

/ Харківська хірургічна школа. – 2011. - № 6 (51). - с. 27-30.

8. Sartelli M. Рекомендации Всемирного общества экстренной хирургии по диагностике и лечению интраабдоминальных инфекций / M. Sartelli, P.Viale, F. Catena / Здоров'я України. - 2015. - № 3. – с. 30-33.

9. Привольнев В.В. Антибиотикопрофилактика инфекционных осложнений в военно-полевой хирургии / В.В.

Привольнев, О.И. Агафонов, И.М. Андреев / Клиническая микробиолантимикробхимиотерапия. – 2012. Том 14. - № 3. - с. 191 – 200.

10. Ниязов Р.Р. Методические рекомендации по проведению АВС-, VEN- и частотного анализа потребления отдельными категориями граждан лекарственных средств при помощи информационных систем / Р.Р. Ниязов, Е.И. Полубенцева, К.И. Сайткулов. – Москва, 2007. - 32 с.

Науковий рецензент доктор фармацевтичних наук, професор Страшний В.В.

УДК 615.254:615.453.6:615.014.21

ДОСЛІДЖЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ЕКСТРАКЦІЇ ЛИСТЯ БЕРЕЗИ БОРОДАВЧАСТОЇ ТА ВИБІР ОПТИМАЛЬНОГО РЕЖИМУ ОТРИМАННЯ ЕКСТРАКТУ

О.О. Чумак, Національний фармацевтичний університет

Є.А. Безрукавий, Національний фармацевтичний університет

Резюме. Досліджено технологічні параметри листя берези бородавчастої: вологовміст, насипна густина, густина після усадки, об'ємна густина, питома густина, пористість, порозніть, вільний об'єм шару, плинність, кут природного укусу, вміст екстрактивних речовин, коефіцієнт поглинання екстрагенту. Досліджено процес екстракції листя берези бородавчастої методом мацерації та методом перколяції та встановлені оптимальні умови проведення екстракції.

Ключові слова: листя берези бородавчастої, екстракт.

Вступ. В сучасних умовах лікарські рослини набувають все більшої популярності як і препарати на їх основі. Обмежений спектр побічної дії, низька токсичність, висока біодоступність, можливість застосування при хронічних захворюваннях протягом тривалого часу, особливо у дитячій та геронтологічній практиці, є перевагами фітозасобів [1, 3, 4]. Існує певний дефіцит препаратів, які б поєднували антимікробну, протизапальну і гіпоазотемічну дію та застосовувалися б при захворюваннях нирок, тому пошук нових видів рослинної сировини вищезазначеної активності і розробка фітозасобів на їх основі є актуальними [1, 3, 6, 8].

Перспективною рослиною вітчизняної флори є береза бородавчата *Betula verrucosa* Ehrh. родини *Betulaceae*. Листя берези бородавчастої здавна використовуються народною медициною як антимікробний, протизапальний,

діуретичний, вітамінний засоби. Ця сировина є офіційною у багатьох країнах світу і використовується для виробництва лікарських препаратів [9]. На українському ринку представлено значно менше препаратів для лікування захворювань нирок і сечовидільної системи, до складу яких входить екстракт листя берези. Отже є доречним створення нових вітчизняних препаратів листя берези для лікування захворювань нирок [3, 6-8].

Значну долю лікарських препаратів рослинного походження на фармацевтичних виробництвах отримують методом екстракції, тому важливо підібрати оптимальні умови процесу екстракції, за яких вихід біологічно активних речовин максимальний, а їх руйнування під дією температури і розчинників мінімальне [2, 4].

Мета роботи. Дослідити технологічні параметри листя берези бородавчастої та

процес екстрагування методом мацерації та перколяції і визначити оптимальний режим отримання витягу.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктами дослідження є листя берези бородавчастої ромбічно-яйцеподібні або трикутно-яйцевидні, в основі ширококлиновидні, на кінці загострені, по краю двоякогострозубчасті, з обох сторін гладкі, зеленого кольору. Спирт етиловий 50% – безбарвна, прозора, летка, легкозаймиста, гігроскопічна рідина, має характерний запах та пекучий смак.

Визначення вологості проводили на автоматичному приборі експрес-воломірі Sartorius MA-150. Вологість визначається приладом автоматично за різницею маси до та після висушування до постійної маси.

Насипну густину визначали як відношення маси подрібненої сировини при природній або заданій вологості до повного об'єму, що займає сировина разом з порами часток та вільним об'ємом між ними. Насипну густину до усадки та після усадки визначали за методикою ДФУ (2.9.34) не ущільненого зразка до його об'єму, включаючи внесок міжчасткового вільного об'єму. Насипну густину листя берези бородавчастої визначали вимірюванням об'єму певної маси проби листя в градуйованому циліндрі [5].

Насипну густину після усадки визначали механічним струшуванням градуйованого мірного циліндра або посудини, що містить зразок порошку. Після визначення початкового об'єму або маси порошку, в мірному циліндрі або посудині проводили механічне струшування до отримання стійкого об'єму або маси.

Об'ємну густину визначають як співвідношення маси подрібненої сировини при природній або заданій вологості до її повного об'єму, що вміщує пори, тріщини і капіляри, заповнені повітрям.

Порозність шару характеризує величину пустот між частинками рослинного матеріалу, визначається як відношення різниці між об'ємною і насипною густиною до об'ємної густини.

Вільний об'єм шару розраховували як відношення різниці між питомою і насипною густиною до питомої густини.

Кут природного укосу визначали за допомогою транспорту після утворення конусу сипучого матеріалу при визначенні плинності.

Коефіцієнт поглинання екстрагенту розраховували за різницею об'єму екстрагенту, яким залили відому наважку сировини, та об'ємом, що отримали після зливу, віджавши шрот.

Визначення вмісту екстрактивних речовин проводили за методикою ГФ XI, вип. 1. Як екстрагент використовували воду очищену та спирт етиловий 50%.

Результати дослідження та їх обговорення. Визначені технологічні властивості використовують при розробці промислової технології екстракційних препаратів для масштабування процесів, для розрахунку об'ємів технологічного обладнання.

На повноту екстрагування впливає поверхня розділу фаз, тому рослинну сировину спочатку подрібнювали на лабораторному подрібнювачі та просіювали через сита з відповідними розмірами отворів. При надто тонкому здрібненні різко зростає кількість зруйнованих клітин, що призводить до вимивання супутніх речовин, які забруднюють витяжку (білки, слизи, пектини, ін. ВМС), до того ж в екстрагент переходить велика кількість завислих частинок. У результаті витяжки виходять каламутні, їх важко відфільтрувати. Звідси впливає, що сировину варто подрібнювати до оптимальних розмірів: листя, квіти, трави - до 3-5 мм. Тоді у вихідному матеріалі зберігатиметься клітинна структура і переважатимуть дифузійні процеси, екстрагування повільниться, але отримана витяжка міститиме менше механічних домішок і її буде легше очищати. Тому цілеспрямовано отримували фракції з розмірок часток від 1 до 3 мм [10, 11].

Для листя берези визначали технологічні параметри, результати представлені в таблиці 1.

Технологічні параметри листя берези бородавчастої

	Листя берези Подрібненість 1-3 мм
1. Питома густина, d_n , г/мл	1,28±0,10
2. Об'ємна густина, d_o , г/мл	0,66±0,07
3. Насипна густина, d_n , г/мл	
- до усадки	0,16±0,01
- після усадки	0,22±0,01
4. Пористість сировини, P_c	0,40
5. Порозність шару, $P_{ш}$	0,67
6. Вільний об'єм, V	0,83
7. Коефіцієнт поглинання,	
- води	2,2±0,34
- 50% спирту	2,3±0,36
8. Вологість, %	7,15±0,16
9. Кут укошу, град	42±3,81
10. Вміст екстрактивних речовин, %	
- вода	26,93±0,37
- 50% спирт	24,23±0,68

Примітка: $P=95\%$, $n=5$

Вміст екстрактивних речовин у листі берези з використанням екстрагенту води та 50% етилового спирту становить 26,93±0,37% та 24,23±0,68% відповідно. За даними літератури, найбільш оптимальним екстрагентом для основних БАР листя берези (флавоноїди) є спирт етиловий 50%. Використовуючи в якості екстрагенту воду очищену, отримали більший вихід екстрактивних речовин, порівняно зі спиртом етиловим 50%, що пояснюється більшою розчинністю у воді супутніх речовин у листі берези.

Для вибору оптимального режиму екстракції використовували методи мацерацію та перколяцію, оскільки ці методи прості і не потребують складного технологічного лабораторного устаткування. В якості екстрагенту застосовували 50% етиловий спирт, з різним співвідношенням сировина-екстрагент. Маса сировини у всіх випадках складала 40,00 г, час настоювання 23 год.

Мацерація. На лабораторних вагах зважували подрібнене листя берези (40 г), завантажували в мацераційний бак, заливали 50% етиловим спиртом. Робили 3 зразки: із

співвідношенням сировина-екстрагент 1:10; 1:12,5; 1:15 відповідно спирту етилового 400 мл, 500, 600 мл. Настоювали 23 год, зливали і віджимали готовий екстракт. Вимірювали об'єм отриманого екстракту.

Визначали вміст екстрактивних речовин в кожному із 3 зразків за методикою: висушували 3 фарфорові чашки в термостаті, зважували їх після охолодження, додавали в кожену 10 мл екстракту вимірюного піпеткою. Залишали в термостаті на 3 дні, зважували фарфорові чашки з екстрактивними речовинами і за різницею визначали масу сухого залишку.

Перколяція. Зважували на лабораторних вагах подрібнене листя берези (40 г), стадія замочування та настоювання були поєднані, тому далі сировину завантажували в перколятор на перфороване дно, притискали перфорованим диском і заливали через дно для максимального витіснення повітря 50% етиловий спирт до зеркала – шару, висота якого над сировиною близько 30-40 мм. Робили 3 зразки: із співвідношенням сировина-екстрагент 1:10; 1:12,5; 1:15 відповідно спирту етилового 400 мл, 500, 600 мл. Настоювали 23 год і зливали екстракт зі швидкістю 10 крапель

за 9-10 секунд одночасно подаючи зверху нові порції екстрагенту. Вимірювали об'єм отриманного екстракту.

Визначали вміст екстрактивних речовин в кожному із 3 зразків за методикою: висушували 3 фарфорові чашки в термостаті, зважували їх

після охолодження, додавали в кожную 10 мл екстракту вимірюного піпеткою. Залишали в термостаті на 3 дні, зважували фарфорові чашки з екстрактивними речовинами і за різницею визначали масу сухого залишку. Результати представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

Вміст екстрактивних речовин і ступінь виснаження сировини методами мацерації та перколяції

Метод	Мацерація			Перколяція		
Співвідношення	1:10	1:12,5	1:15	1:10	1:12,5	1:15
Час настоювання	23 год					
Час екстракції	*	*	*	2 год	2 год 40 хв	3 год 45 хв
Об'єм отриманого екстракту, мл	294	417	522	329	413	513
Маса сухого залишку, г	0,215± 0,005	0,160± 0,004	0,140± 0,004	0,250± 0,006	0,215± 0,006	0,155± 0,007
Вміст екстрактивних речовин, %	17,02± 0,53	17,96± 0,59	19,68± 0,71	21,41± 0,82	22,15± 0,89	23,91± 1,07
Ступінь виснаження сировини, %	70,24± 1,97	74,12± 2,06	81,22± 2,27	88,36± 2,52	91,42± 2,58	98,68± 2,76

Примітка: * - для мацерації час екстракції не передбачений

За результатами будували діаграму вмісту екстрактивних речовин в залежності від співвідношення сировина-екстрагент та методу екстракції (рис. 1).

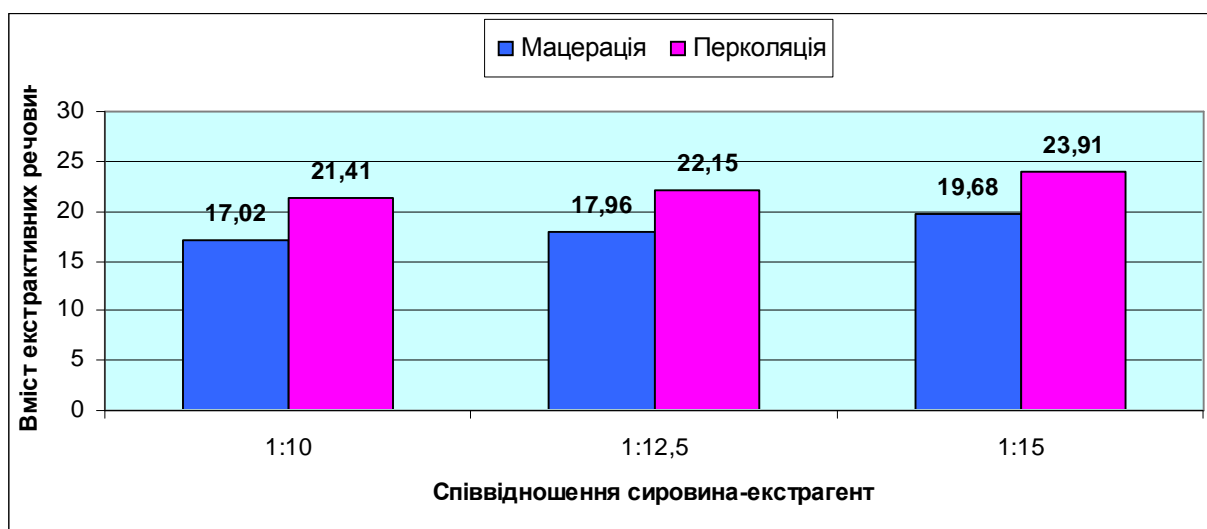


Рис. 1. Діаграма вмісту екстрактивних речовин в залежності від співвідношення сировина-екстрагент та методу екстракції

Залежність ступеня виснаження сировини від співвідношення сировина-екстрагент та методу екстракції представлена у вигляді діаграми на рисунку 2.

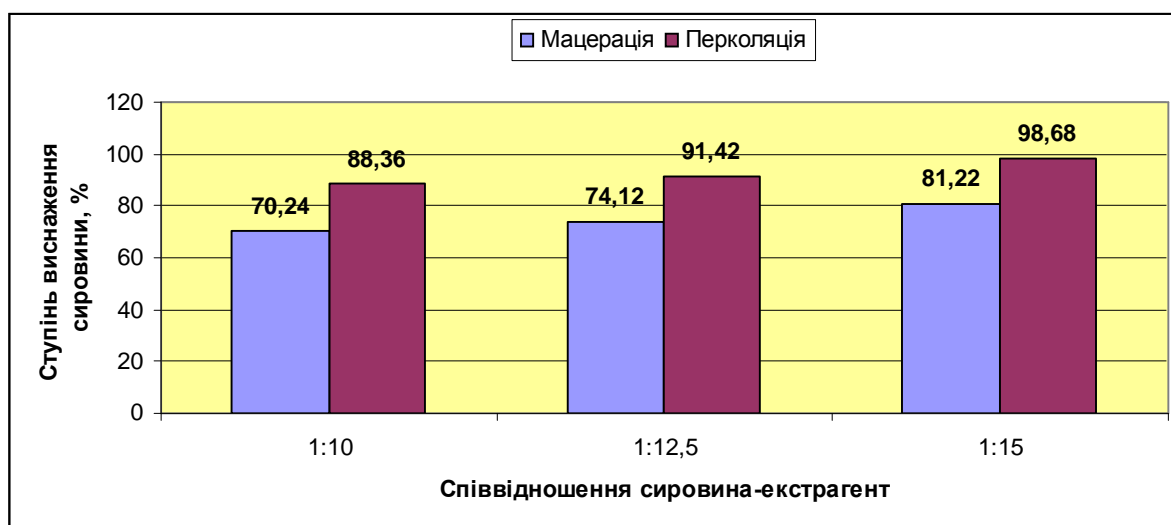


Рис. 2. Ступінь виснаження сировини в залежності від співвідношення сировина-екстрагент та методу екстракції

Динаміка виснаження сировини показує виснаження сировини в залежності від співвідношення сировина-екстрагент і дозволяє визначити оптимальне значення співвідношення сировина-екстрагент.

Листя берези (40 г) завантажували в перколятор на перфороване дно, притискали перфорованим диском і заливали через дно для максимального витіснення повтря 50% етиловий спирт до зеркала, настоювали 23 год і зливали екстракт зі швидкістю 10 крапель за 9-10 секунд одночасно подаючи зверху нові порції екстрагенту. Зразки екстракту збирали окремо із кроком співвідношення сировина-екстракт 1:1 (по 40 мл), із отриманих зразків відбирали піпеткою по 5 мл екстракту і висушували на експрес-воломірі Sartorius MA-150. Процес екстракції проводили до отримання сумарного екстракту 1:15. Для кожного зразку екстракту було визначено сухий залишок і зняті основні фізико-хімічні характеристики.

Сухий залишок ω_n в окремій зібраній порції рідкого екстракту визначали по формулі:

$$\omega_n = 100 - \text{вологість, у \%}$$

Визначали вміст сухого залишку A_n в окремих порціях рідких екстрактів V_n , отриманих відповідним екстрагентом при відповідному співвідношенні «сировина :

екстракт», г. Розрахунок вмісту сухого залишку A_n проводили по формулі:

$$A_n = \frac{\omega_n \cdot V_n}{100}$$

де: V_n – об'єм окремо зібраної порції рідкого екстракту отриманого відповідним екстрагентом з кроком співвідношення «сировина : екстракт» 1:1, мл

ω_n – сухий залишок в окремій зібраній порції рідкого екстракту n, %

Визначали вміст сухого залишку B_n в сумарних екстрактах V_{n+1} отриманих на стадії по формулі:

$$B_n = \sum_{n=1}^n A_n$$

де: A_n – сухий залишок в окремо зібраній порції екстракту V_n , г

Визначали вміст сухого залишку C_n в сумарних екстрактах V_{n+1} отриманих на стадії по формулі:

$$C_n = \frac{B_n}{V_{n+1}} \cdot 100\%$$

де: V_{n+1} – об'єм сумарного екстракту на стадії, мл

B_n – вміст сухого залишку в сумарних екстрактах V_{n+1} , г.

Визначали вихід екстрактивних речовин (абсолютно сухого екстракту) D_n з екстрагованої

сировини на кожній із стадій екстрагування за формулою:

$$D_n = \frac{B_n}{m_c} \cdot 100\%$$

де: m_c – маса завантаженої в перколятор сировини, г

B_n – вміст сухого залишку в сумарних екстрактах V_{n+1} , г.

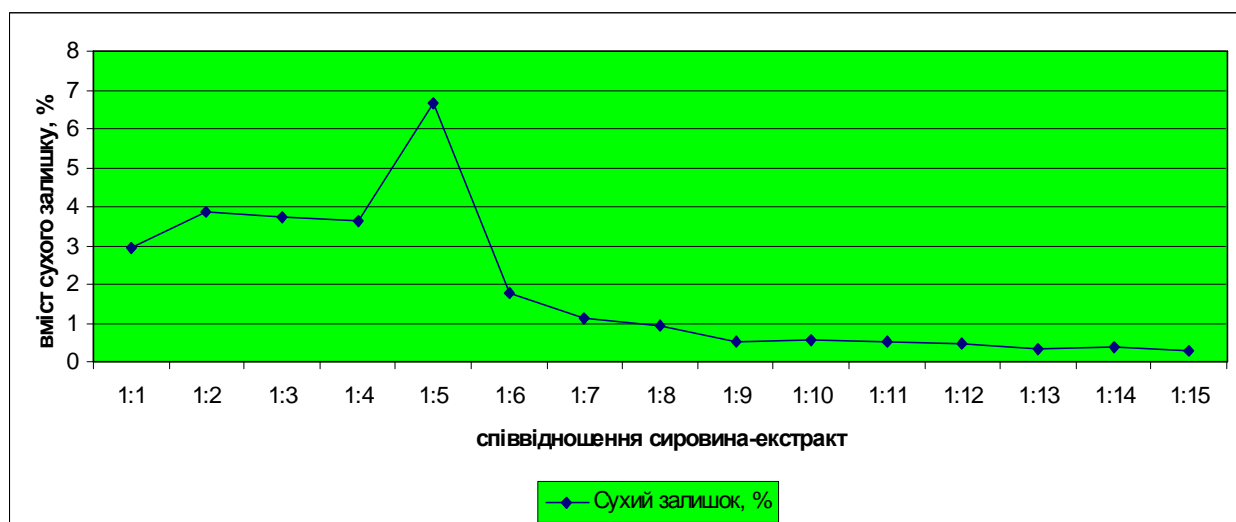
Отримані дані наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Таблиця отриманих результатів аналізу екстрактів

Об'єм окремої порції екстракту V_n , мл	Об'єм сумарного екстракту на стадії, мл	Вміст сухого залишку ω_n , %	Вміст сухого залишку A_n , г	Вміст сухого залишку B_n , г	Вміст сухого залишку C_n , %	Вихід сухого екстракту D_n , %
40,0 г завантаження						
40	40	2,95	1,18	1,18	2,95	2,95
40	80	3,84	1,54	2,72	3,40	6,80
40	120	3,74	1,50	4,22	3,52	10,55
40	160	3,64	1,46	5,68	3,55	14,20
40	200	6,67	1,07	6,75	3,38	16,88
40	240	1,75	0,70	7,45	3,10	18,63
40	280	1,11	0,44	7,89	2,82	19,73
40	320	0,93	0,37	8,26	2,58	20,65
40	360	0,51	0,20	8,46	2,35	21,15
40	400	0,54	0,22	8,68	2,17	21,70
40	440	0,49	0,20	8,88	2,02	22,20
40	480	0,45	0,18	9,06	1,89	22,65
40	520	0,34	0,14	9,20	1,77	23,00
40	560	0,35	0,14	9,34	1,67	23,35
40	600	0,30	0,12	9,46	1,58	23,65

За отриманими результатами від співвідношення сировина-екстракт будували графік залежності сухого залишку рис. 3.

Рис. 3. Графік залежності сухого залишку ω_n від співвідношення сировина-екстракт

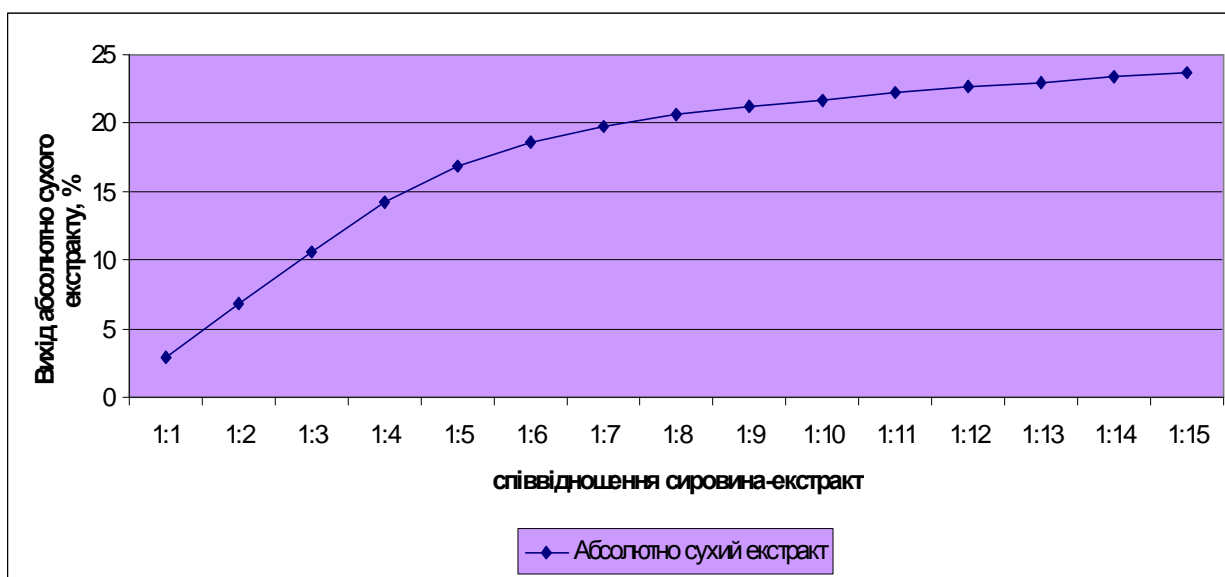


Рис. 4. Графік залежності виходу абсолютно сухого екстракту в залежності від співвідношення сировина-екстракт

Як видно з результатів, найбільш оптимальним методом екстрагування є перколяція, оскільки вміст екстрактивних речовин і ступінь виснаження сировини при використанні цього методу є найвищими. Оптимальним співвідношенням сировина-екстрагент є 1:15, так як дозволяє при цьому екстрагувати $98,68 \pm 2,76\%$ екстрактивних речовин.

Висновки

1. Досліджено технологічні параметри листя берези бородавчастої: вологовміст $7,15 \pm 0,16\%$; насипна густина $0,16 \pm 0,01 \text{ г/мл}$ та густина після усадки $0,22 \pm 0,010 \text{ г/мл}$; об'ємна густина $0,66 \pm 0,070 \text{ г/мл}$ та питома густина $1,28 \pm 0,10 \text{ г/мл}$; пористість 0,40, порозність 0,67 та вільний об'єм шару 0,83; плинність, кут природного коксу $42 \pm 3,81^\circ$; вміст

Література

1. Автореф. дис... канд. фармац. наук: 15.00.02 / О.І. Нещерет Фармакогносичне вивчення листя берези бородавчастої; Нац. фармац. ун-т. — Х., 2005. — 19 с. — укр.
2. Безчаснюк Е. М. Процесс экстрагирования из лекарственного растительного сырья. / Безчаснюк Е.М., Дяченко В.В., Кучер О.В. // — Фармаком-№1 – 2003., стр. 54-56.
3. Борисенко О. І. Береза бородавчата: фармакотерапевтичні властивості, медичне

екстрактивних речовин: екстрагент вода – $26,93 \pm 0,37\%$, екстрагент 50% спирт етиловий – $24,23 \pm 0,68\%$; коефіцієнт поглинання екстрагента: води – $2,2 \pm 0,34\%$, 50% спирту етилового – $2,3 \pm 0,36\%$.

2. Досліджено процес екстракції листя берези методом мацерації та методом перколяції та встановлені оптимальні умови проведення екстракції: подрібнення вихідної рослинної сировини до розміру часток 1-3 мм, екстрагент - 50% спирт етиловий, температура - кімнатна, співвідношення сировини та екстрагенту- 1:15. Встановлено, що при перколяції витягується більша кількість екстрактивних речовин - $23,91 \pm 1,07\%$, а також ступінь виснаження сировини - $98,68 \pm 2,76\%$ більший, ніж при мацерації $19,68 \pm 0,71\%$ і $81,22 \pm 2,27\%$ відповідно.

застосування, власні дослідження впливу настоек на функції нирок / О.І. Борисенко, В.С. Кисличенко, Є.О. Васильченко // Фармаком. – 2002. - №3 - С.163-167

4. Борисенко О.І., Кисличенко В.С. Кількісне визначення вмісту дубильних речовин і флавоноїдів у листках, бруньках берези бородавчастої та отриманих з них фітозасобів // Фізіологічно активні речовини. – 2000. - №2(30). – с. 96-99.

5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство „Науково-Експертний фармакопейний центр”. 1.2-е вид.-Х.:РІРЕГ,2001. - 70 с.
6. Лушпа В. І. Береза повисла в офіційній та народній медицині // Фітотерапія в Україні. – 2001. - №1-2. – с. 48-52
7. Пронченко Г.Е. Справочник “Лекарственные растительные средства” / Под ред. А.П. Арзамасцева. – М. : ГЭОТАР – МД, 2002. – 288 с.
8. Birch Trees: Natural Medicine in Your Backyard // By Julie Bruton-Seal and Matthew Seal. - January 24, 2014
9. Dennis V.C. Awang. Tyler’s herbs of choice : the therapeutic use of phytomedicinals / Dennis V.C. Awang. - 2009. - 3rd ed. - P. 63
10. European Pharmacopoeia 4th ed. Supplement 4, 2003. – Strasbourg : Council of Europe, 2002
11. European Pharmacopoeia 4th ed. Supplement 5, 2003. – Strasbourg : Council of Europe, 2003.

Науковий рецензент доктор фармацевтичних наук, професор Шматенко О.П.