



УДК 615.015.14.322:633.791

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ПРОЦЕСС ЭКСТРАГИРОВАНИЯ СОПЛОДИЙ ХМЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО

Г.В. АЮПОВА
Г.М. ЛАТЫПОВА
Е.Д. БАТЫРОВА
Д.Ф. ГАЛИМОВА

*Башкирский государственный
медицинский университет*

e-mail: ayupova2007@mail.ru

Исследованы основные параметры экстрагирования соплодий хмеля обыкновенного.

При определении вида экстрагента, степени измельчения, времени настаивания и модуля экстракции основными критериями были сумма флавоноидов и сумма ацилфлороглюцидов в извлечениях. Предложен способ экстрагирования и вид экстрагента.

Ключевые слова: соплодия хмеля обыкновенного, факторы экстрагирования, сумма флавоноидов, сумма ацилфлороглюцидов, бисмацерация, перколяция, реперколяция.

В основе технологии получения всех фитопрепаратов находится процесс экстрагирования суммы биологически активных веществ (БАВ) из растительного сырья. Соплодия хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* (L.), сем. Коноплевые – *Cannabaceae* широко используются в пищевой промышленности (пивоваренной, хлебопекарной и др.), в парфюмерно-косметической отрасли. Кроме того шишки хмеля в нативном и переработанном виде, благодаря богатому комплексу содержащихся в них БАВ (эфирные масла, горькие гликозиды, фитогормоны, органические кислоты, флавоноиды (кверцетин, рутин, мирицетин, кемпферол и др.), витамины группы В, РР, С, Н, токоферол, аминокислоты, кумарины, дубильные вещества, пектиновые вещества, алкалоиды и др.), нашли применение в медицине. Препараты хмеля оказывают седативное, нейротропное, противовоспалительное, противоязвенное, капилляроукрепляющее, антиоксидантное, болеутоляющее, снотворное действие [3, 4]. Безусловный интерес представляет изучение сырья соплодий хмеля, произрастающего на территории Республики Башкортостан, и извлечений из него на содержание суммы флавоноидов и производных ацилфлороглюцидов, которые были выбраны основными критериями для исследования факторов экстрагирования.

Фенольные соединения шишек хмеля представлены флавоноидами, антоцианами, катехинами и фенолкарбоновыми кислотами. Флавоноиды хмеля относятся к разным химическим группам – флавонам, изофлавонам, флавонолам, флаванолам, флавононам, халконам, антоцианидинам. Общее содержание флавоноидов в хмеле разного происхождения колеблется (в пересчете на рутин) не менее 0,3% (в зависимости от массы абсолютно сухого вещества) [6].

Горечи хмеля, относящиеся к полипетидам ацилфлороглюцинового типа, – смесь кислых и смолистых веществ. Они имеют алициклическое строение и являются производными флороглюцина. Содержание суммы производных ацилфлороглюцидов (в пересчете на гумулон, лупулон, гулупон) составляет не менее 10,0% [6].

Материалы и методы исследования.

В качестве лекарственного растительного сырья использованы соплодия хмеля обыкновенного, произрастающего на территории Благовещенского района Республики Башкортостан. Сырье было собрано и высушено в соответствии с требованиями ГФ.

Как возможные экстрагенты нами были использованы вода очищенная, спирт этиловый концентрации 40, 50, 70, 90%, а также водно-спиртовые растворы в сочетании с растворами поверхностно-активных веществ додецилсульфата натрия и твина-80.

При определении основных параметров экстрагирования (вид экстрагента, степень измельчения, время настаивания, модуль экстракции, способ экстрагирования) качество полученных извлечений из сырья хмеля обыкновенного оценивали по крите-

рию – количественное содержание суммы флавоноидов (по ранее разработанной нами методике) и суммы ацилфлороглюцидов (АФГ) [5,6].

Методика количественного определения суммы флавоноидов в извлечениях.

1 мл извлечения соплодий хмеля помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10 мл 8% раствора алюминия хлорида в 95% спирте этиловом и 0,1 мл кислоты уксусной разведенной. Объем раствора доводили тем же спиртом до метки и оставляли на 30 минут.

Оптическую плотность раствора измеряли на спектрофотометре при длине волны 408 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 1 мл извлечения и 0,1 мл кислоты уксусной разведенной, доведенный 70% спиртом этиловым до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора ГСО рутина, приготовленного аналогично испытываемому раствору. Для приготовления указанного раствора брали 1 мл раствора стандартного образца рутина.

Содержание суммы флавоноидов в процентах (X) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье вычисляется по формуле (X):

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 2 \cdot 100 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытываемого раствора;

D₀ – оптическая плотность раствора стандартного образца (ГСО) рутина;

m – масса сырья, г;

m₀ – масса ГСО рутина, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Приготовление 8% раствора алюминия хлорида в спирте. 8 г алюминия хлорида растворяют в 100 мл 95% спирта и тщательно перемешивают.

Раствор хранят при комнатной температуре в течение 1 месяца в колбе со шлифом.

Приготовление раствора стандартного образца рутина. Около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца ГСО рутина (ФС 42-2508-87), в пересчете на сухое вещество (определение влаги проводили по методу Фишера), помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 85 мл 70% спирта этилового при нагревании на водяной бане до полного растворения. Затем охлаждали, объем раствора доводили до метки тем же спиртом, и раствор перемешивали.

Количественное определение суммы ацилфлороглюцидов (лупулон, гумулон, гулупон и др.) в полученных извлечениях проводили следующим образом: 1 мл извлечения помещали в колбу вместимостью 250 мл, растворяли в 100 мл 95% спирта этилового, предварительно нейтрализованного по фенолфталеину, и титровали 0,05М водно-спиртовым раствором калия гидроокиси до появления исчезающей красной окраски.

Содержание суммы АФГ (X) в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 0,02 \cdot 100 \cdot K}{1},$$

где V – объем 0,05М раствора калия гидроокиси, пошедшего на титрование, мл;

0,02 – количество ацилфлороглюцидов (лупулон, гумулон, гулупон и др.– среднее значение), соответствующее 1 мл 0,05М раствора калия гидроокиси, г;

1 – объем препарата, взятый для анализа, мл;

K – поправочный коэффициент к титру 0,05М раствора калия гидроокиси.

Результаты и их обсуждение.

Одним из важнейших факторов экстракции, влияющих на скорость и полноту извлечения действующих веществ, является подбор оптимального экстрагента [1, 2].

Ранее нами были определены технологические характеристики исследуемых образцов соплодий хмеля обыкновенного (табл. 1), необходимых для выбора оптимального метода экстрагирования, расчета количества сырья и экстрагента.



Таблица 1

Технологические характеристики соплодий хмеля обыкновенного

№ п/п	Показатель		Значение
1	Фракционный состав		
		$d < 0,5$	76,00
		$0,5 < d < 1$	4,70
		$1 < d < 2$	18,90
		$2 < d < 3$	14,20
		$3 < d < 4,25$	8,60
		$4,25 < d < 5$	18,70
		$5 < d < 5,5$	6,10
2	Насыпная масса (Нц), г/см ³		0,04
3	Угол естественного откоса (φ), °		47
4	Степень набухания в воде		3,9
5	Степень набухания в этаноле 70°		3,85
6	Коэффициент поглощения воды		4,85±0,11
7	Коэффициент поглощения этанола 70°		3,85±0,28

Комплекс биологически активных веществ соплодий хмеля обыкновенного представлен в основном полифенольными соединениями и органическими кислотами, поэтому необходимо было выбрать экстрагент, который максимально полно растворял и извлекал обе группы веществ.

Известно, что для суммы флавоноидов, как и для органических кислот, одним из оптимальных растворителей является этиловый спирт. Однако для группы флавоноидов, имеющих более трех гликозидных остатков, наилучшим экстрагентом является вода. Кроме того, согласно некоторым данным [1] при добавлении к экстрагенту поверхностно-активных веществ увеличивается выход действующих компонентов. В результате анализа литературных данных нами были выбраны в качестве экстрагента вода очищенная, спирт этиловый различной концентрации (40, 50, 70, 90%), а также водно-спиртовые растворы поверхностно-активных веществ. Составы экстрагентов приведены в табл. 2.

Таблица 2

Составы экстрагентов, используемые в эксперименте

Номер состава	Состав экстрагента	Внешний вид извлечения соплодий хмеля
№1	Вода очищенная	Желто-коричневая мутная жидкость, при отстаивании появляется значительный осадок
№2	40% этанол	Темная красно-оранжевая мутная жидкость, после отстаивания становится прозрачной, появляется осадок
№3	50% этанол	Темная оранжевая опалесцирующая жидкость, при отстаивании появляется осадок
№4	70% этанол	Темная, насыщенная, желто-зеленая опалесцирующая жидкость, при отстаивании дает небольшой осадок
№5	90% этанол	Темная, насыщенная, желто-коричневая мутная жидкость, при отстаивании незначительный осадок
№6	40% этанол+0,5% раствор додецилсульфата натрия	Темная красно-оранжевая мутная жидкость
№7	70% этанол+0,5% раствор додецилсульфата натрия	Темная, насыщенная, желто-зеленая мутная жидкость
№8	40% этанол+0,5% раствор твин-80	Темная красно-оранжевая мутная жидкость, после отстаивания не становится прозрачной, пенится при небольшом взбалтывании
№9	70% этанол+0,5% раствор твин-80	Темная, насыщенная, желто-зеленая мутная жидкость, после отстаивания мутность не исчезает, пенится при небольшом взбалтывании

Экстрагирование соплодий хмеля обыкновенного различными экстрагентами проводили из навесок одной и той же серии сырья, при одинаковых условиях, соотношение сырье-экстрагент 1:10.

Параметрами определения эффективности экстракции служили выход суммы флавоноидов, который определялся методом спектрофотометрии, и выход суммы ацилфлороглюцидов, количественное определение которых проводилось титриметрическим методом. Полученные данные представлены на рис. 1 и 2.

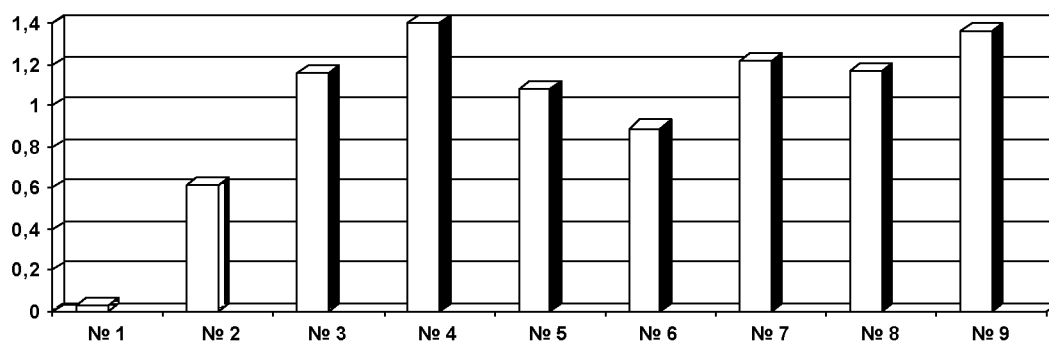


Рис. 1. Количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в извлечениях в зависимости от экстрагента

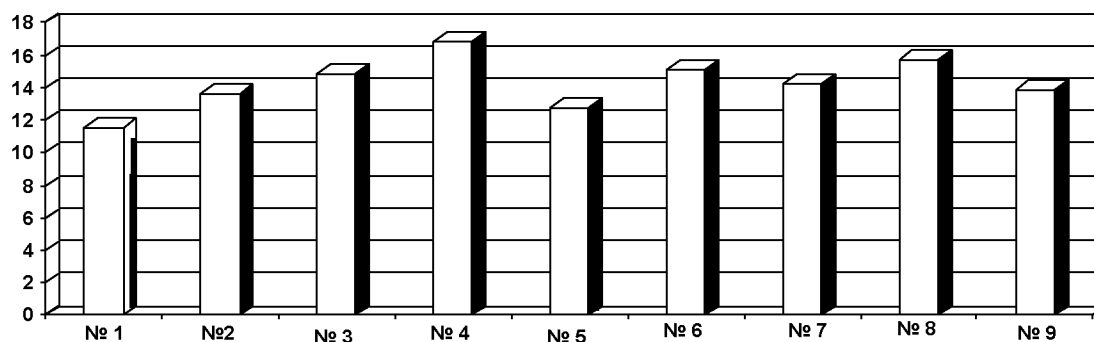


Рис. 2. Количественное содержание суммы АФГ в извлечениях в зависимости от вида экстрагента

Полученные данные свидетельствуют, что в извлечениях из соплодий хмеля максимальное содержание суммы флавоноидов и суммы АФГ достигается при экстрагировании 70% этанолом.

Использование растворов поверхностно-активных веществ не обеспечивает более высокую степень извлечения действующих компонентов, но ухудшает качество извлечений (появляется мутность растворов, наблюдается повышенное пенообразование в случае использования твина-80), поэтому в дальнейших исследованиях эти составы нами в качестве экстрагентов не рассматривались.

Немаловажное значение для процесса экстрагирования имеет степень измельчения сырья, от которого будет зависеть площадь поверхности соприкосновения фаз и процесс массопереноса биологически активных веществ. При очень сильном измельчении наблюдается увеличение количества балластных веществ в вытяжке, ее помутнение, что значительно увеличивает количество и длительность технологических операций для получения извлечений надлежащего качества [1, 2].

Оптимальный размер частиц для процесса экстрагирования сырья хмеля обыкновенного определяли по количественному содержанию суммы флавоноидов и суммы АФГ в извлечениях, полученных путем экстракции сырья 70% этанолом с размером частиц, проходящих через сито диаметром 1, 2, 3, 4, 5 и 6 мм. Результаты исследования приведены в табл. 3.



Таблица 3

Влияние степени измельчения сырья хмеля обыкновенного на выход суммы флавоноидов, в пересчете на рутин (в %), и суммы АФГ в извлечениях

Номера сит	Степень измельчения, мм	Выход суммы флавоноидов (по рутину)	Выход суммы АФГ
№ 1	< 1	0,03±0,126	16,8±0,427
№ 2	1-2	0,79±0,117	16,5±0,495
№ 3	2-3	1,61±0,122	14,3±0,552
№ 4	3-4	1,40±0,110	13,0±0,541
№ 5	4-5	1,22±0,112	11,3±0,539
№ 6	5-6	0,54±0,120	10,7±0,523

Максимальное содержание суммы флавоноидов по рутину в соплодиях хмеля обыкновенного было выявлено в извлечениях из сырья с размером частиц 2-5 мм, а суммы АФГ – в извлечениях из соплодий с размером частиц 1-2 мм и менее. Это связано с тем, что основное содержание горьких кислот в соплодиях хмеля сконцентрировано в их железках, имеющих размер 0,5-1 мм. При просеивании наибольшее количество железок обнаруживается в самой мелкой фракции сырья. В связи с этим, с целью получения максимального выхода всех действующих веществ, для экстрагирования соплодий хмеля обыкновенного нами было выбрано сырье с размером частиц 4 мм и менее.

Дальнейшие исследования были направлены на определение времени наступления динамического равновесия системы. Необоснованное увеличение времени экстрагирования приводит к излишним энерго- и трудозатратам, способствует переходу в вытяжку излишних количеств балластных веществ. Определение проводили в течение 30 часов, забор проб производили через 3, 6, 9, 12, 18, 24 и 30 часов. В полученных образцах определяли количественное содержание суммы флавоноидов по рутину и суммы АФГ. Результаты исследования представлены на рис. 3 и 4.

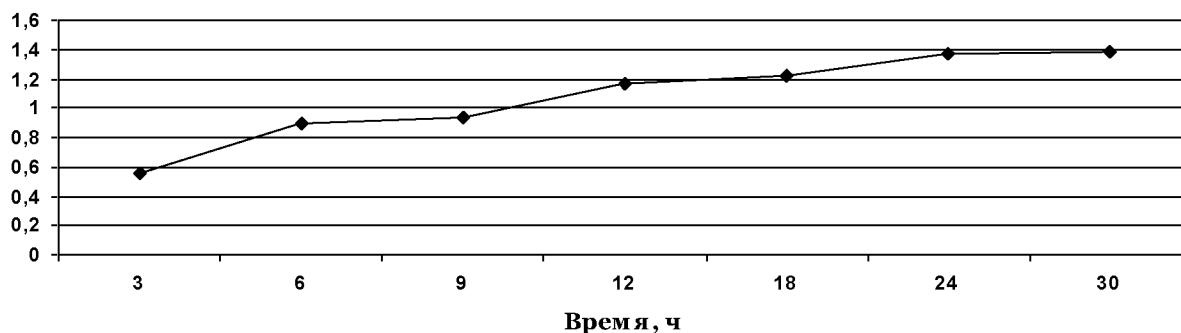


Рис. 3. График зависимости степени извлечения суммы флавоноидов, в пересчете на рутин (в %), от длительности настаивания

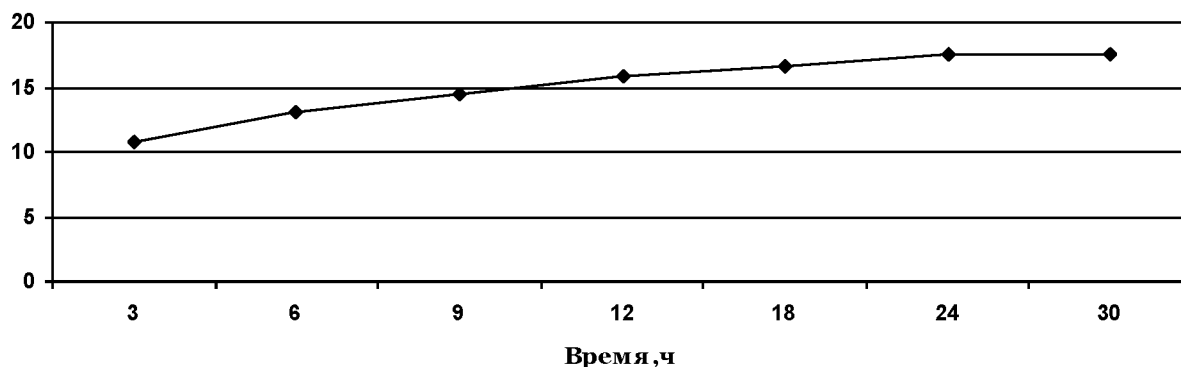


Рис. 4. График зависимости степени извлечения суммы АФГ от длительности настаивания



Из результатов, представленных на рис. 3 и 4, видно, что при экстрагировании соплодий время наступления равновесия в системе наступает в промежутке 18-24 часа. Дальнейшее экстрагирование нецелесообразно.

Из возможных способов экстрагирования сырья хмеля обыкновенного нами были выбраны методы бисмацерации, перколяции и реперколяции.

Бисмацерацию проводили в два этапа: на первом этапе сырье заливали семью частями экстрагента, настаивали в течение 10 часов при периодическом помешивании, полученную вытяжку сливали, а отжатое сырье заливали оставшимися тремя частями экстрагента. Общее время настаивания составляло 14 часов. По истечении времени настаивания сырье отжимали, вытяжки объединяли, отстаивали 3 суток в холодильнике для осаждения балластных веществ и фильтровали. При данном методе во всех вытяжках наблюдался значительный осадок, практически полностью удаляемый фильтрованием.

Для проведения перколяции навеску сырья хмеля замачивали в небольшом количестве экстрагента на 30 минут, набухшее сырье забивали в перколятор, заливали частью экстрагента «до зеркала» и настаивали в течение 24 часов. По истечении времени перколировали с рассчитанной скоростью оставшимся количеством экстрагента. Полученные перколяты отстаивали в холодильнике, фильтровали.

Процесс реперколяции проводили с заверренным циклом, используя батарею из трех перколяторов. Навеску сырья делили на три равные части, первую часть замачивали, заливали «до зеркала», настаивали в течение 24 часов и перколировали чистым экстрагентом; для второй, третьей части сырья экстрагентом служила вытяжка из предыдущего перколятора по той же схеме.

Модуль экстракции для методов бисмацерации был выбран 1:10, 1:5, 1:2, для перколяции 1:10, 1:5, 1:2; для реперколяции – 1:5, 1:2. Результаты проведенных исследований приведены в табл. 4.

Таблица 4

Влияние выбора метода экстрагирования и модуля экстракции на выход суммы флавоноидов (по рутину) и суммы АФГ из соплодий хмеля обыкновенного

№ п/п	Метод экстрагирования	Модуль экстракции	Время экстракции	Выход суммы флавоноидов	Выход суммы АФГ
1	Бисмацерация	1:10	14 ч	1,40±0,122	16,8±0,591
		1:5	14 ч	0,60±0,132	12,4±0,589
		1:2	14 ч	1,92±0,095	13,2±0,487
2	Перколяция	1:10	28 ч	1,05±0,129	14,4±0,381
		1:5	28 ч	3,38±0,117	13,3±0,425
		1:2	28 ч	1,92±0,142	13,2±0,473
3	Реперколяция	1:5	76 ч	1,31±0,134	9,6±0,483
		1:2	76 ч	3,17±0,123	13,4±0,618

Выводы.

Таким образом, нами были подобраны оптимальные условия экстрагирования для соплодий хмеля обыкновенного, которые представлены в табл. 5.

Таблица 5

Оптимальные параметры экстрагирования соплодий хмеля обыкновенного

Параметры	Соплодия хмеля
Метод экстрагирования	Перколяция
Модуль экстракции	1:5
Экстрагент	Спирт этиловый 70%
Время настаивания	24 ч
Степень измельчения сырья	2-4 мм



Литература

1. Минина, С.А. Химия и технология фитопрепаратов / С.А. Минина, И.Е. Каухова. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 560 с.
2. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / под ред. проф. В.Л. Багировой, проф. В.А. Северцева. – СПб. : СпецЛит, 2001. – 223 с.
3. Годованный, А.А. Хмель и его использование / А.А. Годованный. – Киев, 1990. – 330 с.
4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; семейство Rutaceae-Elaeagnaceae. – Л., 1988. – 357 с.
5. ФСП ЛСР - 001907/08 от 18.03.08 «Хмель экстракт сухой». – ООО «Хармс». – М. :Россия. – 6 с.
6. Горошко, О. А. Фармакогностическое исследование соплодий хмеля : автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – М., 2005. – 24с.

DETERMINATION OF FACTORS INFLUENCING THE EXTRACTION PROCESS OF HUMULUS LUPULUS COLLECTIVE FRUIT

G.V. AYUPOVA
G.M. LATYPOVA
E. D. BATYROVA
D.F. GALIMOVA

Bashkir State Medical University

e-mail: ayupova2007@mail.ru

Essential parameters of extracting of *Humulus lupulus* collective fruit have been studied. The total sum of flavonoids and the sum of acylphloroglucides were the essential criteria on determining the type extractant, the extent of grinding, period of tincture formation and ratio of extraction. The method for extraction and the type of the extractant have been proposed.

Key words: *Humulus lupulus* collective fruit, extraction factors, sum of flavonoids, the sum of acylphloroglucides, bismasceration, percolation, repercolation.