

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА ПРОЦЕСС ЭКСТРАКЦИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ КОРНЕВИЩ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ

А. В. Белый, Н. И. Белая, К. А. Литвяк*

*Национальная фармацевтическая академия, г. Харьков

Исследовано влияние условий экстракции фенольных соединений с антиоксидантными свойствами из корней и корневищ эхинацеи пурпурной с применением ультразвука (УЗ). Установлено, что более полное извлечение веществ наблюдается при экстракции 70%-ным этанолом методом холодной мацерации в УЗ поле (частота УЗ колебаний 45,3 кГц, мощность излучателя 2 Вт/см²) в течение 75 мин. с размером частиц сырья равным 1 мм. Предложенный способ получения растительных экстрактов позволяет увеличить эффективность и скорость экстракции фенольных соединений, снизить температуру и время тепловой обработки экстракта. Полученный водно-этанольный экстракт корневищ эхинацеи пурпурной позволяет более чем в 2 раза увеличить стабильность подсолнечного масла к окислению при содержании в нем экстракта до 0,1 масс.%.
Ключевые слова: природные фенольные соединения, антиоксидантная активность, ультразвук, экстракция.

Введение. Согласно литературным данным [1-3] и предыдущим исследованиям авторов [4, 5], антиоксидантные и антирадикальные свойства растительных экстрактов определяются прежде всего содержанием в них фенольных соединений (ФС) – фенолкарбоновых кислот, флавоноидов и их гликозидов, кумаринов и т.д. Получение таких экстрактов в качестве пищевых добавок, средств антиоксидантной терапии и компонентов парфюмерной продукции заставляет химиков технологов искать условия экстракции, при которых выход фенольных веществ – носителей антиоксидантной активности (АОА) был бы максимален, а их разрушение под действие температуры и растворителей минимально. В связи с этим поиск альтернативных методов извлечения антиоксидантов из растительных объектов, как, например, ультразвуковая экстракция, представляет актуальную задачу.

Поскольку ультразвук (УЗ) не является индифферентным агентом по отношению к действующим веществам: может вызывать кавитацию, ионизацию молекул, изменять свойства биологически активных веществ, понижать или усиливать их терапевтическую эффективность, применение его требует тщательного экспериментального исследования [6].

Целью настоящей работы стало изучение влияния условий ультразвуковой экстракции на количество извлеченных из растения веществ фенольной природы с антиоксидантными свойствами.

Экспериментальная часть. Выбор объекта исследования – корней и корневищ эхинацеи пурпурной обусловлен значительным содержанием в их составе ФС [7] и широким использованием экстрактов эхинацеи в фармацевтической, пищевой и парфюмерной промышленности. В качестве экстрагента использовали 70%-ный этанол, который, согласно литературным данным [6], способен ингибировать окислительно-восстановительные реакции, возникающие в ультразвуковом поле. Соотношение сырья-экстрагент составляло 1:10 [4]. Экстракцию проводили методом мацерации (одноразовой экстракции) с применением УЗ при комнатной температуре. Для проведения исследований был изготовлен ультразвуковой экстрактор, принципиальная схема которого представлена на рис. 1.

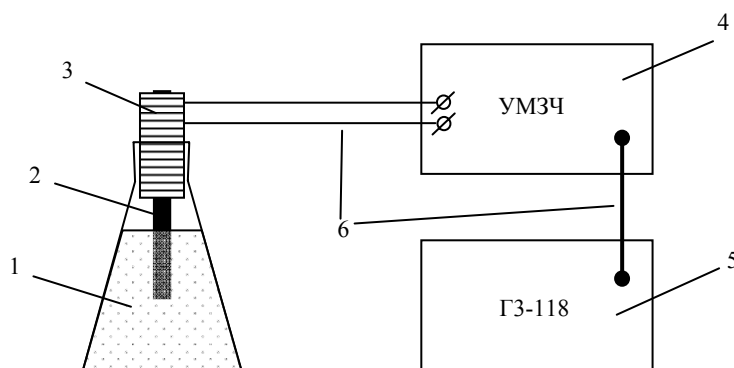


Рис. 1. Принципиальная схема ультразвукового экстрактора: 1 – исследуемый раствор; 2 – ферритовый сердечник-излучатель; 3 – индукционная катушка; 4 – усилитель мощности звуковой частоты; 5 – генератор звуковой частоты ГЗ-118; 6 – соединительные провода.

Экстракты стандартизировали по величине сухого остатка ($W_{с.о.}$, масс. %), определенного методом гравиметрии [8]. За извлечением фенолов в ходе экстракции следили путем отбора проб экстракта по ходу эксперимента и определения суммарного количества фенольных соединений (ФС., масс. %) методом перманганатометрического титрования [8]. Антиоксидантное действие полученных экстрактов изучалось в условиях высокотемпературного ($T=393\pm 2K$) автоокисления растительного масла из семян подсолнечника заводского производства. За кинетикой окисления масла наблюдали, контролируя накопление перекисного числа (ПЧ., % I_2) методом йодометрического титрования [9]. АОА полученных экстрактов характеризовали величиной τ/τ_0 , где τ – период индукции окисления масла в присутствии 0,1 масс.% экстракта, τ_0 – без экстракта.

Анализ результатов эксперимента. Среди факторов, влияющих на процесс экстрагирования веществ из растительного материала в ультразвуковом поле, изучены следующие: частота и мощность УЗ-излучателя, время экстракции и размер частиц сырья. Уровни варьирования этих факторов выбраны, исходя из анализа литературных данных [4].

С целью выбора оптимального ультразвукового режима процесс экстракции проводили с использованием четырех частот УЗ-колебаний (ν) от 27,5 до 45,3 кГц при постоянной мощности излучателя (V) равной 0,1 Вт/см². Исследуемый диапазон УЗ-характеристик не допускал возникновения кавитации, приводящей к таким нежелательным явлениям как повышение температуры и рассеивание УЗ-волн внутри системы экстрагент-сырье.

Прохождение УЗ через смесь этанол (70 об.%) – корневища эхинацеи обеспечивает эффективное экстрагирование веществ из-за возникновения УЗ-волн. В результате происходит ускорение пропитки материала и растворение содержимого клетки, увеличение скорости обтекания частиц сырья, в пограничном диффузионном слое экстрагента образуются турбулентные и вихревые потоки. Молекулярная диффузия внутри растительного материала и в диффузионном слое практически сменяется на конвективную, что приводит к интенсификации массообменных процессов. При воздействии ультразвука нарушается пограничный диффузионный слой, кроме того, вследствие изменения давления при сжатии и разрежении, может возникать эффект «губки», при котором улучшается проникновение экстрагента в материал [4].

Для оценки эффективности УЗ-экстракции природных фенолов ее результаты сравнивались с холодной и горячей ($T_{кип. р-ля.}$) мацерациями в тех же условиях без применения УЗ. Видно (табл. 1), что с ростом частоты УЗ излучателя общее количество экстрагируемых веществ ($W_{с.о.}$), суммарное количество ФС и АОА (τ/τ_0) экстрактов увеличиваются. Обращает на себя внимание тот факт, что если по сухому остатку результаты УЗ-экстракции и горячей мацерации были сравнимы, то значительно большего выхода можно было добиться с применением УЗ-колебаний для ФС. Вероятно, это связано с тем, что подавляющее большинство экстрагируемых веществ нефенольной природы имеют хорошую растворимость, поэтому действие и высоких температур, и УЗ способствует их одинаково полному извлечению из растительного материала.

Таблица 1

Зависимость выхода сухого остатка ($W_{с.о.}$), суммарного количества фенольных соединений (ФС) и антиоксидантной активности (τ/τ_0) этанольных (70 об.%) экстрактов корневищ эхинацеи пурпурной от частоты (ν) УЗ-излучателя ($V=0,1$ Вт/см², $t=90$ мин).

Частота УЗ-излучателя ν , кГц	$W_{с.о.}$ масс.%	ФС., масс.%	АОА, τ/τ_0
холодная ($T_{ком.}$) мацерация без УЗ	1,04	7,45	1,0
горячая ($T_{кип. р-ля.}$) мацерация без УЗ	1,47	9,83	1,3
27,5	1,50	10,98	1,5
32,1	1,51	11,30	1,6
38,0	1,53	11,37	1,6
45,3	1,60	11,66	1,7

В то время как фенольные соединения недостаточно хорошо растворимы, поэтому применение УЗ значительно повышает их растворимость, степень экстрагирования из сырья, и, соответственно, способствует увеличению АОА экстракта.

Если рассмотреть динамику накопления фенольных соединений во времени, то можно отметить, что в начальный период времени идет накопление ФС, достигает своего максимума и затем содержание фенолов падает, по-видимому, вследствие длительного деструктивного воздействия ультразвука. Как видно из рис. 2. максимальное содержание ФС в экстракте достигается при использовании частоты УЗ-излучателя равной 43,5 кГц.

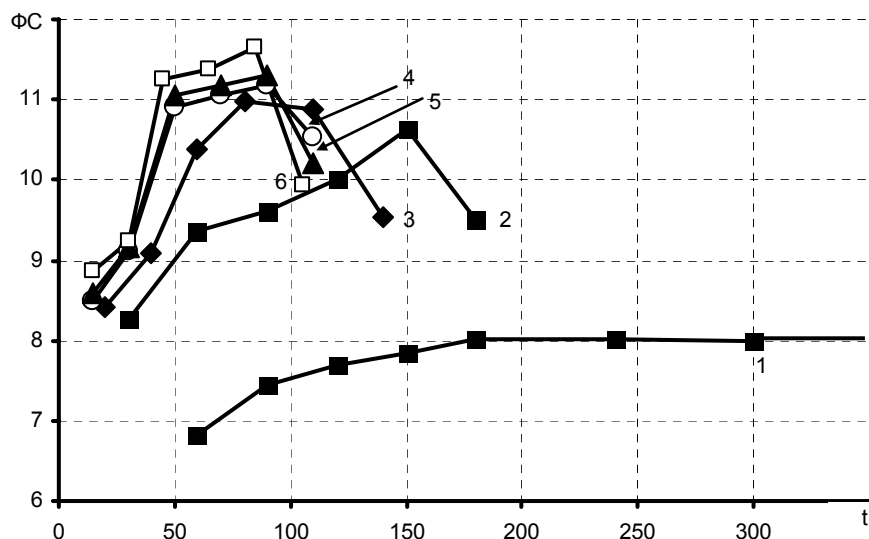


Рис. 2. Кинетика накопления суммарного количества фенольных соединений (ФС, масс.%) в процессе экстракции (холодная мацерация при $T_{ком.}$, растворитель – 70%-ный этанол) корневищ эхинацеи пурпурной в зависимости от частоты УЗ-излучателя (при $V=0,1 \text{ Вт/см}^2$): 1 – холодная мацерация без УЗ; 2 – горячая мацерация ($T_{кип. р-ля}$) без УЗ; 3 – 27,5 кГц; 4 – 32,1 кГц; 5 – 38,0 кГц; 6 – 45,3 кГц.

При исследовании мощности УЗ-генератора использовали интенсивность УЗ в пределах $0,1 - 2,0 \text{ Вт/см}^2$, что является наиболее рациональным для экстракции большинства видов растительного сырья [4] с точки зрения сохранения нативности экстрагируемых биологически активных веществ. Для достижения максимального выхода ФС из корневищ эхинацеи была выбрана частота УЗ равная 45,3 кГц время экстракции 75 мин. Анализ полученных данных (рис.3) показал, что с ростом мощности УЗ-генератора значения всех исследуемых характеристик экстракта увеличиваются. Наиболее высокий выход $W_{с.о.}$, ФС и АОА экстракта соответствуют мощности излучателя 2 Вт/см^2 .

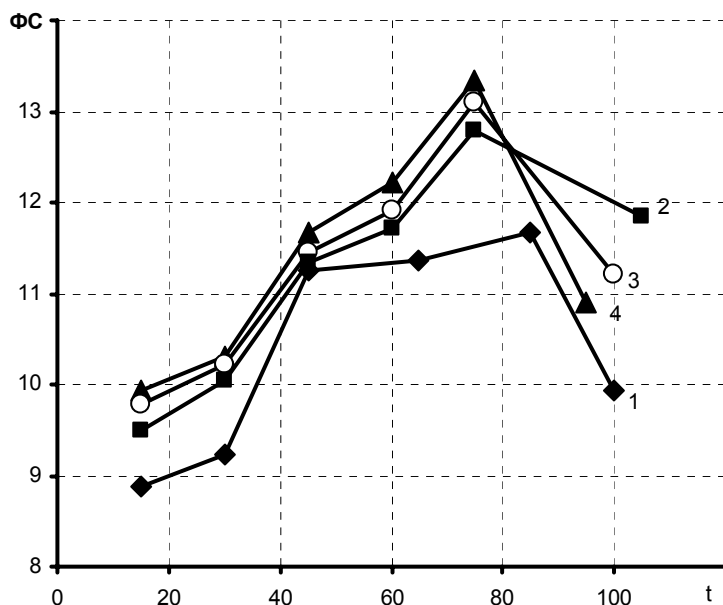


Рис. 3. Кинетика накопления суммарного количества фенольных соединений (ФС, масс.%) в процессе экстракции (холодная мацерация при $T_{ком.}$, растворитель – 70%-ный этанол) корней и корневищ эхинацеи пурпурной в зависимости от мощности УЗ-излучателя (при $\nu=45,3 \text{ кГц}$): 1 – $0,1 \text{ Вт/см}^2$; 2 – $0,8 \text{ Вт/см}^2$; 3 – $1,5 \text{ Вт/см}^2$; 4 – $2,0 \text{ Вт/см}^2$.

Эффективность экстракции в существенной степени зависит и от продолжительности экстракции. Устанавливалось влияние времени экстракции (t) на количество сухого остатка, суммарное содержание ФС и АОА экстракта. Показано (табл. 2), что с ростом продолжительности экстрагирования от 20 до 60 мин. величина сухого остатка возрастает, затем значения $W_{с.о.}$ изменяются незначительно, что связано, по-видимому, с полным истощением сырья.

Таблица 2
Зависимость выхода сухого остатка ($W_{с.о.}$), суммарного количества фенольных соединений (ФС) и антиоксидантной активности (τ/τ_0) этанольных (70 об.%) экстрактов корневищ эхинацеи пурпурной от времени экстракции (t) ($\nu=45,3$ кГц, $V=2,0$ Вт/см²).

Время УЗ-экстракции t , мин.	$W_{с.о.}$, масс.%	ФС, масс.%	АОА, τ/τ_0
20	1,22	10,09	1,5
30	1,34	10,30	1,5
45	1,50	11,71	1,6
60	1,68	12,35	1,7
75	1,73	13,43	2,4
95	1,75	10,9	1,6

Кинетика накопления фенольных соединений несколько иная – проходит через максимум и зависит от частоты колебаний и мощности УЗ-излучателя (рис.2). Чем больше частота и мощность УЗ-излучателя тем меньше времени необходимо затратить для максимального извлечения ФС. Видно (рис.3), что при частоте колебаний равной 45,3 кГц и мощности более 0,1 Вт/см² наибольшее количество ФС экстрагируется за первые 75 мин. Экстракты полученные за указанный временной интервал проявляют и наиболее высокую АОА (рис. 4). Дальнейшее увеличение продолжительности УЗ-экстракции приводит к резкому уменьшению АОА экстракта и содержанию ФС, что, по-видимому, обусловлено их окислением под действием УЗ в водно-этанольной среде [4].

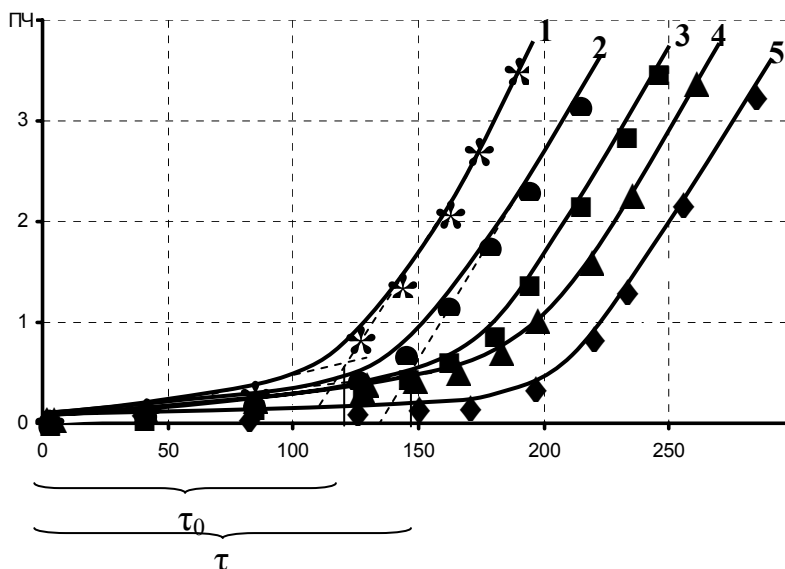


Рис. 4. Кинетика накопления пероксидных групп (ПЧ, % I₂) в процессе автоокисления подсолнечного масла (1) при температуре 393±2 К в присутствии этанольных (70 об.%) экстрактов корней и корневищ эхинацеи пурпурной (C=0,1 масс.%), полученных методом УЗ-экстракции ($\nu=45,3$ кГц, $V=0,8$ Вт/см²) через разные промежутки времени: 2 – 30 мин.; 3 – 60 мин.; 4 – 95 мин.; 5 – 75 мин.

Для оценки влияния степени измельченности на процесс УЗ-экстракции корневища эхинацеи дробили до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром 1, 2 и 3 мм, а также до состояния пыли (<1 мм). Установлено (табл. 3), что с уменьшением размера частиц наблюдается увеличение выхода $W_{с.о.}$, ФС и рост величины τ/τ_0 экстракта. Наиболее рациональным для экстракции является размер частиц сырья равный 1 мм.

Таблица 3
Зависимость выхода сухого остатка ($W_{с.о.}$), суммарного количества фенольных соединений (ФС) и антиоксидантной активности (τ/τ_0) этанольных (70 об.%) экстрактов корневищ эхинацеи пурпурной от размера частиц сырья (d) ($\nu=45,3$ кГц, $V=2,0$ Вт/см², $t=75$ мин.).

Размер частиц сырья d , мм	$W_{с.о.}$, масс.%	ФС, масс.%	АОА, τ/τ_0
< 1 (состояние пыли)	1,73	13,43	2,4
1	1,73	13,43	2,4
2	1,09	10,32	1,5
3	0,9	9,1	1,2

Выводы. Отработанные условия эксперимента, а именно частота УЗ колебаний 45,3 кГц, мощность излучателя 2 Вт/см², время озвучивания 75 мин. и размер частиц 1 мм, позволяют не только значительно ускорить процесс холодной мацерации фенольных соединений из корней и корневищ эхинацеи пурпурной, но и существенно повысить их выход – за первые 75 мин. экстракции содержание ФС в экстракте достигает величины в 1,5 раза большей, чем при обычном настаивании в течение нескольких суток.

При УЗ-экстракции не нужно прибегать к нагреванию, как это необходимо при горячей мацерации для более полного извлечения ФС, что позволит предотвратить их окисление и сохранить нативные свойства.

Полученный водно-этанольный экстракт корневищ эхинацеи пурпурной позволяет более чем в 2 раза увеличить стабильность подсолнечного масла к окислению при содержании в нем экстракта до 0,1 масс. %.

РЕЗЮМЕ

Досліджено вплив умов екстракції фенольних сполук з антиоксидантними властивостями з коріння і корневищ ехінацеї пурпурової із застосуванням ультразвука (УЗ). Встановлено, що повніший вихід речовин спостерігається при екстракції 70%-ним етанолом методом холодної мацерації в УЗ полі (частота УЗ коливань 45,3 кГц, потужність випромінювача 2 Вт/см²) на протязі 75 хвилин при розмірі частинок близько 1 мм. Запропонований спосіб здобуття рослинних екстрактів дозволяє збільшити ефективність і швидкість екстракції фенольних з'єднань, понизити температуру і час теплової обробки екстракту. Отриманий водно-етанольний екстракт корневищ ехінацеї пурпурової дозволяє більш ніж в 2 рази збільшити стабільність соняшникової олії до окислення при вмісті в ній екстракту до 0,1 мас. %.

Ключові слова: природні фенольні сполуки, антиоксидантна активність, ультразвук, екстракція.

SUMMARY

The Influence of conditions of extraction of phenolic compounds with antioxidative properties from the rhizomes of *Echinacea purpurea* with using ultrasound (US) was investigated. It is established, that more full extraction of substances is observed at extraction aqueous-ethanolic solvent (70 vol.% of ethanol) with method of cold maceration in US-field (frequency - 45,3 кГц, power of radiator - 2 W/cm²) within 75 minutes with the size of particles of raw material equal 1 mm. The offered way of extraction of vegetative extracts allows to increase efficiency and speed of phenolic compounds extraction, to lower the temperature and the time of thermal processing of an extract. Received aqueous-ethanolic extract of *Echinacea Purpurea* rhizomes allows to increase stability of sunflower oil to oxidation more than 2 times at the contents in it of an extract up to 0,1 weights %.

Keywords: natural phenolic compounds, antioxidative activity, ultrasound, extraction.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Gulcin I. A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) extracts / I. Gulcin, R. Elias, A. Gepdiremen // *African Journal of Biotechnology* – 2007. – Vol. 6, No 4. – P. 410-418.
2. Химический состав пырея ползучего и изучение его антиоксидантной активности при аллергическом контактном дерматите / А. П. Петрова, Е. А. Краснов, Э. В. Сапрыкина и др. // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2009. – Т. 43, № 1. – С. 30-32.
3. Лубсандоржиева П. Б. Антиоксидантная активность извлечений из *Bergenia crassifolia* (L) Fritsch и *Vaccinium vitis-idaea* L. in vitro / П. Б. Лубсандоржиева // *Химия растительного сырья* – 2006. – № 4. – С. 45-48.
4. Экстрагирование антиоксидантов из листьев толокнянки (*Arctostaphylos Adans*) в электрическом поле / Н. И. Белая, Т. А. Филиппенко, А. В. Белый и др. // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2006. – Т. 40, № 9. – С. 88 - 90.
5. Белый А. В. Определение активности природных антиоксидантов вольтамперометрическим методом / А. В. Белый, Н. И. Белая // *Вісник Донецького Національного Університету. Сер. А. Природничі науки*. – 2010. – № 1. – С. 174-179
6. Технология лекарственных форм / Т. С. Кондратьев, Л. А. Иванова, Ю. И. Зеликсон и др. – М.: Медицина, 1991. – Т. 2. – 448 с.
7. Полная энциклопедия лекарственных растений / В. К. Лавренов, Г. В. Лавренова. – СПб.: Нева, 1999. – Т. 2. – 813 с.
8. Запрометов М. Н. Основы биохимии фенольных соединений / М. Н. Запрометов. – М.: Высш. шк., 1974. – 211 с.
9. Крылова Н. Н. Физико-химические методы исследования продуктов животного происхождения / Н. Н. Крылова, Ю. Н. Ляковская. – М.: Пищепромиздат, 1961. – 230 с.

Поступила в редакцию 04.05.2010 г.