

Обґрунтування вибору екстрагенту для екстракції листя винограду культурного

Д.П.Солдатов, В.І.Чуєшов, О.М.Новосел, В.С.Кисличенко

Національний фармацевтичний університет, кафедра промислової фармації
Харків, Україна

Метою дослідження було обґрунтування вибору екстрагенту для вилучення біологічно активних речовин з листя винограду культурного. Як екстрагент досліджували воду, 20%, 40%, 70% етиловий спирт. Визначали здатність кожного з екстрагентів витягати максимальну кількість флавоноїдів, дубильних речовин, гідроксикоричних кислот. За результатами досліджень оптимальним екстрагентом для екстракції листя винограду культурного є 40% етиловий спирт.

Ключові слова: виноград культурний, листя, екстракція.

ВСТУП

Згідно даним Всесвітньої організації охорони здоров'я, в світі налічується більше 2 млрд. чоловік, які страждають захворюваннями печінки, що в 100 разів перевищує поширеність ВІЛ-інфекції. За останні роки в усьому світі простежується виражена тенденція до зростання числа захворювань печінки.

Ідеальний гепатопротектор повинен надавати комплексу дію: відновлювати гомеостаз в печінці, підвищувати її стійкості до патогенних факторів, нормалізувати функціональну активність та стимуляцію в ній репаративно-регенеративних процесів [3].

Нашу увагу привернув виноград культурний *Vitis vinifera* L. родини виноградових Vitaceae — дерев'янистий виткий кущ із товстим стобуром і видовженими галузистими вусяками на пагонах. Квітки двостатеві, хоча зустрічаються й одностатеві, або функціонально маточкові, зібрані в китицеві суцвіття. Цвіте у квітні. Плід являє собою м'ясисту сокови-

ту ягоду, різного забарвлення і форми. Ягоди, зібрані в грона, дозрівають у кінці серпня — вересні [7].

У листі винограду культурного виявлено не менше 20 речовин фенольної природи, визначений якісний і кількісний вміст амінокислот, виявлено 16 амінокислот, в тому числі 9 незамінних. Домінуючими у більшості з них є глутамінова та аспарагінова кислоти, пролін, гліцин, аланін, лейцин і серин. Визначений вміст 22 мікроелементів. З них переважаючими є залізо, цинк, марганець і алюміній [4, 5].

Фенольні комплекси листя винограду культурного чинять виражену пригнічувальну дію на перебіг спонтанного перекисного окислення ліпідів, яке є однією з ланок в патогенезі атеросклерозу, ішемічної хвороби серця, патології печінки [1]. Тому листя винограду культурного є перспективною сировиною для отримання екстракту та розробки на його основі гепатопротекторного препарату.

В технології екстракційних препаратів одним з факторів, який впливає на процес вилучення біологічно активних речовин (БАР) з рослинної сировини, є природа екстрагенту [6].

Тому метою нашого дослідження було обґрунтування вибору екстрагенту для вилучення БАР з листя винограду культурного.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами дослідження були листя винограду сорту Ізабелла та Каберне.

Наявність основних груп біологічно активних речовин (БАР) визначали у водно-спиртових витяжках за допомогою загальновідомих якісних реакцій. Флавоноїди визначали ціанідиновою пробою за Бріантом, реакцією з розчином лугу, з алюмінію хлоридом, з заліза (III) хлоридом, з ваніліном у концентрованій хлористоводородній кислоті, з розчином основного ацетату свинцю. Дубильні

речовини визначали реакцією з розчином желатини, з розчином хініну гідрохлориду, з розчином залізоамонієвих галунів. Кумарини — лактонною пробою, реакцією з діазореактивом у лужному середовищі, антоціани — реакцією з 10% розчином ацетату свинцю, з 10% розчином лугу.

Для обґрунтування вибору екстрагенту визначали здатність води, 20%, 40% та 70% етилового спирту вилучати максимальну кількість БАР з листя винограду культурного. Для цього визначали кількісний вміст флавоноїдів, дубильних речовин, гідроксикоричних кислот у листі винограду культурного обох сортів з використанням вищезазначених екстрагентів.

Кількісне визначення флавоноїдів. Близько 1,0 г (точна наважка) сировини, подрібненої до розміру часток, що проходять крізь сито з отворами діаметром 2 мм, вміщували у колби зі шліфом ємністю 150 мл, додавали 30 мл екстрагенту (води, 20%, 40%, 70% етилового спирту). Колби приєднували до зворотних холодильників і нагрівали на водяному огрівнику протягом 30 хвилин, періодично збовтуючи для змивання часток сировини зі стінок. Гарячі витяжки фільтрували крізь вату в мірній колбі ємністю 100 мл так, щоб частки сировини не попадали на фільтр. Вату перенесли в колби для екстрагування і додавали 30

мл відповідного екстрагенту. Екстракцію повторювали ще двічі в описаних вище умовах, фільтруючи витяжки в ті ж мірні колби. Після охолодження об'єми витяжок доводили відповідним екстрагентом до позначки і перемішували (розчин А).

В мірні колби ємністю 25 мл переносили по 1 мл розчинів А, 1 краплі розведеної оцтової кислоти, 1 мл розчину алюмінію хлориду в 95% спирті і доводили об'єми розчинів 95% спиртом до позначки. Через 40 хвилин вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 415 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. В якості розчину порівняння використовували розчин, який складався з 1 мл витяжки, 1 краплі розведеної оцтової кислоти і доведений 95% спиртом до позначки у мірній колбі ємністю 25 мл.

Паралельно вимірювали оптичну густину Державного стандартного зразку (ДСЗ) рутину, який готували наступним чином. В мірну колбу ємністю 25 мл переносили 0,5 мл розчину Державного стандартного зразка (ДСЗ) рутину, 1 краплю розведеної оцтової кислоти, 1 мл розчину алюмінію хлориду в 95% спирті і доводили об'єм розчину 95% спиртом до позначки.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин і абсолютно суху сировину у відсотках (X) обчислювали за формулою:

ТАБЛИЦЯ 1

Результати якісних реакцій виявлення біологічно активних речовин у листі винограду культурного

Якісні реакції	Листя винограду культурного	
	сорт Ізабелла	сорт Каберне
Виявлення флавоноїдів		
Ціанідінова проба за Бріантом	органічний і водний шар — рожеве забарвлення	органічний і водний шар — рожеве забарвлення
Реакція з розчином лугу	темно-жовте забарвлення	буро-жовте забарвлення
Реакція з алюмінію хлоридом	жовте забарвлення	жовте забарвлення
Реакція з заліза (III) хлоридом	буро-зелене забарвлення	буро-зелене забарвлення
Реакція з ваніліном у концентрованій хлористоводородній кислоті	рожеве забарвлення	рожеве забарвлення
Реакція з розчином основного ацетату свинцю	жовтий осад	жовтий осад
Виявлення дубильних речовин		
Реакція з розчином желатини	білий осад	білий осад
Реакція з розчином хініну гідрохлоридом	білий осад	білий осад
Реакція з розчином залізоамонієвих галунів	чорно-зелене забарвлення	чорно-зелене забарвлення
Виявлення кумаринів		
Лактонна проба	темно-рожеве забарвлення	темно-рожеве забарвлення
Реакція з діазореактивом у лужному середовищі	темно-рожеве забарвлення	темно-рожеве забарвлення
Виявлення антоціанів		
Реакція з 10% розчином ацетату свинцю	білий з жовтуватим відтінком осад	білий з жовтуватим відтінком осад
Реакція з 10% розчином лугу	зелений осад	зелений осад

ТАБЛИЦЯ 2

Кількість біологічно активних речовин, що витягаються різними екстрагентами

БАР	Кількісний вміст БАР у перерахунку на абсолютно суху сировину, %			
	вода	20% етиловий спирт	40% етиловий спирт	70% етиловий спирт
Листя винограду сорту Ізабелла				
Флавоноїди	0,8353±0,0292	1,0204±0,0204	1,1936±0,0263	1,1479±0,0241
Дубильні речовини	5,7743±0,1732	7,3879±0,1478	8,6899±0,2172	7,7588±0,2328
Гідроксикоричні кислоти	2,0882±0,0626	2,0127±0,0604	2,2552±0,0789	2,1886±0,0547
Листя винограду сорту Каберне				
Флавоноїди	1,5046±0,0481	1,6906±0,0406	1,8462±0,0369	1,8296±0,0421
Дубильні речовини	4,7481±0,095	6,3938±0,1918	7,7884±0,2337	6,0176±0,1504
Гідроксикоричні кислоти	1,4419±0,0505	1,3744±0,0330	1,3782±0,0413	1,1312±0,0305

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 0,5 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100 \cdot B}{A_0 \cdot m \cdot 100 \cdot 1 \cdot 25 \cdot (100 - W) \cdot 100}$$

де: A — оптична густина досліджуваного розчину, нм; A₀ — оптична густина ДСЗ рутину, нм; m — маса сировини, г; m₀ — маса ДСЗ рутину, г; B — кількість рутину в ДСЗ, %; W — втрата у масі при висушуванні сировини, %.

Кількісне визначення дубильних речовин. Вміст дубильних речовин визначали за методикою ГФ XI у перерахунку на танін з використанням як екстрагенту води, 20%, 40% та 70% етилового спирту [1].

Кількісне визначення гідроксикоричних кислот. Близько 2,0 г (точна наважка) подрібненого листя винограду культурного вміщували в колби ємністю 250 мл і додавали по 70 мл екстрагенту (води, 20%, 40%, 70% етилового спирту). Колби приєднували до зворотних холодильників і нагрівали на водяному огрівнику протягом 15 хвилин. Екстракцію проводили ще двічі. Екстракти охолоджували і фільтрували крізь паперові фільтри на воронках Бюхнера. Витяжки кількісно переносили в мірні колби ємністю 250 мл і доводили об'єм розчинів зазначеним екстрагентом до позначки (розчини А).

В мірні колби ємністю 50 мл вносили по 3 мл розчинів А і доводили розчини до позначки 20% етанолом. Оптичну густина отриманих розчинів вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 327 нм. Розчином порівняння був 20% етанол.

Вміст суми гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 250 \cdot 50 \cdot 100}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot m \cdot 3 \cdot (100 - W)}$$

де: A — оптична густина досліджуваного розчину; m — наважка сировини, г; W — втрата у масі при висушуванні, %; A_{1cm}^{1%} — питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, який дорівнює 531.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати визначення наявності основних груп БАР у водно-спиртових витяжках наведені у таблиці 1. Якісними реакціями підтверджено наявність глікозидів і агліконів флавоноїдної природи, дубильних речовин у листі винограду сорту Ізабелла та Каберне. За чорно-зеленим забарвленням з розчином залізоамонієвих галунів дубильні речовини віднесено переважно до конденсованої групи.

Результати кількісного визначення флавоноїдів, дубильних речовин, гідроксикоричних кислот з використанням як екстрагенту води, 20%, 40%, 70% етилового спирту наведені у таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, найбільшу кількість флавоноїдів вилучає 40% етиловий спирт з листя винограду сорту Ізабелла 1,1936±0,0263%, сорту Каберне 1,8462±0,0369%. Найбільшу кількість дубильних речовин також вилучає 40% етиловий спирт з листя винограду сорту Ізабелла 8,6899±0,2172%, сорту Каберне 7,7884±0,2337%. Найбільший вміст гідроксикоричних кислот у листі винограду сорту Каберне 1,4419±0,0505% спостерігається при використанні як екстрагенту води, сорту Ізабелла 2,2552±0,0789% — 40% етилового спирту.

Таким чином, серед досліджуваних екстрагентів 40% етиловий спирт екстрагує найбільшу кількість флавоноїдів, дубильних речовин з листя винограду обох сортів, та гідроксикоричних кислот з листя винограду сорту Ізабелла.

ВИСНОВКИ

1. Якісними реакціями підтверджено наявність флавоноїдів і дубильних речовин у листі винограду сорту Ізабелла та Каберне.
2. На основі кількісного визначення вмісту флавоноїдів, дубильних речовин, гідроксико-

ричних кислот обґрунтовано використання як екстрагенту 40% етилового спирту для екстракції листя винограду культурного сорту Ізабелла та Каберне.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вороніна Л.М., Файзуллін О.В., Кузнецова В.Ю. та співавт. // Медична хімія. — 2005. — Т. 7, №2. — С. 89-91.
2. Государственная фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа, 11-е изд. — М.: Медицина, 1987. — 334 с.
3. Дроговоз С.М., Бородин Т.В., Деримедведь Л.В., Журавель Е.В. Альтернатива выбора гепатопротекторов в условиях токсического гепатита и частичной резекции печени // Провизор. — 1998. — №18. — С. 8-10.
4. Кисличенко В.С., Адель Ахмад Халіль Абуосеф, Криворучко О.В., Король В.В. Вивчення амінокислотного та мікроелементного складу рослин роду виноград і їх використання в медичній практиці // Фізіологічно активні речовини. — 2002. — №1. — С. 64-70.
5. Кузнецова В.Ю., Кисличенко В.С. Поліфенольні сполуки винограду культурного // Медична хімія. — 2004. — №1. — С. 59-63.
6. Промышленная технология лекарств: Учебник в 2-х т. Том 2 / В.И.Чуешов, М.Ю.Чернов, Л.М.Хохлова [Под ред. проф. В.И.Чуешова]. — Х.: Основа, Издательство УкрФА, 1999. — 704 с.
7. Шупта Д. — Виноград культурный / Д.Шупта // Наукowy світ. — 2003. — №6. — С. 17.

Д.П.Солдатов, В.И.Чуешов, Е.Н.Новосел, В.С.Кисличенко. Обоснование выбора экстрагента для экстракции листьев винограда культурного. Харьков, Украина.

Ключевые слова: виноград культурный, листья, экстракция.

Целью нашего исследования было обоснование выбора экстрагента для извлечения биологически активных веществ из листьев винограда культурного. В качестве экстрагента исследовали воду, 20%, 40%, 70% этиловый спирт. Определяли способность каждого из экстрагентов извлекать максимальное количество флавоноидов, дубильных веществ, гидроксикоричных кислот. По результатам исследований оптимальным экстрагентом для экстракции листьев винограда культурного является 40% этиловый спирт.

D.P.Soldatov, V.I.Chueshov, E.N.Novosel, V.S.Kislichenko. Substantiation of choice of extractant for extraction of vitis vinifera leaves. Kharkiv, Ukraine.

Key words: vitis vinifera, leaves, extraction.

The purpose of our research was grounding of choice of extractant for extraction of bioactive matters from the vitis vinifera leaves. As an extractant water, 20%, 40%, 70% ethyl spirit has been tested. Determined ability of each of extractants to extract the maximal amount of flavonoids, tannic matters, hydroxycinnamonic acids has been determined. On the researches results the optimum extractant for extraction of the vitis vinifera leaves is 40% ethyl spirit.

Надійшла до редакції 19.09.2009 р.