



УДК 615.322.012.1

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СМОРОДИНЫ ЧЁРНОЙ ЛИСТЬЕВ ЭКСТРАКТА СУХОГО

Т.М. МЕДВЕДЕВА
И.Е. КАУКОВА

*ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская
государственная химико-
фармацевтическая академия
Министерства здравоохранения
и социального развития Российской
Федерации*

e-mail:
Tatiana.Medvedeva@pharminnotech.com

Разработана технология смородины чёрной листьев экстракта сухого, обогащённого флавоноидами и кислотой аскорбиновой, с использованием на стадии экстрагирования дробной мацерации. Показано, что использование раствора этилендиаминтетраацетата натрия (ЭДТА) в качестве экстрагента оказывает положительное влияние на стабильность БАВ смородины чёрной листьев, увеличивая их выход в среднем на 10%.

Ключевые слова: смородина чёрная, экстракт сухой, антиоксидантная активность, кислота аскорбиновая.

Введение. Антиоксиданты играют важную роль в регуляции протекания свободно-радикальных превращений в организме, существенно влияя на его состояние, поэтому антиоксиданты и исследование антиокислительных свойств соединений в последнее время получили широкое распространение. Наиболее перспективными для коррекции антиоксидантного статуса человеческого организма считаются продукты растительного происхождения, богатые полифенолами, витаминами, каротиноидами и другими биологически активными веществами благодаря их широкому распространению, доступности, ценным свойствам, щадящему воздействию на организм и сравнительно низкой токсичности [1, 2].

Смородины чёрной листья содержат широкий комплекс биологически активных соединений, основными из которых являются кислота аскорбиновая, флавоноиды, дубильные вещества, кумарины, каротиноиды, органические кислоты, эфирные масла и др. Известно, что все вышеперечисленные соединения проявляют антиоксидантные свойства [3]. Однако несмотря на то, что смородина чёрная является перспективным лекарственным растительным сырьём, исследование современного фармацевтического рынка показало, что номенклатура лекарственных препаратов на его основе чрезвычайно мала [4]. В связи с этим актуальным является создание и внедрение в медицинскую практику лекарственных средств на основе извлечений из смородины чёрной листьев.

Цель: разработка технологии сухого экстракта на основе смородины чёрной листьев с целью его дальнейшего введения в состав общеукрепляющего и витаминного лекарственного средства.

Материалы и методы. В работе использовали сырьё, приобретённое в аптечной сети, производства ОАО «Хорст», г. Барнаул, серия 09.10. Экстракцию проводили методом мацерации при перемешивании.

При разработке технологии смородины чёрной листьев экстракта сухого об эффективности технологии судили по выходу флавоноидов, кумаринов и дубильных веществ и содержанию аскорбиновой кислоты, а также по величине антиоксидантной активности (АОА) полученных извлечений.

Количественное содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин определяли методом дифференциальной спектрофотометрии по стандартной методике. Для определения содержания кумаринов использовали метод спектрофотометрии [5]. В обоих случаях измерения проводили на спектрофотометре UV-mini-1240 (Shimadzu). Количественное определение дубильных веществ проводили методом Левенталья – Курсанова [6].

Определение антиоксидантной активности (АОА) объектов проводили по методике кулонометрического титрования электрогенерированным бромом [7, 8] на потенциометре П-5827М. В электролитическую ячейку помещали 10 мл виннокислого буфе-

ра с рН 3,56 (приготовленного из стандарт-титра), 5 мл 0,1 н серной кислоты, 5 мл 0,2 М калия бромид. К созданной среде титрования добавляли исследуемый объект в объеме 0,5 мл. После заполнения ячейки в нее помещали две пары электродов. Для равномерного протекания электрохимического взаимодействия во всем объеме ячейки в нее помещали якорь магнитной мешалки. Затем через ячейку пропускали ток постоянной величины (20 мА), величину тока фиксировали миллиамперметром с функцией стабилизации силы тока. Время конца титрования фиксировали с помощью секундомера при появлении скачка потенциала.

Определение количественного содержания кислоты аскорбиновой проводили аналогично кулонометрическим титрованием электрогенерированным йодом [8, 9].

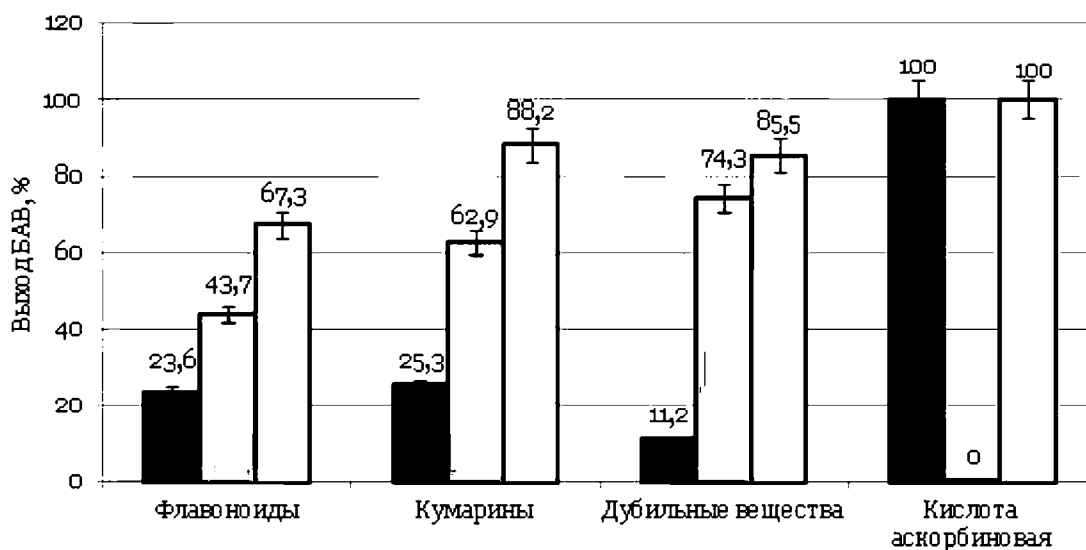
Результаты исследования. В проведенных ранее исследованиях определены оптимальные параметры экстрагирования смородины чёрной листьев: метод экстрагирования – мацерация при перемешивании, экстрагент – вода очищенная, время экстрагирования – 45 минут, соотношение сырье:экстрагент 1:25.

В данном исследовании нами было изучено влияние температурного режима экстрагирования на выход БАВ. Установлено, что уровень АОА и содержание БАВ в извлечениях из смородины черной листьев зависят от температурного режима процесса экстрагирования. Так, АОА максимальна у извлечения, полученного при экстрагировании водой очищенной при 80°С, флавоноиды и кумарины смородины листьев лучше всего извлекаются водой очищенной при 100°С, а кислота аскорбиновая – при 20°С. При этом концентрация кислоты аскорбиновой в извлечении, полученном при 80°С, в пересчете на сухое сырье составляет всего 5,6±0,3 мг% (выход 6,6%), так как повышение температурного воздействия способствует её разрушению.

Поэтому для оптимизации выхода всех целевых БАВ и обеспечения максимальной АОА готового продукта использовали дробную мацерацию смородины черной листьев при различных режимах. С целью сохранения кислоты аскорбиновой, легко разрушающейся на воздухе в водных извлечениях, первое настаивание проводили водой очищенной.

Навеску сырья заливали водой очищенной (t=20°С) в соотношении 1:10, экстрагировали в течение 45 минут при перемешивании с помощью магнитной мешалки со частотой 300 об./мин. Извлечение отфильтровывали (извлечение 1). Шрот повторно заливали водой очищенной в соотношении 1:15, экстрагировали на водяной бане при t=100°С при постоянном перемешивании в течение 45 минут. Второе извлечение также отфильтровывали (извлечение 2).

Результаты исследования полученных извлечений приведены на рис. 1.



■ Показатели извлечения 1 □ Показатели извлечения 2 ▨ Суммарное значение для двух извлечений

Рис. 1. Выходы БАВ из смородины черной листьев при дробной мацерации



Из данных, представленных на рис. 1, видно, что при суммировании количественных показателей извлечений, полученных дробной мацерацией, увеличиваются выходы БАВ по сравнению с извлечением, приготовленным при 80°C. Концентрация кислоты аскорбиновой в извлечении 1 в пересчете на сухое сырье составляет 85±4 мг%. Значение АОА извлечения 1 составило 144 Кл/100 мл, а извлечения 2 – 107 Кл/100 мл, составляя в сумме 251 Кл/100 мл, что превышает уровень АОА извлечения, полученного при моноэкстракции (209 Кл/100 мл).

Таким образом, при дробной экстракции обеспечиваются максимальные выходы БАВ в извлечения и показатели АОА, а также оптимальный модуль экстракции (1:25).

Полученные извлечения упаривали в вакуумном сушильном шкафу при температуре, не превышающей 50°C, до остаточной влажности менее 5%. Определяли качественный и количественный состав полученных сухих экстрактов, а именно содержание кислоты аскорбиновой, флавоноидов, кумаринов и дубильных веществ.

Показано, что наибольшей АОА обладает сухой экстракт 2 за счет более высоких показателей содержания флавоноидов, кумаринов и дубильных веществ. Кислота аскорбиновая в полученных сухих экстрактах не была обнаружена.

С целью сохранения витамина С в сухом экстракте было изучено влияние этилендиаминтетраацетата натрия (ЭДТА) на его стабильность. ЭДТА был выбран в качестве стабилизатора, так как, являясь косвенным антиоксидантом, он не оказывал влияния на показатели АОА извлечений и сухого экстракта. Таким образом, в качестве экстрагента на стадии получения извлечения 3 вместо воды очищенной использовали 0,008 н водный раствор ЭДТА в соотношении 1:10. После отделения методом фильтрации извлечения 3 сырье повторно заливали водой очищенной в соотношении 1:15 (извлечение 4). Из этих извлечений были получены соответственно сухие экстракты 3 и 4. Количественные показатели сухих экстрактов, полученных без применения и с применением раствора ЭДТА, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты количественного определения биологически активных веществ и антиоксидантной активности в сухих экстрактах, полученных дробной мацерацией без применения и с применением раствора ЭДТА в качестве экстрагента

| Показатель | Концентрация флавоноидов, % | Концентрация кумаринов, % | Концентрация дубильных веществ, % | АОА, Кл/100 г сухого экстракта |
|------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| Сухой экстракт | | | | |
| Сухой экстракт 1 | 0,89±0,04 | 0,44±0,02 | 5,23±0,05 | 3,38±0,13 |
| Сухой экстракт 2 | 2,10±0,05 | 5,01±0,05 | 30,17±0,81 | 3,54±0,15 |
| Сухой экстракт 3 | 1,01±0,05 | 0,72±0,03 | 5,49±0,08 | 3,98±0,18 |
| Сухой экстракт 4 | 2,29±0,11 | 5,40±0,07 | 31,15±0,63 | 3,65±0,16 |

Таким образом, доказано, что раствор ЭДТА не влияет на выход БАВ в извлечение, однако оказывает положительное влияние на стабильность БАВ смородины черной листьев при получении сухого экстракта. Содержание кислоты аскорбиновой в сухом экстракте 3 составило 169±9 мг%.

ЭДТА также не влияет на качественный состав сухих экстрактов, что подтверждено при сравнении электрофореграмм сухих экстрактов (рис. 2 и 3), полученных на приборе «КАПЕЛЬ 103РТ» НПФ «Люмекс».

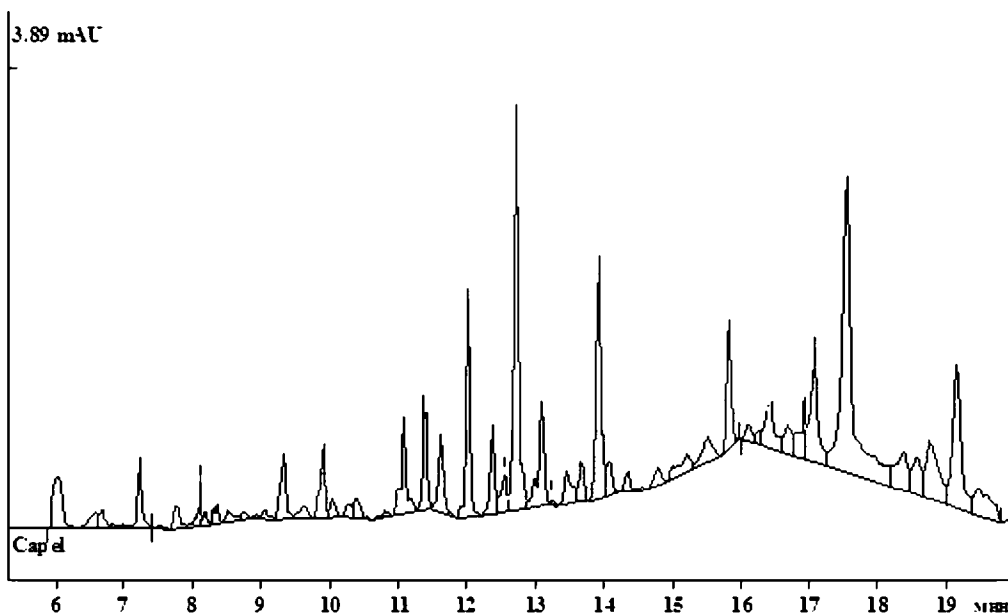


Рис. 2. Электрофореграмма сухого экстракта из извлечения, полученного без применения ЭДТА

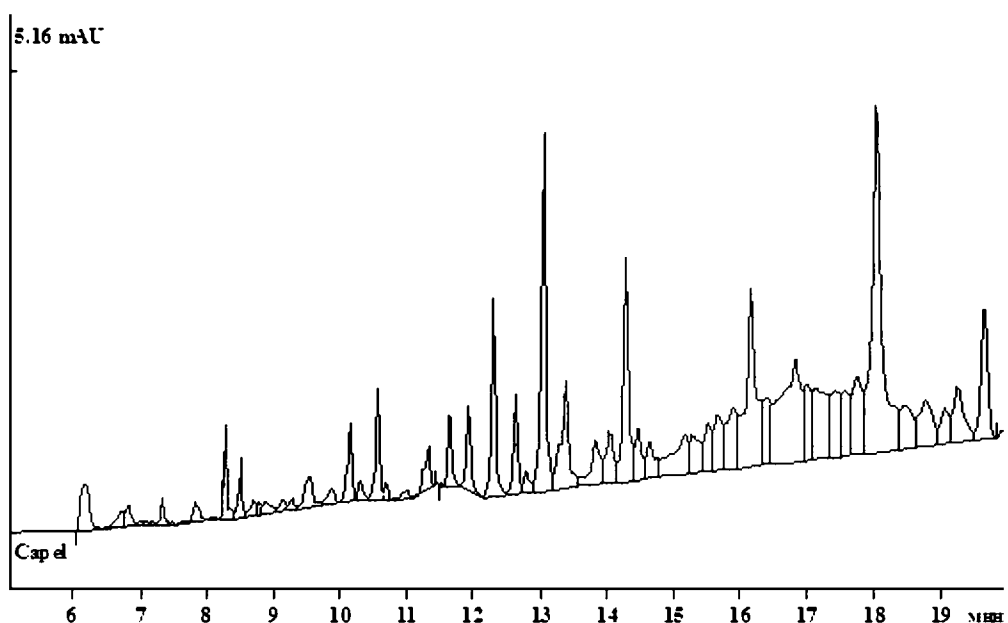


Рис. 3. Электрофореграмма сухого экстракта из извлечения, полученного с применением 0,008 н раствора ЭДТА в качестве экстрагента

При изучении физико-химических свойств полученных сухих экстрактов показано, что их смесь является гигроскопичной. Поэтому для обеспечения необходимых технологических свойств в состав конечного сухого экстракта вводили лактозу. Установлено оптимальное соотношение суммарный сухой экстракт:лактоза, равное 1:3.

Выводы. В результате исследований разработана технология сухого экстракта из смородины черной листьев, обогащенного флавоноидами, кумаринами, дубильными веществами и кислотой аскорбиновой. Показано, что концентрация БАВ максимальна в суммарном сухом экстракте, полученном методом дробной мацерации при различных температурных режимах с перемешиванием.



Доказано, что раствор ЭДТА оказывает положительное влияние на стабильность БАВ смородины черной листьев при получении сухого экстракта, увеличивая их выход в среднем на 10%. Содержание кислоты аскорбиновой в сухом экстракте составило 169 ± 9 мг%.

Изучены технологические свойства полученных сухих экстрактов и их смеси.

Литература

1. Хавинсон, В.Х. Свободнорадикальное окисление и старение / В.Х. Хавинсон, В.А. Баринин, А.В. Арутюнян, В.В. Малинин. – СПб., 2003. – 327 с.
2. Хасанов, В.В. Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева // Химия растительного сырья. – 2004. – № 3. – С. 63-75.
3. Федина, П.А. Определение антиоксидантов в продуктах растительного происхождения амперометрическим методом / П.А. Федина, А.Я. Яшин, Н.И. Черноусова // Химия растительного сырья. – 2010. – № 2. – С. 91-97.
4. Справочник лекарств РЛС [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.rlsnet.ru/> (дата обращения: 30.03.2012).
5. Болотова, В.Ц. Физико-химическое и фармакологическое изучение листьев липы сердцевидной и препаратов на их основе : дис. ... канд. фарм. наук : 15.00.02 / В.Ц. Болотова. – СПб., 2002. – 194 с.
6. Государственная фармакопея СССР. – 11-е изд. – Вып.2. – М. : Медицина, 1990. – 366 с.
7. Алексеева, Г.М. Определение антиоксидантной активности водно-спиртовых экстрактов биомассы и корня женьшеня методом кулонометрического титрования / Г.М. Алексеева, А.В. Белякова, В.А. Вайнштейн // Всероссийская конференция по электрохимическим методам анализа с международным участием : тез. докл. науч. конф. – УФА, 2004. – С. 56-57.
8. Алексеева, Г.М. Перспективы применения метода кулонометрии для определения количественного содержания биологически активных соединений в зверобоя продырявленного траве / Г.М. Алексеева, В.В. Сорокин, И.Е. Каухова, Е.В. Смола // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сб. науч. тр. – Пятигорск, 2008. – Вып. 63. – С. 201-202.
9. Екимов, А.А. Определение аскорбиновой кислоты в листьях смородины черной / А.А. Екимов, Е.А. Ломкова // Сборник тезисов научной конференции, посвященной 300-летию со дня рождения М.В. Ломоносова. – СПб., 2011. – С. 14-17.

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY OF BLACK CURRANT LEAVES DRY EXTRACT

T.M. MEDVEDEVA
I.E. KAUKHOVA

*Saint-Petersburg State Chemical-
Pharmaceutical Academy*

e-mail:
Tatiana.Medvedeva@pharminnotech.com

We have developed the technology of black currant leaves dry extract. The method of performing the extraction procedure was fraction maceration. It was shown that using ethylenediaminetetraacetate (EDTA) water solution we can improve the stability of the biologically active substances of black currant leaves and increase their yield by 10% on average.

Key words: black currant, dry extract, antioxidant activity, ascorbic acid.