

# Исследование Процесса Извлечения БАВ из Растительного Сырья в Условиях Ультразвуковой Экстракции

Елена В. Аверьянова<sup>1</sup>, Владимир Н. Хмелев<sup>1</sup>, *Senior Member*, IEEE, Сергей Н. Цыганок<sup>1</sup>,  
Владислав А. Шакура<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Бийский технологический институт (филиал) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова», Бийск, Россия

**Аннотация** – Рассмотрены оптимальные режимы ультразвукового воздействия при интенсификации извлечения полезных веществ из растительного сырья. Показано, что при экстракции таких веществ, как арбутин и рутин требуется малоинтенсивное непродолжительное ультразвуковое воздействие, которое не разрушает молекулярные связи; а для других, таких как бетулин, наоборот, высокоинтенсивное продолжительное ультразвуковое воздействие.

**Ключевые слова** – Экстракция, ультразвук, арбутин, бетулин, рутин.

## I. ВВЕДЕНИЕ

ОДНОЙ из основных задач, решаемых в настоящее время при переработке растительного сырья, является интенсификация процессов извлечения биологически активных веществ (БАВ) для увеличения производительности и выхода полезного продукта. Интенсификация процессов реализуется, как за счет повышения потенциала биологической массы, так и за счет оптимизации технологических режимов и усовершенствования оборудования.

В качестве источников сырья все большее значение приобретают воспроизводимые ресурсы непищевых растительных материалов, отходы сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности, которые используются в качестве дополнительных источников биологически активных и кормовых веществ [1].

Существующие методы извлечения БАВ из растительного сырья можно условно разделить на две группы: традиционные технологии извлечения и методы, основанные на интенсификации процесса экстракции [2].

Согласно закону Фика, определяющему накопление растворенного вещества в процессе диффузии, параметрами, влияющими на скорость и степень извлечения БАВ, являются степень измельчения, разность концентраций, тип экстрагента, температура, давление, продолжительность процесса и гидродинамические условия, создаваемые в экстракторе. Положительное влияние различных воздействий (энергетических, временных и др.) на перечисленные факторы позволяет интенсифицировать процесс экстракции.

Проводимые в последние годы исследования свидетельствуют о том, что технология интенсивного экстрагирования биологически активных веществ (БАВ) является одним из приоритетных направлений развития пищевой, фармацевтической, парфюмерно-косметической и других отраслей промышленности. Одним из наиболее эффективных способов интенсификации является воздействие ультразвуковыми колебаниями высокой интенсивности, позволяющее ускорять массообменные процессы, увеличивать выход получаемых продуктов и повышать их качество.

Продолжительная ориентация на импортные поставки биологически активных веществ, затормозила рост их производства в России. Техника и технология получения БАВ, научные исследования в этой области развивались недостаточными темпами. Одна из основных причин – отсутствие экологически чистой универсальной технологии комплексной переработки растительной биомассы.

В таких условиях, актуальность рассмотрения прогрессивных технологий переработки, основанных на применении ультразвуковой экстракции, не вызывает сомнений.

## II. ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ

Наличие большого количества веществ с различными структурой и свойствами, подвергаемых экстракции требует изучения влияния ультразвукового воздействия на выход и качество БАВ.

Для выявления оптимальных режимов и условий УЗ воздействия необходимо решить следующие задачи:

– провести контрольные опыты (без ультразвукового воздействия) по извлечению биологически активных веществ из материалов, которые можно считать типичными для реализации процесса экстракции: бересты березы, бадана толстолистного и травы гречихи;

– провести экспериментальные исследования по извлечению таких БАВ, как бетулин, арбутин и рутин из растительного сырья в условиях ультразвукового воздействия;

– проанализировать влияние и определить оптимальные режимы ультразвукового воздействия на выход и качество извлекаемых биологически-активных веществ;

– сформулировать рекомендации по промышленному применению интенсифицирующего УЗ воздействия при реализации экстракции БАВ из растительной биомассы.

### III. ТЕОРИЯ

Флора Южной Сибири представляет собой неисчерпаемый источник перспективных сырьевых растительных ресурсов для производства лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище. Флора этого региона не напрасно привлекает внимание исследователей: сформированная под влиянием холодного и сухого климата плейстоцена она является источником видов, выработавших в процессе эволюции приспособление к суровым условиям, способность к накоплению ценных веществ, выполняющих защитную функцию в растениях и могущих иметь практическое значение [3].

В связи с этим, в представленной работе объектом исследования являлись листья бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia*), береста березы (*Betula pendula Roth.*), трава гречихи посевной (*Fagopyrum esculentum*), являющиеся источниками арбутина, бетулина и рутина, соответственно.

Для проведения исследований листья бадана толстолистного были заготовлены ручным способом в Алтайском крае, Бийском районе в мае-июне 2016 г, замороженные и хранились при температуре минус 6 °С. Листья бадана толстолистного народные целители и травники издревле используют в качестве средства первой медицинской помощи. Благодаря высокому содержанию в листьях растения дубильных веществ и гликозида арбутина (более 20 %), бадан используется для лечения заболеваний кишечника и расстройств желудка; обладает вяжущим, кровоостанавливающим и болеутоляющим действиями [4]. На основе арбутина производится множество дорогостоящих медицинских препаратов («Гинеколь», «Урифлорин» и др.). В косметической промышленности арбутин входит в состав средств для отбеливания кожи лица и рук. К сожалению, в России арбутин до настоящего времени не производится и основным его поставщиком на сегодня является Китай, который ежегодно продает арбутин на мировом рынке более чем на 600 миллионов долларов.

Использованная береста березы получена в 2016 г. как отход производства продукции деревообрабатывающих организаций (г. Бийск). Береза – один из наиболее распространённых видов деревьев в лесах Сибири и европейской части России. О надёжности защитных свойств бересты говорит факт её сохранности без гниения в почве более 1000 лет, благодаря наличию в ее составе тритерпенового спирта ряда лупана бетулина, который служит для защиты древесины березы от повреждающих факторов окружающей среды: солнечной радиации, бактерий, грибов, вирусов и насекомых.

На основе бетулина синтезируют перспективные фармацевтические препараты, с противоопухолевой и противовирусной активностями, он используется в производстве шампуней, мыла и другой парфюмерно-косметической продукции [5].

Перспективным отечественным источником получения рутина и других флавоноидов является трава гречихи посевной, широко культивируемая, как ценная пищевая культура в Российской Федерации. Для экспериментальных

исследований был выбран сорт гречихи Башкирская Красностебельная. Заготовка зеленой массы гречихи проводилась в Бийском районе в период начала бутонизации и массового цветения (июнь 2015 г.). Рутин является самым ярким представителем среди флавоноидов. В последние годы рутин приобрел особо острое стратегическое значение. Благодаря своей способности регулировать проницаемость капилляров и укреплять стенки кровеносных сосудов, он предотвращает кровоизлияние и повышает эффективность действия витамина С [6].

Общим способом получения этих ценных БАВ является их экстракция из растительной биомассы, а одним из направлений интенсификации процесса извлечения БАВ из сырья растительного происхождения является применение воздействия механическими колебаниями ультразвуковой частоты высокой интенсивности на стадии экстрагирования [7, 8].

Ультразвуковые колебания высокой интенсивности, в зависимости от его параметров и условий воздействия, вызывает в жидких средах ряд специфических эффектов – кавитацию, интенсивные микро- и макропотоки, приводящие к нарушению диффузионного слоя и, как следствие, быстрому проникновению жидкой среды (экстрагента) в структуру частицы, набуханию частиц, экстрагированию растворимых компонентов, быстрому и качественному перемешиванию компонентов среды. Эти эффекты и используют для интенсификации процессов экстракции БАВ из растительной биомассы [9].

Для проведения ультразвуковой экстракции использовался ультразвуковой технологический аппарат серии «Волна» модель УЗТА-0,4/22-ОМ. Аппарат позволял осуществлять ультразвуковое воздействие с частотой  $22 \pm 1,65$  кГц, интенсивностью от 5 до 15 Вт/см<sup>2</sup>, продолжительностью непрерывной обработки до 8 часов и объемом обрабатываемой технологической среды от 100 до 2000 мл. Максимальная акустическая энергия, вводимая в обрабатываемую жидкость (измеренная по водопроводной воде) составила 130-140 Вт. Аппарат содержал в своем составе плавный регулятор и устройство стабилизации выходной мощности от 30% до 100%, что позволяло проводить экспериментальные исследования при ультразвуковом воздействии с интенсивностью в диапазоне от 5 до 15 Вт/см<sup>2</sup> с точностью не менее  $\pm 0,5$  Вт/см<sup>2</sup> [10].

### IV. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

#### А. Экстракция арбутина

Традиционный способ получения арбутина основан на экстракции измельченных листьев бадана водой при температуре 60 °С, в течение 6 часов, гидромодуль 1:4. Выход арбутина 0,84 % (в пересчете на сырье),  $T_{пл.} - 175$  °С.

Ультразвуковое воздействие на твердое растительное сырье проводилось с интенсивностью 5 Вт/см<sup>2</sup> в течение 30 мин. При этом растительное сырье полностью погружалось в растворитель и периодически перемешивалось. Объем обрабатываемой среды составлял 1000 мл. Для наиболее полного воздействия ультразвука на клеточную стенку сырья загружали в экстрактор порционно или дробно.

Полученный экстракт имел светло-бурый оттенок, в нем наблюдалось наличие мелкого аморфного осадка, который удалялся фильтрованием. Прозрачный фильтрат концентрировался в вакууме водоструйного насоса до консистенции сиропа. Сироп выдерживался в течение 72 ч

при температуре не выше 8 °С. Застывшую массу арбутина растирали и отфильтровывали под вакуумом. Для удаления балластных веществ осадок на фильтре промывали сначала смесью спирта и эфира (4 : 1), затем дважды охлажденной водой. После высушивания в вакуум-сушильном шкафу получали арбутин в виде светло-серого кристаллического порошка, с  $T_{пл}$  182 °С. Выход составлял 0,78 % (в пересчете на сырье). Сравнительная оценка эффективности методов экстракции арбутина представлена в таблице 1.

ТАБЛИЦА I  
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ

Метод	Выход, %	$T_{пл}$ , °С	Цвет и форма кристаллов	Гидромодуль экстракции	Продолжительность процесса, ч
Контроль	0,84	175	Шелковистые иглы, светло-серого цвета	1:4	6,0
Ультразвуковая экстракция	0,78	182	Шелковистые иглы, светло-серого цвета	1:1,5	0,5

Из данных, представленных в таблице 1, следует, что существенного изменения количества арбутина, по сравнению с традиционным методом не наблюдается. Однако ультразвуковое воздействие позволило сократить продолжительность процесса в 12 раз и более чем в 2,5 раза сократить расход растворителя. Это обеспечило сокращение продолжительности и энергетических затрат на стадии концентрирования экстракта. Анализ по температуре плавления свидетельствует о лучшем качестве арбутина, полученного при ультразвуковой экстракции.

Для выбора оптимальных условий ультразвуковой экстракции проведены многочисленные исследования. Наиболее интересные 6 вариантов опыта, отличающиеся интенсивностью ультразвукового воздействия, температурой и продолжительностью процесса представлены в Таблице 2.

ТАБЛИЦА II  
ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА И КАЧЕСТВА АРБУТИНА ОТ УСЛОВИЙ ЭКСТРАКЦИИ

Продолжительность УЗ воздействия, т, мин	Конечная температура, $T$ , °С	$T_{пл}$ арбутина, °С	Выход арбутина, %	Содержание арбутина, %
Интенсивность УЗ воздействия 10 Вт/см <sup>2</sup>				
20	70	175-177	0,82	34,99
30	72	171-174	0,87	27,46
40	75	168-171	0,94	20,35
Интенсивность УЗ воздействия 5 Вт/см <sup>2</sup>				
20	62	171-175	0,71	27,22
30	67	182-184	0,78	62,21
40	68	193-195	0,75	93,32
Контроль	-	175-177	0,84	39,65

Из представленных в таблице данных следует, что максимальный выход арбутина наблюдался при температуре 68 °С, продолжительности ультразвукового воздействия 40 минут и интенсивности 5 Вт/см<sup>2</sup>.

При этом содержание арбутина в сухом экстракте по отношению к контролю увеличилось в 2,4 раза. Увеличение интенсивности ультразвукового воздействия свыше 5 Вт/см<sup>2</sup>

приводит к частичному или полному разрушению гликозидной связи молекулы арбутина, о чем свидетельствует снижение содержания арбутина в сухом экстракте и низкая температуры плавления арбутина-сырца.

### В. Экстракция бетулина

Традиционный способ получения бетулина осуществляется кипячением пластинок бересты березы в растворе 86%-ного этилового спирта (гидромодуль 1 : 8) в течение 15 часов. После экстракции бересту отфильтровывают и горячий экстракт обрабатывают 5%-ным раствором щелочи, выпавший осадок отделяют фильтрованием, а фильтрат концентрируют до 1/3 первоначального объема и охлаждают в течение 12 ч. при температуре не выше 8 °С. Выпавший осадок бетулина отфильтровывают, промывают на фильтре горячей водой до нейтральной реакции и высушивают при температуре 60 °С. Выход бетулина-сырца с  $T_{пл}$  250-251 °С составляет 25,3 % от веса абсолютно сухой бересты.

Интенсификацию процесса экстракции бетулина осуществляли предварительным ультразвуковым воздействием при погружении пластинок бересты (150 г) в технологическую емкость, заполненную 1050 мл 86%-ого раствора этилового спирта. Ультразвуковое воздействие на твердое растительное сырье проводили с интенсивностью 10-15 Вт/см<sup>2</sup> в течение 5-25 минут при температуре 30-48 °С. Затем реакционную массу выдерживали в течение 3 часов при температуре кипения растворителя. Полученную смесь выгружали из реактора, отделяли твердый остаток фильтрованием на воронке Бюхнера. Последующие операции проводили аналогично традиционному способу. Выход и  $T_{пл}$  конечного продукта в зависимости от параметров процесса представлены в таблице 3.

ТАБЛИЦА III  
ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА И КАЧЕСТВА БЕТУЛИНА ОТ УСЛОВИЙ ЭКСТРАКЦИИ

Продолжительность УЗ воздействия, мин	Конечная температура, °С	$T_{пл}$ бетулина, °С	Выход бетулина, %
Интенсивность УЗ воздействия 10 Вт/см <sup>2</sup>			
5	34	241-242	21,95
10	34	245-246	21,98
15	40	242-244	22,28
20	44	243-245	22,46
25	44	248-250	22,47
Интенсивность УЗ воздействия 15 Вт/см <sup>2</sup>			
5	30	248-250	23,78
10	36	250-251	24,16
15	40	250-251	26,80
20	48	246-248	25,37
Контроль	-	250-251	25,30

Из представленных экспериментальных данных следует что оптимальным вариантом экстракции бетулина являлся режим обработки бересты ультразвуковым воздействием с интенсивностью 15 Вт/см<sup>2</sup>, при температуре 40 °С в течение 15 мин. При этом обеспечивался максимальный выход бетулина-сырца, который составлял 26,8% от веса абсолютно сухой бересты, с наилучшим качеством конечного продукта, о чем свидетельствуют данные по температуре плавления – 250-251 °С.

Применение ультразвукового воздействия на стадии экстракции бересты позволяет сократить

продолжительность процесса в 5 раз, за счет этого снизить его энергоемкость и повысить выход бетулина на 1,5 %.

### С. Экстракция рутина

При получении рутина из травы гречихи навеску измельченного сырья массой 100 г помещали в подогреваемую емкость с 2,0 л 70%-ного этилового спирта, выдерживали при слабом кипении 45 минут, отфильтровывали в горячем виде через двойной тканевый фильтр и отжимали. Шрот заливали второй порцией экстрагента, доводили до кипения и выдерживали 30 минут при слабом кипении, далее обрабатывают так же, как первую порцию. Полученные экстракты объединяли, охлаждали до комнатной температуры и выдерживали при температуре 10 °С не менее 16 часов. Выпадающий осадок рутина-сырца отфильтровывали на воронке Бюхнера в вакууме водоструйного насоса, промывали осадок 20-30 мл ледяной дистиллированной воды и отжимали.

Осадок сушили до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре 80 °С. Высохший продукт размалывали в фарфоровой ступке до порошкообразного состояния. Выход рутина составлял 3,7 % (в пересчете на абсолютно сухое сырье);  $T_{пл}$  176-178 °С.

Использование ультразвукового воздействия на стадии экстракции измельченной травы гречихи повысило выход и содержание основного вещества в конечном продукте. Процесс проводили при обработке сырья 70%-ным этиловым спиртом с гидромодулем 1:10 и 1 : 20 с интенсивность ультразвукового воздействия 10 Вт/см<sup>2</sup> при температуре 30-50 °С в течение 5-25 мин. Результаты опытов представлены в таблице 4.

ТАБЛИЦА IV  
ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА И КАЧЕСТВА РУТИНА ОТ УСЛОВИЙ  
ЭКСТРАКЦИИ

Продолжительность УЗ обработки, мин	Выход рутина, %	Содержание рутина, %	Цвет кристаллов	$T_{пл}$ , °С	Остаток рутина в шроте, %
Гидромодуль 1 : 10					
5	1,64	95,72	Зелено-коричневый	170 - 173	6,18
10	2,70	95,68	Грязно-желтый	170 - 172	5,23
15	4,44	96,89	Серо-желтый	178 - 180	2,65
20	4,87	95,13	Зелено-желтый	173 - 176	2,89
25	5,18	93,70	Серо-зеленый	168 - 170	4,23
Гидромодуль 1 : 20					
5	1,42	94,61	Зелено-коричневый	168 - 170	6,70
10	2,36	94,26	Грязно-желтый	166 - 169	5,60
15	4,53	96,90	Серо-желтый	179 - 180	2,82
20	5,12	94,82	Серо-желтый	176 -	2,63

				178	
25	5,20	93,44	Зелено-желтый	172 - 174	2,54
Контроль	3,7	94,96	Серо-желтый	176 - 178	4,63

Из анализа полученных экспериментальных данных следует преимущество режима экстракции рутина путем ультразвукового воздействия в течение 15 мин. Выход рутина в виде серо-желтых кристаллов с  $T_{пл}$  178-180 °С составил около 4,5 %. При этом установлено, что соотношение сырья и растворителя не оказывает существенного влияния на выход и качество рутина, однако увеличение гидромодуля приводит к увеличению расхода растворителя, который необходимо регенерировать. При увеличении продолжительности процесса более 15 мин, выход рутина-сырца увеличивается, однако содержание рутина в образце снижается, что вероятно связано с расщеплением гликозидной связи.

## V. ВЫВОДЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы выявлены параметры ультразвукового воздействия, обеспечивающие увеличение выхода и повышение качества БАВ при экстракции растительного сырья.

Проведенные сравнительные исследования по извлечению арбутина, бетулина, рутина из растительного сырья экстракцией традиционным способом (без применения факторов интенсификации процесса) и в условиях ультразвукового воздействия на частоте 22 кГц с интенсивностью от 5 до 15 Вт/см<sup>2</sup> и акустической мощностью 130-140 Вт (с использованием ультразвукового технологического аппарата серии «Волна» модели УЗТА-0,4/22-ОМ) позволили установить следующее:

- увеличение продолжительности ультразвукового воздействия приводит к увеличению выхода «сырого» продукта, однако ухудшает его качество из-за разрушения целевого продукта и увеличения содержания балластных веществ;

- определены режимы УЗ воздействия, обеспечивающие наиболее полное и быстрое извлечение БАВ из растительного сырья;

- установлено, что изменение режимов УЗ воздействия обеспечивает увеличение выхода экстрагируемого вещества, однако в каждом отдельном случае интенсификации процесса экстракции необходимо учитывать строение вещества и возможность разрушения экстрагируемых веществ нестабильных веществ, например, фенольных гликозидов, продолжительность обработки ультразвуком которых не должна превышать 15 мин, тогда как для остальных веществ, продолжительность может быть увеличена до 40 мин.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Мищенко В.Я., Кувардина Е.М. Интенсификация массообменных процессов при извлечении пектиновых веществ из растительного сырья с применением вибрационного воздействия // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010 г. – Т. 12. – №4(3). – С. 714-716.
- [2] Жматова Г.В., Нефёдов А.Н., Гордеев А.С. и др. Методы интенсификации технологических процессов экстрагирования

- биологически активных веществ из растительного сырья // Вестник ТГТУ. – 2005 г. – Т. 11. – № 3. – С. 701-707.
- [3] Беликов В.Г. Фармацевтическая химия: учебное пособие для фармацевтических институтов и фармацевтических факультетов медицинских институтов. 3ч. [Текст] / В.Г. Беликов. – М.: Высшая школа, 1985. – 903 с.
- [4] Федосеева Л.М., Коваленко С.А., Дитрих О.В. Биологически активные вещества бадана толстолистного, произрастающего на Алтае // Теоретические и практические аспекты изучения лекарственных растений: мат. конференции, посвященной памяти проф. Л.М. Березовской. – Томск, 1996. – С. 178–180.
- [5] Кузнецов Б.Н., Кузнецова С.А., Леваданский В.А. и др. Совершенствование методов выделения, изучение состава и свойств экстрактов березовой коры // Химия в интересах устойчивого развития. – 2005 г. – № 13. – С. 391-400.
- [6] Крикова А.В., Давыдов Р.С., Мокин Ю.Н. Биологическая активность растительных источников флавоноидов // Фармация. – 2006 г. – Т 54. – № 3. – С. 17-18.
- [7] Khmelev V.N., Tsyganok S.N., Shakura V.A. The extract production line with the application of ultrasonic technologies // 15th International Conference of Young Specialists on Micro/Nanotechnologies and Electron Devices EDM 2014: Novosibirsk, NSTU, 2014. – P. 243–245.
- [8] Khmelev V.N., Tsyganok S.N., Khmelev S.S., Levin S.V. Determination of the reasons of efficiency decrease in the operation of ultrasonic apparatuses // 15th International Conference of Young Specialists on Micro/Nanotechnologies and Electron Devices EDM 2014: Novosibirsk, NSTU, 2014. – P. 227–229.
- [9] Патент РФ 2 390 364. Способ экстракции биологически активных веществ из растительного сырья / Давыдов Е.Р., Каныгин П.С., Фракин О.А., Черемнов И.В. Заявка: 2008151906/15, 29.12.2008. Опубликовано: 27.05.2010. Бюл. № 15.
- [10] Хмелев, В.Н. Ультразвук. Аппараты и технологии: монография / В.Н. Хмелев, А.В. Шалунов, С.С. Хмелев, С.Н. Цыганок. – Бийск: Изд-во Алтайского гос. технич. ун-та, 2015. – 688 с..