

Н. Ю. Грибова, Н. И. Белая, Т. А. Филиппенко, А. Н. Николаевский,  
А. В. Белый, В. А. Заец

## ПОЛУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ТОЛОКНЯНКИ ЭКСТРАКЦИЕЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПОСТОЯННОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ТОКА

Донецкий национальный университет, Украина

Определены условия интенсификации процесса экстракции веществ с антиоксидантными свойствами из листьев толокнянки. Установлено, что наиболее полно природные антиоксиданты извлекаются методом мацерации в постоянном электрическом поле ( $U = 35$  В,  $I = 250$  мА) в течение 2 ч при температуре 303 К и постоянном перемешивании. Экстрагент — 1 % раствор уксусной кислоты с добавлением в качестве ПАВ твина-80 ( $C = 8,8 \cdot 10^{-4}$  моль/л). Полученный экстракт увеличивает стабильность подсолнечного масла к окислению более чем в 4 раза. Предлагаемая методика электроэкстракции позволяет повысить выход веществ с антиоксидантными свойствами, уменьшить извлечение балластных соединений без усложнения технологии процесса экстракции и увеличения материальных затрат.

В настоящее время усовершенствование технологий извлечения биологически активных веществ (БАВ) из растительного сырья является одним из приоритетных направлений научно-технического развития в области производства экстракционных препаратов [1]. Традиционные методы экстрагирования достигли своего естественного предела и не дают возможности повысить скорость процесса и увеличить выход готового продукта. Для интенсификации процесса экстракции БАВ из растительного материала используют действие различных силовых полей: ультразвукового, электрического, импульсивного, электромагнитного [2] и т. д.

В комплексе БАВ, экстрагируемых из растений, особое место занимают фенольные соединения. Накопленный экспериментальный материал по изучению действия растительных фенолов свидетельствует об их разнообразном действии на живой организм. Однако широкое применение растительных фенолов ограничено проблемами их выделения из сырья.

Как было показано нами ранее [3], для более полного извлечения фенольных антиоксидантов из лекарственных растений может быть успешно применен метод мацерации под действием постоянного электрического тока. Пропускание электрического тока через смесь вода — листья толокнянки обеспечивает экстрагирование веществ из растительного сырья по принципу электродиализа. Перенос экстрагируемых веществ в ионизированной форме идет под действием тока через полупроницаемую мембрану, которой является стенка растительной клетки. При определенном токовом режиме достигается повышение выхода веществ с антиоксидантной активностью за счет увеличения их внутренней диффузии из растительной клетки, а также снижение температуры и времени тепловой обработки экстракта. В названной работе была исследована только часть факторов, влияющих на процесс электроэкстракции, — напряжение электрического поля, температура и время экстрагирования.

В продолжение начатых исследований в данной работе изучено влияние природы экстрагента на процесс извлечения фенольных антиоксидантов из листьев толокнянки в электрическом поле и отработана оптимальная методика электроэкстракции, позволяющая обеспечить максимальный выход веществ с антиоксидантными свойствами из растительного материала.

### Экспериментальная часть

Экстракцию природных антиоксидантов (АО) из листьев толокнянки проводили путем мацерации под действием постоянного электрического тока (напряжение  $U = 35$  В, сила тока  $I = 250$  мА) комнатной температуре и постоянном перемешивании (схема). В качестве экстрагентов использовали водные растворы уксусной и соляной кислот, гидроксида натрия и поверхностно-активных веществ (ПАВ) разной природы. Полученный жидкий экстракт фильтровали, высушивали в сушильном шкафу при температуре 303 К в течение 3 сут и использовали в сухом виде. Удельную электропроводность ( $\kappa$ ) экстрагентов определяли кондуктометрически [4]. Экстракты стандартизировали по количеству сухого остатка ( $W_{с.о.}$ , масс. %), определенным методом гравиметрии [5]. Суммарное количество извлеченных фенольных соединений характеризовали величиной оптической плотности ( $D$ ) экстракта, определенной методом фотоколориметрии при длине волны  $\lambda_{\max} = 364$  нм [6]. Антиоксидантная активность (АОА) полученных экстрактов изучалась в условиях инициированного окисления (инициатор — азодиизобутиронитрил,  $T = 343$  К) подсолнечного масла заводского производства. За кинетикой окисления масла наблюдали методом хемиллюминесценции [7]. В качестве активатора хемиллюминесцентного свечения при инициированном окислении подсолнечного масла использовали 9,10-дибромантрацен (ДБА). АОА экстрактов характеризовали величиной  $\tau/\tau_0$ , где  $\tau$  — период индукции окисления масла в присутствии 0,1 масс. % экстракта,  $\tau_0$  — без экстракта (рис. 1).

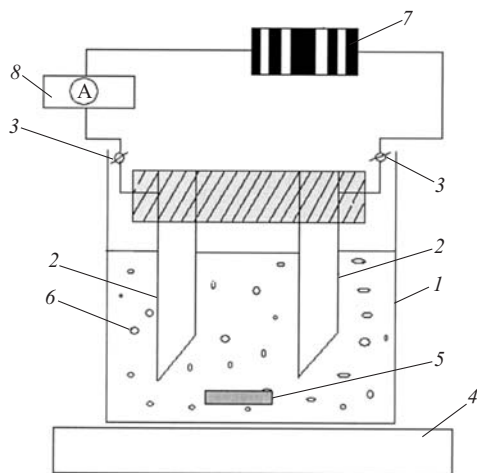


Схема установки для экстрагирования природных антиоксидантов из растительного сырья под действием постоянного электрического тока: 1 — стеклянная емкость; 2 — углеродные электроды; 3 — клеммы для подключения к источнику постоянного тока; 4 — стержень для перемешивания; 5 — магнитная мешалка с подогревом; 6 — растительное сырье; 7 — стабилизированный источник постоянного тока; 8 — амперметр

### Результаты и их обсуждение

Интенсификацию процесса электроэкстракции фенолов из растительного сырья осуществляли подбором экстрагентов, которые могли бы повышать выход эффективных фенольных соединений и одновременно ускорять процесс экстракции. Это достигалось путем использования растворителей, повышающих электропроводность экстракта, растворимость экстрагируемых веществ и обеспечивающих хорошее смачивание растительного сырья.

Использовали водные растворы уксусной и соляной кислот, гидроксида натрия, и поверхностно-активных веществ. Водные растворы уксусной, соляной кислот и гидроксида натрия применяются для экстракции БАВ из лекарственного растительного сырья [6].

Таблица 1  
Состав экстрагентов и характеристики экстрактов из листьев толокнянки, полученных методом мацерации водными растворами уксусной, соляной кислот и гидроксида натрия под действием постоянного электрического тока ( $U = 35$  В,  $I = 250$  мА)

Водный раствор	Концентрация, %	$W_{C.O.}$ , масс %	$D$	АОА, $\tau/\tau_0$
Уксусной кислоты	0 (без электрического тока)	1,8	0,13	1,1
	0,5	3,73	0,20	1,6
	1	3,88	0,22	2,0
	1,5	4,10	0,21	1,9
	2	4,75	0,20	1,8
Соляной кислоты	0,5	4,07	0,09	1,0
	1	4,25	0,12	1,0
Гидроксида натрия	0,5	4,26	0,11	1,0
	1	4,75	0,14	1,0

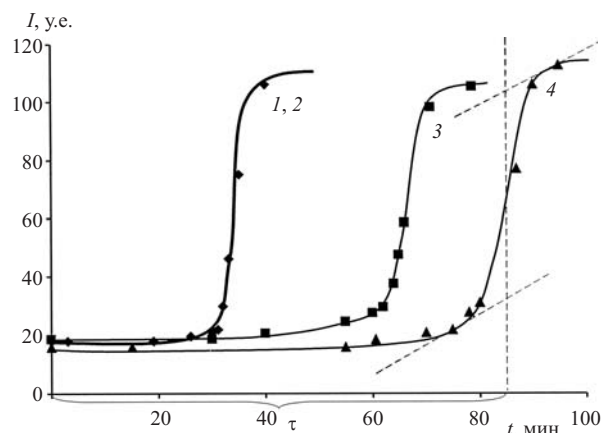


Рис. 1. Кинетические кривые изменения интенсивности хемилюминесценции ( $I$ ) при инициированном ( $[AIBN] = 2 \cdot 10^{-2}$  моль/л,  $[ДБА] = 2 \cdot 10^{-3}$  моль/л,  $T = 343$  К) окислении подсолнечного масла в смеси с хлорбензолом (1:1) без добавок ( $I$ ) и в присутствии экстрактов листьев толокнянки ( $C = 0,1$  масс. %), полученных в электрическом поле ( $U = 35$  В,  $I = 250$  мА): 2 — водный экстракт без электрического поля; 3 — водный экстракт; 4 — уксуснокислый (1 %) экстракт

Данные по количеству извлеченных веществ ( $W_{C.O.}$ , масс. %), оптической плотности ( $D$ ) и АОА ( $\tau/\tau_0$ ) экстрактов из листьев толокнянки, полученных электроэкстракцией растворами уксусной кислоты разной концентрации, представлены в табл. 1, из которой следует, что АОА,  $W_{C.O.}$  и  $D$  экстракта увеличиваются с ростом концентрации уксусной кислоты от 0,5 до 1 %. Наибольшую АОА проявляет экстракт, полученный с использованием 1 % водного раствора уксусной кислоты, что объясняется увеличением выхода активных фенольных соединений из растительного сырья с ростом электропроводности раствора (рис. 2), а также гидролиза экстрагируемых гликозидов флавоноидов с образованием соответствующих агликонов. Дальнейшее увеличение концентрации кислоты в растворе приводит к уменьшению количества извлеченных фенолов и АОА. Это можно объяснить тем, что с ростом

Таблица 2  
Зависимость  $W_{C.O.}$ ,  $D$  и АОА экстрактов листьев толокнянки от концентрации добавок ПАВ при экстракции в электрическом поле ( $U = 35$  В,  $I = 250$  мА). Растворитель 1 % водный раствор уксусной кислоты

ПАВ	Концентрация, моль/л	$W_{C.O.}$ , масс. %	$D$	АОА, $\tau/\tau_0$
Додецилсульфат натрия (ДДС)	$2,2 \cdot 10^{-4}$	3,84	0,19	3,0
$C_{12}H_{25}O_4SNa$	$4,4 \cdot 10^{-4}$	3,82	0,19	3,5
	$8,8 \cdot 10^{-4}$	3,85	0,25	4,3
	$1,8 \cdot 10^{-3}$	3,32	0,24	3,8
	$3,5 \cdot 10^{-3}$	3,08	0,20	2,6
Цетилпиридиний хлорид (ЦПХ)	$1,5 \cdot 10^{-5}$	4,32	0,28	3,1
$C_{16}H_{33}NC_2H_5Cl$	$2,9 \cdot 10^{-5}$	4,16	0,29	3,5
	$5,8 \cdot 10^{-5}$	3,98	0,24	3,1
Полиоксиэтиленсорбитан моноолеат (твин-80)	$4,4 \cdot 10^{-4}$	4,32	0,24	2,3
	$8,8 \cdot 10^{-4}$	3,75	0,30	4,7
$[H(CH_2CH_2O)_{20}O]_3[CH_2OOC]_{17}H_{33}]C_5H_6O$	$1,8 \cdot 10^{-3}$	3,65	0,31	3,2
	$3,5 \cdot 10^{-3}$	3,22	0,30	1,8

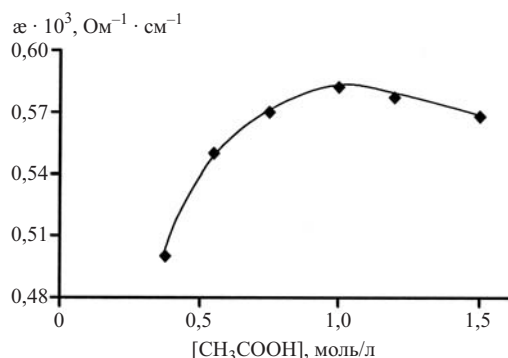


Рис. 2. Зависимость величины удельной электропроводности ( $\kappa$ ) водных растворов уксусной кислоты от концентрации  $\text{CH}_3\text{COOH}$

концентрации уксусной кислоты падает степень ее диссоциации, соответственно и электропроводность (рис 2).

Использование в качестве экстрагентов водных растворов сильных электролитов — соляной кислоты и гидроксида натрия, — не приводит к получению экстрактов с более высокой АОА (табл. 1). Данные экстрагенты повышают общее количество экстрагируемых веществ, но при этом, по-видимому, не обеспечивают повышение выхода фенолов, и, следовательно, не приводят к увеличению АОА экстракта. Соляная кислота увеличивает экстрагирование из сырья балластных веществ, не обладающих антиоксидантными свойствами. Применение раствора гидроксида натрия, кроме того, повышает извлечение полимерных фенолов (дубильных веществ) — малоактивных антиоксидантов. Эффективные мономерные фенолы при щелочной экстракции частично подвергаются окислению [6].

Поскольку процесс твердофазной экстракции связан с проникновением экстрагента в растительное сырье и смачиванием содержимого растительной клетки, то представляется целесообразным добавление к экстрагенту ПАВ, обеспечивающих снижение поверхностного натяжения на границе раздела фаз растительное сырье — экстрагент и улучшающих его смачивание.

Влияние ПАВ разной природы на АОА подкисленного уксусной кислотой экстракта листьев толокнянки представлено в табл. 2. В качестве катионактивного ПАВ использовали цетилпиридиний хлорид (ЦПХ),

анионактивного — додецилсульфат натрия (ДДС), неионогенного — твин-80.

Установлено (табл. 2), что независимо от природы изученного ПАВ его добавка к экстрагенту (1 % водному раствору уксусной кислоты) приводит к увеличению  $W_{\text{C. O.}}$ ,  $D$  и АОА экстракта. С увеличением концентрации ПАВ в экстрагенте выше определенного значения, индивидуального для каждого ПАВ, АОА полученных экстрактов уменьшается, что может быть связано с приближением к критической концентрации мицеллообразования (ККМ). Наиболее эффективным антиоксидантом является экстракт, полученный на основе 1 % водного раствора уксусной кислоты с добавлением  $8,8 \cdot 10^{-4}$  моль/л нетоксичного неионогенного ПАВ — твин-80. Это объясняется, по-видимому, тем, что в составе молекулы твин-80 ( $[\text{H}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{20}\text{O}]_3[\text{CH}_2\text{OOC}_{17}\text{H}_{33}]\text{C}_5\text{H}_6\text{O}$ ) присутствует длинный углеводородный радикал, благодаря чему молекула лучше, чем другие ПАВ, адсорбируется на поверхности растительного материала.

Таким образом, оптимальным экстрагентом, позволяющим наиболее полно извлекать природные антиоксиданты из листьев толокнянки методом мацерации в электрическом поле, является 1 % водный раствор уксусной кислоты с добавлением твина-80 в концентрации  $8,8 \cdot 10^{-4}$  моль/л. Полученный экстракт в концентрации 0,1 масс. % увеличивает стабильность подсолнечного масла при инициированном его окислении более чем в 4 раза.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. Б. Голованчиков, М. В. Попов, *Хим.-фарм. журн.*, **32**(8), 31 – 33 (1998).
2. В. Д. Пономарев, *Экстрагирование лекарственного сырья*, Медицина, Москва (1976), сс. 123 – 137.
3. Н. И. Белая, Т. А. Филиппенко, А. В. Белый и др., *Хим.-фарм. журн.*, **40**(9), 42 – 44 (2006).
4. Я. И. Герасимов (ред.), *Курс физической химии*, Химия, Москва (1973), сс. 397 – 399.
5. Н. И. Базыкина, А. Н. Николаевский, Т. А. Филиппенко, В. Г. Калоева, *Хим.-фарм. журн.*, **36**(2), 46 – 49 (2002).
6. А. Блажей, Л. Шутый, *Фенольные соединения растительного происхождения*, Наука, Москва (1977), сс. 110 – 239.
7. В. Я. Шляпинтох, О. Н. Карпунин, Л. М. Постников и др., *Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов*, Наука, Москва (1966), сс. 91 – 130.

Поступила 23.11.06

## ELECTRIC-FIELD-ASSISTED EXTRACTION OF ANTIOXIDANTS FROM BEARBERRY LEAVES

N. Yu. Gribova, N. I. Belaya, T. A. Filippenko, A. N. Nikolaevskii, A. V. Belyi, and V. A. Zaets

Donetsk National University, Donetsk. Ukraine

Conditions of intensification of the extraction of substances with antioxidant properties from the leaves of bearberry (*Arctostaphylos Adans*) have been studied. It is established that the nature antioxidants are most completely extracted by maceration in a constant electric field ( $U = 35 \text{ V}$ ,  $I = 250 \text{ mA}$ ) for 2 h at 303 K with stirring. The optimum extractant is 1% aqueous solution of acetic acid with additives of surfactant (Twin-80,  $8,8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ). This extract increases the stability (storage time) of sunflower oil more than four times. The proposed method of electroextraction increases the yield of extracted substances with antioxidant properties at a reduced yield of ballast substances without complicating the procedure and increasing the consumption of materials.