

Перспективність використання сумішей зріджених газів для екстракції біологічно активних речовин суцвіть липи

Д.В.Дем'яненко, В.Г.Дем'яненко, С.В.Бреусова

Національний фармацевтичний університет, кафедра товарознавства
Харків, Україна

У роботі вивчено процес екстракції біологічно активних речовин суцвіть липи серцелистою зрідженою сумішшю фреону-410А та аміаку. Вихідною сировиною був шрот після попередньої обробки суцвіть липи фреонами-134, 22 та 410А. Первинні витяги з кожного з 5 етапів екстракції підлягали фракціонуванню на гексанові, хлороформні, етилацетатні та водно-спиртові фази, які були випарені та доведені до постійної ваги. Гравіметричним аналізом встановлено, що розчинник витягав 19,6% екстрактивних речовин у перерахунку на суху сировину, 75% з яких представлені гідрофільними сполуками, 25% — ліпофільними та середньополярними. Дослідження ефективності кожного з етапів екстракції, проведених в різних технологічних режимах, показали, що найбільш оптимально екстрагувати сировину зрідженими газами в два або більше реакторах, періодично змінюючи температуру води, яка подається в оболонки, що значно прискорює настання рівноваги порівняно зі статичною мацерацією.

Ключові слова: суцвіття липи, екстракція, технологія, зріджені гази, фреони, аміак.

ВСТУП

У даний час на українському ринку серед зареєстрованих фітопрепаратів за більшістю лікарських форм домінуючу позицію (близько 80%) займають закордонні ліки. Провідними країнами з виробництва оригінальних рослинних препаратів є Німеччина, США, Великобританія, Польща, Франція, Індія, Угорщина, Китай та ін. [2, 7].

Асортимент вітчизняних рослинних препаратів, на жаль, представлений в основному застарілими лікарськими формами — зборами, фіточаями, настоячками, рідкими екстрактами [7, 8]. Цілком очевидно, що український ринок слід наповнювати високотехнологічними фітопрепаратами на основі стандартизованих субстанцій вітчизняного виробництва з метою забезпечити належну якість рослинних ліків та їх економічну доступність для більшості верств населення.

Останнім часом у переважній більшості розвинених країн зростає кількість наукових досліджень з використання нових класів природних сполук, розширення фармакотерапевтичної області їх застосування, розробки нових фітохімічних технологій, у тому числі комплексної безвідходної переробки лікарської сировини [1, 5, 15, 18].

Найбільшого розвитку в промисловому масштабі зараз набувають технології фітопрепаратів з використанням зріджених газів та надкритичних флюїдів як екстрагентів. Найпоширенішим з них в Росії та за кордоном є діоксид вуглецю завдяки достатній науковій базі щодо його використання в хіміко-фармацевтичній галузі. Однак діапазон біологічно активних речовин (БАР), витягуваних зрідженим CO₂, обмежується лише високоліпофільними сполуками — жирними оліями, каротиноїдами, окремими компонентами ефірних олій та терпеноїдів, хлорофілами тощо [3, 4]. Надкритичний CO₂ здатний екстрагувати більш полярні БАР, але лише при тисках порядку 400-1000 атм., що накладає значні обмеження на об'єми реакторів та значно підвищує собівартість готових продуктів [4, 10, 11].

Перспективними альтернативами для CO₂ у фітохімічному виробництві є інші зріджені гази з широким діапазоном фізико-хімічних властивостей: фторпохідні вуглеводнів (фреони), рідкий аміак, диметиловий ефір, сірки гексаф-

торид (елегаз) тощо. Їх важливішими для фітовиробництва характеристиками є невисокий тиск насиченої пари порівняно із CO₂, та можливість екстрагування не тільки ліпофільних, але й полярних речовин у залежності від вибору розчинників або їх сумішей [6, 12-14, 16, 17].

Так, авторами [14, 17] досліджено процес екстракції ефірної олії кмину, таксолів та деяких алкалоїдів фреон-134А та його сумішами із сорозчинниками. Показано, що додавання 10% рідкого бутану та диметилового ефіру до фреону підвищує вихід БАР кмину в 2 та 2,6 рази відповідно. Ефективність екстрагування таксолів зростала в залежності від складу сумішей у 2-5 разів порівняно з чистим фреон-134. Речовини монензин та цитохалазин Д кількісно витягались зазначеним екстрагентом із водних розчинів навіть за відсутності сорозчинників. У заявлених патентах також вказується можливість використання інших фреонів метанового, етанового та пропанового рядів.

Відомий спосіб фракційної екстракції БАР з рослинної сировини [15], що полягає у використанні зріджених фреонів, переважно 134-го, а також фторпохідних вуглеводнів пропанового ряду, які виявляють високу селективність до окремих груп ароматичних сполук при різних температурах та/або у присутності сорозчинника. Так, наприклад, з коренів *Piper methysticum* фреон-134 при температурах екстракції 0°C, 5°C, 16°C, 26°C, 35°C та 45°C були отримані шість фракцій, що значно відрізнялися за своїми органолептичними та фізико-хімічними властивостями. Аналогічна ситуація спостерігалася при екстрагуванні трави звіробою фреон-134 з додаванням від 0% до 20% метанолу як сорозчинника.

Очевидно, що переважна більшість фреонів екстрагує ліпофільні та за певних умов середньополярні БАР. Витягання гідрофільних сполук з рослинної сировини можливе лише при застосуванні більш полярних зріджених газів. Так, наприклад, в роботі Goto Hiroki та співавт. [16] показана можливість використання аміаку в надкритичному стані для екстракції сапонінів із коренів солодки.

В патенті О.І.Квасенкова та співавт. [6] заявлено спосіб отримання харчового емульгатора з коренів елеутерококу, який передбачає екстракцію сировини зрідженим аміаком при періодичній зміні тиску в пульсуючому режимі.

Y.Matsuki, I.Itai. [12] навели експериментальні дані стосовно екстракції алкалоїдів пуринової групи. Показано, що розчинність теоброміну та кофеїну в рідкому аміаку в декілька разів вище, ніж у киплячій воді, хлороформі та спирті.

Отже, зріджений аміак є перспективним екстрагентом для вилучення гідрофільних БАР. Перевагою даного розчинника є легкість виявлення течі та простота його дезактивації у випадку аварійних ситуацій. Однак поряд із тим він має суттєві недоліки: високу токсичність, пожеже-небезпечність та вибухонебезпечність у певних концентраціях. Тому більш безпечним для фармацевтичного виробництва є застосування сумішей зрідженого аміаку з інертними газами, наприклад, з фреонами.

Відомо, що суцвіття липи, які є об'єктом наших досліджень, містять групи БАР як ліпофільної, так і гідрофільної природи, причому зазначені сполуки мають досить високу фармакологічну активність [9].

Метою дослідження було вивчення процесу екстракції біологічно активних речовин суцвіття липи сумішшю зріджених газів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У даних дослідженнях в якості вихідної сировини використовували шрот, отриманий після послідовної екстракції суцвіття липи серцею *Tilia cordata*, подрібнених до розмірів часток 0,5-2,0 мм, тетрафторетаном (фреон-134), дифторхлорметаном (фреон-22) та азеотропною сумішшю пентафторетану й дифторметану (фреон-410А). Вологість зазначеного шроту складала 8,27%.

Екстрагування проводили сумішшю зрідженого аміаку та фреону-410А (1,5:1) на розробленій нами дослідній установці.

Наважку вихідної сировини масою 150 г завантажували порівну в два реактори з оболонками та проводили екстракцію в 5 етапів (контактів фаз) у режимах, наведених у табл. 1. Перемішування в екстракторах здійснювалося за рахунок того, що поперемінно кожні 5-10 хв. в оболонки подавали воду з різною температурою, що створювало градієнт тиску та густини екстрагенту в реакторах.

Після закінчення кожного етапу відганяли залишковий екстрагент вакуумуванням через поглинач із водою, після чого екстракти видаляли із сепаратора, промиваючи останній 70% спиртом.

Спиртові розчини екстрактів переносили в ділильну лійку, розводили водою очищеною до концентрації спирту близько 50%, та екстрагували 4-6 порціями по 50 мл гексану до знебарвлення органічного шару. Гексанові фази об'єднували, фільтрували, випарювали досуха та зважували з точністю до 0,001 г. Далі в ана-

ТАБЛИЦЯ 1

Режими екстракції вихідної сировини сумішшю зріджених газів

Технологічні параметри	Етап екстракції				
	1-й	2-й	3-й	4-й	5-й
Співвідношення сировина/екстрагент	1:10	1:15	1:12	1:12	1:12
Операція настоювання					
Температура, °С: в одному екстракторі	25-32	20-23	20	20	20
в іншому екстракторі	25-32	32-35	20	20	20
Тривалість, хв.	60	70	4320	5760	4320
Операція зливу					
Температура, °С: в одному екстракторі	30	22-25	30	30	20
в іншому екстракторі	30	35-40	30	30	20
Тривалість хв.	70	180	120	120	120
Загальна тривалість екстракції, хв.	130	250	4440	5880	4440

логічний спосіб проводили послідовну екстракцію водно-спиртового розчину хлороформом, а потім етилацетатом. Усі фази, а також осад на фільтрах, випарювали, сушили до постійної ваги і зважували.

Вихід екстрактивних речовин (ЕР; X, %) у перерахунку на абсолютно суху вихідну сировину розраховували за формулою:

$$X, \% = \frac{m_n \cdot 100}{m_n \cdot (100 - W)} \cdot 100, \quad (1)$$

де:

m_n — маса отриманих ЕР, г;

m_n — маса наважки рослинної сировини, завантаженої в екстрактор, г;

W — вологість досліджуваної наважки сировини, %.

Ефективність екстрагування на n-му етапі $E_n, \%$ розраховували як за загальною сумою ЕР, так і за окремими фазами за формулою:

$$A_n = \frac{m_n}{\sum_{i=1}^n m_i} \cdot 100, \quad (2)$$

де:

m_n — маса ЕР, отриманих на n-му етапі, г;

$\sum_{i=1}^n m_i$ — сумарна маса ЕР, що містяться у шроті на початку n-го етапу, г.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Виходи та зовнішні характеристики ЕР, отриманих на кожному етапі екстракції, наведені в табл. 2.

ТАБЛИЦЯ 2

Виходи та зовнішні характеристики екстрактивних речовин, отриманих з вихідної сировини сумішшю зріджених газів

Фази розчинників	Вихід розчинних ЕР, %						Зовнішні характеристики
	Етапи екстракції					Разом	
	1-й	2-й	3-й	4-й	5-й		
Гексанова	0,217	0,645	0,270	0,195	0,014	1,341	Жовто-бура смолоподібна маса, розчинна в 96% спирті
Хлороформна	0,618	0,670	0,402	0,754	0,108	2,552	Червоно-коричнева густа маса, розчинна в 70-96% спирті
Етилацетатна	0,038	0,257	0,055	0,022	0,004	0,374	Жовта аморфна маса, розчинна в 50-96% спирті
Водно-спиртова	2,594	4,506	2,472	1,909	1,021	12,50	Темно-коричневий в'язкий екстракт, легкорозчинний у воді та спирті
Разом	3,467	6,078	3,199	2,880	1,147	16,77	
Ліпофільні фази, %	25,18	25,86	22,70	33,71	10,96	25,45	
Гідрофільна фаза, %	74,82	74,14	77,30	66,29	89,04	74,55	
Вихід нерозчинних ЕР, %							
	0,123	0,808	1,345	0,481	0,078	2,835	Сіро-зелений сипкий порошок
Загальний вихід ЕР, %							
	3,590	6,886	4,544	3,361	1,225	19,61	

Як видно з отриманих даних, використовувана фреоново-аміачна суміш екстрагувала достатньо велику кількість речовин — майже 20% від маси досліджуваної сировини. Співвідношення гідрофільних та ліпофільних компонентів складало приблизно 75:25 та практично не змінювалося протягом перших трьох етапів. Серед органічних фаз найбільший вихід (2,55%) був у речовин, розчинних у хлороформі.

Враховуючи, що сировина попередньо оброблялася трьома екстрагентами, які звільнили її від гідрофобних речовин, можна вважати, що хлороформні та етилацетатні фази містили переважно середньополярні БАР, очевидно, фенольні сполуки, зважаючи на розчинність ЕР у 70% спирті.

У цілому найбільший вихід ЕР (6,1%) досягався на другому етапі екстракції, який відрізнявся від інших тим, що настоювання та злив проводилися при перемішуванні рідкої фази, яке сприяло швидкому настанню рівноваги при досить невеликій тривалості процесу.

На четвертому етапі спостерігався максимальний вихід речовин, розчинних у хлороформі, що може пояснюватися покращенням умов їх екстрагування в результаті гідролізу нерозчинних комплексів на попередньому (третьому) етапі, який супроводжувався, у свою чергу, зростанням кількості нерозчинних ЕР при рідинній екстракції.

Ефективність екстрагування E_p ,%, яка свідчить про повноту витягу речовин на кожному етапі, відображена на рис. 1.

Отримані результати вказують на те, що статична мацерація, яка відбувалася при першому контакті фаз, виявилася дуже неефективною. Очевидно, що при досягненні рівноваги на всіх етапах екстракції повнота витягу БАР повинна бути майже постійною. Різке збільшення цього

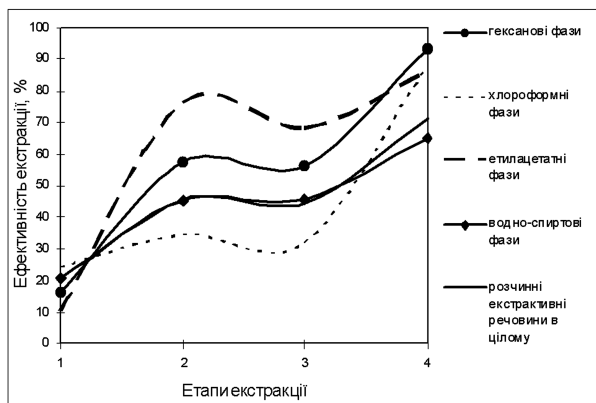


Рис. 1. Ефективність екстрагування ЕР на різних етапах екстракції.

показника на другому етапі, причому для усіх фракцій, свідчить про покращення технологічного режиму.

Як видно з рис. 1, подовження тривалості статичної мацерації навіть в 60 разів (третій етап) не призводить до підвищення повноти витягу, а у випадку ліпофільних БАР навіть зменшує її порівняно з попереднім контактом фаз.

Значне підвищення повноти витягу при четвертому контакті фаз можна пояснити наступним чином. На даному етапі шрот є досить виснаженим і кількість ЕР є низькою, при цьому співвідношення екстрагента до сировини не змінюється, але відносно залишкових ЕР воно значно зростає, тобто рівновага встановлюється на рівні нижчих концентрацій. Тому малорозчинні сполуки, поріг розчинності яких наближується до рівноважної концентрації в даних умовах, починають переходити в екстракт досить повно відносно їх залишкового вмісту в шроті.

Іншою причиною зазначеної тенденції є зневоднення шроту після попередньої тривалої обробки аміаком, що сприяє покращенню екстракції сполук, нерозчинних у присутності води (рис. 1).

На основі вищевикладеного можна зробити висновок, що підвищення тривалості статичної мацерації не є доцільним. Найбільш оптимально проводити процес екстракції зрідженими газами в двох або більше реакторах з періодичною зміною температури води, що подається в оболонки. Це створює змінний градієнт тиску і, як наслідок, зворотно-поступальні рухи рідкої фази, що значно прискорює конвективну та молекулярну дифузію.

ВИСНОВКИ

1. Досліджено процес екстракції біологічно активних речовин сумішшю зрідженого аміаку та фреону-410А (1,5:1) зі шроту, отриманого після послідовної екстракції суцільніми липи серцелистої фреонами-134, 22 та 410А.

2. Проведено розділення фреоново-аміачних витягів з кожного з 5 етапів екстракції на гексанові, хлороформні, етилацетатні та водно-спиртові фракції.

3. Встановлено, що використовувана фреоново-аміачна суміш здатна витягати екстрактивні речовини із загальним виходом до 20%. Отримані ЕР містять близько 75% гідрофільних та 25% ліпофільних і середньополярних сполук.

4. При дослідженні ефективності етапів екстракції, проведених у різних технологічних режимах, показано, що найбільш оптимально экс-

трагувати сировину зрідженими газами в двох або більше реакторах з періодичною зміною температури води, яка подається в оболонки, що значно прискорює настання стану рівноваги порівняно зі статичною мацерацією.

ЛІТЕРАТУРА

1. Георгиевский В.П. Фитохимия в Украине — итоги и перспективы / В.П.Георгиевский, С.И.Дихтярев, Ю.И.Губин, В.И.Литвиненко, П.П.Ветров // Фармаком. — 1999. — №3/4. — С. 39-43.
2. Довідник лікарських засобів, зареєстрованих в Україні станом на 01.03.2009 р. [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.pharma-center.kiev.ua/site/file_uploads/ua/dovidnuk/dfcsetup.exe.
3. Зилфикаров И.Н. Обработка лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами / И.Н.Зилфикаров, В.А.Челомбитько, А.М.Алиев. — Пятигорск, 2007. — 244 с.
4. Касьянов Г.И. До- и сверхкритическая экстракция: достоинства и недостатки / Г.И.Касьянов, О.Н.Стасьева, Н.Н.Латин // Пищ. промышленность. — 2005. — №1. — С. 36-39.
5. Максютин Н.П. Новые лечебно-профилактические средства из растений — фитосорбенты и фитосорбины / Н.П.Максютин // Фитотерапія. Часопис. — 2005. — №4. — С. 37-43.
6. Патент 2277347 РФ, МПК (2006.01) A23L1/035, B01F17/56. Способ получения пищевого эмульгатора / О.И.Квасенков, А.Б.Тюрюков (РФ); патентообладатель О.И.Квасенков (РФ). — №2003128328/13; заявл. 22.09.2003, опубл. 10.06.2006. — Бюл. №16.
7. Украинский рынок растительных препаратов по лекарственным формам: предпочтения и перспективы / Е.П.Пивень, С.И.Дихтярев, В.В.Шевченко, Е.В.Тихомирова // Фармаком. — 2008. — №4. — С. 102-107.
8. Вивчення ринку фітопрепаратів для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту / В.М.Толочко, О.І.Тихонов, О.В.Ахмад, М.Л.Сятиня // Вісник фармації. — 2001. — №1 (25). — С. 39-42.
9. Barnes J. Herbal Medicines / J.Barnes, L.A.Anderson, D.J.Phillipson. — 3-d ed. — London: Pharmaceutical Press, 2007. — 721 p.
10. Hamburger M. Supercritical carbon dioxide extraction of selected medicinal plants — effects of high pressure and added ethanol on yield of extracted substances / M.Hamburger, D.Baumann, S.Adler // Phytochemical Analysis. — 2004. — Vol. 15. — №1. — P. 46-54.
11. Hugh M.A. Supercritical fluid extraction: principles and practice / M.A.Hugh, V.J.Krukoni. — 2-nd ed. — Boston, 1994. — 512 p.
12. Matsuki Y. Studies on the extraction of alkaloids from cacao refuse and green tea by liquid ammonia / Y.Matsuki, I.Tai. // Science reports of the Research Institutes, Tohoku University. Ser. A. Physics, chemistry and metallurgy [Electronic resource]. — <http://ir.library.tohoku.ac.jp/re/bitstream/10097/26479/1/KJ00004195766.pdf> — Title from the screen.
13. Pat. Australia 775513, IPC7 B01D011/02. Solvent extraction apparatus and process / B.B.Walker; Solvents Australia Pty Ltd. — N200017530; appl. 16.02.2000; publ. 17.08.2000.
14. Pat. EP 0752903, IPC1-7 B01D11/02. Solvent extraction process / R.L.Powell, P.F.Wilde, T.J.Noakes (GB); Ineos Fluor Holdings Limited (GB). — №EP19950911388; appl. 15.03.1995; publ. 24.11.2004.
15. Pat. GB 2393720, IPC7 C07B63/00, B01D11/02. Fractional extraction / Mazin Nicola (UK); Advanced Phytonics Ltd. (UK). — N 0321797.3; appl. 17.09.2003; publ. 07.04.2004. — 62 p.
16. Pat. JP 01135723, IPC1-7 A61K35/78. Extraction of antimicrobial substance in licorice / Goto Hiroki, Yamaguchi Katsuhisa, Nagatomi Yasuo; Idemitsu Petrochem Co Ltd. — №JP1987000293190; appl. 11.20.1987; publ. 05.29.1989.
17. Pat. USA 6224847, IPC7 A23L 1/00; C11B 1/00; A24B 15/26; B01D 11/00. Process for the extraction of a compound by a fluorocarbon compound / Powell R.L. (UK); Imperial Chemical Industries PLC (UK). — №US 8/716269; appl. 31.01.1997; publ. 01.05.2001.
18. Pat. USA 6569480, IPC7 C11B1/00. Liquefied gas extraction process / D.R.Hall, M.R.Hall, M.Moser; L.V.Benningfield (Jr). — №09/485709; appl. 30.04.2001; publ. 27.05.2003.

Д.В.Демьяненко, В.Г.Демьяненко, С.В.Бреусова. Перспективность использования смесей сжиженных газов для экстракции биологически активных веществ соцветий липы. Харьков, Украина.

Ключевые слова: соцветия липы, экстракция, технология, сжиженные газы, фреоны, аммиак.

В работе изучен процесс экстракции биологически активных веществ соцветий липы сердцевидной сжиженной смесью фреона-410А и аммиака. Исходным сырьем был шрот после предварительной обработки соцветий липы фреонами-134, 22 и 410А. Первичные вытяжки с каждого из 5 этапов экстракции подлежали фракционированию на гексановые, хлороформные, этилацетатные и водно-спиртовые фазы, которые были упарены и доведены до постоянного веса. Гравиметрическим анализом установлено, что растворитель извлекал 19,6% экстрактивных веществ в пересчете на сухое сырье, 75% из которых представлены гидрофильными соединениями, 25% — липофильными и среднеполярными. Исследования эффективности каждого из этапов экстракции, проведенных в различных технологических режимах, показали, что наиболее оптимально экстрагировать сырье сжиженными газами в двух и более реакторах, периодически меняя температуру воды, подаваемой в рубашки, что значительно ускоряет наступление равновесия в сравнении со статической мацерацией.

D.V.Demyanenko, V.G.Demyanenko, S.V.Breusova. Prospects of using of mixtures of liquefied gases for extraction of biologically active substances inflorescences lime. Kharkiv, Ukraine.

Key words: lime flowers, extraction, technology, liquefied gases, freons, ammonia.

We studied the extraction processing of biologically active substances of lime inflorescences with a mixture of liquefied Freon-410A and ammonia. Original raw was a meal after pretreatment with lime inflorescences by Freon-134, 22 and 410A. Primary extracts from each of the 5 stages of extraction were subject to frac-

tionation on Hexane, chloroform, ethyl acetate and aqueous alcohol phases were evaporated and brought to constant weight. Gravimetric analysis showed that the solvent extracted 19,6% of extractive substances in terms of dry raw materials, 75% of which are hydrophilic compounds, 25% – lipophilic and medium polar. Studies of effectiveness of each stages of extraction carried out in different technological regimes, have shown that it is optimal to extract the raw material by liquefied gases in 2 or more reactors, periodically changing the temperature of the water supplied to the jacket, which greatly accelerates the onset of equilibrium in comparison with static maceration.

Надійшла до редакції 05.12.2010 р.