

ОПТИМИЗАЦИЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ВОДНО-СПИРТОВЫХ ЭКСТРАКТОВ КОРЫ ОСИНЫ

В работе исследованы водно-спиртовые экстракты коры осины на наличие в них биологически активных веществ и найден оптимальный режим их получения.

Ключевые слова: кора осины, биологически активные вещества, экстракция, водно-спиртовые экстракты, экстрактивные вещества, матрица планирования эксперимента.

S.V. Soboleva, L.I. Chentsova, I.S. Pochekutov

OPTIMIZATION OF BIOACTIVE SUBSTANCES OBTAINING IN AQUEOUS ALCOHOL EXTRACTS OF ASPEN BARK

Aqueous alcoholic extracts of aspen bark are investigated in the article. They are tested on the content of biologically active substances in them. Optimum mode of their obtaining is found.

Keywords: aspen bark, biologically active substances, extraction, aqueous-alcoholic extracts, extractive substances, experiment planning matrix.

Введение. Комплексное использование лесных ресурсов предусматривает утилизацию всей биомассы дерева, в том числе древесной коры. Она содержит комплекс экстрактивных веществ, обладающих биологической активностью и представляющих практически все классы органических соединений, встречающихся в растениях (витамины, ферменты, белки, жиры, эфирные масла и др.) [1]. Водно-спиртовые экстракты коры осины содержат комплекс биологически активных веществ: дубильные вещества, гликозиды, флавоноиды, хлорофиллы, каротиноиды, витамины. Состав водно-этанольных экстрактов коры осины, произрастающей в Европейской части России и в Восточной Сибири, рассмотрен в ряде публикаций [2,3]. Содержание экстрактивных веществ зависит от сезона заготовки, способа выделения образца (ручная или промышленная) и природы экстрагента. Содержание фенольных соединений в водно-спиртовых экстрактах коры осины достаточно велико и достигает 12–28%. Они выполняют различные функции: структурные, защитные, резервные и сигнальные [4].

Актуальность работы заключается в разработке эффективных методов рационального использования коры и определения оптимального режима извлечения ценных биологически активных веществ из водно-спиртовых экстрактов коры осины.

Цель исследований – оптимизация процесса получения биологически активных веществ из водно-спиртовых экстрактов коры осины.

Материалы и методы исследований. Материалом исследования служила кора осины, заготовленная в сентябре 2011 года в Емельяновском районе Красноярского края. Отбор проб производили методом квартования и измельчали в шнековом измельчителе до 3–5 мм. Сырье анализировали на влажность и зольность. Влажность – методом высушивания, зольность – путем сжигания в муфельной печи до постоянной массы [5]. Зола исследовали на наличие тяжелых металлов на спектрометре «Спектроскан». По интенсивностям аналитических линий и сравнения их со стандартом определяли концентрацию тяжелых металлов [6]. Суммарное количество спирторастворимых веществ находили по убыли массы абсолютно сухого сырья (а.с.с.). В качестве экстрагента использовали 40–60 % этанол. Содержание индивидуальных вещества водно-спиртовых экстрактов коры осины определяли по общепринятым методикам [4]. Анализ сырья осуществляли при двух параллельных определениях с соблюдением сходимости результатов. Рассчитывали ошибку среднего арифметического с учетом задаваемой доверительной вероятности и числа параллельных определений, используя для этой цели критерий Стьюдента. Среднее арифметическое значение \bar{X} определяли по формуле

$$\bar{X} = \sum_{i=1}^n \frac{X_i}{n}, \quad (1)$$

где X_i – результаты i -го опыта;

n – количество опытов.

Среднеквадратическое отклонение S_x рассчитывали по формуле

$$S_x = \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \quad (2)$$

Интервал доверительной вероятности определяли уравнением

$$\bar{X} - t_{0,05} \cdot S_x < \mu < \bar{X} + t_{0,05} \cdot S_x, \quad (3)$$

где t – критерий Стьюдента, при доверительной вероятности 95 % и числе опытов $n=2$, $t = 12,71$.

Оптимизацию процесса осуществляли методом нелинейного программирования и решением системы уравнений регрессии и наложением экстремума параметра оптимизации при соблюдении ограничений, накладываемых на остальные параметры. В качестве выходного параметра оптимизации было выбрано содержание экстрактивных веществ, % от массы исходной коры. Для получения оптимального режима выделения экстрактивных веществ из коры осины была составлена матрица планирования эксперимента. Для определения влияния каждого фактора на выход экстрактивных веществ и построения поверхности отклика был использован план Бокса-Бенкена 2-го порядка и пакет прикладных программ STATISTICA 6.0 [6].

Результаты исследований и их обсуждение. Проведенные исследования показали, что в водно-спиртовых экстрактах коры осины присутствуют дубильные вещества (таннины от 11,5 до 14,5 %, полифенольные (гликозиды – 0,71–0,84 %), флавоноиды – 0,33–0,43 %, пигменты: хлорофиллы от 0,63 до 0,74 %; каротиноиды (от 0,52 до 0,55 %). Эти данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание экстрактивных веществ коры осины, произрастающей в Емельяновском районе Красноярского края, % на а.с.с.

Компонент	40 % водно-спиртовой экстракт	60 % водно-спиртовой экстракт
Сумма экстрактивных веществ	22,0 ± 0,5	30,0 ± 0,4
Таннины	17,0 ± 0,5	18,0 ± 0,5
Полифенольные гликозиды	0,71 ± 0,03	0,84 ± 0,04
Флавоноиды	0,33 ± 0,01	0,43 ± 0,03
Пигменты:		
хлорофиллы	0,74 ± 0,01	0,63 ± 0,03
каротиноиды	0,55 ± 0,02	0,52 ± 0,02

Для получения оптимального режима выделения экстрактивных веществ из коры осины была составлена матрица планирования эксперимента. Для определения влияния каждого фактора на выход экстрактивных веществ был использован план Бокса-Бенкена 2-го порядка.

В качестве независимых переменных были выбраны: X_1 – продолжительность экстракции, ч; X_2 – концентрация этанола в смеси; X_3 – гидромодуль; Y_1 – выход полифенольных гликозидов. Концентрацию этанола в смеси спирт-вода варьировали 60 ± 20 %. Процесс экстракции осуществляли при кипении растворителя при атмосферном давлении, гидромодуль выдерживали 20 ± 10 . Продолжительность экстракции согласно предварительным исследованиям выбрали от 3 до 5 ч с шагом варьирования 1 ч. Характеристика плана 2-го порядка приведена в таблице 2.

Таблица 2

Матрица планирования эксперимента

Характеристика плана	Переменный фактор		
	Продолжительность процесса X_1 , ч	Концентрация этанола X_2 , % об.	Гидромодуль X_3
Основной уровень	4	60	15
Шаг варьирования	1	20	5
Верхний уровень, X_1+ (+1)	5	80	20
Нижний уровень, X_1- (-1)	3	40	10

На основании результатов реализации матрицы планирования эксперимента были получены уравнения регрессии и определен оптимальный режим проведения экстракции коры осины с выделением максимального количества экстрактивных веществ. Уравнения регрессии имеют следующий вид:

- для простых фенолов (гликозидов)

$$Y_1 = 9,2 - 3,00 \cdot X_1 + 2,01 \cdot X_2 + 8,21 \cdot X_3 + 4,81 \cdot X_1^2 - 1,15 \cdot X_1 \cdot X_2 - 2,55 \cdot X_1 \cdot X_3 - 0,11 \cdot X_2^2 - 0,13 \cdot X_2 \cdot X_3 + 2,96 \cdot X_3^2;$$

- для экстрактивных веществ

$$Y_2 = 38,4 + 1,69 \cdot X_1 + 2,75 \cdot X_2 + 1,15 \cdot X_3 - 1,62 \cdot X_1^2 - 9,13 \cdot X_1 \cdot X_2 - 3,75 \cdot X_1 \cdot X_3 + 2,25 \cdot X_2^2 - 5,62 \cdot X_2 \cdot X_3 - 8,63 \cdot X_3^2.$$

Полученные математические модели оказались адекватными изучаемым процессам при доверительной вероятности 95 %. Оптимальные значения параметров для максимального извлечения экстрактивных веществ: концентрация этилового спирта – 65 %; продолжительность процесса – 3,5 ч, гидромодуль – 15. Суммарное количество экстрактивных веществ $Y_2=32,0$ %, что согласуется с экспериментальными данными (31,5 %). Количество простых фенолов давали на примере гликозидов, по основному уровню получилось $Y_1=0,86$ %, что согласуется с экспериментальными данными (0,9 %). В оптимальном режиме был получен экстракт коры осины. Его характеристики удовлетворяют требованиям ТУ 9377-162-20680882-10. «Сырье для производства биологически активных добавок «Экстракт коры осины «густой». Сравнительная характеристика полученного экстракта и требований ТУ представлена в таблице 3 [7].

Таблица 3

Сравнительная характеристика экстракта коры осины

Показатель	Характеристика опытного образца, % на а.с.с.	Требования ТУ 9377-162-20680882-10
Сумма экстрактивных веществ, % на а.с.с.	32,0	Не регламентируется
Содержание дубильных веществ в пересчете на танин, %	17,5	Не менее 8,0
*Содержание простых фенолов (гликозидов) в пересчете на салицин, %	0,9	Не менее 0,5
*Содержание флавоноидов на лютеолин, %	0,43	Не менее 0,05
Содержание хлорофиллов, мг/% (а+б), % на а.с.с.	0,63	Не регламентируется
Содержание каротиноидов, % на а.с.с.	0,52	Не регламентируется
Содержание токсичных элементов, мг/кг а.с.с.		
Свинец	Отсутствует	Не более 5,0
Кадмий	Отсутствует	Не более 1,0
Ртуть	Отсутствует	Не более 1,0
Мышьяк	Отсутствует	Не более 3,0
Медь	27	Не регламентируется
Железо	70	Не регламентируется
Цинк	157	Не регламентируется
Марганец	100	Не регламентируется

* по ТУ 9369-018-20680882-06 «Экорсол» Биологически активная добавка к пище».

Выводы

В процессе исследований была реализована матрица планирования эксперимента и получены математические модели процесса экстракции коры осины с выделением экстрактивных веществ. Полученные математические модели оказались адекватными изучаемым процессам при доверительной вероятности 0,95. В оптимальном режиме получен экстракт коры осины соответствующий требованиям ТУ 9377-162-20680882-10 «Сырье для производства биологически активных добавок «Экстракт коры осины «густой». Результаты работы после соответствующей санитарно-токсикологической экспертизы могут использоваться для получения БАД.

Литература

1. Рязанова Т.В., Чупрова Н.А., Исаева Е.В. Химия древесины. – Красноярск, 1996. – 358 с.

2. Выделение и изучение экстрактивных продуктов коры осины / Б.Н. Кузнецов [и др.] // Химия растительного сырья. – 1998. – № 3. – С. 5–12.
3. Турецкова В.Ф., Фильчукова Н.М. Изучение динамики накопления биологически активных веществ коры и побегов облепихи и коры осины по фазам вегетации // Решение актуальных задач фармации на современном этапе: тез. докл. науч. конф. НИИ фармации. – М., 1994. – С. 268–269.
4. Фаустова Н.М. Химический состав коры и древесины осины *Populus tremula* L.: автореф. дис. ... канд. хим. наук. – СПб., 2005. – 28 с.
5. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы: учеб. пособие. – М.: Экология, 1991. – 320 с.
6. Грачев Ю.П., Плаксин Ю.М. Математические методы планирования эксперимента. – М.: Из-во Де Ли Принт, 2005. – 296 с.
7. ТУ 9377-162-20680882-10. Сырье для производства биологически активных добавок «Экстракт коры осины «густой» / Биолит. – Томск, 2010. – №77.99.11.3.У.290.1.10. Зарегистр. 22.01.2010.

