

ГЛУБОКИЕ ЭВТЕКТИЧЕСКИЕ РАСТВОРИТЕЛИ В БИОТЕХНОЛОГИИ

©2023 г. О. В. МОРОЗОВА¹, И. С. ВАСИЛЬЕВА¹,
Г. П. ШУМАКОВИЧ¹, Е. А. ЗАЙЦЕВА²,
А. И. ЯРОПОЛОВ¹

¹ *Институт биохимии им. А.Н.Баха, Федеральный
исследовательский центр «Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской академии наук, Москва*

² *Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва*

I. Введение. II. Типы глубоких эвтектических растворителей,
получение и свойства. III. Использование глубоких эвтектических
растворителей в биотехнологии. IV. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Термин «зеленая» химия подразумевает развитие стратегии использования экологически приемлемых материалов и растворителей, в том числе и для биотехнологии. Использование традиционных органических растворителей часто ограничено их токсичностью, взрывоопасностью и негативным влиянием на окружающую среду. В последние годы значительно вырос интерес к нетоксичным, нелетучим, биodeградируемым и экологически приемлемым растворителям для проведения химических и биотехнологических процессов.

Принятые сокращения: IL – ионная жидкость; DES – глубокий эвтектический растворитель; HBD – донор водородных связей; HBA – акцептор водородных связей; NADES – природный эвтектический растворитель; THEDES – терапевтический глубокий эвтектический растворитель; API – активный фармацевтический ингредиент; ChCl – холин хлорид; Bet – бетаин; U – мочевины; EG – этиленгликоль; G – глицерин; MA – малоновая кислота; BD – 1,4-бутандиол; Sor – D-сорбит; LA – молочная кислота; VP – универсальная пероксидаза; TPS – термопластичный крахмал; Chit – хитозан; FTIR – инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье; XRD – дифракция рентгеновских лучей; SEM – сканирующая электронная микроскопия.

Адрес для корреспонденции: yaropolov@inbi.ras.ru

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского Фонда
Фундаментальных исследований (проект № 20-08-00104а).

В 90-х годах XX века исследования по замене традиционных органических растворителей были в основном сфокусированы на использовании ионных жидкостей (ionic liquids, IL) [1, 2]. Однако, сложность синтеза, высокая стоимость и токсичность IL, а также негативное влияние на окружающую среду, являются важными ограничениями для их широкого использования в промышленности. В начале 2000-х годов был получен новый тип растворителей, названный «глубокие эвтектические растворители» (deep eutectic solvents, DES), которые по многим физико-химическим свойствам были близки к IL. Первые DES были получены смешиванием соли четвертичного аммония (хлорида холина, ChCl) с хлоридами металлов [3]. Как правило, DES получают термическим смешиванием двух или более компонентов с образованием эвтектической смеси, которая имеет температуру плавления ниже, чем температура плавления отдельных компонентов. DES характеризуются низкой летучестью, высокой термической стабильностью, проводимостью, отсутствием токсичности, и большинство из них являются биоразлагаемыми. Кроме того, многие из них являются жидкими при комнатной температуре. Основными преимуществами DES по сравнению с IL являются простота получения и возможность варьировать физико-химические свойства в зависимости от природы компонентов, их молярного соотношения и содержания воды [4, 5]. DES имеют практически нулевое давление пара и представляют собой вязкие жидкости. Повышая температуру или добавляя небольшое количество воды, вязкость DES можно значительно снизить.

Первоначальные ожидания, что DES будут универсальными растворителями не оправдались. На самом деле для каждого приложения должен быть разработан наиболее подходящий DES. Число комбинаций компонентов DES чрезвычайно велико, что позволяет получать DES с различными свойствами (гидрофильные, гидрофобные, щелочные, нейтральные и др.) и адаптировать их для конкретных приложений. Компоненты некоторых типов DES получают из возобновляемых источников. Следует отметить, что высокая растворимость компонентов DES в воде позволяет легко отделить целевые продукты, которые выпадают в осадок после добавления воды, не прибегая к экстракции органическим растворителем. DES можно повторно использовать после удаления воды выпариванием.

В последние годы интерес к DES значительно возрос как на академическом, так и на промышленном уровне. Эти растворители могут быть использованы в различных областях, например, для осаждения металлов [6], в полимерной химии [7], в качестве пластификаторов биополимерных соединений [8, 9], а также для различных биотехнологических целей [10].

Настоящий обзор посвящен основным биотехнологическим аспектам использования DES, а именно, для экстракции физиологически активных соединений из природного сырья, предобработки лигноцеллюлозной биомассы с целью извлечения лигнина и последующего ферментативного гидролиза целлюлозы, для получения биоразлагаемых биопластиков, а также в качестве реакционной среды при проведении биокаталитических реакций.

II. ТИПЫ ГЛУБОКИХ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ, ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА

Первое сообщение о глубоких эвтектических растворителях, как о новом классе растворителей на основе эвтектических систем и потенциальной альтернативе IL появилось в 2001 г., когда Abbot et al. [3] описали значительное снижение температуры плавления смесей хлоридов металлов и солей четвертичного аммония. Эти растворители имеют много общих характеристик с IL, и некоторые авторы рассматривают DES как подкласс IL. Однако большинство исследователей придерживаются мнения, что DES представляют собой другой тип растворителя, потому что они образуются не только из ионных частиц (существуют DES с неионными соединениями) и при их получении не происходит никаких химических реакций. С точки зрения защиты окружающей среды DES считаются безвредными растворителями из-за их биоразлагаемости, возможности вторичной переработки и повторного использования. Таким образом, они представляют собой подходящую альтернативу классическим IL, которые обычно токсичны, трудны для синтеза и являются продуктами нефтепереработки.

Термин «глубокий эвтектический растворитель» был введен в 2003 г. [11], однако четкого его определения нет. Так в работе [12] DES были описаны как смесь двух или более компонентов, которые взаимодействуют посредством водородных связей с образованием эвтектической смеси. Smith et al. [13] определяли компоненты DES как кислоты и основания Льюиса или Бренстеда, а в работе [14] было установлено лишь требование значительно более низкой температуры плавления смеси по сравнению с температурой плавления отдельных компонентов. В настоящее время термин «глубокий эвтектический растворитель» стал универсальным выражением, которое описывает бинарные или тройные смеси соединений, температура плавления которых снижается по сравнению с температурами плавления чистых изолированных компонентов.

В зависимости от типа компонентов, участвующих в образовании эвтектической смеси, на сегодняшний день DES подразделяются на четыре типа [13]. DES типа I состоят из соли четвертичного аммония и хлорида металла, типа II – из соли четвертичного аммония и гидрата хлорида металла, типа III – из солей аммония, сульфония или фосфония и донора водородной связи (hydrogen bond donor, HBD), а типа IV – из хлорида металла и HBD. Потенциал использования DES типа I ограничен высокой температурой плавления негидратированных галогенидов металлов, используемых для получения DES. Относительно низкая стоимость используемых для синтеза DES типа II гидратированных солей металлов, а также их нечувствительность к воздуху и влаге, позволяет значительно расширить область их применения. Однако, наибольшее внимание исследователей привлекают DES типа III, что связано с широким кругом соединений, используемых в качестве HBD для синтеза. На сегодняшний день разработаны различные DES типа III с использованием большого числа биоразлагаемых и недорогих компонентов, таких как карбоновые кислоты, амины, полиспирты и др. К типу IV относят DES на основе солей переходных металлов, которые обычно не ионизируются в неводных средах [15]. Недавно в работе [16] было предложено рассматривать DES, состоящие из неионогенных молекулярных компонентов (акцепторов и доноров водородной связи), в качестве нового типа DES (тип V). Такие DES демонстрировали характерное снижение температуры плавления, возникающее исключительно из-за образования сильной водородной связи [16–21].

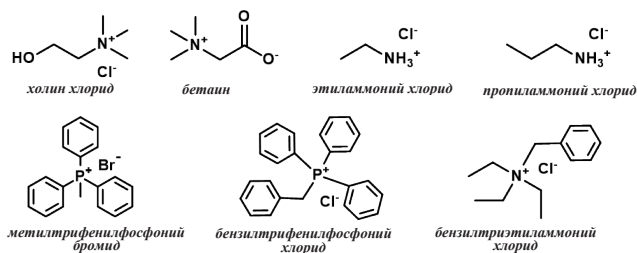
Наиболее часто используемый метод получения DES всех типов – простое смешивание компонентов в заданном молярном соотношении и нагревании смеси до умеренно повышенной температуры (обычно 60–100°C) в течение нескольких часов до образования однородной прозрачной жидкости. [4, 11, 13, 22]. Помимо этого метода для приготовления DES были использованы методы вакуумного выпаривания (компоненты DES сначала растворяются в воде, а потом выпариваются на роторном испарителе) [4, 23, 24], лиофильной сушки (лиофилизации водного раствора, состоящего из отдельных компонентов DES) [23–25], измельчения (перетирание компонентов в ступке при комнатной температуре до образования прозрачной жидкости) [26, 27], двухшнековой экструзии [28], а также методы с использованием микроволнового или ультразвукового излучения [29, 30]. По сравнению с другими методами синтеза, для получения DES с помощью микроволн необходимо всего 20 с. Необходимо отметить, что метод получения DES не влияет на их физические

свойства. Так ^1H ЯМР спектры DES, полученные двумя разными методами (выпаривания и нагревания), были одинаковыми [4]. В работе [31] было проведено сравнение трех методов приготовления DES (традиционного метода нагревания и методов с использованием микроволн и ультразвука) и показано, что существенных различий в физических свойствах DES нет. Хотя методы получения DES с помощью ультразвука и микроволн быстрее и эффективнее, основное преимущество традиционного метода нагревания заключается в использовании простого оборудования и позволяет производить большие объемы DES. Синтез DES прост, на 100% экономичен по атомам, не требует очистки конечного продукта, что делает возможным широкомасштабное использование этих растворителей.

Подавляющее большинство исследований сосредоточено на DES типа III, что связано с простотой их получения, низкой стоимостью, биосовместимостью. DES типа III состоят из акцептора водородной связи (hydrogen bond acceptor, HBA) – обычно четвертичных солей аммония или фосфония, и донора водородной связи (HBD) (рис. 1). Благодаря своей низкой стоимости, способности к биологическому разложению и низкой токсичности холин хлорид (ChCl) наиболее широко используется для получения эвтектических смесей в качестве HBA. Эта нетоксичная соль является важным питательным веществом, используется для лечения ряда заболеваний и применяется в кормах для животных [32, 33]. Теоретически количество возможных комбинаций HBA и HBD неограниченно, что можно использовать для разработки DES с различными физико-химическими свойствами (температура плавления, вязкость, проводимость и pH). Следует особо подчеркнуть, что свойства DES являются функцией их состава, что делает их универсальными и легко настраиваемыми растворителями [34–36]. Необходимо отметить, что большинство публикаций посвящено двухкомпонентным DES. Добавление третьего компонента оказывает существенное влияние на свойства DES [37], но системного подхода к изучению свойств трехкомпонентных DES пока нет. Имеется несколько публикаций, в которых трехкомпонентные DES были использованы для предобработки и делигнификации биомассы [38–42], растворения лигнина [43], экстракции хитина [44].

Сеть водородных связей, образующихся при формировании DES, является основой их свойств. Наибольшее влияние на физические свойства DES оказывают природа компонентов, их молярное соотношение, температура и содержание воды [45, 46]. Ключевые характеристики DES включают температуру плавления, плотность, вязкость, поверхностное натяжение, проводимость, термическую стабиль-

Акцепторы водородных связей (HBA)



Доноры водородных связей (HBD)

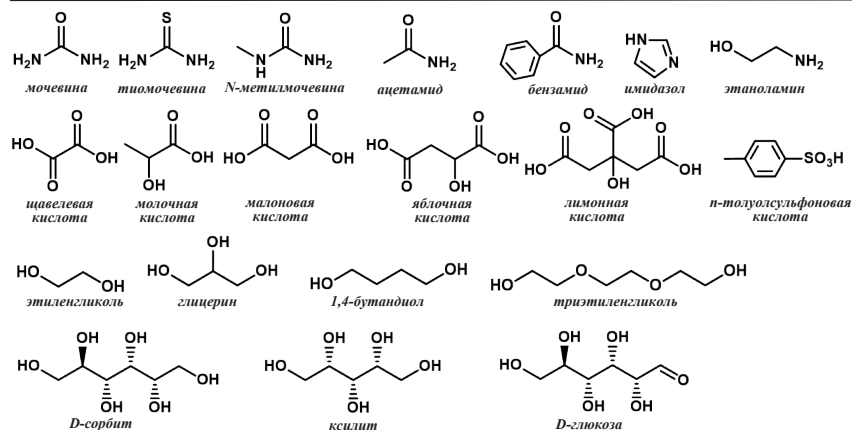


Рис. 1. Некоторые доноры и акцепторы водородных связей, используемые для получения DES типа III.

ность, полярность, кислотность [12, 13, 47]. Необходимо отметить, что работ по комплексному исследованию физических свойств DES крайне мало [15, 48–59].

Как упоминалось выше, DES характеризуются более низкой температурой плавления, чем у отдельных компонентов (табл. 1). Например, при смешивании ChCl и мочевины, температура плавления которых 302 и 133°C, в молярном соотношении 1 : 2, образуется DES с температурой плавления 12°C [11]. Значительное понижение температуры плавления происходит из-за взаимодействия между галогенид-анионом и компонентом-донором водородной связи, в данном случае мочевиной. Как правило, DES с температурой плавления ниже

Таблица 1. Температуры плавления некоторых DES

Состав DES			T _{пл} , °C	Ссылка
Компонент 1	Компонент 2	Молярное соотношение компонентов		
1	2	3	4	5
холин хлорид (302–305)*	мочевина (134)	1 : 2	12	[11]
	тиомочевина (175)	1 : 2	69	
	1-метилмочевина (93)	1 : 2	29	
	1,3-диметилмочевина (102)	1 : 2	70	
	1,1-диметилмочевина (180)	1 : 2	149	
	ацетамид (80)	1 : 2	51	
	бензамид (129)	1 : 2	92	
холин фторид	мочевина	1 : 2	1	[48]
холин бромид		1 : 2	113	
холин нитрат		1 : 2	4	
холин тетрафторборат		1 : 2	67	
холин хлорид (302–305)	фенилуксусная кислота (77)	1 : 2	25	
	фенилпропионовая кислота (48)	1 : 2	20	
	адипиновая кислота (153)	1 : 1	85	
	малоновая кислота (135)	1 : 1	10	
	щавелевая кислота (190)	1 : 1	34	
	янтарная кислота (185)	1 : 1	71	
	лимонная кислота (149)	2 : 1	69	
	аконитовая кислота (159)	2 : 1	90	
холин хлорид (302–305)	левулиновая кислота (32)	1 : 2	RT**	[53]
	итаконовая кислота (166)	1 : 1	57±3	
	L-(+)-винная кислота(171)	1 : 0.5	47±3	
	4-гидроксибензойная кислота (215)	1 : 0.5	87±3	
	кофейная кислота (212)	1 : 0.5	67±3	
	n-кумаровая кислота (214)	1 : 0.5	67±3	
	коричная кислота (133)	1 : 1	93±3	
	субериновая кислота(142)	1 : 1	93±3	
	галловая кислота (251)	1 : 0.5	77±3	

Продолжение табл. 1 см. на сл. стр.

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5
холин хлорид (302–305)	ксилит (96)	1 : 1	RT	[53]
	D-сорбит (99)	1 : 1	RT	
	D-изосорбит (62)	1 : 2	RT	
холин хлорид (302)	мочевина (132.7)	1 : 2	12.0	[55]
	ацетамид (82.3)	1 : 2	27.6	
	этиленгликоль (–12.9)	1 : 2	–66.15	
	глицерин (18.6)	1 : 2	–36.1	
	1,4-бутандиол (20.2)	1 : 2	8.3	
	триэтиленгликоль (–4.3)	1 : 2	–21.5	
	ксилит (94)	1 : 2	–57.1	
	D-сорбит (95)	1 : 2	–43.3	
	<i>n</i> -толуолсульфоновая кислота (103.5)	1 : 2	2.7	
	щавелевая кислота (101.5)	1 : 2	–21.7	
	левулиновая кислота (37.2)	1 : 2	–11.9	
	малоновая кислота (135.5)	1 : 2	–14.1	
	яблочная кислота (101.0)	1 : 2	–52.2	
	лимонная кислота (153)	1 : 2	–39.6	
винная кислота (172.5)	1 : 2	–48.5		
бензилтриэтиламмоний хлорид	<i>n</i> -толуолсульфоновая кислота	3:07	1.85	[58]
	лимонная кислота моногидрат	1 : 2	25.85	
	щавелевая кислота дигидрат	1 : 2	4.85	
ZnCl ₂ (293)	мочевина (134)	1 : 3.5	9	[15]
	ацетамид (78)	1:04	–16	
	этиленгликоль (13)	1:04	–30	
	гександиол (43)	1:03	–23	
ZnCl ₂ (293)	холин хлорид (302–305)	2:01	23–25	[60]
ZnBr ₂		2:01	38	
FeCl ₃		2:01	65	
SnCl ₂		2:01	37	
холин ацетат	глицерин	1 : 2	23	[61]
	этиленгликоль	1 : 2	23	
	мочевина	1 : 2	18	
холин хлорид	глицерин	1 : 2	23	
	мочевина	1 : 2	13	

Окончание табл. 1 см. на сл. стр

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5
этиламмоний бромид (162)	глицерин	1 : 2	-6	[59]
пропиламмоний бромид (186)		1 : 2	-4	
бутиламмоний бромид (205)		1 : 2	-10	
метилтрифенилфосфоний бромид	глицерин	1 : 2	3.75	[62]
		1 : 3	-5.55	
		1 : 4	15.75	
	этиленгликоль	1 : 3	-46.25	
		1 : 4	-49.35	
		1 : 5	-48.55	
	триэтиленгликоль	1 : 3	-8.25	
		1 : 4	-18.85	
		1 : 5	-21.55	
аланин	молочная кислота	1 : 9	-59.31	[63]
	яблочная кислота	1 : 1	-42.64	
бетаин	молочная кислота	1 : 2	-46.86	
	яблочная кислота	1 : 1	-20.01	
	щавелевая кислота дигидрат	1 : 1	-17.19	
	молочная кислота	1 : 1.3	-76.75	
		1 : 2	-77.73	
		1 : 5	-69.23	
1 : 10	-66.30			
холин хлорид	яблочная кислота	1 : 1	-56.48	
	щавелевая кислота дигидрат	1 : 1	-40,17	
	щавелевая кислота безводная	1 : 1	-46,06	
глицин	молочная кислота	1 : 9	-54.51	
	яблочная кислота	1 : 1	-34.08	
пролин	молочная кислота	1 : 2	-36.69	
	щавелевая кислота дигидрат	1 : 1	-42.91	
	щавелевая кислота безводная	1 : 1	-14.45	
	яблочная кислота	1 : 1	-13.64	
		1 : 2	-15.51	
1 : 3	-44.38			
гистидин	молочная кислота	1 : 9	-39.22	

* В скобках указаны температура плавления компонентов (°C) по данным цитируемого источника

** Жидкость при комнатной температуре.

50°C наиболее привлекательны, поскольку их можно использовать в качестве недорогих и безопасных растворителей во многих областях. При использовании ChCl в качестве HBA, выбор HBD является ключевым моментом в формировании DES с низкой температурой плавления [12]. В работе [11] было показано, что при смешивании различных амидных соединений с ChCl в молярном соотношении 2:1, значительное снижение температуры плавления DES наблюдалось для мочевины и N-метилмочевины (до 12 и 29°C соответственно), т.е. соединений, способных образовывать водородные связи с ионами хлора.

В работе [48] пять различных карбоновых кислот были использованы в качестве HBD для получения DES на основе ChCl. Было показано, что при использовании фенилпропионовой и фенилуксусной кислот наименьшая температура плавления соответствовала DES, при молярном соотношении ChCl/кислота = 1:2. В случае двухосновных кислот, таких как щавелевая, малоновая и янтарная, DES образовывались при молярном соотношении ChCl/кислота = 1:1. Необходимо отметить, что не было установлено четкой корреляции между температурой плавления DES и температурами плавления чистых компонентов.

Природа органических солей также влияет на температуру плавления соответствующих DES (табл. 1). Например, при смешивании мочевины с различными солями четвертичного аммония в молярном соотношении 2:1 были получены DES с температурой плавления в диапазоне от -38 до 113°C [11]. При уменьшении симметрии катиона температура плавления DES снижалась. Природа аниона также оказывала влияние на температуру плавления, которая снижалась в ряду $F^- > NO_3^- > Cl^- > BF_4^-$, что коррелировало с силой водородной связи между анионом и мочевиной. Также существенное влияние на температуру плавления оказывает молярное соотношение HBA/HBD. Например, DES, полученные при молярном соотношении ChCl/мочевина равном 1:1 и 1:2 имели температуру плавления 50 и 12°C, соответственно [12].

Было изучено влияние длины алкильной цепи катиона на физические свойства DES с использованием смесей бромидов алкиламмония и глицерина [59] или мочевины [64]. Полученные результаты позволили предположить, что длина алкильной цепи катиона мало влияет на плотность, показатель преломления, теплопроводность DES, но оказывает существенное влияние на вязкость, поверхностное натяжение и температуру плавления. В работе [58] было показано, что природа HBD оказывает значительное влияние на температуру

плавления, pH, вязкость, электропроводность и плотность DES на основе ChCl.

Плотность большинства DES выше, чем у воды (табл. 2). Также большинство DES обладают относительно высокой вязкостью (>100 мПа \times с) при комнатной температуре, что связано с обширной сетью водородных связей между компонентами. Большой размер ионов и очень маленький объем пустот большинства DES, а также электростатические и Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия, также способствуют высокой вязкости DES.

Плотность и вязкость DES также сильно зависят от природы и молярного отношения компонентов. Например, в работе [52] были изучены свойства бинарных DES на основе ChCl и четырех НВД (этиленгликоля (EG), глицерина (G), мочевины (U) и малоновой кислоты (MA)), и показано, что плотность и вязкость DES зависела от природы НВД: при 25 $^{\circ}$ C плотность и вязкость возрастала в ряду ChCl/EG (1:2) < ChCl/G (1:2) < ChCl/U (1:2) < ChCl/MA (1:1). В работе [50] были изучены физические свойства DES на основе ChCl и трех полиспиртов (EG, G и 1,4-бутандиола (BD)). В случае диолов, при увеличении молярного соотношения ChCl/диол вязкость ChCl/EG и ChCl/BD увеличивалась (табл. 2). Иная картина наблюдалась для ChCl/G: при 20 $^{\circ}$ C вязкость смесей ChCl/G, полученных при молярном соотношении 1:4, 1:3, 1:2, составляла 503, 450 и 376 мПа \times с, соответственно. Авторы объясняли это с тем, что диолы образуют линейные агрегаты молекул, связанных водородными связями, тогда как молекулы глицерина образуют сеть трехмерных водородных связей, которая обеспечивает больший порядок, более высокую плотность и более высокое поверхностное натяжение. Резкое снижение вязкости ChCl/G при увеличении доли ChCl в DES связано с частичным разрывом этих водородных связей. Можно предположить, что поверхностное натяжение DES будет следовать тенденции аналогичной вязкости, поскольку оно зависит от силы межмолекулярного взаимодействия. Однако исследований, связанных с поверхностным натяжением DES, мало (табл. 2) [15, 49–52, 59]. Значения поверхностного натяжения DES выше большинства растворителей и сравнимы с поверхностным натяжением ПЛ на основе имидазолия [12]. Поверхностное натяжение ChCl/G показало линейную корреляцию с температурой [51].

Добавление воды также увеличивает ионную проводимость и существенно снижает вязкость DES. В нескольких исследованиях были изучены водные растворы DES различными методами [4, 25, 52, 65–69]. В работе [66] было показано, что структура ChCl/1,2-про-

Таблица 2. Физические свойства некоторых DES

Состав DES		Молярное соотношение компонентов	Плотность, г/см ³	Вязкость, мПа·с	Электропроводность, мСм/см	Поверхностное натяжение, мН/м	T _г , °C	Ссылка
Компонент 1	Компонент 2							
1	2	3	4	5	6	7	8	9
холлин хлорид	этиленгликоль	1 : 2	1.12	37		48.0	24.85	[52]
	глицерин		1.18	259		56.0		
	мочевина		1.25	750		52.0		
	малоновая кислота		1.25	1124		65.7		
холлин хлорид	этиленгликоль	1 : 2	1.12	36	7.61	49	20	[50]
		1 : 3	1.118	19	8.74	45.4		
		1 : 4	1.117	19	8.53	47		
		1 : 2	1.181	376	1.047	55.8		
холлин хлорид	глицерин	1 : 3	1.203	450	0.850	50.8		
		1 : 4	1.21	503	0.580	57.4		
холлин хлорид	1,4-бутандиол	1 : 3	1.052	140	1.654	47.6		
		1 : 4	1.046	88	1.606	47.4		
холлин хлорид	холлин хлорид	1 : 2	1.216	552	2.31		30	[65]
		1 : 2	1.1879	214	1.287		30	[55]
		1 : 2	1.0852	127	2.710			
		1 : 2	1.1139	25	9.730			
		1 : 2	1.1854	177	1.647			
		1 : 4	1.0410	47	2.430			
		1 : 4	1.1202	44	1.858			
		1 : 1	1.2445	3867	0.1726			
		1 : 1	1.2794	13736	0.0633			

Продолжение табл. 2 см. на с.л. стр.

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
холин хлорид	<i>n</i> -толуолсульфоновая кислота	1 : 1	1.2074	183	1.138		30	[55]
	щавелевая кислота	1 : 1	1.2371	89	2.350			
	левулиновая кислота	1 : 2	1.1320	119	1.422			
	малоновая кислота	1 : 1	1.2112	616	0.732			
	яблочная кислота	1 : 1	1.2796	11475	0.0414			
	лимонная кислота	1 : 1	1.3313	45008	0.0184			
	винная кислота	2 : 1	1.2735	66441	0.0143			
	трифторацетамид	1 : 1.5	1.273	256	0.390	30.1	40	[49]
	ацетамид		1.041	64	0.688	46.3		
	мочевина		1.140	128	0.348	52.9		
холин хлорид	трифторацетамид	1 : 2	1.342	77	0.286	35.9		
	мочевина		1.206	2214	0.017	65.1		
ацетилхолин хлорид znc ₂	мочевина	1 : 2	1.24	169	0.199	52.0		
	мочевина	1 : 3.5	1.63			72	25	[15]
	ацетамид	1 : 4	1.36			53		
	этиленгликоль	1 : 4	1.45			56.9		
	1,6-гександиол	1 : 3	1.38			49		
	глюкоза	1 : 1		34400			50	[53]
холин хлорид	ксилит			4470			70	
				560			100	
				5230			30	
				860			50	
				250			70 К	
холин хлорид	D-сорбит			12730			30	
				2000			50	
				480			70	

Продолжение табл. 2 см. на сл. стр.

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
метилтрифенилфосфоний бромид	глицерин	1 : 1,75	1.2899		0.1652		25	[57]
			1.283		0.315		35	
			1.2759	887.1	0.555		45	
бензилтрифенилфосфоний хлорид	этиленгликоль	1 : 4	1.2326	109.8	0.788		25	
			1.2256	68.6	1.094		35	
			1.2185	39.5	1.437		45	
				553.7	0.1628		55	
бензилтрифенилфосфоний хлорид	глицерин	1 : 5	339.3	0.0187			65	
			118.6	0.0167			75	
			201.9	0.485			55	
этиленгликоль		1 : 3	85.5	0.1989			65	
			59.3	0.0164			75	
этиламмоний бромид пропиламмоний бромид бутиламмоний бромид	глицерин	1 : 2	1.358	307	1.99	57.6	25	[59]
			1.328	398	1.11	51.7		
			1.293	421	0.88	44.9		
бензилтриэтиламмоний хлорид	<i>n</i> -толуолсульфоновая кислота	3 : 7	1.1721	26457	0.014		20	[58]
			1.1684	12698	0.041		25	
			1.1642	6967	0.097		30	
			1.1605	4054	0.177		35	
			1.1571	2340	0.327		40	
			1.0543	1224	0.477		45	
			1.1508	732	0.770		50	
1.0485	506	1.097		55				
	1.1454	344	1.713		60			

Окончание табл. 2 см. на сл. стр.

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	
бензилтриэтиламмоний хлорид	лимонная кислота	1 : 2	Очень высокая плотность		0.002		20	[58]	
					0.002		25		
					0.004		30		
					0.005		35		
					0.009		40		
					0.014		45		
					0.028		50		
					0.060		55		
					0.105		60		
					5152		0.807		20
					4108		1.213		25
					3115		1.683		30
					1741		2.313		35
					1158		3.127		40
					748		4.090		45
514	5.267	50							
419	6.553	55							
207	8.530	60							
шавелевая кислота		1 : 2			1.1767		20		
					1.1723		25		
					1.1680		30		
					1.1643		35		
					1.1609		40		
					1.1578		45		
					1.1549		50		
1.1520	55								
1.1493	60								

* Температура, при которой исследовали свойства DES.

пандиол сохранялась только при содержании воды ниже 50 об.%, а дальнейшее разбавление дает раствор отдельных компонентов в воде. Hammond et al. [69] проанализировали влияние воды на наноструктуру ChCl/U и показали, что при небольшом содержании (< 1 мольная доля) вода вносит небольшой вклад в сеть водородных связей и усиливает связь холин-мочевина. При содержании воды от 2 до 10 мольных долей в смеси DES-H₂O присутствуют разделенные водой кластеры, в которых сохраняется структура DES. При мольной доле воды равной 15 (83 мол.% или 51 вес.% воды) структура DES исчезала, и в этом случае смесь DES-H₂O необходимо рассматривать как водный раствор компонентов DES. Аналогичные результаты были получены и в других исследованиях [25, 65]. Таким образом, при использовании водных растворов DES необходимо учитывать, что вода может входить в состав надмолекулярного комплекса DES, образуя водородные связи с компонентами, однако выше определенной концентрации вода разрушает связи в DES.

В 2011 году группой нидерландских ученых для DES, получаемых из соединений природного происхождения, был введен отдельный термин – «природные глубокие эвтектические растворители» (natural deep eutectic solvents, NADES) и высказано предположение, что вода и липиды не являются единственными растворителями, присутствующими в живых организмах, и NADES могут быть недостающим звеном в клеточном метаболизме [70]. NADES состоят из природных первичных метаболитов, таких как сахара, спирты, органические кислоты, аминокислоты и др., смешанных в определенных молярных соотношениях. Помимо преимуществ DES, предполагается, что NADES еще более безвредны для окружающей среды из-за их естественного происхождения, могут встречаться во всех организмах, участвовать в биосинтезе, сольюбилизации и хранении гидрофобных метаболитов и нестабильных соединений в живых клетках [71]. Также как большинство DES, NADES дешевы, стабильны и просты в приготовлении, а благодаря натуральному происхождению они нетоксичны, биосовместимы и могут быть использованы в пищевых или фармацевтических целях [34].

В последнее время все большее внимание уделяется еще одному классу DES – так называемым «терапевтическим глубоким эвтектическим растворителям» (therapeutic deep eutectic solvents, THEDES) [72, 73]. THEDES – биоактивные эвтектические системы, в которых активный фармацевтический ингредиент (active pharmaceutical ingredient, API) конъюгирован с DES или используется в качестве одного из его компонентов. Впервые THEDES, состоящие из терпенов

и ибупрофена, были получены в 1998 году [74]: Stott et al. показали возможность использования ментол/ибупрофен в качестве средства для увеличения трансдермальной доставки лекарств. Morrisson et al. [75] продемонстрировали значительное (от 5 до 22000 раз) увеличение растворимости ряда лекарственных препаратов (бензойной кислоты, гризеофульвина, даназола, итраконазола) в ChCl/U и ChCl/MA. Duarte et al. [76] сообщили о разработке новых THEDES на основе ChCl и ментола в сочетании с тремя API (ацетилсалициловой, бензойной и фенилуксусной кислотами), изучили взаимодействия между компонентами THEDES, и показали, что эти системы не только повышают скорость растворения API, но также имеют повышенную мембранную проницаемость. Возможность соединения API с другой молекулой в форме THEDES представляет собой перспективный подход для повышения растворимости лекарственных средств. Несмотря на небольшое количество информации о THEDES, доступной до настоящего времени, их возможности в фармацевтической инженерии, безусловно, перспективны.

III. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЛУБОКИХ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ В BIOTECHNOLOGII

БИОКАТАЛИЗ В ГЛУБОКИХ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЯХ

DES оказались прекрасными растворителями для широкого спектра метаболитов низкой и средней полярности, которые не растворимы или плохо растворимы в воде [24, 75]. Поэтому особенно перспективно использование DES для биокаталитических реакций с участием плохо растворимых соединений с целью повышения продуктивности синтеза. Проведение ферментативных реакций в DES может приводить к образованию продуктов, отличающихся от полученных в водных или водно-органических средах. Кроме того, каталитические свойства ферментов и их стабильность могут быть другими. Анализ литературных данных показал, что большинство биокаталитических реакций в DES связаны с использованием в основном двух классов ферментов – гидролаз и оксидоредуктаз. Реакции с участием липаз подробно описаны в обзорах [77, 78]. После гидролаз оксидоредуктазы являются наиболее востребованными ферментами для использования в органическом синтезе, и их изучение важно как в академическом, так и прикладном плане. Поэтому в настоящем обзоре будет сделан акцент на каталитических характеристиках, стабильности оксидоредуктаз в DES и их использовании

для проведения окислительно-восстановительных реакций в этих растворителях. Необходимо отметить, что для каждого конкретного фермента следует подбирать соответствующий состав DES, либо DES-буферной смеси. Как указывалось выше, большинство DES обладают высокой вязкостью, что затрудняет эффективную биотрансформацию соединений и препятствует адекватному определению каталитических параметров ферментов. С целью уменьшения вязкости реакционной среды, биокаталитические реакции, как правило, проводят в DES-буферных смесях.

Лакказы (*n*-дифенол: кислород оксидоредуктаза, КФ 1.10.3.2) относятся к «голубым» оксидазам и катализируют окисление различных органических соединений, включая полифенолы и ароматические амины, молекулярным кислородом, который восстанавливается до воды. При ферментативном окислении этих соединений образуются радикальные продукты, вступающие в реакции сочетания с образованием олигомерных/полимерных соединений [79, 80]. В ряде работ были изучены свойства различных лакказ в DES и DES-буферных смесях.

Khodaverdian et al. [81] изучили каталитические характеристики и стабильность бактериальной лакказы *Bacillus HR03* в чистых DES и DES-буферных смесях различного состава и показали, что DES-буферные смеси на основе ChCl снижали активность и стабильность фермента. Напротив, DES на основе бетаина (Bet) и глицерина (G) или D-сорбита (Sor) повышали каталитическую активность и стабильность фермента в смеси, содержащей 20 об.% DES. Среди исследованных DES фермент показал наибольшую стабильность при 80 и 90°C в Bet/Sor/ H_2O (1 : 1 : 1 моль/моль) и Bet/G (1 : 2 моль/моль) по сравнению с буферным раствором. Были получены значения каталитических констант лакказы в водных растворах Bet/G при pH 4.2. Методом флуоресценции показано изменение третичной структуры белка в DES-буферных смесях.

Toledo et al. [82] оценивали влияние объемных концентраций DES различного состава на активность грибной лакказы *Trametes versicolor*. Полученные данные показали, что в присутствии большинства DES активность фермента сохранялась, а при определенных концентрациях DES даже увеличивалась до 200%. Методом молекулярного моделирования авторы показали корреляцию между взаимодействием компонентов DES с активным центром фермента и наблюдаемым повышением активности лакказы. Был сделан вывод, что DES может являться эффективным сорастворителем для проведения биокаталитических реакций.

Возможность использования водных сред, содержащих различные DES, для термической стабилизации грибной лакказы *T. versicolor* была исследована в работе [83]. Показано, что после инкубирования лакказы (15 мин, 70°C) в водном растворе, содержащем 25 вес. % Bet/ксилит (1:3 моль/моль), остаточная активность фермента была в ~10 раз выше, чем при инкубировании в тех же условиях в отсутствие DES. При этом индивидуальные компоненты DES не увеличивали термическую стабильность фермента.

Несколько DES-буферных растворов (25 : 75 вес. %) были использованы в качестве среды для увеличения термостабильности POXA1b лакказы *Pleurotus ostreatus* и пяти рекомбинантных ферментов [84]. Все ферменты показали более высокую остаточную активность при 70°C и 90°C в DES-содержащих смесях по сравнению с буферным раствором. Методом молекулярного докинга была выяснена роль DES в термической стабилизации лакказ и показана корреляция между энергией связывания ферментов с DES и их стабилизацией. Таким образом, предварительная инкубация ферментов в DES-содержащих смесях может быть использована в качестве простого и экономичного решения для повышения термостабильности ферментов при высоких температурах.

В работе [85] проведены структурные и каталитические исследования лакказы *Myceliophthora thermophila* в DES-буферных смесях различными физико-химическими методами. Были использованы четыре DES на основе Bet и ChCl в качестве HBA, глицерина и молочной кислоты (LA) в качестве HBD (молярное соотношение HBA/HBD = 1 : 2). Bet/LA увеличивал активность лакказы до 300% при содержании в буферном растворе от 2 до 8 об.%, в то время как ChCl/LA в тех же концентрациях ингибировал фермент. Кристаллографические исследования показали, что присутствие DES изменяло локальное окружение аминокислот в активном центре лакказы, что способствовало изменению ее активности и стабильности.

Использование DES-буферных смесей для полимеризации органических соединений с участием лакказ описано в нескольких публикациях. В работе [86] 12 DES различного состава были использованы в качестве соразтворителей для ферментативной полимеризации анилина с участием лакказы *T. versicolor*. Изучено влияние на ферментативный синтез полианилина объемных концентраций DES (5, 10, 20 %) в реакционной среде, удельной активности фермента, концентрации анилина, pH раствора, температуры и скорости перемешивания. Авторы предположили, что DES-буферные смеси являются матрицей для ферментативной полимеризации мономера.

Полученные полимеры были охарактеризованы различными физико-химическими методами. Продукты полимеризации анилина, синтезированные в большинстве используемых DES-буферных смесях, не обладали электропроводностью. Только в присутствии DES на основе *n*-толуолсульфоновой кислоты в качестве HBD был получен полианилин с низкой электропроводностью – 1.274×10^{-8} См/см.

Khlupova et al. [87] провели полимеризацию флавоноида дигидрокверцетина в DES-буферной смеси с использованием лакказы-медиаторной системы. Была изучена каталитическая активность и стабильность базидиальной лакказы *Trametes hirsuta* как в чистых DES на основе Vet и трех HBD (глицерин, молочная и пропионовая кислоты), так и в DES-буферных смесях с различным объемным соотношением DES-буфер. Показано, что в чистых DES фермент полностью терял активность в течение 30–180 мин. Система Vet/G (1:2 моль/моль), содержащая 40 об.% буфера, была выбрана для окислительной полимеризации дигидрокверцетина, так как после 7 суток инкубации в этой среде лакказа сохраняла ~50% своей первоначальной активности. ТЭМПО (2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил) являлся редокс медиатором, а атмосферный кислород терминальным окислителем. При оптимальных условиях синтеза были получены олигомеры дигидрокверцетина с выходом $57 \pm 7\%$ со среднечисленной молекулярной массой 1800 г/моль и индексом полидисперсности 1.09. Методом ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопии было показано, что олигомеры имели линейную структуру со средней длиной цепи в шесть мономерных звеньев, а сочетание радикалов дигидрокверцетина происходило с образованием C–O–C связи. Предложена схема лакказы-катализируемой полимеризации дигидрокверцетина в DES-буферной смеси.

Полимеризацию (+)-катехина в DES-буферных смесях с участием лакказы *T. versicolor* изучали в работе [88]. Было исследовано влияние различных параметров (состав DES, содержание буфера, активность фермента в реакционной среде, время реакции) на выход, среднечисленную молекулярную массу, индекс полидисперсности и антиоксидантную активность поликатехина. Показано, что при содержании 50 об.% ChCl/EG (1:2 моль/моль) в реакционной среде синтезированный поликатехин был нерастворим в диметилформамиде. Выход и растворимость полимера зависели от активности фермента и времени протекания реакции. Поликатехин с наибольшей среднечисленной молекулярной массой (4354 ± 678 г/моль) был получен в растворе, содержащем 5 об.% DES Vet/манноза (5:2 моль/моль) с активностью лакказы 125 ME при времени синтеза 1 ч. Активность поликатехина по удалению супероксид анион-радикалов составляла 50%.

В работе [89] описана биокаталитическая полимеризация флавоноида (+)-катехина с использованием лакказы *T. hirsuta* в DES-буферной смеси (60 об. % Vet/G, 1 : 2 моль/моль). Подобраны условия синтеза олигомеров катехина, растворимых в органических растворителях. По данным высокоэффективной жидкостной хроматографии олигомеры катехина имели среднечисленную молекулярную массу 10620 и 2540 г/моль с индексами полидисперсности 1.1 и 1.09, соответственно. Исследованы физико-химические свойства олигомеров методами УФ-видимой, FTIR, ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопии. Анализ ЯМР спектров олигомеров и мономера позволил заключить, что при ферментативной полимеризации сохраняется углеродный скелет молекулы (+)-катехина, а в образовании активных радикальных частиц участвуют все пять гидроксильных групп мономера. Полимеризация протекала в две стадии. Первая стадия – ферментативное окисление гидроксильных групп с образованием радикалов, вторая стадия – радикальная атака активных частиц на ароматическую систему другой молекулы флавоноида. Синтезированные олигомеры были протестированы на ингибирование активности α -глюкозидазы. Концентрация олигомеров, необходимая для ингибирования 50% активности фермента (IC_{50}) составляла ~ 8 мкг/мл, в то время как для мономера – ~ 980 мкг/мл. Отмечается, что олигомеры катехина могут быть перспективной субстанцией для лечения сахарного диабета 2-го типа.

Пероксидаза (КФ 1.11.1.7) относится к гемсодержащим оксидоредуктазам и катализирует окисление различных органических субстратов пероксидом водорода. Первое исследование о влиянии DES на активность, стабильность и структуру пероксидазы из корней хрена проведено в работе [90]. Были синтезированы 24 DES с использованием ChCl и холин ацетата в качестве НВА и четырех HBD (мочевина, глицерин, ацетамид, этиленгликоль) с разным молярным соотношением компонентов и показано, что все DES стабилизировали фермент. DES на основе холин ацетата более сильно снижали активность пероксидазы по сравнению с DES на основе ChCl . Было показано, что активность фермента увеличивалась при более высоком молярном соотношении ChCl/HBD ($1 : 2 < 1 : 1 < 2 : 1$). Исследования методами флуоресцентной спектроскопии и кругового дихроизма хорошо согласовывались с данными об изменении активности фермента. По мнению авторов, присутствие DES увеличивало содержание α -спиралей в белке и «разрыхляло» его третичную структуру. Авторы предположили, что именно DES в составе водных растворов, а не его отдельные компоненты, оказывают влияние на активность и стабильность пероксидазы.

Катализируемую пероксидазой из корней хрена реакцию свободнорадикальной полимеризации акриламида проводили в смеси, состоящей из 80 об. % DES (ChCl/U или ChCl/G, 1:2 моль/моль) и 20 об.% фосфатного буферного раствора [91]. Было обнаружено, что каталитическая активность фермента в DES-содержащих смесях была ниже, чем в буферном растворе, тогда как термическая стабильность увеличивалась. По данным флуоресцентной и УФ-спектроскопии, падение активности фермента было следствием частичной денатурации пероксидазы в водном растворе DES. Однако, несмотря на невысокую активность пероксидазы в DES-буферной смеси была достигнута полная конверсия мономера. Полимер, синтезированный в ChCl/U-буферной смеси имел схожую среднечисленную молекулярную массу и индекс полидисперсности с полиакриламидом, полученным в буферном растворе. Низкая температура плавления ChCl/G позволила провести синтез полимера при 4°C, в то время как при использовании буферного раствора при той же температуре полимер получен не был.

Универсальные пероксидазы (versatile peroxidase, VP, КФ 1.11.1.16) относятся к группе гемсодержащих лигнинолитических ферментов, продуцируемых грибами белой гнили *Pleurotus* и *Bjerkandera*. Эти ферменты катализируют окисление ароматических соединений, красителей и ионов Mn^{2+} до Mn^{3+} . Последний является диффузионным окислителем. Широкая субстратная специфичность фермента обусловлена его высоким окислительно-восстановительным потенциалом ($E^0 > 1.4$ В). Благодаря этим свойствам VP является многообещающими кандидатами для биотехнологического применения. Принимая во внимание важность DES как «зеленых» растворителей, а также перспективность практического использования фермента, Mamashli et al. [92] провели исследование структуры и функции VP в присутствии ChCl/G в качестве соразтворителя. Активность фермента, измеренная по начальной скорости окисления комплекса Mn^{2+} с тартратом, заметно снижалась при увеличении содержания DES в реакционной среде. При 5 и 10 об.% DES начальная скорость окисления субстрата была сопоставима с активностью фермента в буфере, при этом K_m уменьшалась. При 50 об.% DES наблюдалось 4-х кратное снижение активности VP. Снижение биокаталитической активности в присутствии ChCl/G авторы связывали с нарушением структуры фермента, ограничением массопереноса субстрата и взаимодействием субстрата с компонентами DES. При 5, 10, 25 об.% DES в растворе термическая стабильность фермента увеличивалась. Методами

флуоресцентной спектроскопии и кругового дихроизма показаны конформационные изменения в белке в присутствии DES. По мнению авторов, ChCl/G является перспективным соразтворителем для биокаatalиза с использованием VP.

Каталаза (КФ 1.11.1.6) катализирует диспропорционирование пероксида водорода с высокой эффективностью с образованием воды и молекулярного кислорода. В качестве среды для проведения реакции с участием каталазы из печени быка использовали буферные растворы наиболее распространенных DES, коммерческие названия которых релин (ChCl/U, 1:2 моль/моль) и глицелин (ChCl/G, 1:2 моль/моль) [93]. Пероксид водорода проявлял повышенную аффинность к каталазе в присутствии 100 мМ глицелина в реакционной среде. Однако это не происходило в растворе релина, что авторы связывали с изменением вторичной структуры белка. При концентрации глицелина и релина 100 мМ, фермент сохранял ~ 70 и 80 % активности, соответственно, по сравнению с буферным раствором. Значения K_m и $k_{кат}$ каталазы изменялись в присутствии DES. Авторы статьи предположили, что различное содержание DES в клетках человека может регулировать активность каталазы.

Характеристики каталазы в DES, полученных с использованием ChCl и сахаров (глюкозы, фруктозы и сахарозы), изучали в работе [94]. Кинетические исследования показали, что в водных растворах, содержащих 50 вес.% ChCl/глюкоза и 60 вес.% ChCl/сахароза, фермент сохранял ~ 50% активности. Флуоресцентный анализ показал, что в 30 % водных растворах DES на основе глюкозы и сахарозы происходило полное тушение флуоресценции флуорофора фермента, что связано со значительными изменениями в третичной структуре. Кроме того, методом кругового дихроизма было показано, что в этих DES-содержащих растворах, происходило значительное снижение α -спиралей в белке, однако при этом каталаза сохраняла 80% своей активности.

Модельную реакцию биовосстановления циклогексанона до циклогексанола, катализируемую алкогольдегидрогеназой (КФ 1.1.1.1) из печени лошади в DES-содержащих смесях исследовали в работе [95]. Реакционной средой являлась смесь глицелин-буферный раствор. При содержании воды менее 10 об.% фермент не проявлял каталитической активности, а при 10–20 об.% воды выход продукта в реакционной среде был 0.5–43 %, что значительно ниже выхода циклогексанола (97%) при проведении реакции в буферном растворе. Авторы объясняют отсутствие активности сильным взаимодействием DES с гидратной оболочкой фермента.

ЭКСТРАКЦИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Эффективная экстракция физиологически активных веществ из природного сырья с целью получения продуктов, необходимых для фармацевтической, пищевой и косметической промышленности, является одним из важных направлений биотехнологии. DES/NADES являются прекрасными «зелеными» растворителями для экстракции целевых соединений из различных природных объектов. На эффективность экстракции с использованием DES/NADES большое влияние оказывают их вязкость и полярность [96]. Как указывалось в разделе II, уникальность этих растворителей связана с возможностью изменять их физико-химические свойства при изменении состава и соотношения компонентов, а также содержания воды. Это позволяет достаточно просто подбирать состав DES/NADES для эффективной экстракции тех или иных соединений из различных природных объектов. Добавление воды или изменение температуры влияет не только на вязкость DES/NADES, но и на их экстрагирующую способность [97]. Поэтому количество добавляемой воды и температуру экстракции в каждом конкретном случае необходимо оптимизировать. Для отделения целевых соединений от компонентов DES/NADES можно использовать колоночную хроматографию [24]. Если DES/NADES повышают биологическую активность и растворимость экстрагированного соединения, то экстракты могут быть использованы без удаления растворителя [98].

В последние годы опубликовано много обзоров, в которых суммированы данные по использованию DES/NADES для экстракции пигментов, фенольных соединений, липидов, углеводов из растительного сырья, получения белков из микроводорослей и отходов рыбной промышленности и др. [97, 99–106].

ПРЕДОБРАБОТКА ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОЙ БИОМАССЫ

Лигноцеллюлоза является природным возобновляемым сырьем и может заменить ископаемые ресурсы, такие как природный газ, нефть и уголь. Из этой биомассы можно получать биотопливо и различные химические соединения. Лигноцеллюлозная биомасса состоит в основном из трех основных компонентов – целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина, каждый из которых важен для дальнейшей переработки в полезные продукты. Целлюлоза, основной компонент биомассы, состоит из линейных цепей молекул D-глюкозы, связанных β -гликозидными связями. Внутрицепочечные и межмолекулярные водородные связи формируют аморфные и кристаллические области этого полисахарида. Гемицеллюлоза представляет собой гетерополи-

сахарид, состоящий из молекул гексоз и пентоз. Третьим компонентом лигноцеллюлозы является сложный ароматический гетерополимер лигнин, который образует неупорядоченную трехмерную сеть, состоящую из фенилпропановых структурных единиц. Характеристики лигнина сильно зависят от природы биомассы.

Способы переработки лигноцеллюлозы привлекают внимание различных научных коллективов. Помимо традиционных широко используемых физико-химических способов, весьма перспективным является предобработка этого возобновляемого сырья с использованием DES, отвечающая требованиям устойчивой химии. Следует отметить, что лигнин, в отличие от целлюлозы, хорошо растворяется во многих DES. В ряде работ для оценки потенциала использования DES для удаления лигнина из биомассы было проведено исследование растворимости крафт-лигнина в чистых DES на основе различных HBA и HBD [63, 107, 108]. Было показано, что в 1 кг Vet/LA (1 : 2 моль/моль) растворялось до 120 г лигнина [63], а в ChCl/HBD – 90–140 г/кг в зависимости от природы HBD и соотношения компонентов DES [107]. Наилучшие результаты по растворимости крафт-лигнина (227 г/кг) были достигнуты в системе пропионовая кислота/мочевина (2 : 1 моль/моль) [108].

Делигнификация растительного сырья DES различного состава описана в многочисленных публикациях. Ниже будут приведены примеры делигнификации биомассы с использованием кислых, нейтральных и щелочных DES с целью последующего ферментативного получения моно/олигосахаридов.

В работе [22] была изучена предварительная обработка рисовой соломы кислыми DES (ChCl/LA и Vet/LA, 1 : 2, 1 : 5, 1 : 9 моль/моль). Растворенный в DES лигнин отделяли от целлюлозы фильтрацией. Затем к раствору лигнина добавляли большой избыток воды для разрушения DES. В результате лигнин выпадал в осадок, а водный раствор компонентов DES регенерировали выпариванием и использовали для повторной делигнификации биомассы. Приведена подробная схема процесса. Наилучшая экстракция лигнина была достигнута при использовании ChCl/LA (1 : 5 моль/моль) и загрузке биомассы 5 вес.%. Количественный анализ показал, что при оптимальных условиях из рисовой соломы было удалено $60 \pm 5\%$ (вес. %) лигнина с чистотой $>90\%$. Было показано, что добавление 5 вес.% воды к DES улучшало экстракцию лигнина. Кроме того, в результате предобработки биомассы DES кристалличность образца снижалась по сравнению с необработанной биомассой с 46.1 до 44.3 %. После ферментативного гидролиза полученной целлюлозы эффективность осахаривания

составляла 36.0 ± 3.2 % с выходом восстанавливающих сахаров 333 ± 11 мг/г. При использовании нейтральной DES (ChCl/G, 1:1 моль/моль) для предобработки рисовой соломы (загрузка биомассы 10 вес.%) максимальный выход восстанавливающих сахаров был 226.7 г/л со степенью осахаривания 87.1%, а эффективность конверсии сахаров в этанол составляла 90.1% с использованием штамма дрожжей *Clavispora NRRLY* [109]. Kumar et al. [110] показали, что после экстракции лигнина из рисовой соломы трехкомпонентным DES ChCl/LA/H₂O (загрузка биомассы 10 и 25 % вес.) и последующего ферментативного гидролиза целлюлозы, выход глюкозы был 38.6 ± 1.22 и 90 ± 2.3 г/л, соответственно. Максимальный выход этанола составлял 36.7 г/л. После обработки DES из биомассы было экстрагировано 72–75 % лигнина. Также была показана возможность трехкратного использования регенерированного DES для экстракции лигнина без потери эффективности.

Предобработка измельченной древесины бука DES на основе ChCl и различных HBD (щавелевая кислота, KOH, мочевины, молочная кислота) описана в работе [111]. Исследовано влияние таких параметров как время инкубации смеси биомасса/DES (2–24 ч), температура (60–100°C) и загрузка биомассы (1.0, 2.5, 5.0 и 10.0 вес. %) на эффективность делигнификации. Наилучшие результаты были получены для систем ChCl/щавелевая кислота (1 : 1 моль/моль) и ChCl/KOH (1 : 4 моль/моль). Получены SEM-изображения и записаны FTIR-ATR спектры биомассы до и после обработки DES.

Три вида DES на основе ChCl были использованы для делигнификации биомассы кукурузных початков и последующего ферментативного гидролиза целлюлозы [112]. В качестве HBD были протестированы моно-, дикарбоновые кислоты и полиспирты. Методами FTIR, XRD и SEM было показано, что предобработка DES нарушает структуру лигноцеллюлозы, что связано с удалением лигнина и гемицеллюлозы из биомассы. Выход глюкозы после предобработки в течение 24 ч при 90°C системой ChCl/G (1 : 2 моль/моль) составлял 96.4%. Показано отсутствие прямой корреляции между степенью делигнификации биомассы и выходом глюкозы.

В работе [113] DES различного состава были использованы для удаления лигнина из измельченной древесины тополя и сосны, и выяснения механизма делигнификации. DES получали термическим смешиванием карбоновых кислот (молочная, яблочная, гликолевая) с различными солями четвертичного аммония (аллилтриметиламмоний хлорид, ChCl, тетраметиламмоний хлорид, тетраэтиламмоний хлорид) в разных молярных соотношениях. Экстракцию лигнина

проводили при 120°C в течение 6 ч с весовым соотношением твердой и жидкой фазы 1:10. В результате предобработка биомассы DES (аллилтриметиламмоний хлорид/LA, 1:2 моль/моль) было достигнуто 70 и 82 % извлечение лигнина из древесины тополя и сосны, соответственно. Показано, что на способность DES экстрагировать лигнин существенное влияние оказывает химическая структура компонентов, так как –ОН и –COOH группы в составе DES способствуют разрыву эфирных и частично С–С связей при растворении лигнина.

Wu et al. [114] изучали влияние фосфорно-вольфрамовой кислоты и бромида железа (3+) на повышение эффективности экстракции лигнина из древесины тополя с использованием ChCl/LA. Эти соединения оказывали каталитическое действие на деградацию углеводов, что способствовало эффективному отделению лигнина в процессе предварительной обработки биомассы. При оптимальных условиях экстракции (120°C, 12 ч) выход лигнина составлял более 80% после обработки ChCl/LA (1:10 моль/моль). Фракции лигнина отличались высокой чистотой (>89%) и низкой среднemasсовой молекулярной массой (1700–2000 г/моль). Полученный лигнин обладал высокой термической стабильностью и превосходной антиоксидантной активностью. FTIR и ЯМР исследования показали, что лигнин из древесины тополя состоял из сирингильных и гваяцильных звеньев. Авторы отмечали, что лигнин, экстрагированный из древесины тополя может быть использован в качестве природного антиоксиданта в косметике и для изготовления упаковок пищевых продуктов. Предложен возможный механизм экстракции лигнина. Добавление к DES фосфорно-вольфрамовой кислоты или бромида железа (3+) обеспечивало усиление водородных связей между холин хлоридом и молочной кислотой, что способствовало расщеплению эфирных/сложноэфирных связей и превращению высокомолекулярного лигнина в низкомолекулярные компоненты.

Гидротермальная карбонизация представляет собой новую термохимическую конверсию растительного сырья, которая превращает влажную биомассу в твердое топливо с высокой энергоемкостью. Остаточная влага в биомассе в докритических условиях вступает в реакцию с матрицей лигноцеллюлозы. На этот процесс влияют различные факторы, такие как температура, давление, время обработки и др. Islam et al. [115] предположили, что обработкой DES можно достичь увеличения пористости структуры биомассы без существенного влияния на ее состав. Для подтверждения этой гипотезы, были использованы ChCl/U (1:2 моль/моль)

и метилтрифенилфосфоний бромид/EG (1 : 4 моль/моль). Предварительная обработка древесины сосны DES показала набухание биомассы и увеличение зазора между волокнами в ~3–4 раза. Полученные гидроугли обладали более высокой энергоемкостью (на ~42 %), что обусловлено изменением морфологии биомассы в результате обработки DES.

В работе [116] биомассу соломы пшеницы обрабатывали щелочными DES на основе ChCl и нескольких HBD (моно-, ди-, триэтанолламин, мочевины) для улучшения ферментативного гидролиза целлюлозы. Наилучшая эффективность удаления лигнина была достигнута при использовании ChCl /моноэтанолламин (1 : 6 моль/моль). Обработку соломы проводили при загрузке 1 : 20 вес.% в течение 9 ч при 70°C. Полученный лигнин был охарактеризован различными физико-химическими методами (FTIR, XRD, SEM). После ферментативного гидролиза конверсия целлюлозы составляла 89.8%.

Для удаления лигнина и гемицеллюлозы из древесины эвкалипта в работе [117] предобработку биомассы проводили в течение 6 ч при 110°C с использованием ChCl/LA (1 : 10 моль/моль). Последующий ферментативный гидролиз целлюлозы показал 10-кратное увеличение выхода глюкозы по сравнению с необработанной биомассой.

Сократить время предобработки биомассы можно с помощью микроволнового излучения [118]: обработку соломы кукурузы и проса проводили в течение 45 с излучением мощностью 800 Вт с использованием ChCl/LA (1 : 2 моль/моль). В этих условиях было достигнуто эффективное удаление лигнина и ксилана. После ферментативного гидролиза обработанных образцов биомассы выход глюкозы составлял 78.5% для кукурузной и 75.5% для просяной соломы.

Другие примеры предобработки биомассы с помощью DES приведены в обзорах [100, 119].

ГЛУБОКИЕ ЭВТЕКТИЧЕСКИЕ РАСТВОРИТЕЛИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОПЛАСТИКОВ

В настоящее время, из-за неспособности к биоразложению пластмассы, получаемые из продуктов переработки нефти, представляют собой одну из главных экологических угроз, с которыми сталкиваются наземные и морские экосистемы. По прогнозам, к 2025 году на свалках и в окружающей среде скопится до 11 млрд. тонн пластика, что вызовет серьезное загрязнение окружающей среды [120, 121]. Биопластики, производимые из возобновляемых источников, таких как крахмал, целлюлоза, лигнин, молочная кислота, белки, хитозан и др., являются перспективными кандидатами для замены пластмасс. Биоразлагаемый пластик полученный из биомассы, наименее

токсичен и не оказывает неблагоприятного воздействия на окружающую среду. Поэтому, спрос на такую продукцию растет значительными темпами. Основными факторами, сдерживающими крупномасштабное производство биопластиков, являются высокая цена по сравнению с традиционными материалами, недостаточная отработка технологий производства и риск возникновения дефицита сырья.

Одним из способов, позволяющих принципиальным образом усовершенствовать технологии производства биопластиков, улучшить их свойства и расширить возможности потребления, является использование DES.

Биопластики на основе крахмала

Крахмал является недорогим и распространенным биополимером, что делает его привлекательной основой для экологически чистого производства биопластиков. В нативном виде крахмал представляет собой полукристаллические гранулы, нерастворимые в холодной воде. Он состоит из двух типов макромолекул – линейной амилозы и разветвленного амилопектина. Благодаря наличию водородных связей между полимерными цепями температура разложения крахмала ниже температуры его плавления. Сеть водородных связей снижает подвижность макромолекул. Энергия, необходимая для повышения подвижности цепей, выше энергии, обеспечивающей деструкцию полимера [122]. Как следствие, крахмал нельзя перерабатывать традиционными методами, такими как, экструзия, литье под давлением или компрессионное формование. Зернистая структура крахмала нарушается в присутствии пластификаторов – веществ, способных образовывать водородные связи с полисахаридными цепями при повышении температуры и напряжении сдвига, в результате чего образуется термопластичный крахмал (TPS). TPS – наиболее широко используемый биопластик, который на сегодняшний день занимает ~ 50 % рынка.

В течение многих лет проводились исследования пластификаторов крахмала, таких как мочевины [123], глицерин и другие полиолы [124], сахара [125], формамид [126], однако полученные материалы проявляли склонность к ретроградации и их механические свойства зависели от влажности. Кроме того, некоторые пластификаторы были токсичны [127]. В последнее время для растворения или пластификации крахмала рассматривается возможность использования DES.

Abbott et al. [128] изучали пластификацию крахмала с использованием ChCl/U (2:1 моль/моль). Простой нагрев ингредиентов привел к получению белого непрозрачного образца, в то время как в резуль-

тате термопрессования был получен прозрачный образец с совершенно другими свойствами. Высказано предположение, что при использовании давления DES лучше проникает между полисахаридными цепями, что приводит к большей прозрачности биопластика. Образцы, полученные компрессионным формованием, были пригодны для повторного использования без потери первоначальных свойств. Биопластики, полученные с использованием ChCl/U, менее восприимчивы к поглощению воды из атмосферы, чем материалы, в которых в качестве модификатора использовалась только мочеви́на.

В ряде работ для подавления рекристаллизации крахмала при производстве TPS в качестве пластификаторов использовали DES на основе ChCl [8, 129–131]. Leroy et al. [129] показали, что ChCl/G и ChCl/U (1 : 2 моль/моль) являются эффективными функциональными добавками, способными выступать в качестве эффективных пластификаторов TPS и ингибиторов водопоглощения. Для получения биопластика был использован крахмал с добавкой белка зеина (10 вес. %). Методом XRD было установлено, что образцы, полученные с использованием ChCl/G, проявляли тенденцию к ретроградации через неделю, а с ChCl/U – только через 12 месяцев. Было показано, что биопластики, полученные с использованием DES и PL (1-бутил-3-метилимидазолий хлорида) обладали схожими свойствами, однако преимущество DES заключалось в том, что они безвредны для окружающей среды и намного дешевле PL.

Авторами работы [132] был проведен анализ применения DES в качестве растворителей, пластификаторов и модификаторов крахмала. Показано, что DES могут быть хорошей альтернативой обычным пластификаторам крахмала (например, глицерину, мочеви́не), а также ионным жидкостям. Наиболее часто для получения TPS используются DES на основе ChCl и различных HBD, таких как, глицерин [9, 130, 133, 134], мочеви́на [128, 130, 131, 133, 135–137], этиленгликоль [133], D-сорбит [130, 138], лимонная и янтарная кислоты [136]. Получаемые из крахмала биопластики обладают различными свойствами в зависимости от природы используемого пластификатора, а некоторые из них не проявляют недостатков TPS, таких как быстрая ретроградация [131].

Zdanowicz et al. [139] изучали влияние различных методов пластификации на свойства материалов из картофельного крахмала. В результате использования NADES на основе глицерина и сахаров (глюкоза, фруктоза, сахароза) в качестве пластифицирующих систем были получены прозрачные, гибкие и слегка окрашенные пленки TPS.

Крахмал, пластифицированный компонентами NADES, добавленными по отдельности, показал более низкую прочность на разрыв и модуль Юнга, чем образцы, пластифицированные DES глицерин/сахар.

Martins et al. [140] использовали NADES на основе ChCl и различных НВД (глюкозы, сахарозы, ксилозы, лимонной и винной кислот) в качестве пластификаторов для усиления вспенивания смеси крахмала с поли-ε-капролактоном с целью получения пористых материалов, использование которых перспективно в тканевой инженерии и для разработки систем доставки лекарств.

Интересными представляются разработки, в которых используются несколько видов сырья для производства биопластиков. De et al. [141] предложили комплексный подход к получению в промышленных масштабах ряда продуктов, в том числе биопластика, за счет «зеленой» валоризации сельскохозяйственных отходов. На первом этапе кокосовую шелуху обрабатывали ChCl/щавелевая кислота (1:1 моль/моль). В результате предобработки было достигнуто 87.5 % извлечение целлюлозы из биомассы. Используемый для предобработки DES функционализировал полученную целлюлозу в нанокристаллическую форму с выходом 69%, индексом кристалличности 88.6% и средним размером частиц 146 нм. Для получения пленок биопластика в крахмал, выделенный из отходов другого сельскохозяйственного продукта (семян тамаринда) добавляли полученную нанокристаллическую целлюлозу в качестве бионаполнителя и глицерин в качестве пластификатора. Полученные пленки продемонстрировали механические и термические характеристики, сравнимые с характеристиками полиэтилена высокой плотности, наряду с отличными влагонепроницаемыми свойствами. При этом период 50% биодegradации биопленок составлял 15 суток, в то время как для полиэтилена высокой плотности значение этой величины превышает 58 лет [141].

Одной из стратегий ускорения механического разложения полиолефиновых пластиков в окружающей среде является смешивание их с полимерами на основе углеводов, в частности крахмала. Abbott et al. [142] показали, что DES на основе ChCl и различных НВД (глицерин, мочевины и этиленгликоль), позволяют легко смешивать полиэтилен высокой плотности и TPS. Полученный композит имел прочность, аналогичную TPS, а пластичность больше, чем у каждого из двух компонентов. Было показано, что DES выступал в качестве лубриканта, а не пластификатора.

Биопластики на основе лигноцеллюлозы/лигнина

Среди биополимеров лигнин занимает второе место по распространенности в природе после целлюлозы и представляет самый богатый природный ресурс. Подсчитано, что из отходов целлюлозно-бумажного производства ежегодно для переработки доступно около 70 млн. тонн лигнина, однако только 2% его перерабатывается [143, 144]. Доступность, биоразлагаемость, хорошие механические свойства лигнина делают его привлекательным объектом исследований для использования в композитах и биопластиках [145–148]. Для получения биопластиков с улучшенными свойствами лигнин добавляют во многие биополимеры, такие как крахмал, целлюлоза, полимолочная кислота и полигидроксibuтират [145, 149]. Как указывалось выше, при переработке лигноцеллюлозного сырья DES, в основном, используют для фракционирования и валоризации биомассы. Исследования по получению биопластиков из лигноцеллюлозного сырья с использованием DES немногочисленны.

Учеными из США [150] был разработан простой, но экономически эффективный подход к регенерации лигнина *in situ* для получения прочного и биоразлагаемого лигноцеллюлозного биопластика, пригодного для повторного использования. Подход предполагал разрушение порошка древесины тополя на мелкие волокна с одновременным растворением лигнина и некоторой части гемицеллюлозы с помощью ChCl /щавелевая кислота (1 : 1 моль/моль). После предобработки биомассы с помощью DES при 110°C в течение 2 ч лигнин осаждали на поверхности микро/нанофибрилл простым добавлением воды. Лигнин действовал как естественный клей, который плотно связывал микро/нанофибриллы целлюлозы, образуя гомогенную суспензию с высоким содержанием твердого вещества, из которой можно было легко формировать пленки. Прочный контакт между лигнином и волокнами целлюлозы происходил за счет водородных связей, наличие которых было подтверждено методом ЯМР. Было показано, что волокна целлюлозы в полученном материале имеют размер от 10–300 нм, что значительно меньше, чем в исходных образцах (50–100 мкм). Полученный лигноцеллюлозный биопластик обладал очень хорошими эксплуатационными характеристиками, в том числе высокой прочностью на растяжение (128 МПа), превосходной водостойкостью, устойчивостью к ультрафиолетовому излучению, и выдерживал нагрев до 350°C. При погружении в воду пленки из биопластика сохраняли форму в течении 30 дней, а как контрольный образец из целлюлозы за это же время распадался на отдельные фрагменты. Важно отметить, что полученный лигноцеллюлозный

биопластик не только поддавался биологическому разложению природными микроорганизмами, но также был пригоден для вторичной переработки путем механической дезинтеграции, что позволило регенерировать материал и снова использовать его для производства биопластика. Результаты оценки жизненного цикла полученного материала показали, что этот биопластик оказывает гораздо меньшее воздействие на окружающую среду, чем пластики из продуктов переработки нефти (поливинилфторид и акрилонитрилбутадиенстирол) и такие биоразлагаемые пластики, как поликапролактон и полибутиленсукцинат. Разработанный экологически чистый процесс производства конечного продукта представляет собой замкнутый цикл, открывающий новые возможности для производства стабильных, прочных и биоразлагаемых биопластиков из возобновляемой биомассы.

Роль DES в процессах переработки лигноцеллюлозной биомассы и ее производных подробно обсуждается в обзоре [151]. Отмечено, что DES являются привлекательными растворителями для фракционирования лигноцеллюлозы и валоризации лигнина. Подчеркивается эффективность использования DES в качестве среды для модификации целлюлозы с целью получения функционализированных целлюлозных материалов, таких как нанокристаллическая целлюлоза. Кроме того, полученные из биомассы углеводы можно использовать в качестве одного из компонентов DES.

Лигнин плохо растворяется в органических растворителях, что затрудняет его последующую переработку и валоризацию [152]. Плохая диспергируемость в воде также ограничивают его широкое применение [153]. Эти недостатки можно преодолеть получением наноразмерного лигнина с увеличенной площадью поверхности [154, 155]. Наночастицы лигнина используют для получения наноструктурированных материалов с рядом улучшенных характеристик, включая повышенную термическую стабильность, механические и барьерные свойства [156–158]. DES оказались исключительно перспективными растворителями для получения наноразмерного лигнина [159, 160].

Luo et al. [159] предложили эффективный и экологически чистый подход к получению наночастиц лигнина в промышленных масштабах методом наносождения. В качестве растворителей использовали $\text{CHCl}_3/\text{этаноламин}$ (1 : 6 моль/моль), CHCl_3/EG (1 : 2 моль/моль), CHCl_3/LA (1 : 9 моль/моль). Исследовано влияние источника лигнина, состава DES и pH системы на размер и морфологию наночастиц. Показана возможность получения наночастиц контролируемого размера с

высокой диспергируемостью и долговременной стабильностью. Такой способ получения наночастиц лигнина открывает возможность их крупномасштабного производства для применения в биопластиках, биокомпозитах, в электрохимии, контролируемом высвобождении лекарств и других областях.

Биопластики на основе белков

Для создания биопластиков также можно использовать белки, такие как кератин, коллаген, эластин, шелк и др., которые получают из природных источников и достаточно легко перерабатываются в мягких условиях. Материалы, полученные на основе белков, как правило, водорастворимы, биосовместимы, биоразлагаемы и нетоксичны.

Существует ряд исследований по получению биопластиков из белков с использованием DES. Исследования Qin et al. [161] показали, что смесь 22 вес.% желатина и ChCl/EG (1:2 моль/моль) образует высоко растяжимый проводящий гель, который может быть использован в качестве биосовместимого гибкого компонента при разработке энергонезависимых датчиков.

Авторы работы [162] использовали ChCl/G (1:2 моль/моль) при получении биопластиков из зеина, соевого белка и желатина методом прессования с целью разработки материала для трансдермальной доставки лекарств. Было определено влияние содержания DES на термические и механические свойства получаемых материалов. Показано, что материалы на основе зеина и соевого белка были менее пластичными, чем описанные в литературе биопластики на основе крахмала. На основе желатина и DES был получен прозрачный гибкий биопластик, который в несколько раз ускоряет трансдермальную доставку API имипрамина.

Норвежские ученые исследовали поведение коллагена в NADES (лимонная кислота/ксилит, 1:1 моль/моль) и в его водных растворах [163]. Коллаген проявлял различные свойства в зависимости от типа материала (телоколлаген или ателоколлаген) и степени разбавления NADES. Лиофилизированные листы коллаген/NADES обладали повышенной механической прочностью, что связано с пластифицирующим эффектом NADES. Комбинация коллагена и NADES сочетала уникальные ранозаживляющие свойства коллагена и антибактериальный эффект NADES, что перспективно при разработке медицинских препаратов местного действия.

Пленки хитозана, пластифицированные DES

Отличным кандидатом в качестве компонента биопластика является хитозан (Chit), который получают деацетилированием биополимера хитина из биологических материалов, в основном из панцирей ракообразных. Также в качестве сырья может быть использован хитин из клеточных стенок бактерий, грибов или хитинового покрова насекомых. Хитозан обладает антибактериальными и противогрибковыми свойствами и может разрушаться несколькими ферментами в организме млекопитающих с образованием нетоксичных олигосахаридов [164]. Он является отличным материалом для формирования пленок благодаря хорошим механическим свойствам и обладает избирательной проницаемостью для кислорода и углекислого газа [165]. В настоящее время в литературе имеется ряд работ, описывающих получение биопластиков на основе хитозана и DES.

Galvis-Sánchez et al. [166] провели сравнение свойств пленок хитозана (степень деацетилирования 90 %), полученных с использованием лимонной кислоты и DES (ChCl/лимонная кислота, 1:1 моль/моль) методом термокомпрессионного формования. Пленки Chit-DES были матовыми, имели более высокую эластичность и паропроницаемость, более низкую прочность на разрыв по сравнению с пленками Chit-лимонная кислота. В более поздней работе Galvis-Sánchez et al. [167] исследовали возможность использования NADES на основе ChCl и четырех HBD (яблочной, молочной, лимонной кислот и глицерина) в качестве пластификаторов для получения полупрозрачных пленок термопластичного хитозана. В работе использовали хитозан с разной степенью деацетилирования (76 и 81%). Было показано, что пленки на основе Chit76, имели меньшую толщину и большую водостойкость, чем Chit81. Исследование морфологии пленок методом SEM показало, что NADES по-разному взаимодействуют с Chit76 и Chit81. В целом пленки, приготовленные с использованием Chit76, были менее проницаемы для водяного пара. Наиболее однородная поверхность, компактная структура и наибольшая прочность на разрыв наблюдались у пленок Chit76-ChCl/лимонная кислота (1:1 моль/моль), а пленки Chit76-ChCl/яблочная кислота (1:1 моль/моль) были наиболее эластичными.

В работе [168] изучали возможность использования пленок на основе хитозана, куркумина и DES (ChCl/G, 1:2 моль/моль) в качестве потенциального пищевого индикатора. Свойства пленок Chit-куркумин-DES сравнивали со свойствами пластифицированных глицерином и непластифицированных пленок. Колориметрические испытания, проведенные в водных средах, выявили выраженное изме-

нение цвета пленок Chit-куркумин-DES от желтой до темно-красной в диапазоне pH 8–14. Кроме того, пленки, полученные с использованием DES, были более гибкими, а включение в состав пленок микрокристаллической целлюлозы значительно улучшало их термическую стабильность. Almeida et al. [169] для улучшения свойств пленок хитозана (степень деацетилирования 76%) использовали в качестве добавок DES (ChCl/LA, 1:1 моль/моль) и куркумин. Было изучено влияние содержания DES и куркумина на механические, оптические и барьерные свойства пленок хитозана. Введение DES в качестве пластификатора привело к получению пленок с большей гибкостью при сохранении их прозрачности. Пленки с DES показали более высокую паропроницаемость, водорастворимость и водостойкость. Они могут быть перспективны при изготовлении упаковок для пищевых продуктов.

В работах [170, 171] для пластификации хитозановых пленок использовали ChCl/MA (1 : 1 моль/моль). Были исследованы механические, барьерные, структурные, термические свойства материалов и проведено их сравнение с немодифицированными пленками. Jakubowska et al. [170] показали, что чем выше содержание DES, тем выше эластичность и упругость хитозановых пленок. Исследование методом FTIR показало, что компоненты взаимодействуют посредством водородных связей, а SEM-анализ подтвердил, что и Chit и DES равномерно распределены в полимерной матрице. Sokolova et al. [171] получали хитозановые пленки с разным содержанием DES методом лития из раствора. Было показано, что увеличение содержания DES от 0 до 82 % приводило к снижению модуля Юнга с 800 МПа до 16 МПа. Максимальное удлинение при разрыве (62 %) наблюдалось для пленки с 67 вес.% DES, а прочность на разрыв была наибольшей у образца с 50 вес.% DES (47 МПа).

В работах Wong et al. [172, 173] представлены результаты исследований структурных и протонпроводящих свойств хитозановых пленок, пластифицированных DES (ChCl/U, 1 : 2 моль/моль). Показано, что добавление DES улучшает однородность и гибкость пленки. При добавлении в мембрану 1 вес. % DES водопоглощение уменьшалось с 698.89 до 180.87 %; при этом ионная проводимость увеличилась с 2.98×10^{-3} до 1.23×10^{-2} См/см [172]. Аналогичные исследования влияния ChCl/U были проведены для хитозан-карбоксиметилцеллюлозной мембраны. Было показано, что DES улучшал протонную проводимость мембраны и повышал ее устойчивость к термическому разложению [173]. Полученные результаты показывают возможность использования биоразлагаемого материала на основе хитозана и DES для создания мембран топливного элемента.

Другие примеры использования DES в качестве пластификаторов биополимеров представлены в обзоре [174].

IV. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В обзоре приводятся литературные данные о применении в биотехнологии нового класса растворителей, так называемых глубоких эвтектических растворителей (DES), которые по многим параметрам отвечают требованиям «зеленой» химии. Основными преимуществами DES являются простота получения, низкая стоимость, нетоксичность, невоспламеняемость и биodeградируемость. Кроме того, свойства DES можно легко «настраивать» для решения конкретной задачи изменением состава компонентов и их соотношения, а также добавлением воды. В биотехнологии DES используются в качестве среды для проведения биокаталитических реакций, для экстракции физиологически активных соединений из природного сырья, предобработки лигноцеллюлозной биомассы, получения биоразлагаемых пластиков и др. Предобработка лигноцеллюлозной биомассы с помощью DES улучшает эффективность ферментативного гидролиза целлюлозы за счет экстракции лигнина и изменения структуры углеводных компонентов биомассы, а извлекаемый лигнин характеризуется высокой чистотой, низкой молекулярной массой и может быть использован в качестве сырья для получения продуктов с добавленной стоимостью. DES многократно повышают эффективность экстракции как низко-, так и высокомолекулярных соединений по сравнению с традиционными органическими растворителями. DES-содержащие среды перспективны для биокаталитической трансформации малорастворимых соединений. Эти «зеленые» растворители также нашли широкое применение в качестве пластификаторов для получения термопластичных биопластиков из природных полимеров, таких как крахмал, целлюлоза, хитозан, пектин и др. В целом DES обладают огромным потенциалом использования не только в биотехнологии, но и во многих других областях.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rogers, R., Seddon, K. (2003) Ionic Liquids – Solvents of the Future? *Science*, **302**, 792–793.
2. Plechkova, N., Seddon, K. (2008) Applications of ionic liquids in the chemical industry, *Chemical Society Reviews*, **37**, 123–150.
3. Abbott, A.P., Capper, G., Davies, D.L., Munro, H., Rasheed, R.K., Tambyrajah, V. (2001) Preparation of novel, moisture-stable, Lewis-acidic ionic liquids containing quaternary ammonium salts with functional side chains, *Chemical Communications*, **19**, 2010–2011.
4. Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G.J., Verpoorte, R., Choi, Y.H. (2013) Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology, *Analytica Chimica Acta*, **766**, 61–68.
5. Vanda, H., Dai, Y., Wilson, E., Verpoorte, R., Choi, Y. (2018) Green solvents from ionic liquids and deep eutectic solvents to natural deep eutectic solvents, *Comptes Rendus Chimie*, **21**, 628–638.
6. Abbott, A.P., Barron, J.C., Frisch, G., Gurman, S., Ryder, K.S., Fernando Silva, A. (2011) Double layer effects on metal nucleation in deep eutectic solvents, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **13**, 10224–10231.
7. Jablonský, M., Škulcová, A., Šima, J. (2019) Use of deep eutectic solvents in polymer chemistry—A review, *Molecules*, **24**, 3978.
8. Ramesh, S., Shanti, R., Morris, E. (2012) Studies on the plasticization efficiency of deep eutectic solvent in suppressing the crystallinity of corn starch based polymer electrolytes, *Carbohydrate Polymers*, **87**, 701–706.
9. Favero, J., Belhabib, S., Guessasma, S., Decaen, P., Reguerre, A.L., Lourdin, D., Leroy, E. (2017) On the representative elementary size concept to evaluate the compatibilisation of a plasticised biopolymer blend, *Carbohydrate Polymers*, **172**, 120–129.
10. Juneidi, I., Hayyan, M., Hashim, M.A. (2018) Intensification of biotransformations using deep eutectic solvents: Overview and outlook, *Process Biochemistry*, **66**, 33–60.
11. Abbott, A.P., Capper, G., Davies, D. L., Munro, H.L., Rasheed, R.K., Tambyrajah, V. (2003) Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures, *Chemical Communication*, **1**, 70–71.
12. Zhang, Q., Vigier, K.D.O., Royer, S., Jerome, F. (2012) Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications, *Chemical Society Reviews*, **41**, 7108–7146.
13. Smith, E.L., Abbott, A.P., Ryder, K.S. (2014) Deep eutectic solvents (DESs) and their applications, *Chemical Reviews*, **114**, 11060–11082.
14. Paiva, A., Craveiro, R., Aroso, I., Martins, M., Reis R.L., Duarte A.R.C. (2014) Natural deep eutectic solvents – Solvents for the 21st century, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, **2**, 1063–1071.
15. Abbott, A.P., Barron, J.C., Ryder, K.S., Wilson, D. (2007) Eutectic-based ionic liquids with metal-containing anions and cations, *Chemistry – A European Journal*, **13**, 6495–6501.
16. Abranches, D.O., Martins, M.A., Silva, L.P., Schaeffer, N., Pinho, S.P., Coutinho, J.A. (2019) Phenolic hydrogen bond donors in the formation of non-ionic deep eutectic solvents: the quest for type V DES, *Chemical Communications*, **55**, 10253–10256.
17. Schaeffer, N., Abranches, D.O., Silva, L.P., Martins, M.A.R., Carvalho, P.J., Russina, O., Triolo, A., Paccou, L., Guinet, Y., Hedoux, A., Coutinho, J.A.P. (2021) Non-ideality in thymol + menthol type V deep eutectic solvents, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, **9**, 2203–2211.

18. Martins, M.A.R., Silva, L.P., Schaefer, N., Abranches, D.O., Maximo, G.J., Pinho, S.P., Coutinho, J.A.P. (2019) Greener terpene-terpene eutectic mixtures as hydrophobic solvents, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, **7**, 17414–17423.
19. Panda, D.K., Bhargava, B.L. Molecular dynamics investigation of non-ionic deep eutectic solvents. (2022) *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, **113**, 108152.
20. Zamora, L., Benito, C., Gutiérrez, A., Alcalde, R., Alomari, N., Al Bodour, A., Atilhan, M., Aparicio, S. (2022) Nanostructuring and macroscopic behavior of type V deep eutectic solvents based on monoterpenoids, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **24**, 512–531.
21. Abranches, D.O., Coutinho, J.A.P. Type V deep eutectic solvents: Design and applications, (2022) *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, **35**, 100612.
22. Kumar, A.K., Parikh, B.S., Pravakar, M. (2016) Natural deep eutectic solvent mediated pretreatment of rice straw: Bioanalytical characterization of lignin extract and enzymatic hydrolysis of pretreated biomass residue, *Environmental Science and Pollution Research*, **23**, 9265–9275.
23. Yiin, C.L., Quitain, A.T., Yusup, S., Sasaki, M., Uemura, Y., Kida, T. (2016) Characterization of natural low transition temperature mixtures (LTTMs): Green solvents for biomass delignification, *Bioresource Technology*, **199**, 258–264.
24. Dai, Y., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., Choi, Y.H. (2013) Natural deep eutectic solvents as a new extraction media for phenolic metabolites in *Carthamus tinctorius* L., *Analytical Chemistry*, **85**, 6272–6278.
25. Gutiérrez M.C., Ferrer M.L., Mateo C.R., del Monte F. (2009) Freeze-drying of aqueous solutions of deep eutectic solvents: a suitable approach to deep eutectic suspensions of self-assembled structures, *Langmuir*, **25**, 5509–5515.
26. Florindo, C., Oliveira, F.S., Rebelo, L.P.N., Fernandes, A.M., Marrucho, I.M. (2014) Insights into the synthesis and properties of deep eutectic solvents based on cholinium chloride and carboxylic acids, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, **2**, 2416–2425.
27. ElAchkar, T., Fourmentin, S., Greige-Gerges, H. (2019) Deep eutectic solvents: An overview on their interactions with water and biochemical compounds, *Journal of Molecular Liquids*, **288**, 111028.
28. Crawford, D.E., Wright, L.A., James, S.L., Abbott, A.P. (2016) Efficient continuous synthesis of high purity deep eutectic solvents by twin screw extrusion, *Chemical Communications*, **52**, 4215–4218.
29. Gomez, F.J.V., Espino, M., Fernández, M.A., Silva, M.F. (2018) A greener approach to prepare natural deep eutectic solvents, *Chemistry Select*, **3**, 6122–6125.
30. Rutkowska M., Namieśnik J., Konieczka P. (2017) The application of green solvents in separation processes. Amsterdam: Elsevier, 301–324.
31. Santana, A.P., Mora-Vargas, J.A., Guimarães, T.G.S., Amaral, C., de Oliveira, A.P., Gonzalez, M.H. (2019) Sustainable synthesis of natural deep eutectic solvents (NADES) by different methods, *Journal of Molecular Liquids*, **293**, 111452.
32. Buchman, A.L. (2009) The addition of choline to parenteral nutrition, *Gastroenterology*, **137**, 119–128.
33. Choline. Available online: <https://www.urmc.rochester.edu/encyclopedia/content.aspx?contenttypeid=19&contentid=Choline> (accessed on 20 July 2022).
34. Liu, Y., Friesen, J.B., McAlpine, J.B., Lankin, D.C., Chen, S.N., Pauli, G.F. (2018) Natural deep eutectic solvents: properties, applications,

- and perspectives, *Journal of Natural Products*, **81**, 679–690.
35. Panić, M., Cvjetko Bubalo, M., Radojčić Redovniković, I. (2021) Designing a biocatalytic process involving deep eutectic solvents, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **96**, 14–30.
 36. Velez, C., Acevedo, O. (2022) Simulation of deep eutectic solvents: Progress to promises, *WIREs Computational Molecular Science*, **12**, e1598.
 37. Jablonsky, M., Majova, V., Ondriogova, K., Sima, J. (2019) Preparation and characterization of physicochemical properties and application of novel ternary deep eutectic solvents, *Cellulose*, **26**, 3031–3045.
 38. Xing, W., Xu, G., Dong, J., Han, R., Ni, Y. (2018) Novel dihydrogen-bonding deep eutectic solvents: pretreatment of rice straw for butanol fermentation featuring enzyme recycling and high solvent yield, *Chemical Engineering Journal*, **333**, 712–720.
 39. Kandanelli, R., Thulluri, C., Mangala, R., Rao, P., Gandham, S., Velankar H. (2018) A novel ternary combination of deep eutectic solvent-alcohol (DES-OL) system for synergistic and efficient delignification of biomass, *Bioresource Technology*, **265**, 573–576.
 40. Majová, V., Jablonský, M., Lelovský, M. (2021) Delignification of unbleached pulp by ternary deep eutectic solvents, *Green Processing and Synthesis*, **10**, 666–676.
 41. Chourasia, V.R., Bisht, M., Pant, K.K., Henry, R.J. (2022) Unveiling the potential of water as a co-solvent in microwave-assisted delignification of sugarcane bagasse using ternary deep eutectic solvents, *Bioresource Technology*, **351**, 127005.
 42. Yang, Y., Zhao, L., Ren, J., He, B. (2022) Effect of ternary deep eutectic solvents on bagasse cellulose and lignin structure in low-temperature pretreatment, *Processes*, **10**, 778
 43. Xue, B., Yang, Y., Tang, R., Xue, D., Sun, Y., Li, X. (2020) Efficient dissolution of lignin in novel ternary deep eutectic solvents and its application in polyurethane, *International Journal of Biological Macromolecules*, **164**, 480–488.
 44. Wang, Y., Yang, Y., Wang, R., Zhu, Y., Yang, P., Lin, Z., Wang, Z., Cong, W. (2022) Efficient extraction of chitin from crustacean waste via a novel ternary natural deep eutectic solvents, *Carbohydrate Polymers*, **286**, 119281.
 45. Francisco, M., Van Den Bruinhorst, A., Kroon, M.C. (2013) Low-transition-temperature mixtures (LTTMs): A new generation of designer solvents, *Angewandte Chemie International Edition*, **52**, 3074–3085.
 46. van Osch, D.J.G.P., Dietz, C.H.J.T., Warrag, S.E.E., Kroon, M.C. (2020) The curious case of hydrophobic deep eutectic solvents: a story on the discovery, design, and applications, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, **8**, 10591–10612.
 47. Troter, D., Todorovic, Z., Đokić-Stojanović, D., Đorđević, S.B., Todorovic, V., Konstantinović, S., Veljković, V. (2017) The physicochemical and thermodynamic properties of the choline chloride-based deep eutectic solvents, *Journal of the Serbian Chemical Society*, **82**, 1039–1052.
 48. Abbott, A.P., Boothby, D., Capper, G., Davies, D.L., Rasheed, R. (2004) Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: versatile alternatives to ionic liquids, *Journal of the American Chemical Society*, **126**, 9142–9147.
 49. Abbott, A.P., Capper, G., Gray, S. (2006) Design of improved deep eutectic solvents using hole theory, *ChemPhysChem*, **7**, 803–806.

50. Abbott, A.P., Harris, R.C., Ryder, K.S. (2007) Application of hole theory to define ionic liquids by their transport properties, *Journal of Physical Chemistry B*, **111**, 4910–4913.
51. Abbott, A.P., Harris, R.C., Ryder, K.S., D'Agostino, C., Gladden L.F., Mantle, M.D. (2011) Glycerol eutectics as sustainable solvent systems, *Green Chemistry*, **13**, 82–90.
52. D'Agostino, C., Harris, R.C., Abbott, A.P., Gladden, L.F., Mantle, M.D. (2011) Molecular motion and ion diffusion in choline chloride based deep eutectic solvents studied by ¹H pulsed field gradient NMR spectroscopy, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **13**, 21383–21391.
53. Maugeri, Z., Domínguez de María, P. (2012) Novel choline-chloride-based deep-eutectic-solvents with renewable hydrogen bond donors: levulinic acid and sugar-based polyols, *RSC Advances*, **2**, 421–425.
54. Yusof, R., Abdulmalek, E., Sirat, K., Rahman, M.B.A. (2014) Tetra-butylammonium bromide (TBABr)-based deep eutectic solvents (DESS) and their physical properties, *Molecules*, **19**, 8011–8026.
55. Zhao, B.-Y., Xu, P., Yang, F.-X., Wu, H., Zong, M.-H., Lou, W.-Y. (2015) Biocompatible deep eutectic solvents based on choline chloride: characterization and application to the extraction of rutin from *Sophora japonica*, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **3**, 2746–2755.
56. Hou, Y., Gu, Y., Zhang, S., Yang, F., Ding, H., Shan, Y. (2008) Novel binary eutectic mixtures based on imidazole, *Journal of Molecular Liquids*, **143**, 154–159.
57. Kareem, M.A., Mjalli, F.S., Hashim, M.A., Alnashef, I.M. (2010) Phosphonium-based ionic liquids analogues and their physical properties, *Journal of Chemical and Engineering Data*, **55**, 4632–4637.
58. Taysun, M.B., Sert, E., Atalay, F.S. (2017) Effect of hydrogen bond donor on the physical properties of benzyltriethylammonium chloride based deep eutectic solvents and their usage in 2-ethyl-hexyl acetate synthesis as a catalyst, *Journal of Chemical and Engineering Data*, **62**, 1173–1181.
59. Chen, Z., Ludwig, M., Warr, G.G., Atkin, R. (2017) Effect of cation alkyl chain length on surface forces and physical properties in deep eutectic solvents, *Journal of Colloid and Interface Science*, **494**, 373–379.
60. Abbott, A.P., Capper, G., Davies, D.L., Rasheed, R. (2004) Ionic liquids based upon metal halide/substituted quaternary ammonium salt mixtures, *Inorganic Chemistry*, **43**, 3447–3452.
61. Zhao, H., Baker, G. A., Holmes S. (2011) New eutectic ionic liquids for lipaseactivation and enzymatic preparation of biodiesel, *Organic and Biomolecular Chemistry*, **9**, 1908–1916.
62. Shahbaz, K., Mjalli, F.S., Hashim, M.A., AlNashef, I.M. (2011) Using deep eutectic solvents based on methyl triphenyl phosphonium bromide for the removal of glycerol from palm-oil-based biodiesel, *Energy and Fuels*, **25**, 2671–2678.
63. Francisco, M., van den Bruinhorst, A., Kroon, M.C. (2012) New natural and renewable low transition temperature mixtures (LTTMs): screening as solvents for lignocellulosic biomass processing, *Green Chemistry*, **14**, 2153–2157.
64. Chen, Z., Greaves, T.L., Warr, G.G., Atkin, R. (2017) Mixing cations with different alkyl chain lengths markedly depresses the melting point in deep eutectic solvents formed from alkylammonium bromide salts and urea, *Chemical Communications*, **53**, 2375–2377.
65. Shah, D., Mjalli, F.S. (2014) Effect of water on the thermo-physical

- properties of reline: an experimental and molecular simulation based approach, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **16**, 23900–23907.
66. Dai, Y., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., Choi, Y.H. (2015) Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications, *Food Chemistry*, **187**, 14–19.
67. Du, C., Zhao, B., Chen, X.-B., Birbilis, N., Yang H. (2016) Effect of water presence on choline chloride-2urea ionic liquid and coating platings from the hydrated ionic liquid, *Scientific Reports*, **6**, 29225.
68. Zhekenov, T., Toksanbayev, N., Kazakbayeva, Z., Shah, D., Mjalli, F.S. (2017) Formation of type III deep eutectic solvents and effect of water on their intermolecular interactions, *Fluid Phase Equilibria*, **441**, 43–48.
69. Hammond, O.S., Bowron, D.T., Edler, K.J. (2017) The effect of water upon deep eutectic solvent nanostructure: an unusual transition from ionic mixture to aqueous solution, *Angewandte Chemie International Edition*, **56**, 9782–9785.
70. Choi, Y.H., van Spronsen, J., Dai, Y., Verberne, M., Hollmann, F., Arends, I.W.C.E., Witkamp, G.J., Verpoorte, R. (2001) Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology? *Plant Physiology*, **156**, 1701–1705.
71. Kist, J.A., Zhao, H., Mitchell-Koch, K.R., Baker, G.A. (2021) The study and application of biomolecules in deep eutectic solvents, *Journal of Materials Chemistry B*, **9**, 536–566.
72. Aroso, I.M., Craveiro, R., Rocha, Â., Dionísio, M., Barreiros, S., Reis, R.L., Paiva, A., Duarte, A.R.C. (2015) Design of controlled release systems for THEDES – therapeutic deep eutectic solvents, using supercritical fluid technology, *International Journal of Pharmaceutics*, **492**, 73–79.
73. Aroso, I.M., Silva, J.C., Mano, F., Ferreira, A.S., Dionísio, M., Sá-Nogueira, I., Barreiros, S., Reis, R.L., Paiva, A., Duarte, A.R.C. (2016) Dissolution enhancement of active pharmaceutical ingredients by therapeutic deep eutectic systems, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **98**, 57–66.
74. Stott, P.W., Williams, A.C., Barry, B.W. (1998) Transdermal delivery from eutectic systems: enhanced permeation of a model drug, ibuprofen, *Journal of Controlled Release*, **50**, 297–308.
75. Morrison, H.G., Sun, C.C., Neervannan S. (2009) Characterization of thermal behavior of deep eutectic solvents and their potential as drug solubilization vehicles, *International Journal of Pharmaceutics*, **378**, 136–139.
76. Duarte, A.R.C., Ferreira, A.S.D., Barreiros, S., Cabrita, E., Reis, R.L., Paiva, A. (2017) A comparison between pure active pharmaceutical ingredients and therapeutic deep eutectic solvents: solubility and permeability studies, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **114**, 296–304.
77. Durand, E., Lecomte, J., Villeneuve, P. (2013) Deep eutectic solvents: Synthesis, application, and focus on lipase-catalyzed reactions, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **115**, 379–385.
78. Tan, J.-N., Dou, Y. (2020) Deep eutectic solvents for biocatalytic transformations: focused lipase-catalyzed organic reactions, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **104**, 1481–1496.
79. Hollmann, F., Arends, I. (2012) Enzyme initiated radical polymerizations, *Polymers*, **4**, 759–793.
80. Bassanini, I., Ferrandi, E.E., Riva, S., Monti, D. (2021) Biocatalysis with laccases: an updated overview, *Catalysts*, **11**, 26.

81. Khodaverdian, S., Dabirmanesh, B., Heydari, A., Dashtban-moghadam, E., Khajeh, K., Ghazi F. (2018), *International Journal of Biological Macromolecules*, **107**, 2574–2579.
82. Toledo, M.L., Pereira, M.M., Freire, M.G., Silva, J.P.A., Coutinho, J.A.P., Tavares, A.P.M. (2019), *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, **7**, 11806–11814.
83. Delorme, A.E., Andanson, J.-M., Verney, V. (2020) Improving laccase thermostability with aqueous natural deep eutectic solvents, *International Journal of Biological Macromolecules*, **163**, 919–926.
84. Varriale, S., Delorme, A.E., Andanson, J.-M., Devemy, J., Malfreyt, P., Verney, V., Pezzella, C. (2022) Enhancing the thermostability of engineered laccases in aqueous betaine-based natural deep eutectic solvents, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, **10**, 572–581.
85. Chan, J.C., Zhang, B., Martinez, M., Kuruba, B., Brozik, J., Kang, C.H., Zhang X. (2021) Structural studies of Myceliophthora Thermophila laccase in the presence of deep eutectic solvents, *Enzyme and Microbial Technology*, **150**, 109890.
86. Altundağ A., Ünlü A.E., Takaç S. (2021) Deep eutectic solvent-assisted synthesis of polyaniline by laccase enzyme, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **96**, 1107–1115.
87. Khlupova, M., Vasil'eva, I., Shumakovich, G., Zaitseva, E., Chertkov, V., Shestakova, A., Morozova O., Yaropolov A. (2021) Enzymatic polymerization of dihydroquercetin (taxifolin) in betaine-based deep eutectic solvent and product characterization, *Catalysts*, **11**, 639.
88. Ünlü, A.E., Prasad, B., Anavekar, K., Bubenheim, P., Liese, A. (2017) Investigation of a green process for the polymerization of catechin, *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, **47**, 918–924.
89. Khlupova, M.E., Morozova, O.V., Vasil'eva, I.S., Shumakovich, G.P., Zaitseva, E.A., Chertkov, V.A., Shestakova, A.K., Yaropolov, A.I. (2021) Polymerization of (+)-catechin in a deep eutectic solvent using a fungal laccase: physicochemical properties of the products and inhibition of α -glucosidase, *Applied Biochemistry and Microbiology*, **57**, 712–718.
90. Wu, B.-P., Wen, Q., Xu, H., Yang, Z. (2014) Insights into the impact of deep eutectic solvents on horseradish peroxidase: Activity, stability and structure, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **101**, 101–107.
91. Sánchez-Leija, R.J., Torres-Lubián, J.R., Reséndiz-Rubio A., Luna-Bárceñas G., Mota-Morales J.D. (2016) Enzyme-mediated free radical polymerization of acrylamide in deep eutectic solvents, *RSC Advances*, **6**, 13072–13079.
92. Mamashli, F., Badraghi, J., Delavari, B., Lanjanian, H., Sabbaghian, M., Hosseini, M., Saboury, A.A. (2018) Improvement of versatile peroxidase activity and stability by a cholinium-based ionic liquid, *Journal of Molecular Liquids*, **282**, 597–608.
93. Harifi-Mood, A.R., Ghobadi, R., Divsalar, A. (2017) The effect of deep eutectic solvents on catalytic function and structure of bovine liver catalase, *International Journal of Biological Macromolecules*, **95**, 115–120.
94. Ghobadi, R., Divsalar, A. (2020) Enzymatic behavior of bovine liver catalase in aqueous medium of sugar based deep eutectic solvents, *Journal of Molecular Liquids*, **310**, 113207.
95. Huang, L., Bittner, J.P., de Maria, P.D., Jakobtorweihen, S., Kara, S. (2019) Modeling alcohol dehydrogenase catalysis in deep eutectic solvent/water mixtures, *ChemBioChem*, **20**, 1–8.
96. Tolmachev, D., Lukasheva, N., Ramazanov, R., Nazarychev, V.,

- Borzdun, N., Volgin, I., Andreeva, M., Glova, A., Melnikova, S., Dobrovskiy, A., Silber, S.A., Larin, S., de Souza, R.M., Ribeiro, M.C.C., Lyulin, S., Karttunen (2022) Computer simulations of deep eutectic solvents: challenges, solutions, and perspectives, *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, 645.
97. Vilková, M., Płotka-Wasyłka, J., Andruch, V. (2020) The role of water in deep eutectic solvent-base extraction, *Journal of Molecular Liquids*, **304**, 112747.
98. Ling, J.K.U., Chan, Y.S., Nandong, J., Chin, S.F., Ho, B.K. (2020) Formulation of choline chloride/ascorbic acid natural deep eutectic solvent: Characterization, solubilization capacity and antioxidant property, *LWT*, **133**, 110096.
99. Zainal-Abidin, M.H., Hayyan, M., Hayyan, A., Jayakumar, N.S. (2017) New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: A review, *Analytica Chimica Acta*, **979**, 1–23.
100. Kalhor, P., Ghandi, K. (2019) Deep eutectic solvents for pretreatment, extraction, and catalysis of biomass and food waste, *Molecules*, **24**, 4012.
101. Fuad, F.M., Nadzir, M.M., Harun, A. (2021) Hydrophilic natural deep eutectic solvent: A review on physicochemical properties and extractability of bioactive compounds, *Journal of Molecular Liquids*, **339**, 116923.
102. Alam, M.A., Muhammad, G., Khan, M.N., Mofijur, M., Lv, Y., Xiong, W., Xu, J. (2021) Choline chloride-based deep eutectic solvents as green extractants for the isolation of phenolic compounds from biomass, *Journal of Cleaner Production*, **309**, 127445.
103. Socas-Rodríguez, B., Torres-Cornejo, M.V., Álvarez-Rivera, G., Mendiola, J.A. (2021) Deep eutectic solvents for the extraction of bioactive compounds from natural sources and agricultural by-products, *Applied Sciences*, **11**, 4897.
104. Redha, A. (2021) Review on extraction of phenolic compounds from natural sources using green deep eutectic solvents, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **69**, 878–912.
105. Ling, J.K.U., Hadinoto, K. (2022) Deep eutectic solvent as green solvent in extraction of biological macromolecules: A Review, *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, 3381.
106. Moldes, D., Rojo, E.M., Bolado, S., García-Encina, P.A., Comesaña-Gándara, B. (2022) Biodegradable solvents: A promising tool to recover proteins from microalgae, *Applied Sciences*, **12**, 2391.
107. Lynam, J.G., Kumar, N., Wong, M.J. (2017) Deep eutectic solvents' ability to solubilize lignin, cellulose, and hemicellulose; thermal stability; and density, *Bioresource Technology*, **238**, 684–689.
108. Soares, B., Tavares, D.J.P., Amaral, J.L., Silvestre, A.J.D., Freire, C.S.R., Coutinho, J.A.P. (2017) Enhanced solubility of lignin monomeric model compounds and technical lignins in aqueous solutions of deep eutectic solvents, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, **5**, 4056–4065.
109. Kumar, A.K., Parikh, B.S., Shah, E., Liu, L.Z., Cotta, M.A. (2016) Cellulosic ethanol production from green solvent-pretreated rice straw, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **7**, 14–32.
110. Kumar, A.K., Sharma, S., Shah, E., Patel, A. (2018) Technical assessment of natural deep eutectic solvent (NADES) mediated biorefinery process: A case study, *Journal of Molecular Liquids*, **260**, 313–322.
111. Mamilla, J.L.K., Novak, U., Grilc, M., Likozar, B. (2019) Natural deep eutectic solvents (DES) for fractionation of waste lignocellu-

- losic biomass and its cascade conversion to value-added bio-based chemicals, *Biomass and Bioenergy*, **120**, 417–425.
112. Zhang, C.-W., Xia, S.-Q., Ma, P.-S. (2016) Facile pretreatment of lignocellulosic biomass using deep eutectic solvents, *Bioresource Technology*, **219**, 1–5.
113. Yu, H., Xue, Z., Shi, R., Zhou, F., Mu, T. (2022) Lignin dissolution and lignocellulose pretreatment by carboxylic acid based deep eutectic solvents, *Industrial Crops and Products*, **184**, 115049.
114. Wu, Y., Cheng, J., Yang, Q., Hu, J., Zhou, Q., Wang, L., Liu, Z., Hui, L. (2021) Solid acid facilitated deep eutectic solvents extraction of high-purity and antioxidative lignin production from poplar wood, *International Journal of Biological Macromolecules*, **193**, 64–70.
115. Islam, M.T., Sultana, A.I., Saha, N., Klinger, J.L., Reza, M.T. (2021) Pretreatment of Biomass by selected type-III deep eutectic solvents and evaluation of the pretreatment effects on hydrothermal carbonization, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, **60**, 15479–15491.
116. Zhao, Z., Chen, X., Ali, M.F., Abdeltawab, A.A., Yakout, S.M., Yu, G. (2018) Pretreatment of wheat straw using basic ethanolamine-based deep eutectic solvents for improving enzymatic hydrolysis, *Bioresource Technology*, **263**, 325–333.
117. Shen, X.-J., Wen, J.-L., Mei, Q.-Q., Chen, X., Sun, D., Yuan, T.-Q., Sun, R.-C. (2019) Facile fractionation of lignocelluloses by biomass-derived deep eutectic solvent (DES) pretreatment for cellulose enzymatic hydrolysis and lignin valorization, *Green Chemistry*, **21**, 275–283.
118. Chen, Z., Wan, C. (2018) Ultrafast fractionation of lignocellulosic biomass by microwave-assisted deep eutectic solvent pretreatment, *Bioresource Technology*, **250**, 532–537.
119. Wang, W., Lee, D.-J. (2021) Lignocellulosic biomass pretreatment by deep eutectic solvents on lignin extraction and saccharification enhancement: A review, *Bioresource Technology*, **339**, 125587.
120. Brahney, J., Hallerud, M., Heim, E., Hahnenberger, M., Sukumaran, S. (2020) Plastic rain in protected areas of the United States, *Science*, **368**, 1257–1260.
121. Law, K.L., Starr, N., Siegler, T.R., Jambeck, J.R., Mallos, N.J., Leonard, G.H. (2020) The United States' contribution of plastic waste to land and ocean, *Science Advances*, **6**, eabd0288.
122. Carvalho, A.J.F. (2013) Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics: Properties, Processing and Applications Monomers. Amsterdam: Elsevier, 129–152.
123. Wang, J.L., Cheng, F., Zhu, P.X. (2014) Structure and properties of urea-plasticized starch films with different urea contents, *Carbohydrate Polymers*, **101**, 1109–1115.
124. Talja, R.A., Helén, H., Roos, Y.H., Jouppila, K. (2007) Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films, *Carbohydrate Polymers*, **67**, 288–295.
125. Alee, M., Duan, Q., Chen, Y., Liu, H., Ali, A., Zhu, J., Jiang, T., Rahaman, A., Chen, L., Yu, L. (2021) Plasticization efficiency and characteristics of monosaccharides, disaccharides, and low-molecular-weight polysaccharides for starch-based materials, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **9**, 11960–11969.
126. Ma, X., Yu, J. (2004) Formamide as the plasticizer for thermoplastic starch, *Journal of Applied Polymer Science*, **93**, 1769–1773.
127. Nafchi, A.M., Moradpour, M., Saeidi, M., Alias, A.K. (2013) Thermoplastic starches: Properties, challenges, and prospects, *Starch*, **65**, 61–72.

128. Abbott, A.P., Ballantyne, A.D., Conde, J.P., Ryder, K.S., Wise, W.R. (2012) Salt modified starch: sustainable, recyclable plastics, *Green Chemistry*, **14**, 1302–1307.
129. Leroy, E., Decaen, P., Jacquet, P., Coativy, G., Pontoire, B., Reguerreb, A.L., Lourdin D. (2012) Deep eutectic solvents as functional additives for starch based plastics, *Green Chemistry*, **14**, 3063–3066.
130. Zdanowicz, M., Johansson, C. (2016) Mechanical and barrier properties of starch-based films plasticized with two- or three component deep eutectic solvents, *Carbohydrate Polymers*, **151**, 103–112.
131. Zdanowicz, M., Spychaj, T., Mąka, H. (2016) Imidazole-based deep eutectic solvents for starch dissolution and plasticization, *Carbohydrate Polymers*, **140**, 416–423.
132. Skowrońska, D., Wilpiszewska, K. (2022) Deep eutectic solvents for starch treatment, *Polymers*, **14**, 220.
133. Abbott, A.P., Abolibda, T.Z., Davis, S.J., Emmerling, F., Lourdin, D., Leroy, E., Wise, W.R. (2014) Glycol based plasticisers for salt modified starch, *RSC Advances*, **4**, 40421–40427.
134. Zdanowicz, M., Jedrzejewski, R., Pilawka, R. (2019) Deep eutectic solvents as simultaneous plasticizing and crosslinking agents for starch, *International Journal of Biological Macromolecules*, **129**, 1040–1046.
135. Zdanowicz, M. (2020) Starch treatment with deep eutectic solvents, ionic liquids and glycerol. A comparative study, *Carbohydrate Polymers*, **229**, 115574.
136. Zdanowicz, M., Spychaj, T. (2011) Ionic liquids as starch plasticizers or solvents, *Polimery*, **56**, 861–864.
137. Zdanowicz, M. (2021) Deep eutectic solvents based on urea, polyols and sugars for starch treatment, *International Journal of Biological Macromolecules*, **176**, 387–393.
138. Zdanowicz, M., Staciwa, P., Jedrzejewski, R., Spychaj, T. (2019) Sugar alcohol-based deep eutectic solvents as potato starch plasticizers, *Polymers*, **11**, 1385.
139. Zdanowicz, M., Staciwa, P., Spychaj, T. (2019) Low transition temperature mixtures (LTTM) containing sugars as potato starch plasticizers, *Starch*, **71**, 1900004.
140. Martins, M., Aroso, I.M., Reis, R.L., Duarte, A.R.C., Craveiro, R., Paiva, A. (2014) Enhanced performance of supercritical fluid foaming of natural-based polymers by deep eutectic solvents, *American Institute of Chemical Engineers Journal*, **60**, 3701–3706.
141. De, D., Naga Sai, M.S., Aniya, V., Satyavathi, B. (2020) Strategic biorefinery platform for green valorization of agro-industrial residues: A sustainable approach towards biodegradable plastics, *Journal of Cleaner Production*, **290**, 125184.
142. Abbott, A.P., Abolibda, T.Z., Qu, W., Wise, W.R., Wright, L.A. (2017) Thermoplastic starch–polyethylene blends homogenised using deep eutectic solvents, *RSC Advances*, **7**, 7268–7273.
143. Laurichesse, S., Avérous, L. (2014) Chemical modification of lignins: Towards biobased polymers, *Progress in Polymer Science*, **39**, 1266–1290.
144. Yang, J., Ching, Y.C., Chuah, C.H. (2019) Applications of lignocellulosic fibers and lignin in bioplastics: a review, *Polymers*, **11**, 751.
145. Thakur, V.K., Thakur, M.K., Raghavan, P., Kessler, M.R. (2014) Progress in green polymer composites from lignin for multifunctional applications: a review, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **2**, 1072–1092.
146. Klapiszewski, Ł., Bula, K., Sobczak, M., Jesionowski, T. (2016) Influence of processing conditions on the thermal stability and mecha-

- nical properties of PP/silica-lignin composites, *International Journal of Polymer Science*, **2016**, 1627258.
147. Nair, S.S., Chen, H., Peng, Y., Huang, Y., Yan, N. (2018) Polylactic acid biocomposites reinforced with nanocellulose fibrils with high lignin content for improved mechanical, thermal, and barrier properties, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **6**, 10058–10068.
148. Spiridon, I., Leluk, K., Resmerita, A.M., Darie, R.N. (2015) Evaluation of PLA-lignin bioplastics properties before and after accelerated weathering, *Composites Part B: Engineering*, **69**, 342–349.
149. Graupner, N. (2008) Application of lignin as natural adhesion promoter in cotton fibre-reinforced poly(lactic acid) (PLA) composites, *Journal of Materials Science*, **43**, 5222–5229.
150. Xia, Q., Chen, C., Yao, Y., Li, J., He, S., Zhou, Y., Li, T., Pan, X., Yao, Y., Hu, L. (2021) A strong, biodegradable and recyclable lignocellulosic bioplastic, *Nature Sustainability*, **4**, 627–635.
151. Tang, X., Zuo, M., Li, Z., Liu, H., Xiong, C., Zeng, X., Sun, Y., Hu, L., Liu, S., Lei, T., Lin, L. (2017) Green processing of lignocellulosic biomass and its derivatives in deep eutectic solvents, *ChemSusChem*, **10**, 2696–2706.
152. Upton, B.M., Kasko, A.M. (2016) Strategies for the conversion of lignin to high-value polymeric materials: review and perspective, *Chemical Reviews*, **116**, 2275–230.
153. Duval, A., Lawoko, M. (2014) A review on lignin-based polymeric, micro- and nano-structured materials, *Reactive and Functional Polymers*, **85**, 78–96.
154. Chen, L., Shi, Y., Gao, B., Zhao, Y., Jiang, Y., Zha, Z., Xue, W., Gong, L. (2020) Lignin nanoparticles: green synthesis in a γ -valerolactone/water binary solvent and application to enhance antimicrobial activity of essential oils, *ACS Sustainable Chemistry Engineering*, **8**, 714–722.
155. Sun, R. (2020) Across the board: Runcang Sun on lignin nanoparticles, *ChemSusChem*, **13**, 4768–4770.
156. Yang, W., Rallini, M., Wang, D.Y., Gao, D., Dominici, F., Torre, L., Kenny, J.M., Puglia, D. (2018) Role of lignin nanoparticles in UV resistance, thermal and mechanical performance of PMMA nanocomposites prepared by a combined free-radical graft polymerization/masterbatch procedure, *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, **107**, 61–69.
157. Tian, D., Hu, J.; Bao, J., Chandra, R.P., Saddler, J.N., Lu, C. (2017) Lignin valorization: lignin nanoparticles as high-value bio-additive for multifunctional nanocomposites, *Biotechnology for Biofuels*, **10**, 192.
158. Osterberg, M., Sipponen, M.H., Mattos, B.D., Rojas, O.J. (2020) Spherical lignin particles: a review on their sustainability and applications, *Green Chemistry*, **22**, 2712–2733.
159. Luo, T., Wang, C., Ji, X., Yang, G., Chen, J., Janaswamy, S., Lyu, G. (2021) Preparation and characterization of size-controlled lignin nanoparticles with deep eutectic solvents by nanoprecipitation, *Molecules*, **26**, 218.
160. Iravani, S., Varma, R.S. (2020) Greener synthesis of lignin nanoparticles and their applications, *Green Chemistry*, **22**, 612–636.
161. Qin, H., Owyung, R.E., Sonkusale, S.R., Panzer, M.J. (2019) Highly stretchable and nonvolatile gelatin-supported deep eutectic solvent gel electrolyte-based ionic skins for strain and pressure sensing, *Journal of Materials Chemistry C*, **7**, 601–608.
162. Qu, W., Häkkinen, R., Allen, J., D'Agostino, C., Abbott, A.P. (2019) Globular and fibrous pro-

- teins modified with deep eutectic solvents: materials for drug delivery, *Molecules*, **24**, 3583.
163. Grønlien, K.G., Pedersen, M.E., Tønnesen, H.H. (2020) A natural deep eutectic solvent (NADES) as potential excipient in collagen-based products, *International Journal of Biological Macromolecules*, **156**, 394–402.
164. Matica, M.A., Aachmann, F.L., Tøndervik, A., Sletta, H., Ostafe, V. (2019) Chitosan as a wound dressing starting material: antimicrobial properties and mode of action, *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, 1422–0067.
165. Elsabee, M.Z., Abdou E.S. (2013) Chitosan based edible films and coatings: A review, *Materials Science and Engineering: C*, **33**, 1819–1841.
166. Galvis-Sánchez, A.C., Sousa, A.M.M., Hilliou, L., Gonçalves, M.P., Souza, H.K.S. (2016) Thermo-compression molding of chitosan with a deep eutectic mixture for biofilms development, *Green Chemistry*, **18**, 1571–1580.
167. Galvis-Sánchez, A.C., Castro, M.C.R., Biernacki, K., Gonçalves, M.P., Souza, H.K.S. (2018) Natural deep eutectic solvents as green plasticizers for chitosan thermoplastic production with controlled/desired mechanical and barrier properties, *Food Hydrocolloids*, **82**, 478–489.
168. Pereira, F., Andrade, C. T. (2017) Optimized pH-responsive film based on a eutectic mixture-plasticized chitosan, *Carbohydrate Polymers*, **165**, 238–246.
169. Almeida, C.M.R., Magalhães, J.M.C.S., Souza, H.K.S., Gonçalves, M.P. (2018) The role of choline chloride-based deep eutectic solvent and curcumin on chitosan films properties, *Food Hydrocolloids*, **81**, 456–466.
170. Jakubowska, E., Gierszewska, M., Nowaczyk, J., Olewnik-Kruszkowska, E. (2020) Physicochemical and storage properties of chitosan-based films plasticized with deep eutectic solvent, *Food Hydrocolloids*, **108**, 106007.
171. Sokolova, M.P., Smirnov, M.A., Samarov, A.A., Bobrova, N.V., Vorobiov, V.K., Popova, E.N., Toikka A.M. (2018) Plasticizing of chitosan films with deep eutectic mixture of malonic acid and choline chloride, *Carbohydrate Polymers*, **197**, 548–557.
172. Wong, W.Y., Wong, C.Y., Walvekar, R., Khalid, M. (2018) Eutectic solvent as additive to proton conducting chitosan films, *Journal of Engineering Science and Technology*, **13**, 2995–3006.
173. Wong, C.Y., Wong, W.Y., Walvekar, R., Loh, K.S., Khalid, M., Lim, K.L. (2018) Effect of deep eutectic solvent in proton conduction and thermal behaviour of chitosan-based membrane, *Journal of Molecular Liquids*, **269**, 675–683.
174. Lončarić, M., Jakobek, L., Molnar M. (2021) Deep eutectic solvents in the production of biopolymer-based materials, *Croatia Chemica Acta*, **94**, P1–P8.