

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2019-8-3-35-39
УДК 615.451.16



Оригинальная статья/Research article

Выбор метода экстрагирования для получения извлечений из семян пажитника сеного с высоким содержанием биологически активных веществ

С. С. Белокуров^{1*}, Е. В. Флисюк¹, И. Е. Смехова^{1**}

1 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, 197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, лит. А

*Контактное лицо: Белокуров Сергей Сергеевич. E-mail: sergei.belokurov@pharminnotech.com

**Контактное лицо: Смехова Ирина Евгеньевна. E-mail: irina.smekhova@pharminnotech.com

Статья получена: 25.04.2019. Статья принята к печати: 25.06.2019

Резюме

Введение. Согласно данным литературы, современные технологии, в частности экстракция в ультразвуковом поле, позволяют получать концентраты биологически активных веществ (БАВ) практически с полным сохранением химического состава, присущего природному сырью, и высоким выходом экстрактивных веществ. А возможность при этом регулировать в ходе технологического процесса концентрацию извлекаемых действующих веществ открывает перспективы использования природных компонентов в качестве основной фармацевтической субстанции.

Цель. Целью настоящего исследования явился выбор оптимального метода экстрагирования для получения извлечений с высоким содержанием БАВ из семян пажитника сеного.

Материалы и методы. Экстракты получали при температуре 60 ± 2 °С методом динамической мацерации. Ультразвуковую экстракцию проводили с помощью ультразвуковой установки И100-6/4. В качестве экстрагентов в обоих случаях была использована вода очищенная и растворы этанола в различной концентрации от 40 до 90%. Соотношение сырье:экстрагент составляло 1:10 (по массе). Навеску растительного сырья (10 г) помещали в стакан и заливали 100 см³ экстрагента. Далее осуществляли мацерацию или обработку ультразвуком. Мацерацию проводили при перемешивании на магнитной мешалке, скорость вращения 100 об/мин. Экстрагирование осуществляли при температуре 55–60 °С в течение 5 час. Ультразвуковое воздействие на твердое растительное сырье проводили с интенсивностью в диапазоне от 17 до 22 кГц в течение 30–60 мин.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования позволили определить количество экстрактивных веществ в семенах пажитника сеного и выбрать наиболее перспективный метод экстрагирования для получения извлечений с высоким содержанием БАВ. Сравнение динамической мацерации и ультразвуковой экстракции показало, что метод ультразвуковой экстракции при частоте колебаний 22 кГц является более перспективным. За 1 час экстракции удалось достичь истощения сырья. Установлено, что содержание экстрагируемых веществ прямо пропорционально зависит от продолжительности обработки и частоты ультразвуковых волн. Коэффициент корреляции составил 0,78. Однако ультразвуковая экстракция при воздействии в течение 60 мин позволяет получить большее количество экстрактивных веществ по сравнению с динамической мацерацией. Для достижения такого же уровня экстрактивных веществ методом динамической мацерации сырье необходимо обрабатывать в течение 5 час.

Заключение. Для получения извлечений из семян пажитника сеного оптимальным методом экстрагирования является ультразвуковая экстракция при частоте 22 кГц и времени экстракции 60 мин.

Ключевые слова: ультразвук, экстракция, экстракт, динамическая мацерация, пажитник сеной, лекарственное растительное сырье, экстрактивные вещества.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Вклад авторов. Авторы С. С. Белокуров, Е. В. Флисюк и И. Е. Смехова придумали и разработали эксперимент. С. С. Белокуров провел эксперименты по экстрагированию и определению суммы экстрактивных веществ. Авторы С. С. Белокуров и Е. В. Флисюк участвовали в обработке данных. Авторы С. С. Белокуров, Е. В. Флисюк и И. Е. Смехова участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: 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.

Choice of Extraction Method for Receiving Extraction from Seeds of Payne Hay with the High Content of Biologically Active Substances

Sergey S. Belokurov^{1*}, Elena V. Flysyuk¹, Irina E. Smekhova^{1**}

1 – St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersbourg, 197376, Russia

*Corresponding author: Sergei S. Belokurov. E-mail: sergei.belokurov@pharminnotech.com

**Corresponding author: Irina E. Smekhova. E-mail: irina.smekhova@pharminnotech.com

Received: 25.04.2019. Accepted: 25.06.2019

Abstract

Introduction. According to the literature, modern technologies, in particular, extraction in an ultrasonic field, make it possible to obtain concentrates of biologically active substances (BAS) with almost complete preservation of the chemical composition inherent in natural raw materials and high yield of extractive substances. At the same time, the ability to regulate the concentration of recoverable active substances during the technological process opens up prospects for the use of natural components as the main pharmaceutical substance.

Aim. The purpose of this study was to select the optimal extraction method for obtaining extracts with a high content of BAS from fenugreek seeds.

Materials and methods. Extracts were obtained at a temperature of 60 ± 2 °C, by the method of dynamic maceration using an ultrasonic device. Ultrasonic extraction was performed using an ultrasonic installation I100-6/4. In both cases, purified water and ethanol solutions in various concentrations from 40 to 90% were used as extractants. The ratio of raw materials: extractant was as 1:10 (by weight). A portion of vegetable raw materials (10 g) was placed in a glass and poured 100 cm³ of extractant. Next, maceration or sonication was performed. Maceration was performed with magnetic stirring, the rotation speed was 100 rpm. Extraction was carried out at a temperature of 55–60 °C for 5 hours. Ultrasonic effects on solid plant materials were carried out with an intensity in the range from 17 to 22 kHz for 30–60 minutes.

© Белокуров С. С., Флисюк Е. В., Смехова И. Е., 2019

© Belokurov S. S., Flysyuk E. V., Smekhova I. E., 2019

Results and discussion. Studies have allowed to determine the amount of extractives in the seeds of fenugreek hay, and choose the most promising method of extraction to obtain extracts with a high content of biologically active substances. A comparison was made between dynamic maceration and ultrasonic extraction. The most promising was the method of ultrasonic extraction at an oscillation frequency of 22 kHz. For 1 hour of extraction, it was possible to achieve depletion of raw materials. It is established that the content of extractable substances directly proportional depends on the duration of treatment and the frequency of ultrasonic waves. The correlation coefficient was 0.78.

Conclusion. Ultrasonic extraction when exposed for 60 minutes allows you to get a greater amount of extractives compared with dynamic maceration. To achieve the same level of extractive substances by the method of dynamic maceration, the raw materials must be processed within 5 hours.

Keywords: ultrasound, extraction, extract, dynamic maceration, fenugreek, medicinal plants, extractive substances.

Conflict of interest: no conflict of interest.

Contribution of the authors. Authors Sergey S. Belokurov, Elena V. Flisyuk and Irina E. Smekhova was invented and developed an experiment. Sergey S. Belokurov conducted experiments on the extraction and determination of the amount of extractive substances. Authors Sergey S. Belokurov and Elena V. Flisyuk participated in data processing. Authors Sergey S. Belokurov, Elena V. Flisyuk and Irina E. Smekhova participated in writing the text of the article. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Belokurov S. S., Flisyuk E. V., Smekhova I. E. Choice of extraction method for receiving extraction from seeds of fenugreek hay with the high content of biologically active substances. *Drug development & registration*. 2019; 8(3): 35–39.

ВВЕДЕНИЕ

Пажитник сенной (*Trigonella foenum-graecum*, или хельба, шамбала) – однолетнее растение семейства бобовых (*Fabaceae*). Центром происхождения считается Восточное Средиземноморье. В России возделывается на юге страны как пряное растение. С давних времен пажитник сенной широко используется в медицине разных народов. Целители Древней Индии отмечали благотворное влияние пажитника (шамбалы) на женское здоровье вообще и в период лактации, в частности. Экстракты из пажитника применяли при болезненных менструациях. Страдающие слабостью мужчины также использовали препараты из пажитника. В Египте с древних времен большой популярностью пользовался так называемый египетский «желтый чай» – хельба. Этот напиток на основе семян шамбалы обладает согревающим, болеутоляющим и противовоспалительным действием. Тибетские целители отмечали, что шамбала улучшает работу сердца, понижает давление, улучшает кровяную функцию, оказывает общее тонизирующее действие на организм, что делает пряность ценной на этапе восстановления после болезней или операций.

Современная медицина подтверждает, что извлечения из шамбалы стимулируют пищеварение, улучшают аппетит, обладают обволакивающим свойством, улучшают обмен веществ у больных сахарным диабетом [1]. С лечебной целью используют главным образом зрелые семена пажитника сенного, однако, применяют и траву, собранную во время цветения [2, 3]. Согласно данным литературы семена пажитника сенного содержат следующие вещества: алкалоид тригонеллин, никотиновую и фолиевую кислоты, рутин, стероидные сапонины и фитостерины (диосгенин, ямогенин, гитогенин, тигогенин и гликозиды диосциин и ямосциин), флавоноиды, слизистые и горькие вещества, эфирные масла, жирное масло, белки, танины, витамины, фосфор, железо, калий, магний, кальций, мышьяк. Основной группой действующих веществ, представляющих интерес для получения лекарственных

препаратов и биологически активных добавок к пище, являются фитостерины, оказывающие гипогликемический эффект [4].

Традиционные методы экстракции (перколяция и мацерация), применяемые для получения извлечений, являются очень длительными и трудоемкими. В то же время, согласно данным литературы, современные технологии, в частности экстракция в ультразвуковом поле, позволяют получать концентраты биологически активных веществ (БАВ) практически с полным сохранением химического состава, присущего природному сырью, и высоким выходом экстрактивных веществ. Возможность при этом регулировать в ходе технологического процесса концентрацию извлекаемых действующих веществ открывает перспективы использования природных компонентов в качестве основной фармацевтической субстанции [5].

Целью настоящего исследования явился выбор оптимального метода экстрагирования для получения извлечений с высоким содержанием БАВ из семян пажитника сенного.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования были использованы семена пажитника сенного, экотип Марокко, приобретенные в фирме Фитокаса г. Касабланка (Марокко). Товароведческий анализ показал соответствие сырья требованиям ГФ XIV издания [6].

Экстракты получали при температуре 60 ± 2 °С методом динамической мацерации. Ультразвуковую экстракцию проводили с помощью ультразвуковой установки И100-6/4 (рисунок 1) («Ультразвуковая техника Инлаб», г. Санкт-Петербург, Россия). В качестве экстрагентов в обоих случаях была использована вода очищенная и растворы этанола в различной концентрации от 40 до 90%. Соотношение сырье:экстрагент составляло 1:10 (по массе).

Навеску растительного сырья (10 г) помещали в стакан и заливали 100 см³ экстрагента. Далее осуществляли мацерацию или обработку ультразвуком.



Рисунок 1. Ультразвуковая установка И100-6/4

Figure 1. Ultrasonic device I100-6/4

Мацерацию проводили при перемешивании на магнитной мешалке, скорость вращения 100 об/мин. Экстрагирование осуществляли при температуре 55–60 °С в течение 5 часов.

Для проведения ультразвуковой экстракции насадку генератора погружали в стакан. Ультразвуковое воздействие на твердое растительное сырье проводили с интенсивностью в диапазоне от 17 до 22 кГц в течение 30–60 минут.

Для повышения выхода экстрагируемых веществ оптимизировали параметры ультразвуковой кавитации: температуру и продолжительность экстракции.

Затем в полученных извлечениях определяли сумму экстрактивных веществ согласно ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Извлечения тщательно взбалтывали и фильтровали через сухой бумажный фильтр в сухую колбу вместимостью 150–200 см³. 25 см³ фильтрата пипеткой переносили в предварительно высушенную при температуре 100–105 °С до постоянной массы и точно взвешенную фарфоровую чашку диаметром 7–9 см, и выпаривали на водяной бане досуха. Чашку с остатком сушили при температуре 100–105 °С до постоянной массы, затем охлаждали в течение 30 мин в эксикаторе, на дне которого находился кальция хлорид безводный, и немедленно взвешивали [5].

Содержание экстрактивных веществ в процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляли по формуле 1:

$$X = \frac{m \times 200 \times 100}{m_1(100 - W)}, \quad (1)$$

где m – масса сухого остатка, в граммах; m_1 – масса сырья, в граммах; W – потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

Потерю в массе при высушивании сырья (W) в процентах определяли по формуле 2:

$$X = \frac{(m - m_1) \times 100}{m}, \quad (2)$$

где m – масса сырья до высушивания, в граммах; m_1 – масса сырья после высушивания, в граммах.

Экстракцию проводили трижды.

Статистическую обработку результатов проводили, используя коэффициент Стьюдента. Доверительный интервал 0,95. Полученные данные представлены на рисунках 2 и 3 и в таблице 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Применение ультразвука отличается существенными преимуществами по сравнению с традиционными технологиями обработки сырья. В частности, он обеспечивает более глубокое проникновение растворителя в материал с клеточной структурой, уменьшает продолжительность обработки, обеспечивает более высокий выход продукта и воспроизводимость, снижает расход растворителя, увеличивает скорость процесса, позволяет экстрагировать термолабильные вещества. Оборудование не требует больших затрат на обслуживание, для обработки расходуется меньше энергии. Таким образом процесс становится более экологичным и экономически обоснованным.

При ультразвуковой экстракции в системе «твердое тело-жидкость» основной механизм включает разрушение структуры поверхности, диффузию, капиллярные звуковые эффекты и акустические микровихри, прохождение через мембраны клеток и локальные тепловые эффекты. Увеличить коэффициент внутренней молекулярной диффузии при прочих равных условиях можно за счет снижения размеров частиц экстрагируемого материала [7].

Таблица 1. Зависимость концентрации (%) экстрагируемых веществ от времени динамической мацерации

Table 1. The dependence of the concentration (%) of the extracted substances on time dynamic maceration

Время экстрагирования, час	Экстрагент	Вода очищенная	Спирт этиловый, % об. концентрация					
			40	50	60	70	80	90
1		10,9±1,3	9,6±0,8	11,1±1,4	12,7±1,0	11,8±1,4	11,0±0,9	10,5±1,6
2		16,7±1,1	15,4±1,3	17,5±0,5	18,9±1,9	17,7±1,3	16,4±0,5	15,7±1,0
3		21,1±2,7	22,7±0,9	23,1±1,0	24,6±1,3	23,5±2,3	22,8±1,1	20,5±2,4
4		26,6±2,1	28,7±0,7	29,3±0,7	30,4±2,2	29,9±1,7	28,3±2,3	27,2±3,3
5		32,8±1,0	33,3±1,7	34,1±1,5	35,7±2,8	35,0±1,9	33,2±1,0	32,1±0,7

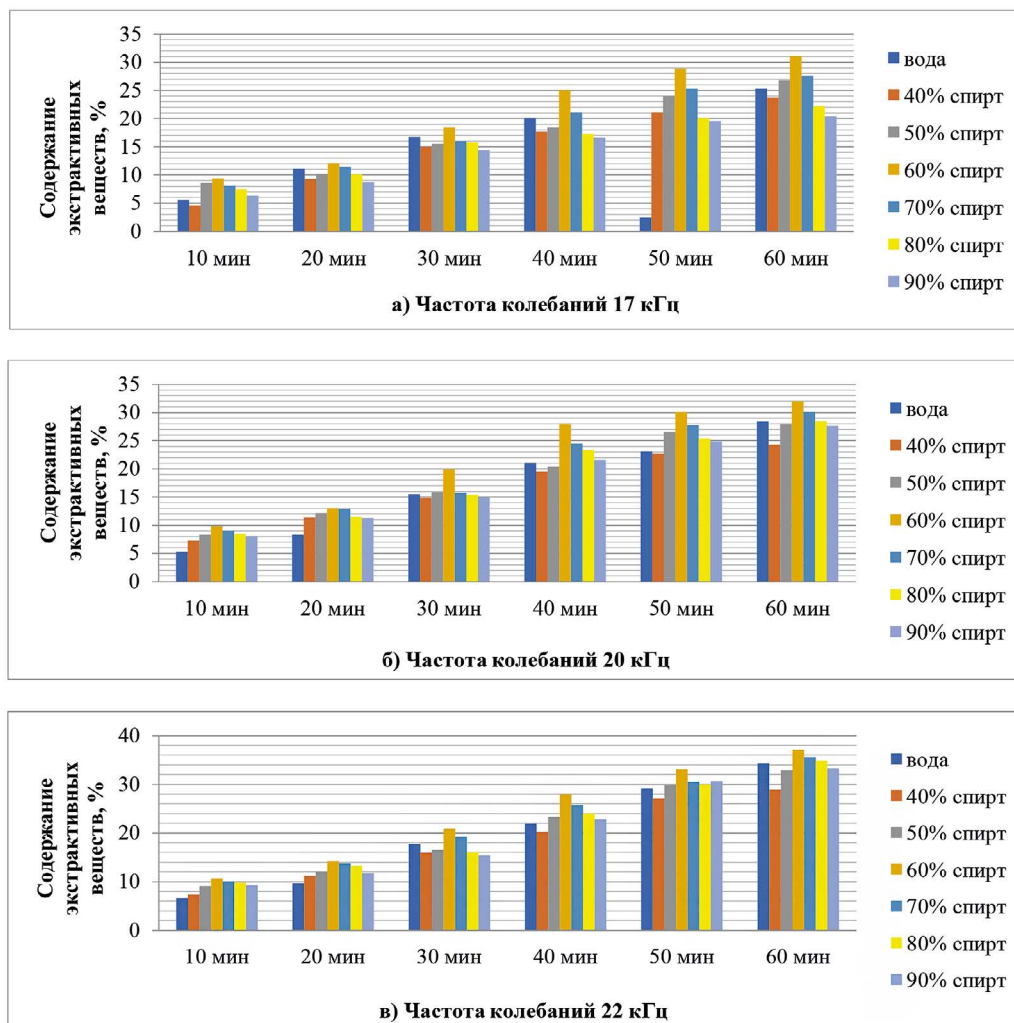


Рисунок 2. Зависимость концентрации экстрагируемых веществ от времени ультразвукового воздействия

Paint 2. The dependence of the concentration of the extracted substances on the time of ultrasound exposure

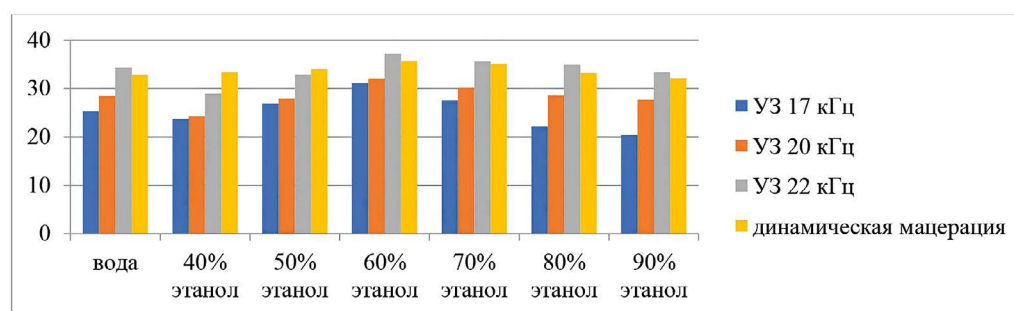


Рисунок 3. Зависимость концентрации экстрагируемых веществ (%) от интенсивности ультразвуковых волн (УЗ – частота колебания)

Paint 3. The dependence of the concentration of extractable substances (%) on the intensity of ultrasonic waves (US – oscillation frequency)

Следует отметить, что во время проводимой нами ультразвуковой обработки сырья в зависимости от мощности ультразвука и продолжительности воздействия наблюдалось повышение температуры до 55–60 °С. Однако установлено, что данное изменение

температуры не приводило к инактивации БАВ. Динамическую мацерацию проводили при этой же температуре. Зависимость концентрации экстрагируемых веществ от интенсивности ультразвуковых волн представлена на рисунке 3.

Установлено, что содержание экстрагируемых веществ прямо пропорционально зависит от продолжительности обработки и частоты ультразвуковых волн (рисунок 2). Коэффициент корреляции составил 0,78. Однако ультразвуковая экстракция при воздействии в течение 60 минут позволяет получить большее количество экстрактивных веществ по сравнению с динамической мацерацией. Для достижения такого же уровня экстрактивных веществ методом динамической мацерации сырье необходимо обрабатывать в течение 5 часов.

Дальнейшее увеличение продолжительности и интенсивности обработки сырья ультразвуком (более 1 часа и 22 кГц) не приводит к увеличению содержания БАВ в экстракте, а вызывает их разрушение и инактивацию [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оптимальным методом экстрагирования для получения извлечений из семян пажитника сеного является ультразвуковая экстракция при частоте 22 кГц и времени экстракции 60 мин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Орловская Т. В. Фармакогностическое исследование некоторых культивируемых растений с целью расширения их использования в фармации: автореф. дис. ... д-ра фарм. наук: 14.04.2002. – ГУО ВПО «Пятигорская ГФА Росздрава». – Пятигорск. 2011: 50 с.
2. Белокуров С. С., Флисюк Е. В. Сравнительный анализ различных методик для получения экстрактов с высоким содержанием биологически активных веществ. VIII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, 23–24 апреля 2018 г. – СПб.: Изд-во СПбХФУ. 2018: 383–384.
3. Aswar U. et al. Effect of furostanol glycosides from *Trigonella foenum-graecum* on the reproductive system of male albino rats. *Phytotherapy research*. 2010; 24(10): 1482–1488.
4. Саркисян А. С. Сравнительная характеристика гипохолестеринемической активности сухих экстрактов подорожника большого, якорцев стелющихся и греческой сены у крыс. *Человек и лекарство: тезисы докладов: Российский национальный конгресс*. 2003: 658.
5. Белобородов В. В., Брик В. Н., Прокофьев А. В. Извлечение биологически активных веществ из пряно ароматического сырья в системе процессов экстрагирования-отжим. *Масложировая промышленность*. 1995; 3-4: 24–27.
6. Государственная фармакопея Российской Федерации. Изд. Т. 2. МЗРФ. М., 2018: 7019 с.
7. Хмелев В. Н., Сливин А. Н., Барсуков Р. В., Цыганок С. Н., Шалуннов А. В. Применение ультразвука высокой интенсивности в промышленности. *Изд-во Алт. гос. техн. ун-та*. – Бийск. 2010: 203 с.

REFERENCES

1. Orlovskaya T. V. A pharmacognostic study of some cultivated plants in order to expand their use in pharmacy: author. dis. ... dr. farm sciences: 14.04.2002. – GUO VPO «PyatigorskCPA of Roszdrav». – Pyatigorsk. 2011: 50 p. (In Russ.).
2. Belokurov S. S., Flisyuk E. V. Comparative analysis of various methods for obtaining extracts with a high content of biologically active substances. VIII All-Russian Scientific Conference of Students and Postgraduates with International Participation «Young Pharmacy –

- Potential of the Future», St. Petersburg, April 23–24, 2018. – St. Petersburg: SPCPU Publishing House. 2018: 383–384 (In Russ.).
3. Aswar U. et al. Effect of furostanol glycosides from *Trigonella foenum-graecum* on the reproductive system of male albino rats. *Phytotherapy research*. 2010; 24(10): 1482–1488.
4. Sargsyan A. S. Comparative characteristics of the cholesterol-lowering activity of dry extracts of large plantain. *Man and Medicine: Abstracts: Russian National Congress*. 2003: 658 p. (In Russ.).
5. Beloborodov V. V., Brik V. N., Prokofiev A. V. Extraction of biologically active substances from spice-aromatic raw materials in the system of extraction-extraction processes. *Oil and fat industry*. 1995; 3-4: 24–27.
6. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Ed. V. 2. / MZRF. M., 2018: 7019 p. (In Russ.).
7. Khmelev, V. N., Slivin A. N., Barsukov R. V., Tsyganok S. N., Shalunov A. V. The use of high-intensity ultrasound in industry. *Publishing house Alt. state tech. University*. – Biysk. 2010: 203 p. (In Russ.).