УДК 615.322.012:582.711.71

ВЛИЯНИЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ИЗВЛЕЧЕНИЕ КАРОТИНОИДОВ И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПРОЦЕССЕ ДВУХФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ ПЛОДОВ ШИПОВНИКА

Степанова Н.Н., Степанова Э.Ф., Туховская Н.А., Мыкоц Л.П.

Пятигорская государственная фармацевтическая академия

подробная информация об авторах размещена на сайте «Ученые России» - http://www.famous-scientists.ru

Использование двухфазной экстракции в присутствии поверхностно-активных веществ (ПАВ) обеспечивает увеличение выхода гидрофильных и липофильных биологически-активных веществ (БАВ) из растительного сырья.

Экстрагировали высушенные плоды шиповника 70% этиловым спиртом и подсолнечным маслом в присутствии различных комбинаций эмульгаторов твина-80 и Т-2 (ГЛБ = 5,5÷14,5).

Показано, что по сравнению с двухфазной экстракцией без ПАВ переход каротиноидов (липофильных БАВ) в масляную фазу возрастает в 1,5 раза в присутствии эмульгатора 2-го рода (ГЛБ = 5,5) и не изменяется в присутствии эмульгатора 1-го рода (ГЛБ = 14,5). Переход гидрофильных БАВ (аскорбиновая кислота) в водно-спиртовую фазу возрастает в 2 раза при ГЛБ = 14,5 и падает с уменьшением чисел ГЛБ.

Одним из новых методов получения природных комплексов биологически-активных веществ (БАВ) является экстракция растительного сырья двухфазной системой экстрагентов. Этот способ позволяет в одной технологической операции извлекать из растительного сырья и липофильные, и гидрофильные БАВ, что обеспечивает расширение компонентного состава, большую степень извлечения липофильных БАВ и эффективность технологического процесса [7].

Известно также, что проведение экстракции в присутствии поверхностно-активных веществ (ПАВ) увеличивает выход эфирных масел и скорость их извлечения, что связано со снижением поверхностного натяжения на границе раздела фаз и, как следствие, облегчением диффузии извлекаемых веществ из клетки в экстрагент [6].

Изучение процесса двухфазной экстракции травы зверобоя продырявленного в присутствии ПАВ показало, что в зависимости от природы ПАВ (т.е. от соотношения в нем гидрофильных и липофильных групп, характеризуемого числом гидрофильно-липофильного баланса) меняется количественное и качественное соотношение извлекаемых веществ [1, 8, 9].

Ранее была показана эффективность метода двухфазной экстракции при извлечении каротиноидов и аскорбиновой кислоты из плодов рябины и шиповника и определены оптимальные условия экстракции [5].

Целью настоящей работы было исследование влияния ПАВ с различными числами ГЛБ на извлечение липофильных и гидрофильных БАВ в процессе двухфазной экстракции плодов шиповника.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали измельченные плоды шиповника (Fructus Rosae), отвечающие требованиям ГФ XI [3].

В качестве экстрагента использовали двухфазную систему, состоящую из 70% этилового спирта и масла подсолнечного в соотношении 1:1.

В качестве компонентов смеси ПАВ для получения различных значений гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) использовали твин-80 – эмульгатор 1-го рода (ГЛБ = 14,5) и Т-2 – эмульгатор 2-го рода (ГЛБ = 5,5). Гидрофильно-липофильный баланс смеси рассчитывали по формуле:

$$ГЛБ_{см} = ГЛБ_{max} \cdot a_{max} + ГЛБ_{min} \cdot a_{min},$$

где $ГЛБ_{см}$ – число ГЛБ смеси ПАВ; $ГЛБ_{max}$ и $ГЛБ_{min}$ – соответственно максимальное и минимальное значения чисел ГЛБ компонентов смеси ПАВ; a_{max} и a_{min} – соответственно массовые доли компонентов с максимальным и минимальным значением ГЛБ в смеси ПАВ, $a_{max} + a_{min} = 1$. Рассчитанные значения гидрофильно-липофильного баланса для ПАВ 1-го и 2-го рода и их смесей приведены в таблице 1.

Таблица 1. Значения ГЛБ для различных эмульгаторов

Твин-80, мг	Т-2, мг	ГЛБ
200	0	14,5
150	50	12,25
50	150	7,75
0	200	5,5

Экстракцию сырья проводили следующим образом. Навеску измельченного до размера 3-5мм шиповника (2г) помещали в термостойкую колбу с притертой пробкой, заливали 70% этиловым спиртом и оставляли для набухания на 40 минут, затем добавляли подсолнечное масло и смесь эмульгаторов с рассчитанным значением ГЛБ, колбу присоединяли к обратному холодильнику и вели процесс экстрагирования на водяной бане при t = 80±5ºС в течение 90 минут. Соотношение сырье – спирт – масло составляло 1:10:10. Количество эмульгатора выбирали исходя из того, что в конечном продукте (т.е. в масляной или водно-спиртовой фазе) его должно быть не больше 1%. Большее количество эмульгатора (2г) приводило к образованию студнеобразного экстракта и к уменьшению выхода аскорбиновой кислоты.

По окончании процесса экстракции вытяжку отжимали, фазы разделяли в делительной воронке. Для анализа отбирали нижнюю водно-спиртовую фазу (ВСФ) и верхнюю масляную фазу (МФ).

В полученной водно-спиртовой фазе определяли количественное содержание аскорбиновой кислоты (АК) методом титрования раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята [3].

Так как предполагается, что при экстракции двухфазной системой экстрагентов массоперенос липофильных БАВ из сухого сырья в масло на первом этапе обусловлен ослаблением связи молекул БАВ с материалом клеточных структур благодаря контакту с полярной фазой, а на втором этапе – с межфазным распределением липофильных БАВ в системе ВСФ – МФ в соответствии с коэффициентом распределения [4], то мы определяли количественное содержание суммы каротиноидов (СК) в пересчете на β-каротин и в масляной, и в водно-спиртовой фазах. Анализ проводили фотоколориметрическим методом при длине волны 440нм, используя в качестве раствора сравнения масло подсолнечное (при анализе МФ) и воду (при анализе ВСФ). В качестве стандартного раствора использовали раствор ГСО бихромата калия [2].

Содержание суммы каротиноидов в мг% рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{D_1 * 0{,}00208 * V * l}{D_0 * a},$$

где D_1 – оптическая плотность анализируемой МФ ли ВСФ; D_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца бихромата калия; 0,00208 – количество β-каротина в миллиграммах в растворе, соответствующем по окраске раствору стандартного образца бихромата калия; V – объем анализируемой МФ или ВСФ; l – толщина кюветы (l = 5мм); а – навеска сырья, г.

Результаты и обсуждение

Результаты количественного определения аскорбиновой кислоты в водно-спиртовой фазе в зависимости от чисел ГЛБ приведены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты определения количества аскорбиновой кислоты в зависимости от величины ГЛБ

	Без эмульгаторов	ГЛБ			
		14,5	12,25	7,75	5,5
$C_{АК}$, мг%	0,0184	0,0349	0,015	0,0097	0,0080

Полученные данные показывают, что в присутствии гидрофильного эмульгатора (твин-80) с ГЛБ = 14,5 степень извлечения аскорбиновой кислоты увеличивается в 1,9 раза по сравнению с двухфазной экстракцией без ПАВ. Присутствие смеси эмульгаторов с ГЛБ = 12,25 практически не влияет на выход аскорбиновой кислоты. Дальнейшее уменьшение чисел ГЛБ ведет к соответствующему уменьшению выхода аскорбиновой кислоты в 1,9 и 2,3 раза.

В таблице 3 приведены результаты количественного определения суммы каротиноидов в масляной и водно-спиртовой фазах и значения коэффициента распределения, рассчитанного по формуле:

$$K_p = \frac{C^{МФ}}{C^{ВСФ}}$$

Таблица 3. Количественное содержание каротиноидов в различных фазах

	Без эмульгаторов	ГЛБ	
		14,5 (твин-80)	5,5 (Т-2)
$C^{МФ}$, мг%	0,1165	0,1165	0,1719
$C^{ВСФ}$, мг%	0,1629	0,1959	0,0854
$K_р$	0,72	0,59	2,01

Приведенные результаты показывают, что присутствие гидрофильного эмульгатора никак не сказывается на степени извлечения каротиноидов в масляную фазу. Применение же гидрофобного эмульгатора увеличивает выход каротиноидов в масляную фазу в 1,5 раза. Полученные данные можно объяснить образованием в присутствии эмульгатора 2-го рода (ГЛБ = 5,5) обратной эмульсии (вода в масле) и облегчением перехода липофильных БАВ в масляную фазу (Кр = 2,01). Присутствие же эмульгатора 1-го рода (ГЛБ = 14,5), стабилизирующего прямую эмульсию (масло в воде), затрудняет перераспределение каротиноидов из ВСФ в МФ (Кр = 0,59).

Таким образом, подбирая состав эмульгаторов при проведении двухфазной экстракции, можно варьировать выходом гидрофильных и липофильных БАВ в эмульсионные экстракты лекарственных растений, которые могут быть использованы в качестве добавок или вспомогательных веществ для лекарственных и косметических композиций, содержащих комплекс БАВ, наиболее близкий к природному.

Выводы

1. На примере плодов шиповника Fructus Rosae показано, что степень извлечения липофильных и гидрофильных биологически-активных веществ при экстракции двухфазной системой экстрагентов зависит от значения ГЛБ смеси ПАВ, вводимой в систему.

2. Степень перехода гидрофильных БАВ (аскорбиновой кислоты) в водно-спиртовую фазу возрастает с увеличением чисел ГЛБ (т.е. при добавлении эмульгаторов 1-го рода) и падает при уменьшении чисел ГЛБ (т.е. при добавлении эмульгаторо 2-го рода).

3. Степень перехода гидрофобных БАВ (суммы каротиноидов) в масляную фазу возрастает в 1,5 раза при использовании эмульгатора 2-го рода (ГЛБ = 5,5) и не меняется в присутствии эмульгатора 1-го рода (ГЛБ = 14,5) по сравнению с двухфазной экстракцией без ПАВ.

Список литературы:

1. Вайнштейн В.А., Хаззаа И.Х., Чибиляев Т.Х., Каухова И.Е. // Хим.-фарм. журн. 2004. Т. 38. № 5. С. 25.
2. Ветров П.П., Гарная С.В., Долганенко Л.Г. // Хим.-фарм. журн. 1989. № 3. С. 320.
3. Государственная фармакопея СССР XI изд. Вып. 2.- М.: Медицина, 1990.
4. Иванова С.А., Вайнштейн В.А., Каухова И.Е. // Хим.-фарм. журн. 2003. Т. 37. № 8. С. 30.
5. Иванова С.А., Скочипец С.Е., Скочипец М.Е. и др. // Фармация. 2003. № 6. С. 23.
6. Искандаров Р.С., Аминов С.Н., Авезов Х.Т. // Химия природ. соедин. 1998. № 5. С. 648.
7. Мельникова В.А., Вайнштейн В.А., Шиков А.Н., Каухова И.Е. // Хим.-фарм. журн. 1999. Т. 33. № 12. С. 278. Хаззаа И.Х., Вайнштейн В.А., Каухова И.Е. // Раст. ресурсы. 2004. Т. 40. Вып. 3. С. 117.
9. Хаззаа И.Х., Вайнштейн В.А., Чибиляев Т.Х. // Хим.-фарм. журн. 2003. Т. 37. № 7. С. 20.

Influence of the surface active substances on the extraction of the carotenoids and ascorbic acid in biphase extraction of sweetbrier fruits

Stepanova N.N., Stepanova E.F., Tuchovskaya N.A., Mykots L.P.
Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy

Application of the biphase extraction in the presence of the surface active substances (SAS) was found to ensure an increase of the hydrophylic and lipophylic biologically active substances (BAS) yield from the plant raw material.

Dried sweetbrier fruits were extracted with 70% ethyl alcohol and sunflower-seed oil in the presence of various combinations of the emulgators twin-80 and T-2 (HLB = 5,5÷14,5).

Carotenoid transition (lipophylic BAS) into oil phase in comparison with biphase extraction without SAS was shown to increase 1,5 times in the presense of the emulgator of the second type (HLB = 5,5) and it didn’t change in the presence of the emulgator of the first type (HLB = 14,5). Hydrophylic BAS transition (ascorbic acid) into water-alcohol phase increases 2 times at HLB = 14,5 and decreases with the HLB number decrease.