

Рекомендована д.ф.н., професором П.Д.Пашневим

УДК 615.244:615.322.015/.016:665.333.7

ВИЗНАЧЕННЯ КРИТИЧНИХ СТАДІЙ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ ВПЛИВУ НА ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ПРОЦЕС ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ СИЛІБОРУ

Т.М.Зубченко, О.І.Тихонов

Національний фармацевтичний університет

Проведені експериментальні дослідження дали можливість визначення критичних точок та їх впливу на технологічний процес виробництва субстанції силібору. Визначені оптимальні параметри технологічного режиму і технологічне обладнання, що забезпечує ефективність комплексної переробки плодів розторопші плямистої. За визначеними критичними точками технологічного процесу розроблена технологічна схема виробництва субстанції силібору.

Отримані в ході попередніх фітохімічних досліджень дані [5] з систематизованого літературного матеріалу [4, 5, 6, 8, 10, 12-20] показали перспективність створення на основі плодів і знежиреної сировини розторопші плямистої вітчизняних гепатопротекторних препаратів, що дозволяє надалі визначити критичні стадії технологічного процесу виділення субстанції силібору. Основними керованими факторами, що впливають на швидкість і повноту вивільнення біологічно активних речовин (БАР), є ступінь здрібнювання, тип екстрагенту та його концентрація, співвідношення сировина — екстрагент, температурний режим екстракції, тривалість екстрагування і вміст у сировині жирних олій та ліпідів [5].

Метою даного дослідження є визначення критичних стадій та вивчення їх впливу на оптимальні параметри технологічного процесу при розробці нової більш раціональної технології одержання субстанції силібору з виключенням із технологічного процесу високотоксичних озоноруйнуючих розчинників — вуглецю чотирихлористого та метиленхлориду.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження був жмих плодів розторопші плямистої після відділення жирної олії.

При проведенні комплексу науково-дослідних робіт використовувалися прилади: спектрофотометр типу "Specord 200" (Німеччина), рідинний хроматограф "Agilent 1100" (США).

Визначення кількісного вмісту флаволігнанових сполук у спиртових екстрактах проводили

методом спектрофотометрії в перерахунку на силібінін стандарт [5]. УФ-спектри спиртового розчину в області від 240 до 300 нм мають максимум поглинання за довжиною хвилі (288±2) нм і мінімум за довжиною хвилі (257±3) нм, що аналогічно УФ-спектру силібініну стандарту. Для аналізу субстанції застосовували метод вискоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [11, 17] з використанням силібініну в якості зовнішнього стандарту.

Результати та їх обговорення

Відомо, що найбільш значний вплив на швидкість досягнення рівноваги в системі рослинна сировина — розчинник протягом екстракції має ступінь подрібнення сировини [3]. Необхідність здрібнювання сировини, що підлягає витягуванню, зумовлена прагненням полегшити проникнення екстрагенту в товщу матеріалу, який має клітинну структуру. Клітинні оболонки плодів товщі та грубіші, ніж у трави, коріння та ін., тому плоди потребують більш тонкого здрібнювання. При використанні як екстрагенту спирту етилового 80% виключається витягування гідрофільних речовин, які викликають збільшення об'єму та ущільнення рослинної сировини. Це переконує в необхідності тонкого подрібнення плодів розторопші. Оптимальний ступінь подрібнення був визначений при проведенні лабораторних робіт [5] (рис. 1). Вивчення впливу розмірів часток здрібнених плодів та жмиху розторопші на повноту і швидкість екстракції показали, що найкращі результати одержані при подрібненні сировини до розміру часток 1-2 мм. Розглянуті методи подрібнення в залежності від промислового обладнання, що дають позитивні результати при одержанні сировини, подрібненої до розміру часток 1-2 мм:

- на бичевому млині типу КДУ-2 з діаметром отворів фракційної решітки 1,5-2 мм;
- на валковій дробарці з зазором між гладкими валками 1 мм, а потім на бичевому млині типу КДУ-2 з діаметром отворів фракційної решітки 2 мм;
- на валковій дробарці з мілко рифленими валками;

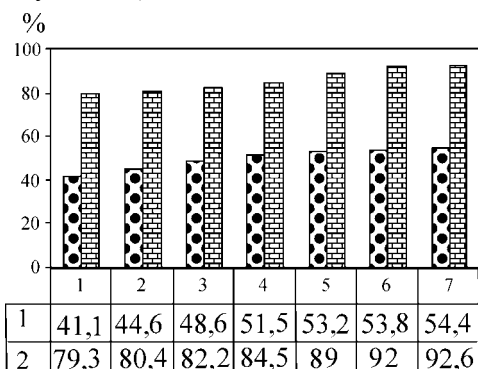
Таблиця 1
Технологічні параметри подрібнення сировини

| Технологічні параметри подрібненої сировини | Плоди розторопші плямистої | Жмих плодів розторопші плямистої |
|--|----------------------------|----------------------------------|
| Насипна щільність, г/см ³ | 0,47-0,51 | 0,52-0,56 |
| Об'ємна щільність, г/см ³ | 0,98-1,03 | 1,05-1,1 |
| Питома щільність сировини, г/см ³ | 1,53-1,55 | 1,6-1,65 |
| Пористість, г/см ³ | 0,318-0,322 | 0,31-0,314 |
| Порозність, г/см ³ | 0,309-0,312 | 0,301-0,304 |

- на дисковій дробарці з діаметром отворів сітки 1,5 мм;
- двократне вальцювання на валковій дробарці з зазором між гладкими валками 1 мм.

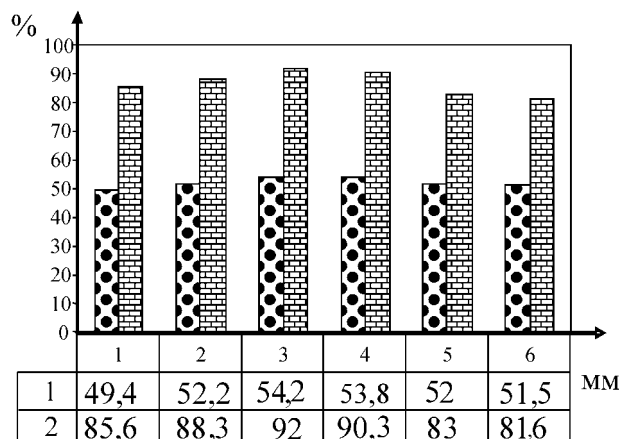
При цьому враховувався час, витрачений на подрібнення сировини та вихід екстрактивних речовин при проведенні екстракції. Слід відмітити, що плоди розторопші з вмістом олії до 30% і жмих плодів розторопші з залишковим вмістом олії до 6% подрібнюються по-різному. Значний вміст олії в плодах розторопші при подрібненні спричиняє часті залипання решіток бичевої та дискової дробарок і низьку продуктивність подрібнення на названому устаткуванні. Кращі результати були одержані при двократному вальцюванні плодів розторопші на валковій дробарці з зазором між гладкими валками 1 мм. Для подрібнення жмих плодів розторопші більш ефективним є подрібнення на бичевому млині типу КДУ-2 з діаметром отворів фракційної решітки 1,5-2 мм. Технологічні параметри подрібненої сировини до розміру часток 1-2 мм визначали за методиками [1]. Результати наведені в табл. 1.

Одержані результати підтверджують раціональність попередньої підготовки плодів розторопші плямистої до екстрагування шляхом механічного віджиму олії. Цей метод дозволяє виділити з пло-



■ 1 — сировина плодів розторопші
■ 2 — жмих плодів розторопші

Рис. 1. Вплив температури на повноту вивільнення суми флаволігнанів при екстракції 80% спиртом етиловим.



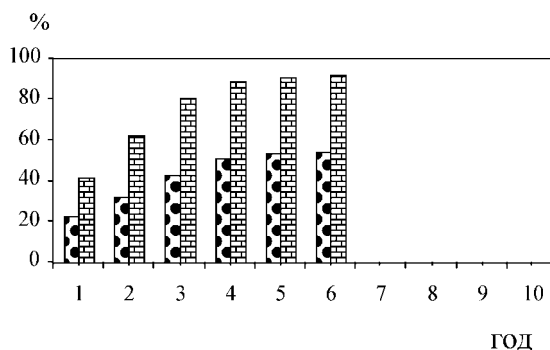
■ 1 — сировина плодів розторопші
■ 2 — жмих плодів розторопші

Рис. 2. Вплив ступеня подрібнення сировини на повноту вивільнення суми флаволігнанів при екстракції 80% спиртом.

дів розторопші олію як біологічно активну добавку, проте не дає повного очищення від ліпідів. Здрібнений жмих плодів розторопші з залишковою кількістю олії (до 6%) екстрагували спиртом етиловим 80%.

Кращі результати вивільнення діючих речовин досягаються при проведенні екстрагування у реакторі в температурному режимі від 35°C до 45°C при перемішуванні за допомогою рамної мішалки зі швидкістю 60 об/хв протягом 3 год та настоюванні протягом 2 год. При цьому оптимальне співвідношення сировина — екстрагент є 1:3,5 (рис. 1, 2, 3) [5].

Залишки жирної олії та ліпідів добре розчиняються у 80% етиловому спирті і екстрагуються разом з сумою флаволігнанових сполук, тому виникає необхідність подальшого очищення (знежирення) водно-спиртової витяжки суми флаволігнанів. У попередній технології виробництва субстанції силібору знежирення водно-спиртового екстракту проводили очищенням чотирихло-



■ 1 — сировина плодів розторопші
■ 2 — жмих плодів розторопші

Рис. 3. Вплив часу екстракції на ступінь вивільнення суми флаволігнанів при екстракції 80% спиртом.

Таблиця 2

Вплив вмісту спирту у концентраті на виділення часток осаду суми флаволігнанів у процесі випарювання спиртового екстракту

| Серія екстракту | Кількість 80% спиртового екстракту до випарювання, л | Частка концентрату від спиртового екстракту | Вміст спирту в концентраті, % | Опис концентрату після випарювань спиртового екстракту |
|-----------------|--|---|-------------------------------|--|
| 10405 | 1,2 | 1/3 | 50 | Розчин прозорий |
| 20405 | 1,2 | 1/4 | 47 | Розчин прозорий |
| 30405 | 1,2 | 1/5 | 44 | Розчин прозорий |
| 40405 | 1,2 | 1/5,5 | 42 | Наявність часток осаду (випадає при охолодженні) |
| 50405 | 1,2 | 1/6 | 40 | Значна кількість часток осаду випадає при випарюванні |

ристом вуглецем, але його як токсичний та озоноруйнуючий розчинник у рамках Постанови Кабінету Міністрів України за №256 від 04.03.2004 р. “Про затвердження програми припинення виробництва та використання озоноруйнуючих речовин на 2009-2030 рр.” заборонено використовувати в виробництві.

Для повного знежирення концентрату спиртового екстракту і одержання якісної субстанції очищеної суми флавонолігнанів проводили рідинну екстракцію ліпідів і жирних олій органічними розчинниками. Субстанція силібору легко розчинна у 70% спирті, практично нерозчинна у воді та органічних розчинниках (хлороформі, метиленхлориді, чотирихлористому вуглеці, бензині “Нефрас” та ін.). Зважаючи на те, що субстанція практично нерозчинна у воді, умовою якісного знежирення органічними розчинниками екстракту з вмістом спирту та ефективність розподілу фаз розчинів після змішування є достатній вміст води в екстракті. Однак при її випарюванні флаволігнанові сполуки випадають в осад при зниженні відсотка спирту в концентраті.

Визначення відсотка спирту етилового, достатнього для проведення операції очищення, проводили на зразках спиртового екстракту суми флаволігнанів, одержаного в промислових умовах. Спиртовий екстракт суми флаволігнанів розподілили на зразки, однакові за об'ємом та проводили випарювання у вакуум-випарному устаткуванні ВР-1 лабораторії служби наукових розробок ФК “Здоров'я” до концентрату у співвідношенні до 1/3; 1/4; 1/5; 1/5,5; 1/6 від об'єму зразка. Відсоток спирту етилового у концентраті після випарювання контролювали за методиками ДФУ [2]. Результати наведені в табл. 2.

Як видно, вміст спирту в концентраті спиртової витяжки, при якому флаволігнанові сполуки залишаються в розчині концентрату, становить від 50% до 44%. При зниженні вмісту спирту у концентраті до 42% випадають частки осаду суми флаволігнанів при його охолодженні. При зни-

женні вмісту спирту у концентраті до 40% випадає значна кількість часток осаду суми флаволігнанів у процесі випарювання. З огляду на вищевикладене можна зробити висновок, що оптимальним є режим випарювання 80% спиртового екстракту в співвідношенні до 1/5 (або до 20% від об'єму зібраного екстракту). При цьому одержують прозорий розчин концентрату суми флаволігнанів із вмістом спирту близько 44%.

Для встановлення умов очищення концентрату суми флаволігнанів були напрацьовані зразки концентрату із спиртового екстракту, одержаного в цехових умовах Фармацевтичної компанії “Здоров'я” з різних операцій екстракції жмиху плодів розторопші плямистої.

Після випарювання та охолодження до температури $25 \pm 5^\circ\text{C}$ концентрат піддавали очищенню знежирювачами. Серед органічних розчинників як знежирювачі добре відомі наступні: петролейний ефір, бензол, чотирихлористий вуглець, бензин, хлороформ, метиленхлорид та ін. Ми для проведення експерименту вибрали петролейний ефір, бензин “Нефрас”, хлористий метилен у порівнянні з використанням попередньо чотирихлористого вуглецю. Знежирення проводили в лабораторії служби наукових розробок. Спочатку визначили оптимальне співвідношення концентрату та розчинника. У пронумеровані ділильні лійки поміщали зразки підготованого концентрату об'ємом до 0,2 л та додавали розчинники (петролейний ефір, бензин, метиленхлорид, чотирихлористий вуглець) у кількості 1/2; 1/3; 1/4 від об'єму концентрату і енергійно струшували протягом 20 хв. Для ефективного змішування і розділення шарів концентрату та знежирювача достатньою є кількість знежирювача у кількості 1/3 від об'єму концентрату. Продовжували вивчати вплив на якість знежирення кратності обробки досліджуваного концентрату. Після чіткого розділення шарів рідини знежирювач відділяли, а очищення продовжували, аналогічно описаному, до одержання майже безбарвного відпрацьованого розчинника. При цьо-

Таблиця 3

Основні показники якості субстанції силібору

| Основні показники якості субстанції силібору | | Результати аналізу | | | | |
|--|--------------------------|--|-------|-------|-------|-------|
| | | 10405 | 20405 | 30405 | 40405 | 50405 |
| якісні реакції | відмінність від флавонів | Слабке жовто-оранжеве забарвлення | | | | |
| | флавоноїди | Рожеве або червоне забарвлення | | | | |
| тонкошарова хроматографія | силібінін та силідіанін | На хроматограмі випробуваного розчину виявляється пляма на рівні плями СЗ силібіну R _f 0,8 і пляма з меншою величиною R _f 0,6 силідіанін | | | | |
| сума діючих сполук методом СФ — в перерахунку на стандарт: | силідіанін, % | 70,3 | 71,4 | 69,8 | 73,5 | 74,7 |
| | силібінін, % | 58,2 | 58,56 | 57,44 | 59,90 | 60,23 |
| Сума силібініну та ізосилібініну методом ВЕРХ, % | | 24,95 | 25,02 | 24,3 | 25,1 | 25,7 |

му кожен раз знежирення проводили при енергійному струшуванні до насичення розчинника ліпідами та хлорофілами і залишали до чіткого розділення шарів. Розчинники після перших 2-х обробок, насичені хлорофілами та ліпідами, мають темно-зелений колір. Зона розділення шарів майже невидима. У результаті експерименту визначили, що з кожною наступною обробкою знежирювачем інтенсивність його забарвлення зменшується, швидкість чіткого розподілу шарів зростає. Підсумовуючи проведені експериментальні роботи, можна стверджувати, що для якісного очищення достатньо 4-х обробок знежирювачем.

Цю кількість очищень розчинником було підібрано експериментально і підтверджено якістю кінцевого продукту. Результати наведені в табл. 3.

Для розгляду, який із розчинників є більш ефективним знежирювачем та має кращі технологічні властивості, відпрацьовані витяжки органічних розчинників контролювали на вміст суми флаволігнанових сполук прямою спектрометрією. Відомо, що метиленхлорид змішується зі спиртом у різних співвідношеннях, а тому при обробці спирто-водного концентрату метиленхлоридом окрім ліпідів і жирної олії витягується значна кількість флаволігнанових сполук. Петролейний ефір, бензин “Нефрас” і чотирихлористий вуглець повністю знежирюють водно-спиртовий розчин суми флаволігнанів при чотирикратній обробці. Діючі речовини при цьому залишаються в розчині. Природа цих розчинників для знежирення водно-спиртового екстракту на кінцевий вихід флаволігнанів значно не впливає. З огляду на фізичні властивості розчинників, а саме температуру кипіння вважаємо за доцільне використання для знежирення концентрату розчину суми флаволігнанів — розчинник бензин “Нефрас” з температурою кипіння 90°C-110°C (табл. 3).

Доопрацьована технологія виробництва субстанції силібору полягає в наступному: жмх пло-

діврозторопшіплямистоїподрібнюютьдо розміру часток не більше 3 мм. Здрібнену сировину екстрагують 80% етиловим спиртом у реакторі з мішалкою двічі в температурному режимі від 35°C до 45°C при постійному перемішуванні протягом 3 год і додатковому настоюванні — 2 год. Співвідношення сировина — екстрагент при першому контакті фаз становить 1:3,5, на другу екстракцію подають екстрагент у кількості рівній кількості злитого екстракту. Одержані екстракти випарюють у вакуумі до концентрату з вмістом спирту від 47% до 42%, що становить 1/4-1/5 частину від об'єму екстракту. Водно-спиртовий концентрат (після охолодження та відстоювання) відділяють від шару олії, потім обробляють бензином “Нефрас” у реакторі зі скла при перемішуванні із швидкістю 60 об/хв 4 рази. При цьому на кожну обробку беруть розчинник у кількості 30% від об'єму концентрату. Час знежирення становить 20 хв, відстоювання до чіткого розділення шарів рідин — 30 хв. Очищений від ліпідів (жирних речовин) концентрат частками випарюють у вакуум-циркуляційному апараті фірми “Simax” до повного видалення спирту етилового та появи в розчині смолистого залишку. Процес випарювання проводять при розрідженні в системі випарника 0,6-0,7 кгс/м². Тиск пари — 1,2 кгс/м². Випарений до води розчин з вмістом смолистого залишку залишають для охолодження. При цьому на дно ємності осідає смолистий осад, який відділяють декантацією. Водний розчин передають на утилізацію, а осад суми флаволігнанів розчиняють у спирті етиловому 96% у співвідношенні 1:5 при нагріванні на водяній бані. Спиртовий розчин залишають для охолодження і відстоювання від водорозчинних супутніх домішок, фільтрують, випарюють у вакуумі, сушать у вакуумній сушильній шафі. Субстанцію силібору подрібнюють, просіюють, фасують та наносять маркування згідно з вимогами нормативної документації. Ви-

Технологічна схема виробництва субстанції "Силібор"

| Вихідна сировина, проміжна продукція та матеріали | Виготовлення субстанції | Контроль у процесі виробництва |
|---|---|---|
| Жмих плодів розторопші плямистої | Стадія 1 Підготовка виробництва Подрібнення сировини Кормодробарка КДУ | Розмір часток, подрібненої сировини. Кількість, вміст ліпідів |
| Спирт 96 % Спирт-відгон | Стадія 2 Підготовка виробництва Приготування спирту 80 % Реактор, насос | Час перемішування, вміст спирту в екстрагенті |
| Жмих розторопші плямистої Спирт 80 % | Стадія 3 Екстракція жмиху розторопші плямистої Реактор з перемішуванням та підгрівом, збірники, насос | Кількість завантаженої сировини, екстрагенту; час перемішування, та настоювання; температура, екстракції, кількість зібраного екстракту |
| Жмих розторопші плямистої Спирт 80 % | Стадія 4 Випарювання екстракту вакуум-циркуляційний випарник, збірники | Температура випарювання, тиск пари, розрідження в системі випарника, кількість спирто-водного концентрату, вміст спирту |
| Спирто-водний концентрат Бензин «Нефрас» | Стадія 5 Очищення спирто-водного концентрату; реактор з мішалкою, збірники | Температура охолодження, час відстоювання, кількість очищень; співвідношення концентрат - розчинник |
| Очищений спирто - водний концентрат | Стадія 6 Випарювання очищеного спирто-водного концентрату; збірники, випарник вакуумний циркуляційний | Технологічний режим і температура випарювання, тиск пари, розрідження в системі випарника, кількість смолистого залишку |
| Смолистий залишок Спирт 96 % | Стадія 7 Очищення смолистого залишку, випарювання спиртового розчину; реактор з мішалкою, збірники, випарник вакуумний циркуляційний | Співвідношення смолистий залишок – розчинник, температура випарювання, тиск пари, розрідження в системі випарника, кількість смолистого залишку |
| Смолистий залишок суми флаволігнанів | Стадія 8 Сушка смолистого залишку суми флаволігнанів; вакуум-сушильна шафа | Температура сушки, тиск пари, розрідження в системі сушильної шафи |
| Субстанція силібору | Готова продукція | Контроль готової продукції |

значені критичні точки внесені до технологічної схеми (табл. 4.)

ВИСНОВКИ

1. Експериментальні дослідження [4] з вивчення впливу умов екстракції на вивільнення суми флаволігнанових сполук дозволили визначити критичні точки виробництва субстанції силибору.

2. Обґрунтовані оптимальні умови проведення технологічного процесу одержання субстанції силибору із жмиху плодів розторопші плямистої за

новою більш раціональною технологією з урахуванням визначених критичних точок виробництва.

3. Розроблена технологічна схема виробництва субстанції силибору з урахуванням вимог оптимального виробництва.

4. Отримані експериментальні дані дозволили обґрунтувати спосіб одержання субстанції силибору за новою технологією. За результатами досліджень отримано деклараційний патент України на винахід №45290 А від 15.03.2002 р. (Бюл. №3, 2002 р.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР. — В 2-х т. — XI-е изд., доп. — М.: Медицина, 1990.
2. Державна фармакопея України (Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”). — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — С. 525-527.
3. Дьячок В.В. // Фармац. журн. — 1998. — №3. — С. 69-72.
4. Дьячок В.В. // Фармац. журн. — 2001. — №6. — С. 71-75.
5. Зубченко Т.М., Тихонов О.І., Скакун Н.М. // Вісник фармації. — 2006. — №3(47). — С. 10-14.
6. Мадаус Р., Герлер К., Молльс В. Способ получения силимариновой смеси // А.с. 1433391 (СССР), А 61 К 35 / 78, 23.10.88. — Бюл. №30.
7. Николов Н., Битев Ат., Андропова Е. // Год. Висш. Химикотехнол. Инст., София. — 1990. — Т. 30, №3. — С. 209-214.
8. Силады И., Терек Е., Штибер Д. Способ получения флавоноидов // А.с. 598544 (СССР), А 61 К 35/78, 15.03.78. — Бюл. №10.
9. Czech. Pharmacopoeia. — 1997. — Suppl. 1999. — 3 p.
10. Cade D., Cole E.T., Mayer J-Ph., Wittwer F. // AstaPharm. Technol. — 1987. — Vol. 33, №2. — P. 97-100.
11. Deutsche Arzneibuch X. — 10. Ausgabe (DAB 10). — Stuttgart; Deutsche Apotheker Verlag. Monographie: Cardui mariae fructus, Mariendistelfruechte, 1998.
12. Pat. 0300282 EP, МКГ¹ А 61 К 7/48, 7/40, 9/06, 31/35. Compositions pharmaceutiques et cosmetiques contenant des complexes de flavonolignans avec des phospholipides / Bombardelli Ezio (It). — Filed: 7.07.88. Publ.: 25.01.89.
13. Pat. Wo 0113930 A1 France, IPC A 61 К 35/78. Utilisation dietetique des huiles de cynara carduncules et de silybum marianum / Jean Julia (France). — №9902046. — Filed: 26.08.99. Publ.: 01.03.2001. — 11 p.
14. Peter A., Hansel R. // Tetrahedron Lett. — 1968. — №25. — P. 2911-2916.
15. Rizk A.M., Wassel G.M., Hammounda F.M. // UAR J. Chem. — 1970. — Vol. 13, №1. — P. 49-54.
16. Leng-Peschulov E., Strenge-Hesse A.Z. // Phytother. — 1991. — №12. — P. 162-174.
17. Shulz H.U., Schuer M., Krumbilgel G. et al. // Forsch. Drug Res. — 1995. — №45. — S. 61-64.
18. Varma P.N., Talwak S.K., Garg G.P. // Planta med. — 1980. — Vol. 38. — P. 377-383.
19. Wagner H., Horhammer L., Munster R. // Arzneim. Forsch. Drug Res. — 1968. — №18(6). — P. 688-696.
20. Wagner H., Diesel P., Selts M. // Forsch. Drug Res. — 1980. — №24. — P. 466-471.

УДК 615.244:615.322.015/.016:665.333.7

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРИТИЧЕСКИХ СТАДИЙ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ВЛИЯНИЯ НА ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПРОИЗВОДСТВА СУБСТАНЦИИ СИЛИБОРА

Т.Н.Зубченко, А.И.Тихонов

Проведенные экспериментальные исследования позволили определить критические точки и их влияние на технологический процесс производства субстанции силибора. Определены оптимальные параметры технологического процесса, обеспечивающие эффективность комплексной переработки плодов расторопши пятнистой. По определенным критическим точкам технологического процесса разработана технологическая схема производства субстанции силибора.

UDC 615.244:615.322.015/.016:665.333.7

DETERMINATION OF THE CRITICAL STAGES AND STUDY OF THEIR INFLUENCE ON THE TECHNOLOGICAL PROCESS OF THE SILIBOR SUBSTANCE PRODUCTION

T.N.Zubchenko, A.I.Tikhonov

The experimental research conducted allowed to determine the critical points and their influence on the technological process of the Silibor substance production. The optimum parameters of the technological process providing the effectiveness of the complex processing of Silybium marianum fruits have been determined. The technological scheme of the Silibor substance production has been developed by the certain critical points of the technological process.