



УДК 1615.322*451.16:547.814.51.012:661.12

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОМЫШЛЕННОГО МЕТОДА ЭКСТРАГИРОВАНИЯ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА

А.М. Шевченко¹
Е.Г. Ковалевская¹
Н.Т. Карданов²

*1Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

*2ООО «Биотехнология-07»,
г. Нальчик*

e-mail: nplfarmak-50@yandex.ru

В статье изложены данные об особенностях промышленного метода экстрагирования дигидрокверцетина, материалы исследований образцов сырья по товароведческим и физико-химическим показателям. В связи с большим количеством сопутствующих веществ, процесс выделения дигидрокверцетина (ДГК) представляется весьма сложным. Известные по патентным исследованиям способы получения ДГК зачастую существуют только в лабораторном варианте. Причинами низкой эффективности промышленного метода экстрагирования дигидрокверцетина могут быть отсутствие стадии предварительного замачивания свежего сырья, в котором должны пройти процессы плазмолиза живых клеток, затем десорбция и растворение ДГК, а также недостаточная степень вскрытия фибриллярных полостей и разрушение клеток древесины в процессе экстрагирования.

Ключевые слова: дигидрокверцетин, таксифолин, био-флавоноиды, экстрагирование.

Дигидрокверцетин (таксифолин) – природный флавоноид, получаемый из древесины лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и лиственницы даурской (*Larix dahurica* Turcz.) [1]. Широкий спектр биологической активности препарата (антиоксидантная, ангиопротекторная, регенерирующая, противоопухолевая, дезинтоксикационная, противоотечная и др.) привлекает в последнее время все большее внимание исследователей в научной и практической медицине.

В связи с большим количеством сопутствующих веществ, процесс выделения дигидрокверцетина (ДГК) представляется весьма сложным. Известные по патентным исследованиям способы получения ДГК зачастую существуют только в лабораторном варианте. При масштабировании их возникают сложности с регенерацией растворителей, утилизацией отходов, они сложны в исполнении, требуют использования дорогостоящих растворителей, не всегда обеспечивают чистоту продукта. Кроме того, высокие энергозатраты на регенерацию экстрагентов повышают стоимость субстанции, а токсичность и огнеопасность некоторых экстрагентов не позволяют использовать их в крупном производстве. Поэтому промышленные методы получения субстанции должны быть в первую очередь безопасны и экономически обоснованы.

Производство ДГК налажено некоторыми предприятиями Сибири (г. Ангарск, фирма «Флавир», ИНПФ «Химия древесины» совместно с Байкальским ЦБК), Дальнего Востока (ОАО «Аметис», Амурская обл.), Подмосковья (г. Пущино), а также ООО «Биотехнология – 07» (г. Нальчик). Сырьем служит древесная масса комлевой части ценных пород сибирской и даурской лиственницы от 100- до 200-летнего возраста. При производстве ДГК в Европейской части нашей страны стоимость его повышается из-за транспортировки сырья из районов Дальнего Востока и Сибири. Учитывая большую потребность в субстанции, ценность сырья и ограниченность его запасов, технологии его выделения должны быть в максимальной степени ресурсосберегающими. Существующий метод промышленного получения ДГК [2] основан на экстракции мелкоизмельченной комлевой части лиственницы 90% спиртом этиловым в батарее из двух диффузоров в соотношении сырья и экстрагента 1:6. Для интенсификации процесса к диффузорам подключают роторно-пульсационный аппарат (РПА), экстрагируют в течение 20 минут, затем отделяют извлечение на фильтрующих центрифугах. В последующем извлечение концентрируется, из него осаждается ДГК-сырец, который подвергается дополнительной очистке и перекристаллизации. При



этом сырье, особенно во втором диффузоре, содержащее значительную часть неизвлеченного ДГК, в дальнейшем не используется и идет в отвал.

Целью настоящей работы является выяснение причин недостаточного истощения сырья в промышленном методе экстрагирования.

Объекты и методы. В качестве объектов исследования использовали комлевые части лиственницы даурской зимней заготовки, поставляемые из Зейского района Амурской области. Предприятие «Биотехнология – 07» (г. Нальчик) предоставило 6 образцов сырья различных серий. Измельчение сырья проведено на токарном станке (степень измельчения 1-7 мм). Содержание ДГК определяли методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе «Стайер» фирмы Аквилон согласно методикам, описанным в литературе [3], при следующих параметрах: колонка Luna C 8 размером 250×4,60 мм, длина волны 287 нм, объем вводимой пробы 20 мкл. Образец ГСО дигидрокверцетина (ВФС 42-2399-94) был предоставлен ООО «Биотехнология-07», г. Нальчик.

Обсуждение результатов. Начальным этапом исследований явилось исследование образцов сырья по товароведческим и физико-химическим показателям. Влажность сырья определена по методике ГФ XI издания [4] содержание ДГК – по методике, приведенной выше. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты определения влажности и содержания ДГК в промышленных образцах комлевых частей лиственницы даурской

№ серии образца	Влажность		Содержание ДГК в пересчете на сухое вещество	
	W, %	Метрологические характеристики	С _{исх.} %	Метрологические характеристики
010310	18,4	$\bar{X} = 16,4$ $S_x = 0,991$ $\pm \Delta X = 2,54$ $\varepsilon = 15,52\%$ $t = 2,57$	2,95	$\bar{X} = 2,63$ $S_x = 0,127$ $\pm \Delta X = 0,328$ $\varepsilon = 12,46\%$ $t = 2,57$
020310	19,8		2,41	
030310	13,4		2,68	
040310	15,8		2,20	
050310	16,8		3,01	
060310	14,3		2,55	

Как следует из табл. 1, влажность измельченных образцов свежей древесины лиственницы даурской находилась в пределах 14,3 -19,8%, а содержание ДГК – 2,20 – 3,01%.

Степень измельчения определена путем ситового анализа образцов сырья промышленного измельчения. Учет результатов ситового анализа проводился по формуле Козени [5]:

$$\frac{100}{d} = \sum_{i=1}^{i=k} \frac{\Delta g_i}{d_i}$$

где: Δg_i – количество частиц сырья размером d_i . Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты ситового анализа образцов сырья различных серий

№ серии образца	Содержание частиц сырья указанного размера (мм), %						
	<0,5	0,5-1,0	1,0-2,0	2,0-3,0	3,0-5,0	>5,0	$\frac{100}{d}$
010310							2,5
020310	2,2	5,8	24,2	38,2	20,4	9,2	2,6
030310	2,8	4,5	18,5	42,4	19,2	12,6	2,7
040310	1,4	6,2	20,2	36,4	22,1	14,7	2,6
050310	0,6	6,8	25,6	32,5	24,3	10,2	2,6
060310	2,0	5,2	22,4	37,1	20,0	13,3	2,5
\bar{O}	1,7	4,7	21,2	38,5	18,7	15,2	2,6



Как следует из табл. 2, средняя степень измельчения составила 2,6 мм, несмотря на то, что в некоторых партиях сырья содержание частиц размером более 5 мм составляло 15%. Это говорит о необходимости дополнительного измельчения сырья.

В лабораторных условиях воспроизведен промышленный метод экстрагирования при следующих условиях:

- масса сырья в одном диффузоре – 40 г;
- число диффузоров – 2;
- размер частиц – 1-7 мм (промышленная степень измельчения);
- экстрагент – спирт 90%;
- количество экстрагента – 240 мл;
- соотношение твердой и жидкой фаз – 1:6.

Для интенсификации процесса использовали высокоскоростной лабораторный миксер-измельчитель (2 тыс.об/мин). Время экстрагирования на каждой ступени составляло 20 минут, как это и заложено в технологической инструкции. Отжим сырья проводили на лабораторном гидропрессе при давлении 100 кгс/см². При этом коэффициент поглощения составил в среднем 0,8 см³/г. Для экстракции взято 6 образцов сырья различных серий поставки. Фактический выход (η_{ϕ}) рассчитывался по формуле:

$$\eta_{\phi} (\%) = \frac{X_i(z)}{X_{исх.}} \cdot 100.$$

где X_i – содержание ДГК (г) в отделенной от сырья жидкой фазе после 2-й ступени экстракции; $X_{исх.}$ – содержание ДГК в использованной для экстрагирования массе исходного сырья (80 г). Результаты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Фактический выход ДГК в промышленном методе экстрагирования

№ серии образца	$X_{исх.}$, г	X_i , г	C_i , %	Метрологические характеристики
010310	2,36	0,8200	34,75	$\bar{X} = 39,12$ $S_x = 1,792$ $\pm \Delta X = 4,606$ $\varepsilon = 11,77\%$ $t = 2,57$
020310	1,93	0,8012	41,51	
030310	2,14	0,8199	38,31	
040310	1,76	0,8050	45,74	
050310	2,41	0,8210	34,07	
060310	2,04	0,8235	40,37	

Таким образом, фактический выход ДГК находился в пределах 34,07 – 45,74% (в среднем 39,12%).

Теоретический расчет [5] возможного выхода ДГК при вышеуказанных условиях показал, что при достижении равновесия в системе экстрагент – сырье он должен быть на уровне 98%:

$$\eta_{\delta} = \frac{\dot{a} + \dot{a}^2 + \dots + \dot{a}^n}{1 + \dot{a} + \dot{a}^2 + \dots + \dot{a}^n} \cdot 100\% = \frac{\frac{208}{32} + \left(\frac{208}{32}\right)^2}{1 + \frac{208}{32} + \left(\frac{208}{32}\right)^2} = 98\%,$$

где a – соотношение сливаемого и удержанного сока; n – число ступеней экстрагирования, равное числу диффузоров в батарее.

Эффективность используемого метода:

$$\frac{\eta_{\delta}}{\eta_{\delta}} \cdot 100\% = \frac{39,12}{98} \cdot 100 = 39,9\%,$$

Представляло интерес установить причины столь низкой эффективности.

Время проведения процесса экстрагирования в промышленных условиях (20 мин на каждой ступени) кажется нам сомнительным, т.к. измельченное сырье предварительно не высушивается в связи с возможностью окисления ДГК, а живые



клеточные оболочки не обладают полупроницаемостью. В связи с этим нами устанавливалось оптимальное время экстрагирования сырья на одной ступени. Процесс извлечения проводили в приведенных выше условиях в течение 5-45 мин (пробы отбирались через каждые 5 мин). Анализ полученных извлечений проводили методом ВЭЖХ, как указано выше. Результаты представлены на рис. 2. Для исследования взят образец сырья серии 020310 с исходным содержанием ДГК 2,41%.

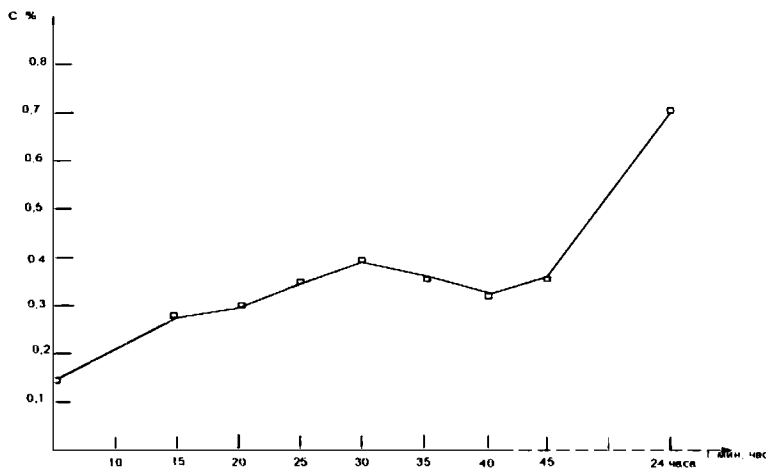


Рис. 1. Динамика извлечения ДГК в зависимости от времени экстрагирования

Результаты эксперимента показали, что максимальный прирост концентрации ДГК наблюдался на 25-й минуте экстрагирования, после чего значимых изменений в приросте не было. Однако после экспозиции системы в течение 24 часов и дополнительной экстракции в течение 5 мин. на лабораторном миксере-измельчителе прирост концентрации составил еще 0,35% (!).

Таким образом, причинами низкой эффективности промышленного метода экстрагирования дигидрокверцетина могут быть отсутствие стадии предварительного замачивания свежего сырья, в котором должны пройти процессы плазмолиза живых клеток, затем десорбция и растворение ДГК, а также недостаточная степень вскрытия фибриллярных полостей и разрушение клеток древесины в процессе экстрагирования. Указанные причины должны быть учтены при разработке оптимизированной схемы получения ДГК.

Литература

1. Уминский, А. А. Биохимия флавоноидов и их значение в медицине // А.А. Уминский, Б.Х. Хавстеен, Б.Ф. Баканева. – Пушино: ООО Фотон-век, 2007. -264 с.
2. Патент 2346941(RU). Способ выделения дигидрокверцетина из древесины лиственницы и установка для его осуществления / Кислицын А.Н., Мальчиков Е.Л. (RU)// Заявка: 2007114401/04, 16.04.2007
3. Р 4.1.1672-03. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. 11.3. Определение флаванолов в БАД из экстрактов лиственницы. Дата введения – 30 июня 2003 года .
4. Государственная фармакопея СССР. – 11-е изд. – Вып. 1. Общие методы анализа. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
5. Пономарев, В. Д. Экстрагирование лекарственного растительного сырья / В.Д. Пономарев. – М.: Медицина, 1976. – 204 с.



ESTIMATION OF EFFICIENCY OF INDUSTRIAL METHOD OF DIHYDROQUERCETIN EXTRACTION

A.M.Shevchenko¹
E.G.Kovalevskaja¹
N.T.Kardanov²

*¹Pyatigorsk State
Pharmaceutical Academ*

*²Public corporation "Biotechnology – 07",
Nalchik*

e-mail: nplfarmak-50@yandex.ru

In the article the data on features of industrial method of extraction of dihydroquercetin, materials of researche of samples of raw in physical and chemical parameters are stated. In connection with a plenty of accompanying substances, process of extraction of dihydroquercetin (DGQ) is represented rather complex. Ways of reception DGQ known on patent researches frequently exist only in laboratory variant. The reasons of low efficiency of an industrial method extraction of dihydroquercetin can be absence of a stage of preliminary soaking of fresh raw material, in which should pass processes of a plasmolysis of living cells, then a desorption and dissolution DGK, and also an insufficient degree of opening of fibrillar cavities and destruction of cells of wood in process extraction.

Key words: dihydroquercetin, taxyfolin, bioflavonoids, extraction