

Рекомендована д.ф.н., професором Т.Г.Ярних

УДК 615.322 : 615.451.16 : 66-987 : 661.97

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ ЕКСТРАКЦІЇ СУЦВІТЬ ЛИПИ НАДКРИТИЧНИМ ДІОКСИДОМ ВУГЛЕЦЮ

Д.В.Дем'яненко, В.Г.Дем'яненко, Д.І.Дмитрієвський, С.В.Бреусова

Національний фармацевтичний університет

Досліджено процес екстракції суцвіть липи надкритичним діоксидом вуглецю (НК-СС₂) в режимі статичної мацерації протягом 60 хв при різних значеннях температури та тиску. Встановлено, що найбільшої селективності щодо легких компонентів досліджуваної сировини НК-СС₂ набуває при температурі 35°C та тиску 100-150 атм. Збільшення температури та тиску призводить до збагачення екстракту більш високомолекулярними сполуками. Екстракти, одержані надкритичним СС₂ в діапазоні температур 35-70°C і тиску 100-400 атм та дифторохлорометаном (хладоном-22) в докритичних умовах, мали практично одинаковий якісний склад. Застосування зрідженого хладону є більш доцільним для промислової екстракції суцвіть липи, а використовувати НК-СС₂ раціонально для фракціонування одержаних екстрактів.

У теперішній час час перспективною технологією фітохімічних препаратів є екстракція надкритичними флюїдами (НКФ), які мають унікальні властивості: їх густина і розчинювальна здатність близькі до рідин, а за дифузійними властивостями НКФ наближаються до газів, тобто мають дуже низьку в'язкість (в 10-100 разів менше, ніж у рідин) і, відповідно, високу проникну здатність. Завдяки нульовому поверхневому натягу НКФ практично миттєво заповнюють пори і капіляри, чим якісно відрізняються від звичайних розчинників [2, 3].

Іншою важливою характеристикою НКФ є те, що їх полярність і розчинювальна здатність значно залежать від тиску і температури. Так, наприклад, при тиску близько 100-150 атм надкритичний діоксид вуглецю (НК-СС₂) екстрагує переважно гідрофобні компоненти подібно до зріджених газів. Однак при тиску 400-600 атм, особливо при додаванні невеликої кількості співрозчинника, в екстракт переходят більш гідрофільні речовини: глікозиди, алкалоїди, дубильні речовини, фенольні сполуки [3, 7, 8].

Різкі зміни розчинювальної здатності НКФ пояснюються тим, що в певному діапазоні при по-

рівнянню невеликому підвищенні тиску спостерігається значне збільшення густини, яка відіграє провідну роль при екстракції НКФ [3, 7, 12].

Присутність навіть невеликих кількостей співрозчинника може значно впливати на умови НКФ-екстракції. Так, наприклад, автори [9] встановили, що екстракція сумі флавоноїдів з коренів шоломниці байкальської найбільш повно здійснюється при тиску 200 атм і додаванні до НК-СС₂ 10% метанолу та 5% води. Дослідження [12] також вказують на необхідність додавання співрозчинника при НКФ-екстракції серцевих глікозидів наперстянки, проте при збільшенні його кількості знижується селективність екстрагенту.

Авторами [10] показана можливість кількісної витяжки полярних глікозидів з плодів винограду при додаванні модифікатора, концентрація якого була найбільш впливовим фактором щодо повного екстрагування.

Як видно з вищевикладеного, надкритична екстракція відкриває перспективи для розширення спектра витягуваних БАР до гідрофільних завдяки унікальним особливостям НКФ, що дозволить радикально вирішити більшість проблем, які стоять перед промисловою фітохімією.

Проте, цей метод інтенсифікації не позбавлений недоліків. По-перше, робочий тиск в екстракторах досягає 500-800 атм, що накладає значні обмеження на їх об'єм, а також супроводжується великими капітальними та експлуатаційними витратами на обслуговування подібних установок [5, 11]. Очевидно, надкритичну технологію рентабельно використовувати лише для отримання дорогих високоочищених субстанцій (наприклад, алкалоїдів, серцевих глікозидів).

Крім того, НКФ-екстракція не завжди перевершує за ефективністю інші методи. Так, авторами [6] виявлена висока ефективність витягання ліпофільних речовин НК-СС₂ із квіток ромашки, календули і плодів глоду при тиску 300 атм і вище, однак вихід поліфенольних і глікозидних сполук був невисоким навіть при тиску близько 700 атм і додаванні 20% етанолу як модифікатора.

Порівняльний аналіз різних методів екстракції плодів шипшини (традиційна в апараті Сокслета,

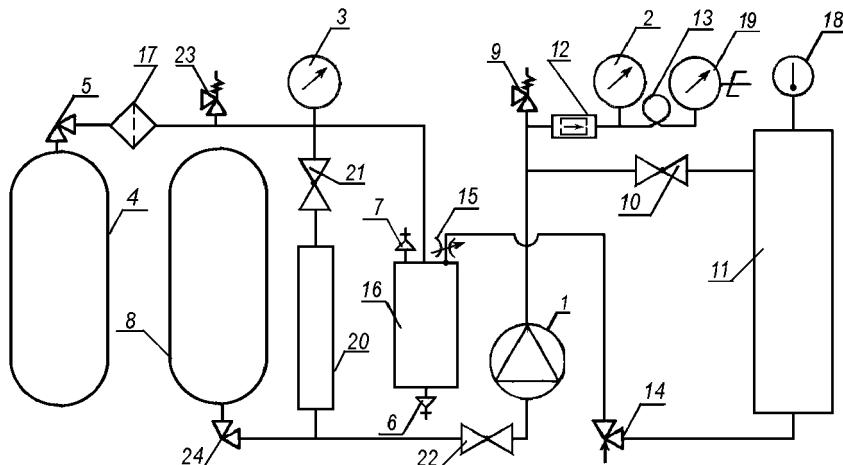


Рис. 1. Принципова апаратурна схема установки УЕ-4-400.

1 — компресор високого тиску; 2, 3 — манометри; 4, 8 — балони з СС₂; 5, 24 — вентилі балонні кутові; 6, 7 — крані кінцеві; 9 — клапан запобіжний високого тиску; 10, 21, 22 — крани прохідні; 11 — реактор високого тиску; 12 — гаситель гідрравлічного удару; 13 — компенсатор; 14 — вентиль кутовий регулюючий; 15 — дросель регульований; 16 — реактор-сепаратор; 17 — фільтр; 18 — термометр; 19 — манометр електроконтактний; 20 — конденсатор; 23 — клапан запобіжний низького тиску.

ультразвукова, мікрохвильова, до- та надкритична) показав, що докритична екстракція зрідженими газами дає найвищий вихід олії з найбільшою концентрацією каротинів і поліненасичених жирних кислот [11].

Таким чином, надкритична технологія не може бути універсальною у фітохімічному виробництві. Для кожного конкретного виду ЛРС і БАР, що містяться в ній, слід проводити експериментальні дослідження з метою обґрунтування доцільності впровадження того або іншого методу інтенсифікації, у тому числі й НКФ-екстракції [5].

Враховуючи вищевикладене, метою нашої роботи було дослідження процесу екстракції суцвіть липи надкритичним СС₂ при різних параметрах технологічного режиму.

Експериментальна частина

У даних дослідженнях як сировину використовували суцвіття липи серцелистої *Tilia cordata*, заготовлені в Рівненській області в 2008 р., подрібнені до розмірів часток 0,5-2,0 мм. Вологість сировини складала 8,3%.

Екстрагування проводили на дослідно-промисловій установці УЕ-4-400, розробленої ТОВ “Теххарм” (м. Львів). Її принципова апаратурна схема представлена на рис. 1.

Процес екстракції надкритичним СС₂ здійснювався наступним чином. У реактор високого тиску 11 (рис. 1) завантажували наважку сировини масою 100,0 г. З балону 8, який містив зріджений СС₂, компресором високого тиску подавали екстрагент у реактор, заздалегідь прогрітий до робочої температури. Контроль за тиском і температурою в установці здійснювався автоматичним блоком управління та індикації.

Екстракцію суцвіть липи проводили в статичному режимі мацерації при співвідношенні сировина — екстрагент 1:40 (об.) в діапазоні темпера-

тур 35-70°C та тиску 100-400 атм. Тривалість процесу становила 60 хв.

Після закінчення зазначеного періоду екстракт зливали через кутовий вентиль 14 і регульований дросель 15 в реактор-сепаратор 16, де відбувалося падіння тиску та температури, що спричиняло розділення розчинених у надкритичному флюїді речовин на готовий екстракт і газоподібний СС₂, який через дисковий кран 21 потрапляв до конденсатора 20, зріджувався та збирався у балоні 4. Залишковий СС₂ під тиском через кран 7 випускався в атмосферу. Для витягання твердо-го або пастоподібного екстракту в конструкції реактора-сепаратора передбачено зйомне днище зі стаканом.

Одержані екстракти зважували на електронних вагах з точністю до 0,001 г. Визначення вмісту вологи проводили методом газової хроматографії [4] з урахуванням того, що стандартна гравіметрична методика за ДФУ, р.2.8.17 є непридатною внаслідок присутності значної кількості летких БАР, а титрування по Фішеру може дати необ'ективні результати, оскільки в екстракті присутні ненасичені сполуки, здатні реагувати з йодом.

Вихід екстракту X, % у перерахунку на абсолютно суху сировину розраховували за формулою:

$$X, \% = \frac{m_e \cdot (100 - W_e) \cdot 100}{m_n \cdot (100 - W)},$$

де: m_e — маса одержаного екстракту, г; m_n — маса наважки рослинної сировини, завантаженої в екстрактор, г; W — вологість досліджуваної наважки сировини, %; W_e — вологість одержаного екстракту, %.

Вміст суміші летких речовин, у тому числі ефіроолійної фракції, визначали за методикою ДФУ 1.1, р. 2.8.12 [1] в точних наважках екстрактів 0,5 г у перерахунку на абсолютно сухий екстракт.

Таблиця

Основні характеристики екстрактів суцвіть липи, одержаних у різних технологічних режимах

Зразок, №	Умови екстракції		Вихід екстракту, %	Вміст волого в екстракті, %	Вміст летких речовин, %	Наявність флавоноїдів	Наявність фенолокислот
	температура, °C	тиск, атм					
1	35	100	0,83	1,5	77,69	—	—
2	35	200	0,99	8,0	68,42	—	—
3	35	300	1,20	14,4	49,89	—	—
4	35	400	1,60	22,3	28,01	—	—
5	45	100	0,74	1,7	61,83	—	—
6	45	200	1,01	9,2	47,28	—	—
7	45	300	1,32	16,1	31,32	—	—
8	45	400	1,55	25,5	22,58	—	—
9	60	100	0,66	2,2	50,96	—	—
10	60	200	1,14	12,1	36,21	—	—
11	60	300	1,49	18,9	19,77	—	—
12	60	400	1,64	28,7	14,60	—	1 пляма
13	70	100	0,58	2,3	41,62	—	—
14	70	200	1,20	12,8	18,17	—	—
15	70	300	1,72	20,9	11,43	—	—
16	70	400	1,77	33,4	9,23	—	1 пляма
ХЕ	40	14	1,31/2.27*	0,4	53,93	—	1 пляма

* — вихід хладонового екстракту після одного та трьох етапів екстракції відповідно.

Для аналізу якісного складу ліпофільних компонентів точні наважки по 0,1 г вуглеводніх екстрактів (у перерахунку на безводні) розчиняли у 5 мл суміші ацетон-метанол (50:50), переносили в мірні колби місткістю 10 мл та доводили до позначки зазначеними розчинниками (розчин А). Аналогічним чином готували розчин порівняння (РП) на основі екстракту суцвіть липи, одержаного зрідженим дифторохлорометаном (хладоном-22).

По 20 мкл розчинів А та РП наносили мікропіпеткою на пластинки "Silufol UV 254" та хроматографували в системі толуол-етилацетат (93:7) на висоту 12 см. Проявляли хроматограми анісовим реактивом з наступним нагріванням при 110°C протягом 3-5 хв.

Наявність флавоноїдів та фенольних кислот визначали методом хроматографії на папері марки "С" у системі 15% оцтова кислота за власною флуоресценцією в УФ-світлі, а також після обробки 3% спиртовим розчином алюмінію хлориду.

Результати та їх обговорення

Проведеними дослідженнями було встановлено, що параметри режиму надкритичної екстракції суцвіть липи значно впливають на вихід та якісні характеристики одержаного продукту.

Як видно з таблиці, підвищення тиску НКФ зі 100 до 400 атм збільшує вихід екстрактивних речовин в 2-3 рази, особливо при нагріванні. Проте, вплив температури виявився досить складним.

При тиску 100 атм підвищення температури на-віть зменшувало ефективність екстракції, що можна пояснити помітним зниженням густини НКФ і, як наслідок, погіршенням розчинності БАР. В діапазоні 250-300 атм, коли густина флюїду різко зростає за рахунок тиску та наближається до рідин, збільшення температури приводить до покращення ефективності екстракції. При тиску близько 400 атм даний ефект нівелюється, оскільки тиск стає більш значущим фактором.

Вміст волого в одержаних екстрактах закономірно зростав зі збільшенням температури і, особливо, тиску. Це, звичайно, пов'язано зі здатністю діоксиду вуглецю реагувати з водою, утворюючи карбонову кислоту.

Відносна кількість летких речовин різко зменшується з підвищенням тиску та температури за рахунок збагачення екстрактів більш високомолекулярними та полярними сполуками (зразки 4, 8, 12, 15, 16).

Вищезазначене підтверджується також результатами ТШХ-аналізу екстрактів (рис. 2), з яких видно, що за якісним складом ліпофільних сполук вони ідентичні, але існує помітна різниця у кількісному співвідношенні компонентів. Так, НКФ-екстракти, одержані при тиску 400 атм, збагачені кисневмісними сполуками з Rf 0.15-0.4 та наближаються за складом до хладонового екстракту. При застосуванні помірних температур (35°C) та

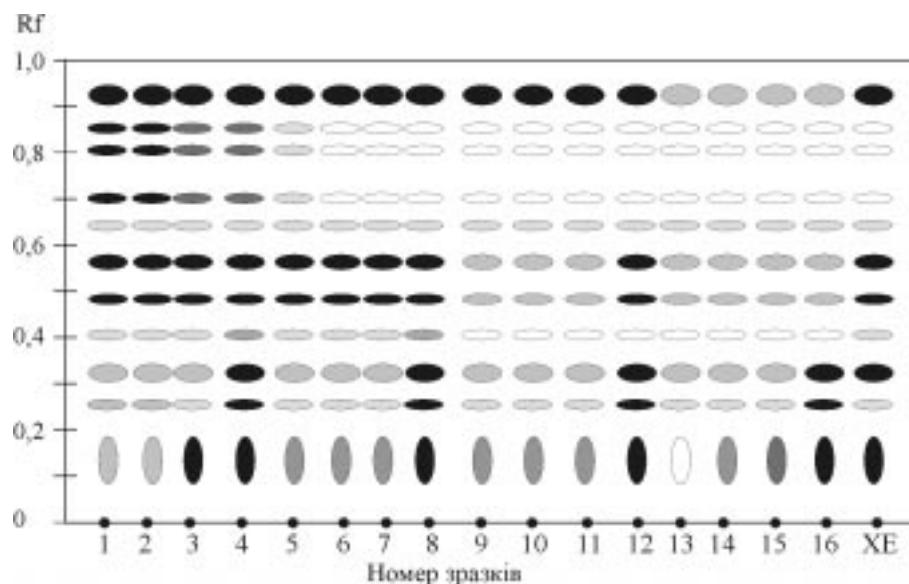


Рис. 2. Схема тонкошарової хроматографії екстрактів із суцвіть липи, одержаних НК-СС₂ та хладоном-22 (ХЕ) (система толуол-етилацетат 93:7): інтенсивність забарвлення плям відображеня відповідними відтінками.

відносно невисокого тиску (до 200 атм) екстракти містять переважно ефіри та вуглеводні (R_f 0.5–0.9).

При аналізі екстрактів методом паперової хроматографії в юному із зразків не було виявлено флавоноїдних сполук. Фенолокислота (кофейна кислота) була знайдена тільки в НКФ-екстрактах, одержаних при тиску 400 атм та температурі 60 та 70°C, а також у хладоновому екстракті.

Отже, екстракти із суцвіть липи, одержані надкритичним СС₂ в досліджуваних нами режимах, практично не відрізнялися від таких, що були екстраговані хладоном-22. Проте, НК-СС₂ за певних умов виявляє відносну селективність щодо окремих компонентів ліофільної фракції. Тому в промисловому виробництві первинну екстракцію суцвіть липи більш доцільно проводити в докритичних умовах при відносно низькому тиску (5–15 атм), наприклад, хладонами або пропаном, що дозволить застосовувати реактори більшого об'єму.

Фракціонування одержаних екстрактів при необхідності можна здійснювати в невеликих реакторах надкритичними флюїдами, у тому числі й СС₂.

ВИСНОВКИ

1. Проведено дослідження процесу екстракції суцвіть липи надкритичним діоксидом вуглецю при різних параметрах технологічного режиму.

2. Встановлено, що найбільшої селективності щодо летких компонентів досліджуваної сировини НК-СС₂ набуває при температурі 35°C та тиску 100–150 атм. Збільшення температури та тиску приводить до збагачення екстракту більш високо-молекулярними сполуками.

3. Надкритичний СС₂ в діапазоні температур 35–70°C та тиску 100–400 атм екстрагує із суцвіть липи такі ж класи сполук, що й хладон-22. Застосування останнього більш доцільне для промислової переробки сировини, а використовувати НК-СС₂ раціонально для фракціонування екстрактів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. — 1-е вид. — Доп. 1. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 520 с.
2. Добровольний О.О., Шаламай А.С. // Фармаком. — 2005. — №4. — С. 48-52.
3. Зилфикаров И.Н., Челомбитько В.А., Алиев А.М. Обработка лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами. — Пятигорск, 2007. — 244 с.
4. Зинченко А.А., Котова Э.Э., Чибилиев Т.Х. // Фармаком. — 2004. — №1. — С. 1-6.
5. Касьянов Г.И., Стасьев О.Н., Латин Н.Н. // Пищ. пром. — 2005. — №1. — С. 36-39.
6. Hamburger M., Baumann D., Adler S. // Phytochemical Analysis. — 2004. — Vol. 15, №1. — P. 46-54.
7. Hugh M.A., Krukonis V.J. Supercritical Fluid Extraction: Principles and Practice. — 2-nd ed. — Boston, 1994. — 512 p.
8. Lingzhao W., Bao Y., Xiuqiao D., Chun Y. // Food Chem. — 2008. — Vol. 108, №2. — P. 737-740.
9. Mei-Chih Lin, Ming-Jer Tsai, Kuo-Ching Wen // J. of Chromatography A. — 1999. — Vol. 830, №2. — P. 387-395.

10. Palma M., Taylor L.T., Zoecklein B.W., Douglas L.S. // *J. Agric. Food Chem.* — 2000. — Vol. 48, №3. — P. 775-779.
11. Szentmihalyi K., Vinkler P., Lakatos B. et al. // *Bioresour. Technol.* — 2002. — Vol. 82, №2. — P. 195-201.
12. Taylor L.T. // *Anal. Chem.* — 2010. — Vol. 82, №12. — P. 4925-4935.

УДК 615.322 : 615.451.16 : 66-987 : 661.97

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ЭКСТРАКЦИИ СОЦВЕТИЙ ЛИПЫ СВЕРХКРИТИЧЕСКИМ ДИОКСИДОМ УГЛЕРОДА

Д.В.Демьяненко, В.Г.Демьяненко, Д.И.Дмитриевский, С.В.Бреусова

Исследован процесс экстракции соцветий липы сверхкритическим диоксидом углерода (СК-СС₂) в режиме статической макерации в течение 60 мин при различных значениях температуры и давления. Установлено, что наибольшую селективность к летучим компонентам исследуемого сырья СК-СС₂ приобретает при температуре 35°C и давлении 100- 150 атм. Повышение температуры и давления способствует обогащению экстракта более высокомолекулярными соединениями. Экстракты, полученные сверхкритическим СС₂ в диапазоне температур 35-70°C и давления 100-400 атм и дифторхлорметаном (хладоном-22) в докритических условиях, имели практически одинаковый качественный состав. Применение сжиженного хладона является более целесообразным для промышленной экстракции соцветий липы, а НК-СС₂ рационально использовать для фракционирования полученных экстрактов.

UDC 615.322 : 615.451.16 : 66-987 : 661.97

RESEARCH OF SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE EXTRACTION OF LIME FLOWERS

D.V.Demyanenko, V.G.Demyanenko, D.I.Dmitriyevsky, S.V.Breusova

Supercritical carbon dioxide (SC-CC₂) extraction of lime flowers in the static maceration mode during 60 minutes has been investigated under different temperatures and pressures. It has been found that SC-CC₂ acquires the highest selectivity in relation to volatile components of the raw material examined under the temperature of 35°C and pressure of 100-150 atm. Increasing temperature and pressure promotes enrichment of the extract with higher-molecular compounds. The extracts obtained with supercritical CC₂ in the temperature range of 35-70°C and pressure of 100-400 atm had practically the same qualitative composition as those extracted with difluorochloromethane (Freon-22) in subcritical conditions. Application of the condensed Freon-22 is more expedient for large-scale production extraction of lime flowers, and the use of SC-CC₂ is rational for fractionation of the extracts obtained.