

УДК 615.322

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ БЕРЕЗОВЫХ ПОЧЕК, ПОЛУЧЕННЫХ ЭКСТРАКЦИЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УЛЬТРАЗВУКА

О.Ю. Кузнецова^{1*}, Е.Г. Горелова¹, Д.И. Фахрутдинова¹, Р.З. Гильманов¹

Резюме. Изучено влияние длительности ультразвукового воздействия на общий выход биологически активных веществ при экстрагировании березовых почек экстрагентами разной полярности. В качестве экстрагентов использовали воду, 70% водный раствор этанола и смесь изопропанол – вода в соотношении 60:40. Экстракцию проводили методом мацерации. Анализ полученных извлечений проводился по степени извлечения экстрактивных веществ из сырья, содержанию аскорбиновой кислоты и углеводов. Интенсификация процесса экстрагирования ультразвуком происходит независимо от используемого экстрагента. Наблюдается увеличение общего выхода экстрактивных веществ, в том числе и углеводов, содержание же аскорбиновой кислоты в экстрактах уменьшается либо полностью отсутствует.

Ключевые слова: экстракты, почки березовые, этиловый и изопропиловый спирты.

THE TESTING EXTRACTIVES OF BIRCH BUDS, OBTAINED BY EXTRACTION USING ULTRASOUND

O.Yu. Kuznetsova^{1*}, E.G. Gorelova¹, D.I. Fakhrutdinova¹, R.Z. Gilmanov¹

Abstract. The study was carried out on the effect of the duration of ultrasonic influence on the total output of biologically active substances from the extraction of birch buds extractants of different polarity. The water, 70% aqueous solution of ethanol and mixture of isopropanol-water 60:40 were used as extractants. Extraction was conducted by maceration. Analysis of the obtained extracts was performed by the degree of extraction of extractive substances from raw materials, the content of ascorbic acid and carbohydrates. The intensification of the process of extracting the ultrasound is not depending on the extractant. There is an increase in overall yield of extractives, including carbohydrates, while the content of ascorbic acid in the extracts is reduced or completely absent.

Keywords: extracts of birch buds, ethyl and isopropyl alcohols.

1 – ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»), 420015, Россия, г. Казань, ул. К. Маркса, д. 68

1 – Federal State Educational Institution of Higher Education Kazan National Research Technological University (VO «KNRTU»), 68, K. Marx str., Kazan, 420015, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: kuznetsovaolga@mail.ru
Тел.: 8 (843) 231 95 71

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственное растительное сырье – березы почки (*Betulae gemmae*) согласно Государственной фармакопее [1] собирают и высушивают с дикорастущих деревьев березы повислой (березы бородавчатой) *Betula pendula* Roth (*Betula verrucosa* Ehrh.) и березы пушистой *Betula pubescens* Ehrh. семейства березовых – *Betulaceae*. Березовые почки (БП) являются уникальным природным средством, помогающим избавиться от ряда заболеваний. Их применяют при отеках сердечно-сосудистого происхождения, в качестве мочегонного или желчегонного средства, используют при лечении заболеваний печени и желчных путей, при бронхитах, трахеитах, а также в качестве дезинфицирующего и отхаркивающего средства.

Химический состав березовых почек достаточно разнообразен. В серии работ Д.Н. Ведерни-

кова и др. [3–7] были идентифицированы и исследованы экстрактивные вещества почек березы повислой *Betula pendula* Roth (*Betulaceae*). Анализ экстрактивных веществ проводился в углеводородных экстрактах (последовательное экстрагирование петролевым и диэтиловым эфирами) с помощью газохроматографических методов анализа. В углеводородных экстрактах последовательно идентифицированы жирные кислоты, углеводороды, сложные эфиры, карбонильные соединения и оксиды, тритерпеновые кислоты, флавоноиды, спирты и эфиры, сесквитерпеновые диолы, триолы, тритерпеновые секо-кислоты и др.

Нами в работе [8] были исследованы водные и изопропиловые извлечения березовых почек с применением ультразвукового воздействия. Показано, что использование ультразвука наиболее эффективно на начальной стадии экстракции. Ультразвуковое воздействие активизирует

экстракционный процесс, позволяя наиболее полно извлекать экстрактивные вещества из БП. Подобраны оптимальные режимы экстрагирования и экстрагенты. При этом полученные извлечения характеризуются высоким выходом экстрактивных веществ и содержанием аскорбиновой кислоты.

Содержание аскорбиновой кислоты (АК), или витамина С, в БП подробно не изучено. АК является важным компонентом в жизнедеятельности человеческого организма (сильный антиоксидант, кофактор многих ферментов и др.). Ее применяют в качестве эффективного средства при профилактике и лечении злокачественных новообразований и тяжелых травм [9].

Целью данной работы является изучение влияния ультразвукового воздействия на выход биологически активных веществ березовых почек при экстрагировании разными экстрагентами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сырье «Березы почки» (*Betulae gemmae*), состав: береза повислая, почки измельченные, закупалось в аптечной сети (ООО «Фарм-Продукт», серия 0715, годен до 01.07.2017). Сырье предварительно было измельчено до однородной массы в фарфоровой ступке.

Экстрагентами служили дистиллированная вода, 70% водный раствор этанола и смесь изопропанол – вода в соотношении 60:40.

Экстрагирование березовых почек проводилось методом мацерации, то есть настаиванием в одну стадию при комнатной температуре. Соотношение сырье : экстрагент составляло 1:10.

Использовались этиловый и изопропиловый спирты марки «х.ч.».

Сухой остаток определяли по [2], содержание АК – по [10], количественное определение углеводов с помощью фенолсерноокислотного метода (ФСК) – по [11], качественное определение углеводов (моносахаридов) с помощью качественных реакций Фелинга и Молиша – по [12].

Ультразвуковое воздействие осуществлялось на приборе «Сапфир УЗВ-0,8 ТЦ» (Россия) с рабочей частотой 35 кГц, мощностью генератора 50 Вт, длительность обработки составляла от 0 до 30 мин, объем обрабатываемого образца 50 мл – по [8].

С помощью программы Statistica (ver. 6, StatSoft, Russia) были обработаны экспериментальные данные (доверительная вероятность $P=0,95$, объем выборки $n=3$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В экспериментальных исследованиях проводился подбор оптимальных параметров проведения процесса экстрагирования, таких как время обработки ульт-

развуком и вид экстрагента (вода, этиловый и изопропиловый спирты в различных концентрациях).

Традиционно экстрагирование березовых почек проводится водой или этиловым спиртом, поэтому в качестве контрольных экспериментов были получены водные и этанольные извлечения из березовых почек (таблица 1).

Таблица 1.

Физико-химические свойства извлечений из березовых почек

Параметры проведения экстракции				Физико-химические характеристики	
№	Температура, °С	Обработка экстракта ультразвуком, мин	Время экстракции, ч	Сухой остаток, г	Содержание витамина С, мг/г
Экстракция водой					
1	20	–*	3	0,19±0,01	0,82±0,01
2	20	3	3	0,36±0,02	0,00
3	20	10	3	0,41±0,01	0,00
4	20	20	3	0,60±0,02	0,00
5	20	30	3	0,50±0,02	0,00
Экстракция этиловым спиртом					
6	20	–*	3	0,84±0,02	0,00
7	20	3	3	0,88±0,01	0,00
8	20	10	3	1,01±0,03	0,00
9	20	20	3	1,30±0,02	0,00
10	20	30	3	1,22±0,02	0,00

Примечание: *«–» – отсутствует обработка ультразвуком.

Сравнивая контрольные данные (без обработки ультразвуком), можно увидеть (таблица 1), что этиловым спиртом извлекается в 4,5 раза больше экстрактивных веществ, чем водой. Возможно, это связано со способностью этилового спирта извлекать липофильные биологически активные вещества.

Ультразвуковое воздействие основано на физических кавитационных эффектах, происходящих в озвучивающей системе при распространении волн. В результате действия явления кавитации клеточная структура некоторых поверхностных слоев частиц березовых почек разрушается, способствуя более полному извлечению экстрагируемых веществ за счет интенсивного их вымывания из разрушенных клеток. На выход экстрактивных веществ из сырья под действием ультразвука оказывает влияние длительность воздействия.

При экстракции березовых почек водой или этиловым спиртом в обоих случаях с увеличением длительности ультразвукового воздействия до 20 мин происходит увеличение выхода экстрактивных веществ и наблюдается спад при более длительном воздействии. Вероятно, происходит деструкция неустой-

чивых к ультразвуку соединений. При длительности озвучивания, приводящей к максимальному выходу экстрактивных веществ (20 мин), наблюдается интенсификация процесса в водных извлечениях в 3,16, а в этанольных – в 1,55 раза соответственно. При этом возрастает интенсивность окраски извлечений березовых почек, что связано с увеличением содержания пигментных соединений типа флавоноидов, меланинов и т.п.

В водных извлечениях в экстрактивных веществах присутствует АК, однако в извлечениях, получаемых с применением ультразвука, ее наличие не удается зафиксировать. Это, вероятно, связано с тем, что химическое воздействие ультразвука основано на ряде физико-химических процессов, протекающих в кавитационных полостях, при этом происходит ионизация молекул воды и образование активных радикальных частиц. АК же, являясь высокоактивным антиоксидантом, вступает во взаимодействие с радикальными частицами, возникающими под воздействием ультразвука, и инактивирует их, что приводит к снижению ее количества в водном извлечении до нуля.

В случае же этанольных извлечений АК отсутствует во всех извлечениях, как с обработкой ультразвуком, так и без обработки. В данном случае можно предположить, что выбранный экстрагент изначально не экстрагирует АК из сырья.

В работе [8] при исследовании водных и изопропиловых извлечений березовых почек с применением ультразвукового воздействия было установлено, что оптимальные показатели достигаются при использовании в качестве экстрагента смеси изопропанол – вода в соотношении 60:40 при комнатной температуре с длительностью экстрагирования 3 ч и с обработкой ультразвуком в течение 3 мин.

В данном исследовании также применен этот же экстрагент, однако длительность озвучивания перед экстрагированием увеличивается до 30 мин (таблица 2). При максимальном времени озвучивания достигается увеличение выхода экстрактивных веществ практически вдвое по сравнению с контрольным извлечением (без обработки ультразвуком), однако содержание АК падает в 3,5 раза.

Сравнивая показатели изопропиловых извлечений с водными (таблицы 1 и 2), можно сказать, что динамика изменений по сухому остатку в целом схожая, однако в изопропиловых извлечениях содержание АК достаточно высоко и не пропадает под действием ультразвука. Максимальное количество АК, извлекаемое из сырья данным экстрагентом, наблюдается в режиме без обработки ультразвуком. Увеличение длительности ультразвукового воздействия приводит к пропорциональной потере АК. В этом случае наблюдаются взаимообратные прямые зависимости между

временем обработки ультразвуком и выходом экстрактивных веществ и содержанием АК. Возможно, это связано с природными особенностями экстрагента.

Таблица 2.

Физико-химические свойства изопропиловых извлечений из березовых почек

Параметры проведения экстракции				Физико-химические характеристики	
№	Температура, °С	Обработка экстракта ультразвуком, мин	Время экстракции, ч	Сухой остаток, г	Содержание витамина С, мг/г
экстракция смесью изопропанол : вода в соотношении 60:40					
1	20	–*	3	0,34±0,01	27,32±0,10
2	20	3	3	0,37±0,02	21,92±0,08
3	20	10	3	0,51±0,01	15,29±0,06
4	20	20	3	0,60±0,03	13,85±0,11
5	20	30	3	0,70±0,02	7,46±0,05

Примечание: * «–» – отсутствует обработка ультразвуком.

В таблице 3 приведены сводные данные оптимальных по физико-химическим свойствам извлечений из березовых почек, полученных экстрагентами разной полярности.

Таблица 3.

Физико-химические свойства оптимальных по составу извлечений из березовых почек

Параметры проведения экстракции				Физико-химические характеристики экстрактов березовых почек		
№	Температура, °С	Обработка экстракта ультразвуком, мин	Время экстракции, ч	Сухой остаток, г	Содержание	
					витамина С, мг/г	углеводов, мг/мл
Экстракция водой						
1	20	–*	3	0,18±0,01	0,07±0,01	0,32±0,02
2	20	20	3	0,42±0,01	1,37±0,01	0,56±0,02
Экстракция этиловым спиртом						
3	20	–*	3	0,84±0,01	–**	0,87±0,02
4	20	20	3	1,30±0,01	–	1,44±0,01
Экстракция смесью изопропанол – вода в соотношении 60:40						
5	20	–*	3	0,34±0,01	27,32±0,01	0,51±0,03
6	20	20	3	0,60±0,01	13,85±0,01	0,69±0,02

Примечание: * «–» – отсутствует обработка ультразвуком, ** «–» – не определяется.

Дополнительно в этих извлечениях было изучено количественное и качественное содержание углеводов. Количественное их определение проводилось с помощью широко применяемого фенолсернокислотного метода (ФСК) [11], позволяющего определить общее содержание углеводных соединений без предварительного гидролиза полисахаридных компонентов в присутствии как гумусовых веществ, так и неорганических составляющих. Как видно из таблицы 3, во всех извлечениях под действием ультразвука происходит увеличение содержания углеводов. Для водных извлечений – в 1,75 раза, для этанольных – в 1,35 раза, для изопропиловых – в 1,65 раза соответственно.

Качественное определение углеводов, в частности моносахаридов, проводили с помощью качественных реакций Фелинга и Молиша [12]. Во всех образцах были получены положительные реакции.

Положительная реакция Фелинга во всех исследуемых извлечениях говорит о присутствии в них моно- и дисахаридов, обладающих восстанавливающими свойствами, то есть наличием в них свободного гликозидного гидроксила. Это косвенно говорит о присутствии редуцирующих сахаров в извлечениях. Положительная реакция Молиша подтверждает присутствие в извлечениях пентоз (рибозы, дезоксирибозы, ксилулозы и т.д.) и гексоз (глюкозы, фруктозы, маннозы, галактозы и т.д.).

Более точная идентификация этих соединений планируется в дальнейшем с применением более точных и чувствительных современных методов, например хроматографических.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Интенсификация процесса экстрагирования ультразвуком происходит независимо от используемого экстрагента. В любом случае наблюдается увеличение общего выхода экстрактивных веществ, однако их качественный состав отличается.
- Анализ полученных данных показывает, что ультразвук по-разному действует на извлекаемые вещества, в частности содержание углеводов растёт во всех случаях, а выход АК либо уменьшается, либо отсутствует, что связано со сложными физико-химическими процессами, происходящими при озвучивании и экстрагировании.
- Для всех извлечений из берёзовых почек оптимальные результаты по выходу экстрактивных веществ достигаются при ультразвуковом воздействии в течение 20 мин.
- Наиболее эффективным вариантом является способ получения извлечения из берёзовых почек с помощью смеси изопропанол – вода в соотношении 60:40 при комнатной температуре с предварительной обработкой ультразвуком в течение 20 мин. В данном случае при экстрагировании увеличивается выход экстрактивных веществ вдвое, происходит увеличение выхода углеводов на 35%, содержание АК хоть и снижается практически вдвое по сравнению с извлечением без озвучивания, но также находится на достаточном уровне. Данный способ достаточно прост в использовании, экономичен и не требует больших затрат.

ЛИТЕРАТУРА

- Государственная фармакопея XIII online (ГФ 13 online). URL: <http://pharmacopoeia.ru/gosudarstvennaya-farmakopeya-xiii-online-gf-13-online/> (дата обращения 24.01.2017).
- ФС.2.5.0006.15 Берёзы почки. URL: <http://pharmacopoeia.ru/fs-2-5-0006-15-berezy-pochki/> (дата обращения 24.01.2017).
- Д.Н. Ведерников, В.И. Рошин. Экстрактивные вещества почек берёзы повислой *Betula pendula* Roth (Betulaceae). 1. Состав жирных кислот, углеводов и сложных эфиров // Химия растительного сырья. 2009. № 3. С. 69–73.
- Д.Н. Ведерников, В.И. Рошин. Экстрактивные вещества почек берёзы повислой *Betula pendula* Roth (Betulaceae). 2. Состав жирных кислот, углеводов и сложных эфиров // Химия растительного сырья. 2009. № 3. С. 75–83.
- Д.Н. Ведерников, В.И. Рошин. Экстрактивные вещества почек берёзы повислой *Betula pendula* Roth (Betulaceae). 3. Состав тритерпеновых кислот, флавоноидов, спиртов и эфиров // Химия растительного сырья. 2010. № 4. С. 67–75.
- Д.Н. Ведерников, В.И. Рошин. Экстрактивные вещества почек берёзы повислой *Betula pendula* Roth (Betulaceae). 4. Состав сесквитерпеновых диолов, триолов, флавоноидов // Химия растительного сырья. 2011. № 1. С. 111–118.
- Д.Н. Ведерников, В.И. Рошин. Экстрактивные вещества почек берёзы повислой *Betula pendula* Roth (Betulaceae). 5. Состав тритерпеновых секо-кислот // Химия растительного сырья. 2011. № 3. С. 95–102.
- Е.Г. Горелова, О.Ю. Кузнецова, Р.З. Гильманов. Разработка способа получения и исследование извлечений из берёзовых почек // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. Т. 17. № 1. С. 62–65.
- В.Б. Загумеников, А.В. Молчанова, Е.Ю. Бабаева, А.Л. Петрова. Изучение накопления аскорбиновой кислоты в траве эхинацеи пурпурной свежей и в продуктах ее переработки // Химико-фармацевтический журнал. 2014. Т. 48. № 10. С. 39–42.
- ГОСТ 24556-89. Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С. – М.: Издательство стандартов, 1989. 16 с.
- M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, and Fred Smith. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances // Analytical chemistry. 1956. V. 28. № 3. P. 350–356
- О.Ю. Кузнецова. Биохимия. Лабораторный практикум. Учебно-методическое пособие. – Казань: КГТУ, 2010. 80 с.