

Figure 3

Yield and Viscosity of the Water-Soluble Polysaccharide Solution of *V. fucoides*



Выход и прочность агара из шрота *A. plicata* и *A. tobuchiensis*

Поскольку из *A. plicata* возможно получать два типа агара, используя различные способы (Игнатова & Подкорытова, 2022), то в связи с этим были проведены работы, по выделению этих полисахаридов, применяя различные подходы. Сравнение выхода и прочности геля агара, полученного из водоросли и водорослевого шрота, показали отсутствие серьезных отличий в образцах по данным показателям (Таблица 7).

Аналогичные результаты были получены при сравнении выхода и прочности агара выделенного из водоросли *A. tobuchiensis* и её шрота (Рисунок 4).

Таблица 7

Выход и прочность геля 1% раствора агара полученного из *A. plicata* при разных температурах экстракции полисахарида

Table 7

Yield and Strength of a 1% Agar Gel Obtained from *A. plicata* at Different Polysaccharide Extraction Temperatures

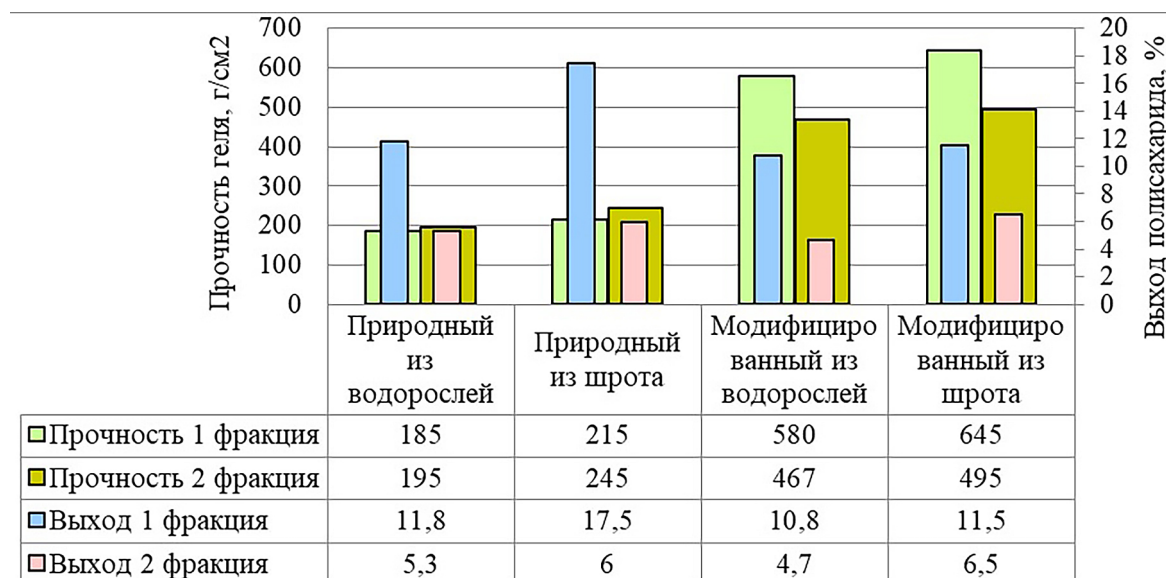
Наименование типа агара	Номер фракции	Прочность геля, г/см ²	Выход по фракции, %	Выход общий, %
Температура экстракции 98±2°C				
Природный из водоросли	1	100	11,4	16,7
	2	140	5,3	
Природный из шрота	1	100	13,1	20,0
	2	175	6,9	
Модифицированный из водоросли	1	170	3,6	5,5
	2	245	1,9	
Модифицированный из шрота	1	165	3,8	5,8
	2	250	2,0	
Температура экстракции 120±2°C				
Природный из водоросли	1	115	14,7	21,8
	2	145	7,1	
Природный из шрота	1	110	20,1	24,0
	2	180	3,9	
Модифицированный из водоросли	1	229	4,0	6,2
	2	345	2,2	
Модифицированный из шрота	1	295	4,6	8,0
	2	355	3,4	

Рисунок 4

Выход и прочность геля агара, полученного из *A. tobuchiensis*

Figure 4

Yield and Strength of the Agar Gel Obtained from *A. tobuchiensis*



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В рамках проведённого исследования была осуществлена оценка эффективности сверхкритической углекислотной (CO_2) экстракции как ключевого этапа комплексной переработки морских макрофитных водорослей с целью получения биологически активных веществ (БАВ) и водорастворимых полисахаридов. Полученные данные подтверждают высокую селективность CO_2 в отношении неполярных компонентов биомассы, таких как триглицериды, свободные жирные кислоты, воски и токоферолы, что согласуется с результатами предыдущих исследований (Sajilata et al., 2008; Santana et al., 2012; Prafulla, 2018). Полярные вещества более эффективно извлекаются с использованием этилового спирта, что обосновывает необходимость этапной экстракции с применением растворителей различной полярности.

Химический анализ CO_2 -экстрактов продемонстрировал преобладание таких жирных кислот, как миристиновая, пальмитиновая и олеиновая, а также наличие физиологически значимых соединений, включая токоферолы (β - и δ -формы), сквален и ряд углеводов растительного происхождения. Обнаружение сквалена, обладающего выраженными

кардиопротекторными и антиоксидантными свойствами (Cárdeno et al., 2015), а также стигмастеролов — компонентов фукостерольного ряда с установленной антидиабетической активностью *in vivo* (Lee et al., 2004) — подтверждает функциональную значимость полученных экстрактов для медицины и функционального питания.

Качественный состав CO_2 -экстрактов, полученных из бурых и красных водорослей, варьировался незначительно, демонстрируя устойчивость набора основных БАВ вне зависимости от таксономической принадлежности исходного сырья. Исключение составили два соединения — γ -ситостерол и стигмаста-5,24(28)-диен-3-ол, ($3\beta,24Z$), варьировавшие между образцами, что может быть связано с видоспецифическими различиями метаболического профиля. Также установлено, что для образцов, полученных из *V. fucoides* и *F. vesiculosus*, соотношение жирных кислот семейства омега-6 и омега-3 соответствовало физиологически обоснованной норме (МР 2.3.1.0253–21, 2021), что подчёркивает потенциал использования данных экстрактов в диетическом питании.

Антиоксидантная активность экстрактов варьировалась в зависимости от вида водорослей: наи-

большие значения были зафиксированы для образцов, полученных из *A. plicata* и *A. tobuchiensis*. Выявленная вдвое большая антиоксидантная активность спиртовых по сравнению с CO₂-экстрактами из *V. fucoides* указывает на преимущественно полярную природу антиоксидантных компонентов данного вида. Отсутствие прямой зависимости между содержанием хлорофилла и уровнем антиоксидантной активности экстрактов свидетельствует о присутствии в их составе других соединений с выраженными редокс-свойствами.

Водорослевый шрот, образующийся после CO₂-экстракции, является ценным вторичным сырьем. Анализ показал, что водорастворимые полисахариды, выделенные из данного шрота, не уступают по физико-химическим характеристикам, полученным из сушёных водорослей. Это подтверждает возможность рационального использования остаточной биомассы в рамках безотходной технологии. Увеличение выхода полисахаридов при водной экстракции из шрота обусловлено не качественными изменениями биоматериала, а улучшением доступности целевых компонентов за счёт предварительного механического измельчения.

Таким образом, совокупность полученных результатов подтверждает целесообразность применения последовательной CO₂- и водной экстракции как эффективной стратегии комплексной переработки морских водорослей. Установленные химические и функциональные характеристики полученных экстрактов позволяют рекомендовать разработку каскадных экстракционных комплексов, обеспечивающих целенаправленное выделение БАВ и полисахаридов с возможностью дальнейшего масштабирования технологии.

Ограничения исследования

Выявленные в CO₂-экстрактах компоненты относятся к летучим соединениям, доступные для определения методом ГХ-МС. Для еще более глубокого изучения химического состава целесообразно дополнить исследование методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией высокого разрешения, позволяющим расширить спектр идентифицируемых веществ за счет нелетучих и полярных компонентов экстрактов. Наличие в составе CO₂-экстрактов широ-

кого спектра БАВ обосновывает необходимость проведение исследований по определению их токсичности и установлению летальной дозы, что обусловит безопасность их применения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование подтвердило технологическую и биотехнологическую целесообразность последовательного применения сверхкритической углекислотной и водной экстракций при комплексной переработке водорослей-макрофитов. Данная стратегия обеспечивает получение двух целевых фракций — CO₂-экстрактов, содержащих широкий спектр биологически активных веществ, и водорастворимых полисахаридов, востребованных в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности.

Установлено, что физико-химические характеристики полисахаридов, извлечённых из шрота, образующегося после CO₂-экстракции, сопоставимы с параметрами полисахаридов, полученных непосредственно из водорослевого сырья, что подтверждает эффективность вторичной переработки биомассы. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии деградации или структурной модификации целевых углеводных компонентов в результате предварительной CO₂-обработки.

Комплексный анализ химического состава, а также антимикробной и антиоксидантной активности CO₂-экстрактов показал наличие жирных кислот семейств омега-6 и омега-3 в физиологически обоснованном соотношении, что наряду с присутствием соединений с доказанным антиоксидантным и противодиабетическим потенциалом (токоферолы, фукостеролы, сквален) подчёркивает перспективность использования экстрактов в качестве функциональных ингредиентов при создании биологически активных добавок и специализированных пищевых продуктов. Таким образом, предложенный каскадный подход к переработке водорослевого сырья позволяет существенно повысить эффективность его использования, минимизируя количество отходов и расширяя спектр получаемых целевых компонентов. Полученные результаты могут служить научной основой для дальнейшей разработки ресурсосберегающих технологий комплексной переработки водорослей.

В перспективе планируется проведение углублённого химического профилирования CO₂-экстрактов с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряжённой с масс-спектрометрией высокого разрешения (HPLC-HRMS), а также проведение доклинической *in vivo*-оценки безопасности и биологической активности экстрактов на модельных животных.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Татьяна Анатольевна Игнатова: концептуализация; администрирование данных; проведение исследования; написание черновика рукописи и её редактирование.

Тимур Муратович Байгильдиев: проведение исследования; создание рукописи и её редактирование.

Марина Олеговна Березина: написание черновика рукописи и её редактирование.

Юлия Александровна Баскакова: проведение исследования, создание рукописи и её редактирование.

Лариса Камилевна Плакун: проведение исследования, создание рукописи и её редактирование.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Tatiana A. Ignatova: conceptualization; project administration; investigation; writing — original draft preparation & editing.

Timur M. Baygildiev: investigation; writing — review & editing.

Marina O. Berezina: writing — original draft preparation & editing.

Yulia. A. Baskakova: investigation; writing — review & editing.

Larisa K. Plakun: investigation; writing — review & editing.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Березина, М.О. (2024). Состояние запасов и перспективы использования водорослей Белого моря. *Материалы Международной научно-практической конференции* (с. 66–69). М.: Изд-во ВНИРО.
- Berezina, M.O. (2024). Sostojanie zapasov i perspektivy ispol'zovanija vodoroslej Belogo morja. *Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii* (s. 66–69). М.: Izd-vo VNIRO. (In Russ.)
- Евсеева, Н. В., Матюшкин, В.Б., Березина, М.О., Мельник, Р.А., Левицкий, А.Л., Власов, Д.О., Саенко, Е.М., Жильцова, Л.В., Белый, М.Н., Дуленин, А.А., Прохорова, Н.Ю., Сологуб, Д.О., Ботнев Д.А. (2024). Состояние ресурсов и промысел водорослей и морских трав в морях России в 2000–2020 гг. *ТРУДЫ ВНИРО*, 195(1), 232–248. <https://doi.org/10.36038/2307-3497-2024-195-232-248>
- Evseeva, N.V., Matyushkin, V.B., Berezina, M.O., Melnik, R.A., Levitsky, A.L., Vlasov, D.O., Saenko, E.M., Zhiltsova, L.V., Belyj, M.N., Dulenin, A.A., Prokhorova, N.Y., Sologub, D.O., & Botnev, D.A. (2024). State of resources and fishery of commercial Seaweeds and Seagrasses in the Seas of Russia in 2000–2020. *Trudy VNIRO*, 195(1), 232–248. (In Russ.) <https://doi.org/10.36038/2307-3497-2024-195-232-248>
- Игнатова, Т. А., Подкорытова, А. В., Евсеева, Н. В., Баскакова, Ю. А., & Мулянова, М. П. (2023). Красные водоросли Белого моря: оценка их потенциала как сырья для получения фармацевтических субстанций антимикробного действия. Рыбохозяйственный комплекс России: проблемы и перспективы развития. *Материалы I Международной научно-практической конференции* (с. 353–358). М.: Изд-во ВНИРО.
- Ignatova, T. A., Podkorytova, A. V., Evseeva, N. V., Baskakova, Ju. A., & Muljanova, M. P. (2023). Krasnye vodorosli Belogo morja: ocenka ih potenciala kak syr'ja dlja polucheniya

- farmaceuticheskikh substancij antimikrobnogo dejstviya. *Rybohozajstvennyj kompleks Rossii: problemy i perspektivy razvitiya. Materialy I Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii* (s. 353–358). M.: Izd-vo VNIRO. (In Russ.)
- Игнатова, Т. А., & Подкорытова, А. В. (2022). Управление качеством гелеобразующих полисахаридов, экстрагируемых из *Ahnfeltia plicata* Белого моря. *Современные проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса: материалы X международной научно-практической конференции молодых учёных и специалистов* (с. 331–333). М.: Изд-во ВНИРО.
- Ignatova, T. A., & Podkorytova, A. V. (2022). Upravlenie kachestvom geleobrazujushhih polisaharidov, jekstragiruemyh iz *Ahnfeltia plicata* Belogo morja. *Sovremennye problemy i perspektivy razvitiya rybohozajstvennogo kompleksa: Materialy X mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii molodyh uchjonyh i specialistov* (s. 331–333). M.: Izd-vo VNIRO. (In Russ.)
- Кейтс, М. (1975). *Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов*. М: Издательство «МИР».
- Kejts, M. (1975). *Tehnika lipidologii. Vydelenie, analiz i identifikacija lipidov*. M.: Izdatel'stvo «MIR». (In Russ.)
- Миронов О. А., Миронов О. Г., & Муравьева И. П. (2021). Содержание липидов в макрофитах разных районов прибрежной акватории Севастополя (Чёрное море). *Труды Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского — природного заповедника РАН*, 6(1), 17–23. <https://doi.org/10.21072/eco.2021.17.02>
- Mironov, O. A., Mironov, O. G., & Muravyova, I. P. (2021). The content of lipids in macrophytes of different coastal water areas of Sevastopol (The black sea). *Proceedings of the Karadag Scientific Station named after T. I. Vyazemsky — Nature Reserve of the Russian Academy of Sciences*, 6(1), 17–23. (In Russ.) <https://doi.org/10.21072/eco.2021.17.02>
- Наумов, И. А., Буркова, Е. А., Канарская, З. А., & Канарский, А. В. (2015). Водоросли — источник биополимеров, биологически активных веществ и субстрат в биотехнологии (часть 1. Биополимеры клеток тканей водорослей). *Вестник Технологического университета*, 18(1), 184–188.
- Naumov, I. A., Burkova, E. A., Kanarskaja, Z. A., & Kanarskij, A. V. (2015). Vodorosli — istochnik biopolimerov, biologicheski aktivnyh veshhestv i substrat v biotehnologii (chast' 1. Biopolimery kletok tkanej vodoroslej). *Vestnik Tehnologicheskogo universiteta*, 18(1), 184–188. (In Russ.)
- Подкорытова, А. В., & Игнатова, Т. А. (2022). Морские красные водоросли — неиссякаемый источник биологически активных веществ, для медицины и фармацевтики. *Труды ВНИРО*, 188, 151–165. <https://doi.org/10.36038/2307-3497-2022-188-151-165>
- Podkorytova, A. V., & Ignatova, T. A. (2022). Marine red algae as an inexhaustable source of biologically active substances for medicine and pharmaceuticals. *Trudy VNIRO*, 188, 151–165. (In Russ.). <https://doi.org/10.36038/2307-3497-2022-188-151-165>
- Рубчевская, Л. П., Ушанова, В. М., & Журавлева, Л. Н. (2005). Биологически активные вещества углекислотных и пропан-бутановых экстрактов древесной зелени. *Российский химический журнал*, XLVIII(3), 80–83. <https://doi.org/10.6060/rcj.2025691.1>
- Rubchevskaja, L. P., Ushanova, V. M., & Zhuravleva, L. N. (2005). Biologicheski aktivnye veshhestva uglekislotnyh i propan-butanovyh jekstraktov drevesnoj zeleni. *Rossiiskii Khimicheskii Zhurnal (Russian Chemistry Journal)*, XLVIII(3), 80–83. (In Russ.) <https://doi.org/10.6060/rcj.2025691.1>
- Хотимченко, С. В., & Гусарова, И. С. (2004). Красные водоросли залива Петра Великого как источник арахидоновой и эйкозапентаеновой кислот. *Биологическое море*, 30(3), 215–218.
- Khotimchenko, S. V., & Gusarova, I. S. (2004). Red algae of Peter the Great Bay as a source of arachidonic and eicosapentaenoic acids. *Russian Journal of Marine Biology*, 30(3), 183–187. <https://doi.org/10.1023/B:RUMB.0000033953.67105.6b> (In Russ.)
- Чупахина Г. Н., Масленников П. В., Скрыпник Л. Н., Чупахина Н. Ю., & Федуреаев П. В. (2016). *Антиоксидантные свойства культурных растений Калининградской области*. Калининград: Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта.

- Chupahina G. N., Maslennikov P. V., Skrypnik L. N., Chupahina N. Ju., & Feduraev P. V. (2016). *Antioksidantnye svoystva kul'turnyh rastenij Kaliningradskoj oblasti*. Kaliningrad: Baltijskij federal'nyj universitet imeni Immanuila Kanta. (In Russ.)
- Balk, E., Chung, M., Lichtenstein, A., Chew, P., Kupelnick, B., Lawrence, A., DeVine, D., & Lau, J. (2004). Effects of omega-3 fatty acids on cardiovascular risk factors and intermediate markers of cardiovascular disease. *Evidence Report Technology Assessment*, 93, 1–6.
- Capriotti, K., & Capriotti, J. A. (2012). Dimethyl sulfoxide: History, chemistry, and clinical utility in dermatology. *Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, 5(9), 24–6.
- Cárdeno, A., Aparicio-Soto, M., Montserrat-de la Paz, S., Bermudez, B., Muriana, F. J. G., & Alarcón-de-la-Lastra, C. (2015). Squalene targets pro- and anti-inflammatory mediators and pathways to modulate over-activation of neutrophils, monocytes and macrophages. *Journal of Functional Foods*, 14, 779–790. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.009>
- Cheung, P. C. K., Leung, A. Y. H., & Ang, P. O. (1998). Comparison of supercritical carbon dioxide and soxhlet extraction of lipids from a brown seaweed, *Sargassum hemiphyllum* (Turn.) C. Ag. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4228. <https://doi.org/10.1021/JF980346H>
- Cid, U., Rodríguez-Seoane, P., Díaz-Reinoso, B., & Domínguez, H. (2021). Extraction of fatty acids and phenolics from *Mastocarpus stellatus* using pressurized green solvents. *Marine Drugs*, 19, 453. <https://doi.org/10.3390/md19080453>
- Georgiopoulou, I., Tzima, S., Louli, V., & Magoulas, K. (2022). Supercritical CO2 extraction of high-added value compounds from *Chlorella vulgaris*: experimental design, modelling and optimization. *Molecules*, 27, 5884. <https://doi.org/10.3390/molecules27185884>
- Gonzalez-Rivera, M., Barragan-Galvez, J. C., Gasca-Martínez, D., Hidalgo-Figueroa, S., Isiordia-Espinoza, M., & Alonso-Castro, A. J. (2023). In Vivo neuropharmacological effects of neophytadiene. *Molecules*, 28, 3457. <https://doi.org/10.3390/molecules28083457>
- Holdt, S. L., Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23, 543–597. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9632-5>
- Jung, J. Y., Kwon, H. H., Hong, J. S., Yoon, J. Y., Park, M. S., Jang, M. Y., & Suh, D. H. (2014). Effect of dietary supplementation with omega-3 fatty acid and gamma-linolenic acid on acne vulgaris: A randomised, double-blind, controlled trial. *Acta Dermato-Venereologica*, 94, 521–525. <https://doi.org/10.2340/00015555-1802>
- Kumari, P., Kumar, M., Reddy, C. R. K., & Jha, B. (2013). Algal lipids, fatty acids and sterols. In *functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals* (pp. 87–134). Woodhead Publishing Limited. <http://dx.doi.org/10.1533/9780857098689>
- Lee, Y. S., Shin, K. H., Kim, B.-K., & Lee, S. (2004). Anti-diabetic activities of fecosterol from *Pelvetia siliquosa*. *Archives Pharmacal Research*, 27, 1120–1122. <https://doi.org/10.1007/bf02975115>
- Li, Y., Naghdi, F. G., Garg, S., Adarme-Vega, T. C., Thurecht, K. J., Ghafor, W. A., Tannock, S., & Schenk, P. M. (2014). A comparative study: the impact of different lipid extraction methods on current microalgal lipid research. *Microbial Cell Factories*, 13, 14. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-14>
- Lorenzen, J., Igl, N., Tippelt, M., Stege, A., Qoura, F., Sohling, U., & Brück, T. (2017). Extraction of microalgae derived lipids with supercritical carbon dioxide in an industrial relevant pilot plant. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 40, 911–918. <https://doi.org/10.1007/s00449-017-1755-5>
- Machmudah, S., Diono, W., Kanda, H., & Goto, M. (2018). Supercritical fluids extraction of valuable compounds from algae: Future perspectives and challenges. *Engineering Journal*, 22(5), 13–30. <http://dx.doi.org/10.4186/ej.2018.22.5.13>
- Mendes, R. L., Nobre, B. P., Cardoso, M. T., Pereira, A. P., & Palavra, A. F. (2003). Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with pharmaceutical importance from microalgae. *Inorganica Chimica Acta*, 356, 328–334. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(03\)00363-3](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(03)00363-3)
- Mercer, P., Armenta, R. E. (2011). Development in oil extraction from microalgae. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(5), 539–547. <https://doi.org/10.1002/EJLT.201000455>

- Metzger, P., & Largeau, C. (2004). Botryococcus braunii: A rich source for hydrocarbons and related ether lipids. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 66(5), 486–96. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1779-z>
- Obeid, S., Beaufilsa, N., Camyd, S., Takache, H., Ismail, A., & Pontalier, P.-Y. (2018). Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of lipids from freeze-dried microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, 34, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.003>
- Ota, M., Watanabe, H., Kato, Y., Watanabe, M., Sato, Y., Smith, R. L., & Inomata, H. (2009). Carotenoid production from *Chlorococcum littorale* in photoautotrophic cultures with downstream supercritical fluid processing. *Journal of Separation Science*, 32, 2327–2335, <https://doi.org/10.1002/jssc.200900154>
- Pereira, H., Barreira, L., Figueiredo, F., Custódio, L., Vizetto-Duarte, C., Polo, C., Rešek, E., Engelen, A., & Varela, J. (2012). Polyunsaturated fatty acids of marine macroalgae: Potential for nutritional and pharmaceutical applications. *Marine Drugs*, 10, 1920–1935. <https://doi.org/10.3390/md10091920>
- Pour Hosseini, S. R., Tavakoli O., & Sarrafzadeh M. H. (2017). Experimental optimization of SC-CO₂ extraction of carotenoids from *Dunaliella salina*. *The Journal of Supercritical Fluids*, 121, 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.11.006>
- Prafulla, D. P., Kodanda, P. R. D., Wang, J., Deng, Q., & Deng, S. (2018). Extraction of bio-oils from algae with supercritical carbon dioxide and co-solvents. *The Journal of Supercritical Fluids*, 135, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.12.019>
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kamat, M. Y. (2008). Supercritical CO₂ extraction of γ-linolenic acid (GLA) from *Spirulina platensis* ARM 740 using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 84, 321–26. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.05.028>
- Santana, A. S., Jesus, M. A., Larrayoz, M. A., & Filho R. M. (2012). Supercritical carbon dioxide extraction of algal lipids for the biodiesel production. *Procedia Engineering*, 42, 1755–1761. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.07.569>
- Schacky, C. V. (2008). Omega-3 fatty acids: Antiarrhythmic, proarrhythmic or both? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 11(2), 94–99. <https://doi.org/10.1097/mco.0b013e3282f44bdf>
- Schuhmann, H., Lim, D. K. Y., & Schenk, P. M. (2012). Perspectives on metabolic engineering for increased lipid contents in microalgae. *Biofuels*, 3, 1–86. <https://doi.org/10.4155/bfs.11.147>
- Sholokhova, A. Y., Matyushin, D. D., Grinevich O. I., Borovikova, S. A., & Buryak, A. K. (2023). Intelligent workflow and software for non-target analysis of complex samples using a mixture of toxic transformation products of unsymmetrical dimethylhydrazine as an example. *Molecules*, 28(8), 3409. <https://doi.org/10.3390/molecules28083409>
- Terme, N., Boulho, R., Kucma, J.-P., Bourgougnon, N., & Gilles, B. (2018). Radical scavenging activity of lipids from seaweeds isolated by solid-liquid extraction and supercritical fluids. *Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*, 25(5), D505. <https://doi.org/10.1051/ocl/2018054>
- Thomsen, B. J., Chow, E. Y., & Sapijaszko, M. J. (2020). The potential uses of omega-3 fatty acids in dermatology: A review. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*, 24, 481–494. <https://doi.org/10.1177/1203475420929925>
- Wang, L., Pan, B., Sheng, J., Xu, J., & Hu, Q. (2007). Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food Chemistry*, 105, 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.054>