

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1585>  
УДК 615.322; 615.451.16



Оригинальная статья / Research article

## Совершенствование технологий выделения и очистки биологически активных веществ из растительного сырья

Г. Н. Турманидзе✉, В. В. Сорокин, К. С. Степанов, М. А. Игнатенко

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

✉ Контактное лицо: Турманидзе Георгий Нодарович. E-mail: georgij.turmanidze@spscc.ru

ORCID: Г. Н. Турманидзе – <https://orcid.org/0000-0001-5121-2343>; В. В. Сорокин – <https://orcid.org/0000-0002-7262-0941>;  
К. С. Степанов – <https://orcid.org/0009-0000-5479-5257>; М. А. Игнатенко – <https://orcid.org/0009-0006-9032-1335>.

Статья поступила: 27.06.2023

Статья принята в печать: 09.10.2023

Статья опубликована: 24.11.2023

### Резюме

**Введение.** Совершенствование технологий выделения и очистки биологически активных веществ из растительного сырья – важная задача для фармацевтической, пищевой и косметической отраслей промышленности. Разработка технологий зачастую требует внесения изменений в конструкцию существующего оборудования. При модернизации оборудования для реализации новых технологий возможна доработка его конфигурации, позволяющая с минимальными затратами значительно повышать выход активных веществ. Для повышения эффективности процесса выделения гесперидина из растительного сырья нами предложен ряд технологических решений. В частности, предложено использовать перемешивающие устройства с конфигурацией импеллеров, разработанных на основе методов вычислительной гидродинамики, а при применении экстрактора Сокслета – обогреваемую экстракционную камеру, полученную путем добавления внешней змеевиковой рубашки, позволяющей регулировать температуру внутри экстракционной камеры для ускорения процессов диффузии и массообмена, а растворитель и экстрагент выбирать на основе термодинамических моделей расчетным способом.

**Цель.** Совершенствование технологии выделения и очистки гесперидина из растительного сырья с использованием модернизированного оборудования.

**Материалы и методы.** Моделирование распределения потоков в экстракционных аппаратах осуществляли с помощью методов вычислительной гидродинамики. Для оценки результатов, полученных на основе моделирования, проводили ряд экспериментов, объектом для которых служила кожура апельсина (высушенные флаведо и альбеда, степень измельчения – 0,1–0,2 мм, влажность – 3,5 %). Количественное содержание комплекса флавоноидов в пересчете на гесперидин определяли методом прямой спектрофотометрии при длине волны 290 нм, количественное содержание гесперидина определяли гравиметрически. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Minitab v21 (Minitab Inc., США), различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждения.** На основе методов вычислительной гидродинамики для интенсификации процессов перемешивания и растворения на стадиях предварительного обезжиривания сырья и экстрагирования спроектирован шестилопастный импеллер, позволяющий ускорить процессы за счет создания осевых и радиальных потоков движения жидкости в емкостном аппарате и поддержания сырья во взвешенном состоянии в объеме жидкости при малых скоростях перемешивания и низком потреблении электроэнергии. Оснащение экстракционной камеры змеевиковой рубашкой позволило значительно повысить растворимость активного вещества и извлекать больше целевого компонента за один экстракционный цикл. Разработана технология выделения и очистки гесперидина, определены и оптимизированы параметры проведения процессов.

**Заключение.** В результате исследования показано, что возможно интенсифицировать процессы экстракции и растворения активных веществ путем подбора перемешивающих устройств методом вычислительной гидродинамики. Для выделения плохо растворимых соединений из плотного сырья (корни, кора и пр.) предложена модификация аппарата Сокслета с обогреваемой экстракционной камерой. Модернизация типовых технологических установок позволила получить субстанцию гесперидина с выходом до 95 % и чистотой до 90 % при однократной перекристаллизации.

**Ключевые слова:** гесперидин, растворимость, оборудование, мацерация, Сокслет, обезжиривание, экстракция

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Г. Н. Турманидзе под руководством В. В. Сорокина разработал проект конструкции импеллера и провел модернизацию аппарата Сокслета. К. С. Степанов, Г. Н. Турманидзе разработали подходы к прогнозированию растворимости веществ на основе термодинамических моделей. В. В. Сорокин, К. С. Степанов, Г. Н. Турманидзе, М. А. Игнатенко участвовали в разработке технологии получения гесперидина, обработке данных и написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

**Финансирование.** Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

**Для цитирования:** Турманидзе Г. Н., Сорокин В. В., Степанов К. С., Игнатенко М. А. Совершенствование технологий выделения и очистки биологически активных веществ из растительного сырья. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):71–79. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1585>

© Турманидзе Г. Н., Сорокин В. В., Степанов К. С., Игнатенко М. А., 2023

© Turmanidze G. N., Sorokin V. V., Stepanov K. S., Ignatenko M. A., 2023

## Improvement of Technologies for Isolation and Purification of Biologically Active Substances from Plant Raw Materials

Georgii N. Turmanidze✉, Vladislav V. Sorokin, Konstantin S. Stepanov, Maxim A. Ignatenko

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ Corresponding author: Georgii N. Turmanidze. E-mail: georgij.turmanidze@spcpcu.ru

ORCID: Georgii N. Turmanidze – <https://orcid.org/0000-0001-5121-2343>; Vladislav V. Sorokin – <https://orcid.org/0000-0002-7262-0941>; Konstantin S. Stepanov – <https://orcid.org/0009-0000-5479-5257>; Maxim A. Ignatenko – <https://orcid.org/0009-0006-9032-1335>.

Received: 27.06.2023

Revised: 09.10.2023

Published: 24.11.2023

### Abstract

**Introduction.** Improving the technologies for isolating and purifying biologically active substances from plant materials is an important task for the pharmaceutical, food and cosmetic industries. Technology development often requires changes to the design of existing equipment. During the modernization of equipment for the implementation of new technologies, it is possible to improve its configuration, which makes it possible to significantly increase the yield of active substances at minimal cost. To increase the efficiency of the process of isolating hesperidin from plant materials, we proposed to use a number of technological solutions. In particular, it is proposed to use mixing devices with the configuration of impellers obtained by computational fluid dynamics, when using a Soxhlet extractor to use a heated extraction chamber, by adding an external coil jacket, which makes it possible to regulate the temperature inside the extraction chamber to accelerate the processes of diffusion and mass transfer, and to select the solvent and extractant on the basis of thermodynamic models by calculation.

**Aim.** Improving the technology for isolating and purifying hesperidin from plant materials using modernized equipment.

**Materials and methods.** Flow distribution in extraction apparatuses was modeled using computational fluid dynamics methods. To evaluate the results obtained on the basis of modeling, a number of experiments were carried out, the object of which was the peel of an orange (dried flavedo and albedo, grinding degree 0.1–0.2 mm, moisture content 3.5 %). The quantitative content of the flavonoid complex in terms of hesperidin was determined by direct spectrophotometry at a wavelength of 290 nm, the quantitative content of hesperidin was determined gravimetrically. Statistical data processing was performed using Minitab v21 software (Minitab Inc., USA), differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

**Results and discussion.** Based on the methods of computational fluid dynamics, to intensify the processes of mixing and dissolution at the stages of preliminary degreasing of raw materials and extraction, a six-bladed impeller was designed, which makes it possible to accelerate these processes by creating axial and radial flows of fluid movement in a capacitive apparatus and maintaining raw materials in suspended state in the volume of liquid at low mixing speeds and energy consumption. Equipping the extraction chamber with a coiled jacket made it possible to significantly increase the solubility of the active substance and extract more of the target component in one extraction cycle. A technology for the isolation and purification of hesperidin was developed, and the parameters of the processes were determined and optimized.

**Conclusion.** As a result of the study, it was shown that it is possible to intensify the processes of extraction and dissolution of active substances by selecting mixing devices using the method of computational fluid dynamics. To isolate poorly soluble compounds from dense raw materials (roots, bark, etc.), a modification of the Soxhlet apparatus with a heated extraction chamber was proposed. Modernization of typical technological units made it possible to obtain the substance of hesperidin with a yield of up to 95 % and a purity of up to 90 % with a single recrystallization.

**Keywords:** hesperidin, solubility, equipment, maceration, Soxhlet, degreasing, extraction

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Georgii N. Turmanidze, under the leadership of Vladislav V. Sorokin, developed the design of the impeller design and carried out the modernization of the Soxhlet apparatus. Konstantin S. Stepanov, Georgii N. Turmanidze developed approaches to predicting the solubility of substances based on thermodynamic models. Vladislav V. Sorokin, Konstantin S. Stepanov, Georgii N. Turmanidze, Maxim A. Ignatenko participated in the development of technology for obtaining hesperidin, data processing and in writing the text of the article. All the authors participated in the discussion of the results.

**Funding.** The results of the work were obtained using the equipment of the Center for Collective Use "Analytical Center of Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University" within the framework of agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021 with the financial support of the Ministry of Education and Science of Russia.

**For citation:** Turmanidze G. N., Sorokin V. V., Stepanov K. S., Ignatenko M. A. Improvement of technologies for isolation and purification of biologically active substances from plant raw materials. *Drug development & registration*. 2023;12(4):71–79. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1585>

## ВВЕДЕНИЕ

Модернизация технологического оборудования и совершенствование технологий выделения и очистки биологически активных веществ из растительного сырья – важная задача для различных отраслей промышленности, таких как фармацевтиче-

ская, пищевая, косметическая и другие. При модернизации экстракционного оборудования с использованием современных технологий возможна доработка его конфигурации, позволяющая с минимальными затратами значительно повышать выход целевых веществ в экстрагент. Модернизация особенно актуальна при выделении активных субстан-

ций, так как реализация таких процессов на оборудовании, произведенном под конкретный процесс или группу процессов, позволяет направленно извлекать вещества, сокращать количество стадий очистки и время проведения процессов.

В рамках данного исследования разработана технология получения гесперидина из растительного сырья, предложены новые конструкции оборудования и технологические решения на их основе.

**Гесперидин** – одно из широко используемых активных веществ, получаемых из растительного сырья, относится к классу флавоноидов, в значительных количествах он и его производные содержатся в кожуре и мякоти цитрусовых: апельсинов (*Citrus sinensis*), мандаринов (*Citrus reticulata*), лайма (*Citrus aurantifolia*), лимона (*Citrus limon*). Гесперидин является ценной субстанцией, так как проявляет несколько фармакологических эффектов, включая антиоксидантный, противовоспалительный, антиаллергический, противоотечный, противокариесный, кардиопротективный [1–3]. Эти фармакологические эффекты гесперидина обуславливают его широкое применение в качестве ингредиента в диетических добавках и фармацевтических препаратах. На данный момент проведено несколько исследований, которые показывают эффективность гесперидина при лечении Covid-19 при приеме в качестве дополнительного средства и при использовании для снижения проявления негативных последствий для здоровья у переболевших [4]. Гесперидин является также полупродуктом для получения диосмина, вещества, проявляющего схожие фармакологические эффекты, но обладающего более выраженным фармакологическим действием.

Для выделения гесперидина наиболее целесообразным с экономической точки зрения представляется использование в качестве сырья кожуры апельсинов ввиду ее большой распространенности как отхода пищевой промышленности. Около 30 % собираемых ежегодно апельсинов (в среднем около 70 млн тонн в год в мире) используется в производстве соков, где практически 50 % всей фруктовой массы приходится на отходы производства (шрот)<sup>1</sup> [5, 6].

В промышленности гесперидин получают из кожуры с помощью щелочной экстракции. Измельченную кожуру смешивают с водой и раствором NaOH, доводя pH до значений 11,0–11,5. Далее проводят процесс мацерации при перемешивании с числом оборотов мешалки 100–300 об/мин. Через 1–3 часа отделяют сырье, а жидкую фазу направляют на стадию фильтрования. Затем к отфильтрованному продукту добавляют кислоту (серная, соляная, уксусная) для доведения pH до 4,2–4,5 и нагревают раствор при 40–45 °C в течение 12–24 часов. Образовавшиеся таким образом кристаллы гесперидина и со-

путствующих веществ отделяют и сушат. Как правило, эта процедура позволяет сформировать флавоноидный комплекс, содержащий 60–70 % гесперидина. Для получения более чистого гесперидина требуются дополнительные стадии перекристаллизации. Для получения гесперидина с чистотой более 90 % требуется не менее трех перекристаллизаций [7–10].

Данная технология обладает существенными недостатками. Традиционный метод экстракции – мацерация, – применяемый в данной технологии, является очень длительным и трудоемким [11, 12]. Полученные после стадии экстракции извлечения являются сильно загрязненными и трудно фильтруемыми. Как показали наши исследования, при гидромодуле 1:5 и температуре экстрагента 20 °C через 20–30 минут наблюдается распад сырья в щелочной среде с образованием раствора повышенной вязкости, что, в свою очередь, приводит к сложности отделения жидкости от твердых частиц. Кроме того, одновременно экстрагируются и другие соединения, что снижает чистоту выделяемых кристаллов гесперидина. В связи с загрязненностью полученного первичного осадка гесперидина процесс получения очищенной субстанции занимает много времени и требует значительного расхода кислот и оснований.

**Целью исследования** является совершенствование технологии выделения и очистки гесперидина из растительного сырья и модернизация конструкций применяемого оборудования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследованиях использовали кожуру (флаведо и альбеда) апельсина, высушенную при температуре 50–60 °C до остаточной влажности  $3,5 \pm 1,0$  %.

В качестве экстрагентов использовали спирт этиловый 96%-й (х. ч., «Альфа», АО «АминоСиб», Россия, ГОСТ Р 5962-2013), петролейный эфир (40/70, ООО «НеваРеактив», Россия, ТУ 2631-074-44493179-2001).

Для создания щелочной среды использовали кальция гидроокись (ГОСТ 9262-77), натрия гидроокись (х. ч., ГОСТ 4328-77, АО «АМК-Групп», Россия).

Для создания кислой среды использовали соляную кислоту (х. ч., «Химмаг-СПб»).

Экстракцию сырья методом мацерации проводили следующим образом: навеску сырья, измельченного до размера частиц 0,1–0,2 мм, взвешивали на весах лабораторных электронных Сартогосм SE224-C (ООО «Сартогосм», Россия), загружали в емкостной аппарат. Аппарат термостатировали с помощью водяной бани, температура экстракции – 50 °C.

Экстракцию сырья на модернизированном аппарате типа «сокслет» проводили при температуре экстракционной камеры 50 °C. Конструкция аппарата – собственная разработка кафедры процессов и аппаратов химической технологии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава РФ.

<sup>1</sup> Statistics Division. Crops and livestock products. Food and Agricultural Organization of the United Nations. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Accessed: 10.03.2023.

Количественное определение суммы флавоноидов проводили на многоцелевом спектрофотометре UV-1280 фирмы Shimadzu спектрофотометрическим методом при длине волны 290 нм, используя в качестве стандартного образца рабочий стандартный образец гесперидина (CAS № 520-26-3, ООО «Геофарма», Россия).

Содержание гесперидина определяли гравиметрическим методом. Образцы кожуры апельсина высушивали при 70 °С до влажности 3 % и измельчали. Сырье помещали в экстрактор, где проводили три последовательные экстракции с перемешиванием. Каждую экстракцию проводили раствором этанола 96% в соотношении 1:200 (масс./об.). Три экстракта объединяли, гесперидин выделяли перекристаллизацией. Измеряли массу осадка.

Проводили качественный анализ ВЭЖХ-хроматограмм, полученных на жидкостном хроматографе Prominence LC-20 (Shimadzu Corporation, Япония) с колонкой Supelcosil C18 (250 × 4,6, 5 мкм), оснащенном диодно-матричным детектором SPD-M20A.

Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с требованиями ОФС 1.1.0013.15 Государственной фармакопеи РФ XIV издания [13] с использованием программного обеспечения Minitab v21 (Minitab Inc., США). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Важной технологической процедурой в технологии экстракции сырья, содержащего значительные количества эфирных масел и других веществ липофильной природы, является обезжиривание. Оно может выполняться перед стадией экстракции (обезжиривание сырья) или после экстрагирования (экстракция «жидкость – жидкость») для полученной вытяжки. В обоих случаях обезжиривание позволяет избавиться от неполярных балластных веществ и тем са-

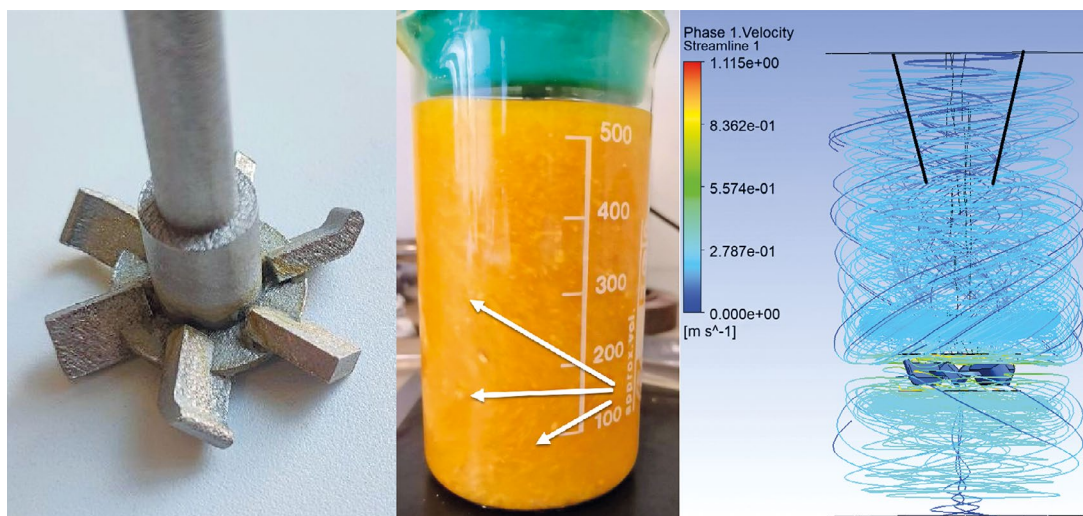
мым улучшить чистоту продукта. Предварительное обезжиривание сырья также может приводить к более высокому выходу целевых веществ за счет открытия пор растительного сырья и ускорения процессов диффузии [5, 14].

Предварительные расчеты растворимости гесперидина на основе термодинамических моделей показали, что гесперидин обладает низкой растворимостью в бензоле, хлороформе, дихлорметане, диэтиловом эфире.

В кожуре апельсина в большом количестве содержится эфирное масло и пигменты, которые являются хорошо растворимыми как в вышеперечисленных органических растворителях, так и в концентрированных спиртах. Поэтому применение дихлорметана или диэтилового эфира для предварительного обезжиривания представляется целесообразным.

Произведено трехкратное обезжиривание сырья петролевым эфиром. В ходе дальнейших опытов было установлено, что достаточным условием получения гесперидина с чистотой 90 % является однократная мацерация при соотношении «сырье:эфир» 1:10, времени экстрагирования 1 час, скорости перемешивания 200 об/мин, температуре 20 °С.

Для повышения эффективности мацерации использовали мешалку с импеллером собственной разработки, создающую радиально-осевые течения в жидкости и обеспечивающую интенсивное перемешивание сырья во всем объеме аппарата при низких скоростях вращения. Проектирование импеллера провели на основе вычислительной гидродинамики – современного метода моделирования, который позволяет предсказывать и оптимизировать производительность устройства на стадии проектирования. С помощью аддитивных технологий на основе модели был изготовлен импеллер из стали (рисунок 1).



**Рисунок 1.** Модернизированный шестилопастный импеллер (направление движения частиц сырья указано стрелками)

**Figure 1.** Upgraded six-blade impeller (the direction of movement of raw material particles is indicated by arrows)

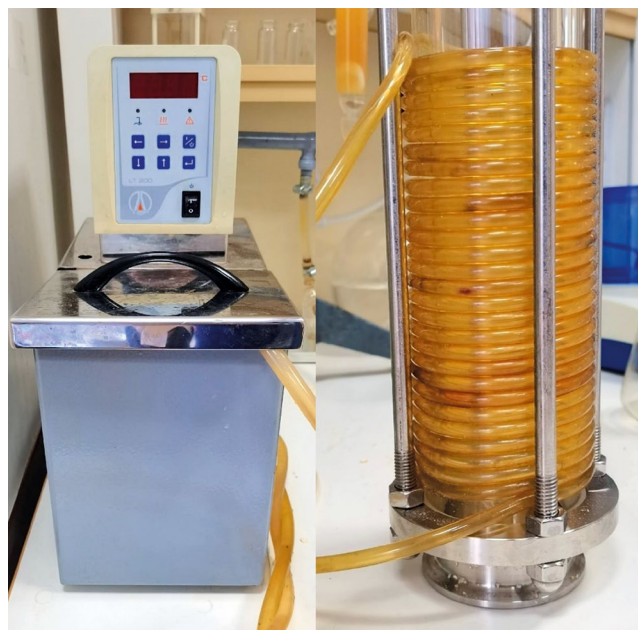
Особенностью конфигурации импеллера является наличие лопаток разной формы, что приводит к циркуляции сырья в нескольких направлениях одновременно: тангенциально по окружности аппарата и радиально в верхнем и нижнем направлении. Такая интенсификация процесса перемешивания приводит к более быстрому переходу липофильной фракции в экстрагент и его насыщению по сравнению с использованием турбинной и стандартной шестилопастной мешалки.

Альтернативой щелочному методу экстракции является использование органических растворителей [15]. Оценка растворимости гесперидина в различных спиртах на основе термодинамических моделей показала, что гесперидин обладает удовлетворительной растворимостью в концентрированных метиловом и этиловом спиртах. Спрогнозированная растворимость гесперидина в спиртах уменьшается в ряду: пропиленгликоль, метанол, этанол, пропанол, бутанол, изопропанол.

Хотя метанол и этанол являются селективными растворителями для экстракции гесперидина, проявляемая ими относительно низкая экстрагирующая и растворяющая способность ограничивает их применение. Для извлечения гесперидина из сырья необходима многократная обработка сырья экстрагентом, например, методами перколяции, ремацерации с делением экстрагента на части, экстракции в аппарате Сокслета [16, 17]. Применение перколяции и ремацерации в данном случае не является целесообразным, так как требует значительного расхода спирта ввиду низкой растворимости гесперидина. Недостатком использования типового аппарата Сокслета является то, что экстрагент после испарения попадает в холодильник-конденсатор и далее, охлажденный, направляется на экстракцию. Холодный спирт не может обеспечить необходимую скорость экстракции и растворения, процесс насыщения экстрагента будет занимать длительное время.

Нами было предложено провести модернизацию типового аппарата Сокслета путем обеспечения нагревания спирта в экстракционной камере. Обогрев камеры ускоряет процесс экстракции, поскольку повышение температуры способствует повышению скорости диффузионных и массообменных процессов внутри клеток и на границах фаз.

Выход гесперидина увеличивается с повышением температуры [18]. Нагрев обеспечили змеевиковой рубашкой, выполненной из силиконового шланга, подача обогревающей воды обеспечивалась циркуляционным термостатом. Температура жидкости в обогреваемой камере не должна превышать температуру кипения растворителя, в связи с чем она была установлена на уровне  $50 \pm 5$  °C. Контроль температуры осуществляли с помощью цифровых термометров, установленных в пробоотборниках в верхней и нижней части рабочей камеры (рисунок 2).



**Рисунок 2.** Модернизированная обогреваемая камера аппарата Сокслета

**Figure 2.** Upgraded heated chamber of the Soxhlet apparatus

Экстракцию гесперидина на разработанной установке исследовали, варьируя состав растворителя и массообъемное соотношение твердого вещества (сырья) к растворителю, время экстракции (количество циклов). Оценку эффективности экстракции осуществляли, сравнивая выход флавоноидов (в пересчете на гесперидин) к массе сырья в сравнении с методом мацерации и общим содержанием флавоноидов в сырье.

Как известно, гидромодуль может оказывать значительное влияние на выход активных веществ в экстрагент [19]. Влияние гидромодуля на выход флавоноидов из сырья при температуре экстракции 50 °C представлено в таблице 1.

**Таблица 1.** Зависимость содержания флавоноидов в % в пересчете на массу сырья от гидромодуля

**Table 1.** The dependence of the flavonoid content in % in terms of the mass of raw materials on the hydromodule

|                                                                                                                                 |     |      |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------|------|
| Соотношение «масса сырья: объем экстрагента»<br>The ratio of the mass of raw materials to the volume of extractant              | 1:5 | 1:10 | 1:20 |
| Содержание флавоноидов в % в пересчете на массу сырья<br>The content of flavonoids (%) in relation to the mass of raw materials | 1,4 | 2,1  | 2,1  |

Исходя из данных, подставленных в таблице 1, оптимальным массообъемным соотношением является 1:10. Результаты динамики экстрагирования суммы флавоноидов в пересчете на гесперидин метода-

ми мацерации (1) и по Сокслету (2) представлены на рисунке 3.

После проведения процесса экстрагирования в течение 12 часов содержание флавоноидов достигает 3,85 % и далее практически не повышается. Таким образом, по результатам исследований установлено, что экстракция сырья на разработанной установке позволяет извлечь на 30 % больше веществ флавоноидной природы по сравнению с мацерацией при проведении процесса в течение 6 часов или на 50 % при проведении экстракции в течение 12 часов.

Дополнительным преимуществом проведения процесса в установке Сокслета является чистота получаемого извлечения и повышенная скорость фильтрации раствора после проведения процесса экстрагирования.

Для выделения гесперидина из экстракта была проведена замена растворителя на воду с помощью выпаривания спирта. Полученный водный экстракт охлаждали до комнатной температуры и выстаивали в течение 2 дней. Полученный осадок сушили в полочной сушилке при температуре 50 °С в течение трех часов.

Очистку проводили в 2 стадии. На первом этапе полученный сухой осадок растворяли в растворе NaOH с pH 10,5–11,0. Не рекомендуется превышать значение pH=11,0 ввиду наличия сведений в литературе о нестабильности соединения при значениях pH выше 11,0. На втором этапе для выделения очищенного гесперидина раствор фильтровали под вакуумом, а затем к полученному фильтрату добавляли 0,1 н. раствор HCl доводя его pH до 5,5–6,0. Полученный раствор термостатировали в течение 24 часов при комнатной температуре в темном месте. Гесперидин выпадал в осадок, который далее направляли на стадию фильтрации под вакуумом и промывали его десятикратным (по отношению к массе осадка) количеством дистиллированной воды не ме-

нее 3 раз. Затем промытый осадок высушивали в полочном сушильном шкафу при 50 °С в течение 3 часов. Полученный осадок представлял собой порошок белого цвета с кремовым оттенком.

Выход гесперидина при использовании аппарата Сокслета составил  $0,305 \pm 0,028$  % от массы сырья, при проведении мацерации выход составил  $0,230 \pm 0,018$  %. Установлено, что в среднем содержание гесперидина в кожуре апельсина составляет 0,32 %. Таким образом, можно говорить о том, что при экстракции сырья в модернизированной установке Сокслета извлекается около 95 % гесперидина, выход при экстракции методом мацерации – около 65–70 % гесперидина.

Провели качественный анализ полученного осадка методом ВЭЖХ [7, 20]. Условия аналитической хроматографии представлены в таблице 2: подвижная фаза А – 0,1 % об. тетрафторуксусной кислоты (ТФУ) в сверхчистой H<sub>2</sub>O; подвижная фаза В – 0,1 % об. ТФУ в ацетонитриле класса «для ВЭЖХ», скорость подвижной фазы составляла 1 мл/мин. Чистоту гесперидина сравнивали со стандартным рабочим образцом, чистота которого по сертификату  $\geq 95$  %.

Таблица 2. Условия аналитической ВЭЖХ

Table 2. Analytical HPLC conditions

| Состав подвижной фазы, %B<br>Mobile phase composition, %B | Время, мин<br>Time, min |
|-----------------------------------------------------------|-------------------------|
| 5                                                         | 0                       |
| 5                                                         | 5                       |
| 100                                                       | 45,75                   |
| 100                                                       | 50                      |
| 5                                                         | 60                      |
| 5                                                         | 65                      |

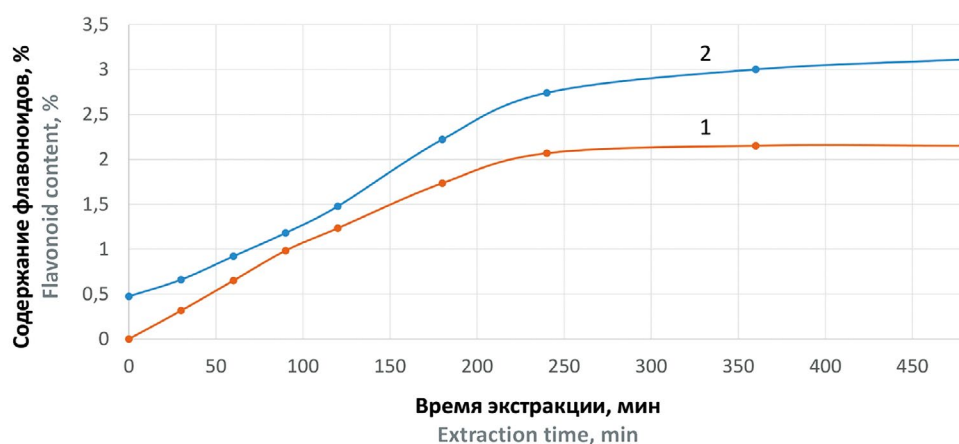


Рисунок 3. Кинетика экстракции суммы флавоноидов из кожуры апельсина методом мацерации (1) и по Сокслету (2)

Figure 3. Kinetics of extraction of the sum of flavonoids from orange peel by maceration (1) and soxhlet (2) methods

На рисунке 4 представлена хроматограмма гесперидина при 280 нм стандартного образца, на рисунке 5 – полученной субстанции гесперидина. Чистота полученного гесперидина по методу ВЭЖХ составила 90 %.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана технология выделения очищенного гесперидина с содержанием целевого компонента в субстанции 90 % (при однократной перекристаллизации). Для повышения выхода и чистоты продукта разработаны модификации оборудования под процесс: методом вычислительной гидродинамики с помощью аддитивных технологий получена новая конфигурация перемешивающего устройства, позволяющая интенсифицировать процесс экстраги-

рования; предложена модификация аппарата Сокслета с обогреваемой камерой для повышения растворимости гесперидина в экстрагенте. С помощью термодинамических методов установлены растворители, использование которых на стадиях производства позволяет получать гесперидин с высоким выходом.

Установлены основные параметры процессов обезжиривания и экстрагирования. Рекомендовано однократное обезжиривание, соотношение «сырье:растворитель» 1:10, температура – 20 °С, скорость перемешивания – 200 об/мин. Показано, что при использовании мацерации в качестве метода экстрагирования выход гесперидина составляет 65–70 % от содержания в сырье. Рекомендованные параметры проведения процесса: экстрагент – спирт этиловый 96%-й, гидромодуль 1:10, температура

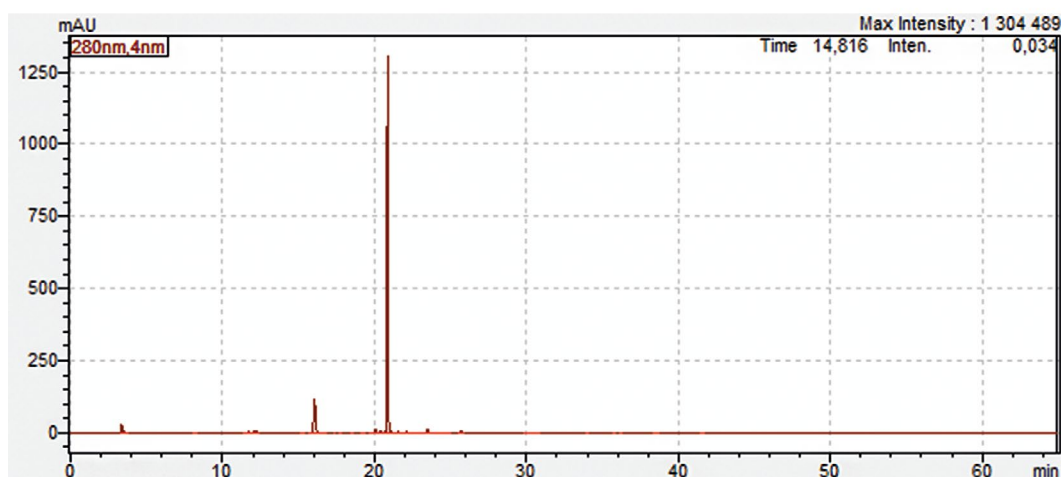


Рисунок 4. Хроматограмма стандартного образца гесперидина

Figure 4. Chromatogram of Hesperidin Reference Standard

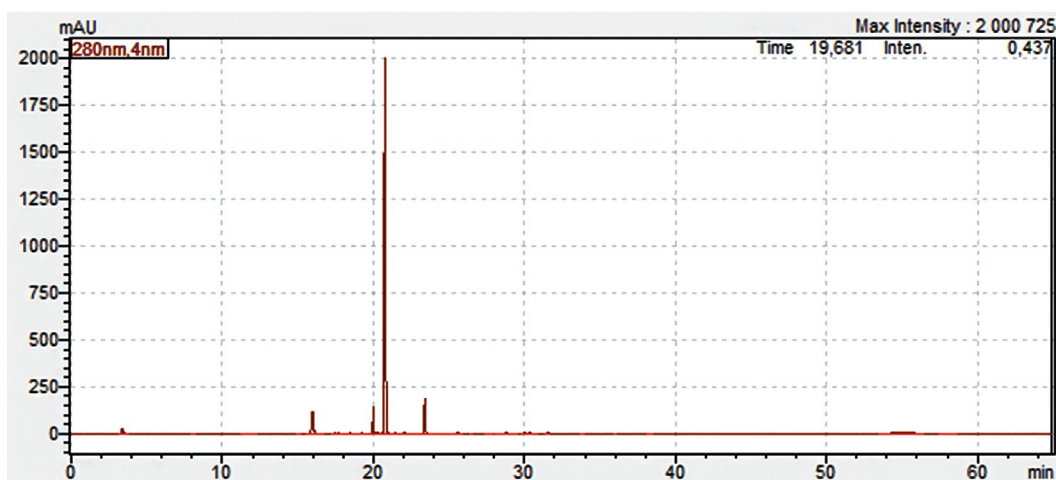


Рисунок 5. Хроматограмма гесперидина, полученного по разработанной технологии

Figure 5. Chromatogram of hesperidin obtained using the developed technology

экстракции – 50 °С, время экстракции – 6 часов. При экстрагировании в установке Сокслета рекомендуемые параметры: экстрагент – спирт этиловый 96%-й, гидромодуль 1:10, температура экстракции – 50 °С (обогреваемая камера), время экстракции – 6 часов. Выход гесперидина – 90–95 % от содержания в сырье.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Syahputra R. A., Harahap U., Dalimunthe A., Nasution M. P., Satria D. The Role of Flavonoids as a Cardioprotective Strategy against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity: A Review. *Molecules*. 2022;27(4):1320. DOI: 10.3390/molecules27041320.
2. Li C., Schluesener H. Health-promoting effects of the citrus flavanone hesperidin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017;57(3):613–631. DOI: 10.1080/10408398.2014.906382.
3. Jiang Q., Charoensiddhi S., Xue X., Sun B., Liu Y., El-Seedi H. R., Wang K. A review on the gastrointestinal protective effects of tropical fruit polyphenols. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2023;63(24):7197–7223. DOI: 10.1080/10408398.2022.2145456.
4. Tirado-Kulieva V. A., Hernández-Martínez E., Choque-Rivera T. J., Phenolic compounds versus SARS-CoV-2: An update on the main findings against COVID-19. *Heliyon*. 2022;8(9):e10702. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e10702.
5. Zheng W., Wu F., Luo X., Bian C., Zhang Y., Yin F., Liu H., Fu Y. Separation of Citrus Essential Oil and Hesperidin from Citrus Peel Through Combined Mixed-Solvent and Multi-Phase Salting Out Extraction. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2022;25(4):899–909. DOI: 10.1080/0972060X.2022.2113147.
6. Kim J.-W., Ko H. C., Jang M.-G., Han S. H., Kim H. J., Kim S.-J. Phytochemical content and antioxidant activity in eight citrus cultivars grown in Jeju Island according to harvest time. *International Journal of Food Properties*. 2023;26(1):14–23. DOI: 10.1080/10942912.2022.2151620.
7. Ichim M. C., Scotti F., Booker A. Quality evaluation of commercial herbal products using chemical methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;1–21. DOI: 10.1080/10408398.2022.2140120.
8. Peng Q., Zhang Y., Zhu M., Bao F., Deng J., Li W. Polymethoxyflavones from citrus peel: advances in extraction methods, biological properties, and potential applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;1–13. DOI: 10.1080/10408398.2022.2156476.
9. Zhou P., Zheng M., Li X., Zhou J., Shang Y., Li Z., Qu L. A consecutive extraction of pectin and hesperidin from Citrus aurantium L.: Process optimization, extract mechanism, characterization and bio-activity analysis. *Industrial Crops and Products*. 2022;182:114849. DOI: 10.1016/j.indcrop.2022.114849.
10. Sanches V. L., de Souza Mesquita L. M., Viganó J., Contieri L. S., Pizani R., Chaves J., da Silva L. C., de Souza M. C., Breitkreitz M. C., Rostagno M. A. Insights on the Extraction and Analysis of Phenolic Compounds from Citrus Fruits: Green Perspectives and Current Status. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2022;1–27. DOI: 10.1080/10408347.2022.2107871.
11. Белокуров С. С., Флисюк Е. В., Смехова И. Е. Выбор метода экстрагирования для получения извлечений из семян пажитника сеного с высоким содержанием биологически активных веществ. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(3):35–39.
12. Oliveira A. M. B., Viganó J., Sanches V. L., Rostagno M. A., Martínez J. Extraction of potential bioactive compounds from industrial Tahiti lime (*Citrus latifolia* Tan.) by-product using pressurized liquids and ultrasound-assisted extraction. *Food Research International*. 2022;157:111381. DOI: 10.1016/j.foodres.2022.111381.
13. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. Т. 1. М.: ФЭМБ; 2018. 1814 с.
14. Бубенчиков Р. А., Саканян Е. И., Зубкова Н. В., Добрынин В. П., Горяинов С. В., Хажжар Ф., Платонов Е. А., Писарев Д. И., Абрамович Р. А. Разработка и валидация методики количественного определения остаточных органических растворителей в препаратах аллергенов методом ГЖХ. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(2):159–168. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-2-159-168
15. Вайнштейн В. А., Каухова И. Е., Амелина П. С., Колдашова Ю. А., Минина С. А., Иванова А. В. Полиэкстракция травы эхинацеи системами экстрагентов с возрастающей полярностью. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;(3):54–63.
16. Чистова Ю. И. Определение оптимальных условий экстракции сбора одуванчика лекарственного травы и лопуха большого листа методами математического планирования многофакторного эксперимента. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(1):24–28. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-1-24-28.
17. Pyrzynska K. Hesperidin: A Review on Extraction Methods, Stability and Biological Activities. *Nutrients*. 2022;14(12):2387. DOI: 10.3390/nu14122387.
18. Zhou P., Li X., Zhou J., Yang Y., Zhi J., Shen L. Mass transfer mechanism of the multivariate consecutive extraction process of pectin and hesperidin from Citrus aurantium L.: Kinetics, thermodynamics, diffusion and mass transfer coefficients. *Separation and Purification Technology*. 2023;311:123339. DOI: 10.1016/j.seppur.2023.123339.
19. Каухова И. Е., Новикова Е. К., Чачин Д. А. Разработка условий экстрагирования череды трехраздельной травы, золотарника канадского травы, репешка обыкновенного травы. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;(3):64–67.
20. Chen L., Zhu S., Wang C., Chen L. Development of a HPLC-UV Method for the Separation and Quantification of Hesperidin, Neohesperidin, Neohesperidin Dihydrochalcone and Hesperetin. *Natural Product Research*. 2023;37(10):1714–1718. DOI: 10.1080/14786419.2022.2104275.

## REFERENCES

1. Syahputra R. A., Harahap U., Dalimunthe A., Nasution M. P., Satria D. The Role of Flavonoids as a Cardioprotective Strategy against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity: A Review. *Molecules*. 2022;27(4):1320. DOI: 10.3390/molecules27041320.
2. Li C., Schluesener H. Health-promoting effects of the citrus flavanone hesperidin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017;57(3):613–631. DOI: 10.1080/10408398.2014.906382.
3. Jiang Q., Charoensiddhi S., Xue X., Sun B., Liu Y., El-Seedi H. R., Wang K. A review on the gastrointestinal protective effects of tropical fruit polyphenols. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2023;63(24):7197–7223. DOI: 10.1080/10408398.2022.2145456.
4. Tirado-Kulieva V. A., Hernández-Martínez E., Choque-Rivera T. J., Phenolic compounds versus SARS-CoV-2: An update on the main findings against COVID-19. *Heliyon*. 2022;8(9):e10702. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e10702.
5. Zheng W., Wu F., Luo X., Bian C., Zhang Y., Yin F., Liu H., Fu Y. Separation of Citrus Essential Oil and Hesperidin from Citrus Peel Through Combined Mixed-Solvent and Multi-Phase Salting Out Extraction. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2022;25(4):899–909. DOI: 10.1080/0972060X.2022.2113147.
6. Kim J.-W., Ko H. C., Jang M.-G., Han S. H., Kim H. J., Kim S.-J. Phytochemical content and antioxidant activity in eight citrus cultivars grown in Jeju Island according to harvest time. *International Journal of Food Properties*. 2023;26(1):14–23. DOI: 10.1080/10942912.2022.2151620.
7. Ichim M. C., Scotti F., Booker A. Quality evaluation of commercial herbal products using chemical methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;1–21. DOI: 10.1080/10408398.2022.2140120.
8. Peng Q., Zhang Y., Zhu M., Bao F., Deng J., Li W. Polymethoxyflavones from citrus peel: advances in extraction methods, biological properties, and potential applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;1–13. DOI: 10.1080/10408398.2022.2156476.

9. Zhou P., Zheng M., Li X., Zhou J., Shang Y., Li Z., Qu L. A consecutive extraction of pectin and hesperidin from *Citrus aurantium* L.: Process optimization, extract mechanism, characterization and bio-activity analysis. *Industrial Crops and Products*. 2022;182:114849. DOI: 10.1016/j.indcrop.2022.114849.
10. Sanches V. L., de Souza Mesquita L. M., Viganó J., Contieri L. S., Pizani R., Chaves J., da Silva L. C., de Souza M. C., Breikreitz M. C., Rostagno M. A. Insights on the Extraction and Analysis of Phenolic Compounds from Citrus Fruits: Green Perspectives and Current Status. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2022;1–27. DOI: 10.1080/10408347.2022.2107871.
11. Belokurov S. S., Flysyuk E. V., Smekhova I. E. Choice of extraction method for receiving extraction from seeds of payne hay with the high content of biologically active substances. *Drug development & registration*. 2019;8(3):35–39. (In Russ.)
12. Oliveira A. M. B., Viganó J., Sanches V. L., Rostagno M. A., Martínez J. Extraction of potential bioactive compounds from industrial Tahiti lime (*Citrus latifolia* Tan.) by-product using pressurized liquids and ultrasound-assisted extraction. *Food Research International*. 2022;157:111381. DOI: 10.1016/j.foodres.2022.111381.
13. State Pharmacopeia of the Russian Federation XIV edition. Volume 1. Moscow: FEMB; 2018. 1814 p. (In Russ.)
14. Bubenichikov R. A., Sakanyan E. I., Zubkova N. V., Dobrynin V. P., Goriainov S. V., Hajjar F., Platonov E. A., Pisarev D. I., Abramovich R. A. Development and Validation of a Procedure for the Quantitative Determination of Residual Organic Solvents in Allergen Preparations by GC. *Drug development & registration*. 2022;11(2):159–168. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-2-159-168
15. Vainshtein V. A., Kauhova I. E., Amelina P. S., Koldashova Yu. A., Minina S. A., Ivanova A. V. Polyextraction of herbs of echinacea by systems of extractions with rising polarity. *Drug development & registration*. 2018;(3):54–63. (In Russ.)
16. Chistova Yu. I. Determination of the optimal extraction conditions of dandelion herb and large burdock leaf specie by methods of mathematical planning of a multifactorial experiment. *Drug development & registration*. 2019;8(1):24–28. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-1-24-28.
17. Pyrzynska K. Hesperidin: A Review on Extraction Methods, Stability and Biological Activities. *Nutrients*. 2022;14(12):2387. DOI: 10.3390/nu14122387.
18. Zhou P., Li X., Zhou J., Yang Y., Zhi J., Shen L. Mass transfer mechanism of the multivariate consecutive extraction process of pectin and hesperidin from *Citrus aurantium* L.: Kinetics, thermodynamics, diffusion and mass transfer coefficients. *Separation and Purification Technology*. 2023;311:123339. DOI: 10.1016/j.seppur.2023.123339.
19. Kauhova I. E., Novikova E. K., Chachin D. A. The development conditions for extraction of the *Bidens tripartita* L., *Solidago canadensis* L. and *Agrimonia eupatoria* L. herbs. *Drug development & registration*. 2018;(3):64–67. (In Russ.)
20. Chen L., Zhu S., Wang C., Chen L. Development of a HPLC-UV Method for the Separation and Quantification of Hesperidin, Neohesperidin, Neohesperidin Dihydrochalcone and Hesperetin. *Natural Product Research*. 2023;37(10):1714–1718. DOI: 10.1080/14786419.2022.2104275.