

І. В. Павлюк, Н. Є. Стадницька  
Національний університет “Львівська політехніка”,  
кафедра технології біологічно активних сполук,  
фармації та біотехнології

## ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ПЕРЕРОБКИ ШРОТУ *Origanum vulgare*, *Daucus carota*, *Humulus lupulus*

© Павлюк І. В., Стадницька Н. Є., 2015

Апробовано технології переробки шротів *Origanum vulgare*, *Daucus carota*, *Humulus lupulus* з метою пошуку найефективнішої для вилучення комплексу біологічно активних речовин з цієї рослинної сировини. Досліджено ефективність застосування для одержання комплексу БАР класичної мацерації, кавітації та екстракції зрідженим діоксидом вуглецю, про ефективність яких робили висновок за вмістом в екстракті суми БАР, флавоноїдів та виходом густого екстракту. Підбрано оптимальний розчинник та час екстракції, що дає змогу одержати максимальну кількість густого екстракту з найвищим вмістом флавоноїдів.

**Ключові слова:** оптимізація технології, шрот рослинної сировини, *Origanum vulgare*, *Daucus carota*, *Humulus lupulus*.

The technologies of processing the *Origanum vulgare*, *Daucus carota*, and *Humulus lupulus* meals has been tested aimed at finding the most effective technology for the extraction of the complex of the biologically active substances from the above mentioned plant raw material. The efficiency of the application of maceration, cavitation, and extraction using liquefied carbon dioxide to obtain the complex of BAS has been investigated. The conclusion about its efficiency was made based on the presence of the sum of BAS, flavonoids, and the thick extract output. The optimal solvent and extraction time was selected, allowing to obtain a maximum amount of the thick extract with the highest content of flavonoids.

**Key words:** technology optimization, plant raw material meal, *Origanum vulgare*, *Daucus carota*, *Humulus lupulus*.

**Постановка проблеми.** Раціональне використання сировинних ресурсів є одним з першочергових сучасних завдань передових технологій, спрямованих на вирішення економічних та екологічних питань в багатьох країнах світу. В Україні щорічно після виробництва фітопрепаратів, зокрема екстрактів та настоянок з лікарської рослинної сировини, шрот, який отримують в результаті первинної переробки, стає відходами, незважаючи на те, що містить значну кількість біологічно активних речовин (БАР). З метою раціональнішого використання природних ресурсів, підвищення рентабельності виробництва та зменшення його негативного впливу на навколишнє середовище шрот можна повторно використовувати як джерело БАР.

**Аналіз останніх досягнень та публікацій.** Для фармацевтичних підприємств, які займаються екстракцією рослинної сировини, актуальним є питання оптимізації та інтенсифікації технологій для підвищення якості препаратів та підвищення ефективності технологічного процесу. Традиційно методи екстрагування рослинної сировини на фармацевтичних підприємствах ґрунтуються на рівноважних процесах масопередачі (тверде тіло–рідина / рідина – тверде тіло) та здійснюються перколяцією або мацерацією. Існують різноманітні конструкції реакторів за технологічними принципами протитечійної та градієнтної екстракції [1].

Перспективним “інструментом” в технології вилучення БАР з рослинної сировини є ультразвук [2–7]. Його дія сприяє інтенсифікації процесу перемішування системи сировина-

екстрагент та прискоренню стадії замочування, диспергування та масообміну, кінетика вилучення БАР залежить від їх хімічної природи та природи екстрагенту [8–10]. У результаті в середовищі відбуваються активні кавітаційні процеси, які призводять до ерозії та диспергування рослинної сировини внаслідок пульсації та руйнування кавітаційних пухирців.

За декілька останніх десятиків років промислове застосування надкритичних газів поширено в екстракції сировини рослинного походження, зокрема надкритична флюїдна екстракція діоксидом вуглецю [11].

**Задача досліджень.** Результати аналізу вказують на необхідність продовження досліджень у напрямку системного використання рослинної сировини з метою одержання комплексів БАР за рахунок певних технологічних модифікацій.

**Виклад основного матеріалу.** Для досліджень обрано промислові відходи багатоконпонентного фітозасобу “Уролесан”. Внаслідок масштабного виробництва цього препарату утворюється велика кількість шротів шишок хмелю, трави материнки звичайної, плодів моркви дикої.

Для одержання “Уролесану” екстрагують нативну сировину спиртом етиловим 96 %. Тому технологічно доцільно проводити дослідження з використання для екстракції шротів інших концентрацій водно-спиртової суміші з метою одержання комплексів БАР іншого якісного та кількісного складу, що дасть змогу виконати поставлене завдання.

Під час роботи було досліджено ефективність застосування для одержання комплексу БАР класичної мацерації, кавітації та екстракції зрідженим діоксидом вуглецю. Про ефективність кожного методу екстракції робили висновок за вмістом в екстракті суми БАР (сухий залишок), флавоноїдів та виходом густого екстракту, які визначали за методиками, описаними нижче [15]. Флавоноїди поширені у відходах ЛРС та проявляють всі відомі види фармакологічної активності: капіляррозміцнювальні, протизапальні, антиалергічні, антибактеріальні, противірусні ефекти.

На першому етапі досліджень нами опрацьовано традиційне настоювання без перемішування, а саме триступеневу мацерацію. Розмір частинок лікарської сировини в серії експериментів був незмінним і становив 3–5 мм для трави материнки, 1–3 для насіння моркви дикої та 8–10 мм для шишок хмелю. Експерименти проводили при кімнатній температурі  $20 \pm 2-3$  °С. Змінними параметрами були: вид екстрагенту, його концентрація та час екстракції. Екстракцію проводили за допомогою води, 40 % та 70 % водно-етанольної суміші. Вміст екстрактивних речовин у вилученнях зі шроту вивчали після 2, 12 та 24-х годин екстрагування. Найвищий вміст суми флавоноїдів виявлено в 70 % екстрактів усіх досліджуваних рослин (рис. 1, 2).

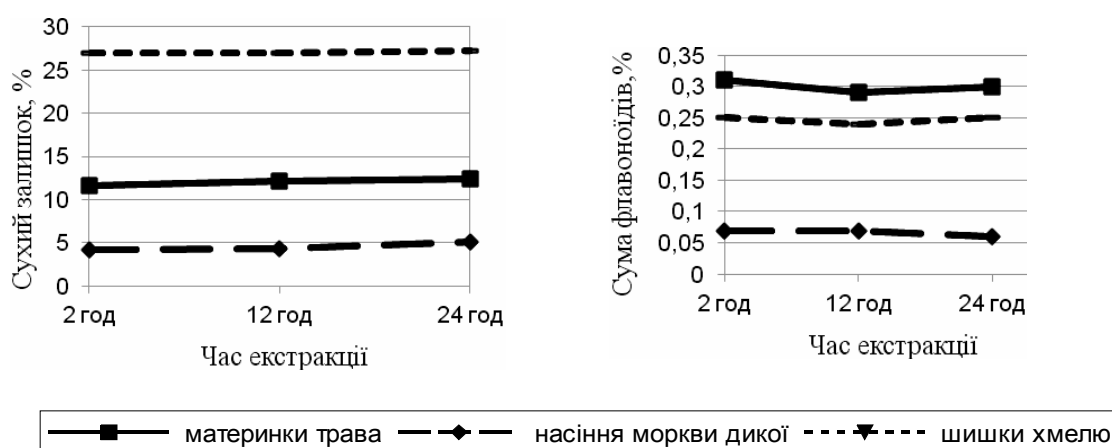


Рис. 1. Динаміка накопичення екстрактивних речовин в 70 % екстрактів залежно від часу екстракції

Рис. 2. Динаміка накопичення суми флавоноїдів 70 % екстрактів залежно від часу екстракції

Багатшими на вміст флавоноїдів виявилися екстракти зі шротів шишок хмелю та трави материнки.

Одним з технологічних показників ефективності екстракції є вихід цільового продукту, а саме густого екстракту (ГЕ). На підставі експериментальних даних було встановлено залежність виходу цільового продукту з початкової кількості шроту від природи екстрагенту (рис. 3).

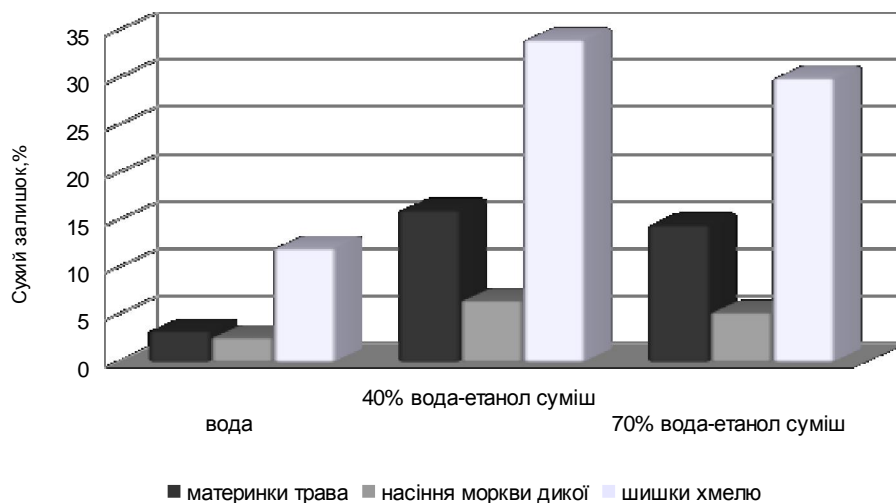


Рис. 3. Залежність виходу густого екстракту від природи екстрагенту

Найвищий вихід цільового продукту, як видно з рисунка, одержано для екстракту зі шроту шишок хмелю. Тому подальші дослідження з інтенсифікації технологічного процесу проводили саме з цією сировиною.

Другим етапом досліджень було проведення екстракції із застосуванням ультразвуку. Екстрагування проводили на лабораторній установці при кімнатній температурі  $20 \pm 2-3$  °C протягом 30 хв. Враховуючи результати з вилучення БАР, одержаних при мацерації, як екстрагент було обрано 70 % водно-етанольну суміш. У результаті дослідження ми встановили, що кавітаційні процеси в разі прискорюють процес екстракції БАР, а саме: при 30-хвилинній екстракції вміст екстрактивних речовин становив 29,44 %, тоді як при 2-годинній мацерації – 26,96 %.

Також ми застосували сучасний метод надкритичної флюїдної екстракції діоксидом вуглецю. Екстракцію зрідженим діоксидом вуглецю проводили при надкритичних умовах: тиску 350 бар та температурі 60 °C – ці параметри є оптимальними для вилучення поліфенольних сполук, а саме флавоноїдів. Було одержано густу маслянисту масу темно-болотяного кольору зі специфічним запахом, яка частково розшарувалася на дві фази. Одержаний тотальний екстракт ми проаналізували на вміст флавоноїдів – 0,003 %, жирних та ефірних олій.

У результаті проведених експериментальних досліджень можна порівняти ефективність різних способів одержання комплексу БАР зі шроту шишок хмелю за виходом ГЕ та вмістом суми флавоноїдів (рис. 4).

На основі експериментальних даних було розроблено блок-схему технологічного процесу комплексної переробки шишок хмелю (рис. 5).

**Експериментальна частина.** Під час роботи проведено якісне та кількісне дослідження вмісту БАР у різних серіях промислового шроту трави материнки, насіння моркви дикої та шишок хмелю. Встановлено наявність флавоноїдів, органічних та амінокислот. Серед флавоноїдів методом вискоефективної рідинної хроматографії ідентифіковано рутин, кверцетин, лютеолін, 7-лютеолін глюкозид, мірицетин. Органічні кислоти представлені розмариною, кавовою, галовою, феруловою, хлорогеновою, кумариною, гідроксibenзойною. Методом ТШХ ідентифіковано такі амінокислоти, як аспрагінова, гістидин, треонін, валін, аргінін, лізин. Проведено кількісне визначення спектрофотометричним методом загального вмісту поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту та суми флавоноїдів у перерахунку на рутин. Вміст поліфенольних сполук становив для шроту шишок хмелю 505,4–559,6 мг/г, для трави материнки 542,8–548,2 мг/г, для плодів моркви дикої від 171,9–174,1 мг/г залежно від серії, та сума флавоноїдів 3,65–3,77 мг/г,

6,51–6,75 мг/г, 2,51–2,57 мг/г відповідно). Елементний склад визначено методом атомно-адсорбційної спектроскопії: мікроелементи (залізо, манган, мідь, цинк, кобальт, хром, кадмій, свинець) та макроелементи (манган, калій, натрій).

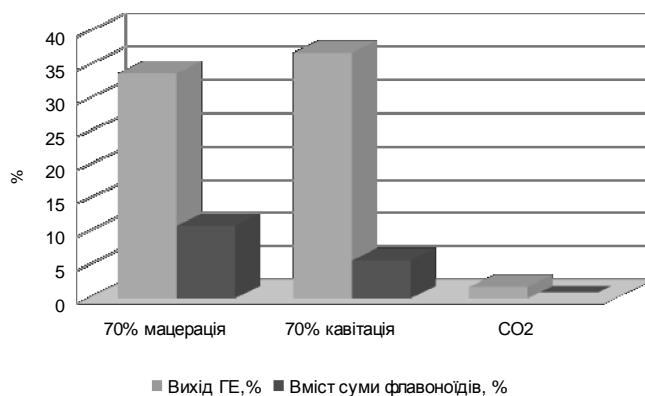


Рис. 4. Залежність виходу ГЕ шишок хмелю та вмісту суми флавоноїдів від способу екстрагування

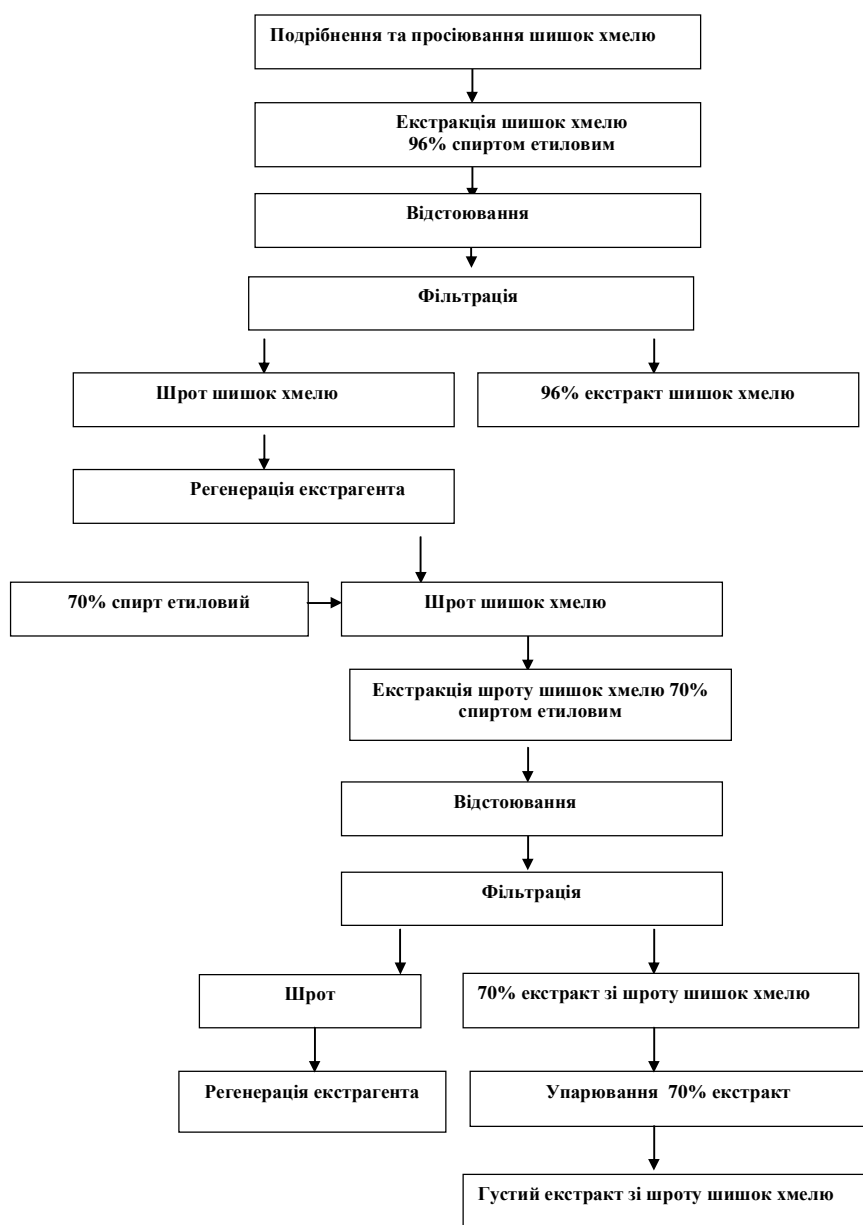


Рис. 5. Блок-схема процесу виробництва густого екстракту зі шроту шишок хмелю

Одержані водні, 40 і 70 % спиртові екстракти досліджено на загальний вміст поліфенольних сполук та суму флавоноїдів. Одержані результати свідчать про те, що найбільшу кількість флавоноїдів та поліфенолів виявлено в 40–70 % екстрактах. У них також ідентифіковано органічні та амінокислоти. Здійснено антимикробний скринінг екстрактів, вивчено їх антиоксидантну та фотопротекторну активності [13, 14]. Визначено загальну токсичність шротів та 70 % водно-етанольних екстрактів.

Для визначення вмісту екстрактивних речовин-сухого залишку 2 г рідкого екстракту поміщали у бюкс, випарювали насухо на водяній бані та висушували у сушильній шафі при температурі 105°C протягом 3 годин. Охолоджували в ексикаторі і зважували [15].

Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів проводили методом спектрофотометрії на спектрофотометрі *Cary 50 Varian*. До мірної колби місткістю 25 мл вміщували 2 мл досліджуваного екстракту, 2 мл 3 % розчину алюмінію хлориду *P* та 0,1 мл оцтової кислоти, розведеної *P*, доводили об'єм розчину 96 % спиртом *P* до мітки. Через 40 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі в діапазоні 360–420 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували розчин, який складається з 2 мл розчину *A*, 0,1 мл оцтової кислоти, розведеної *P* і доведеного 96 % спиртом *P* до мітки в мірній колбі місткістю 25 мл. Паралельно вимірювали оптичну густину *C3* рутину, приготованого аналогічно випробовуваному розчину. Як розчин порівняння використовували розчин, що складається з 2 мл розчину *C3* рутину, 0,1 мл оцтової кислоти розведеної *P* і доведеного 96 % спиртом *P* до мітки в мірній колбі місткістю 25 мл. Вміст суми флавоноїдів в перерахунку на рутин обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times m_0 \times V_0 \times V \times 25 \times 100}{A_0 \times 100 \times 25 \times 2 \times m \times (100 - W)} \times 100;$$

де *A* – оптична густина випробовуваного розчину; *A*<sub>0</sub> – оптична густина розчину *C3* рутину; *m*<sub>0</sub> – маса *C3* рутину, у грамах; *m* – маса шроту, у грамах; *V* – об'єм екстракту, у мілілітрах; *V*<sub>0</sub> – об'єм *C3*, у мілілітрах; *W* – вологість шроту, %;

Загальний вміст поліфенольних сполук визначали методом спектрофотометрії з реактивом Фоліна–Чокалтеу на спектрофотометрі *Cary 50 Varian*. 20 мкл 0,1 % екстракту в метанолі змішували з 1,58 мл води *P* та 100 мкл реактиву Фоліна–Чокалтеу. Витримували в темноті при кімнатній температурі протягом 5 хв та додавали 300 мкл розчину *Na*<sub>2</sub>*CO*<sub>3</sub> у воді *P*. Витримували в темноті при кімнатній температурі протягом 2 год. Вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 760 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували розчин, який складається з 20 мкл 70 % метанолу *P* 1,58 мл води *P* та 100 мкл реактиву Фоліна–Чокалтеу та 300 мкл розчину *Na*<sub>2</sub>*CO*<sub>3</sub> у воді *P*. Паралельно готували стандартний розчин галової кислоти. Загальний вміст поліфенольних сполук у мг еквіваленті галової кислоти (ГК) на грам (мг ГК/г) екстракту обчислювали, використовуючи стандартну криву для свіжеприготованих розчинів галової кислоти. Всі виміри тричі повторювали. Для побудови стандартної кривої використовували концентрації галової кислоти від 0,01 мг/мл до 0,001 мг/мл.

**Висновки.** Проведене дослідження показує доцільність повторного перероблення шротів *Origanum vulgare*, *Daucus carota*, *Humulus lupulus* після екстракції 96 % спиртом з метою одержання комплексу біологічно активних речовин, а саме поліфенолів, зокрема флавоноїдів. При екстракції методом класичної мацерації підібрано оптимальний розчинник та час екстракції, що дає змогу одержати максимальну кількість густого екстракту з найвищим вмістом флавоноїдів. Заслугове на увагу технологічна модернізація діючих виробництв з використанням сучасного технологічного обладнання, яке працює з використанням процесів кавітаційної активації екстрагента. Застосування

високотехнологічного обладнання, що використовує зріджений вуглекислий газ для одержання флавоноїдів з досліджуваної нами сировини, виявилось малоефективним.

1. *Технологія ліків промислового виробництва* / В. І. Чуєшов. – Харків: Видавництво НФаУ “Золоті сторінки”, 2003. – 720 с.
2. *Ультразвук. Физико-химическое и биологическое действие* / И. Е. Эльпинер. – М.: Госиздат, 1963. – 420 с.
3. *Физико-химическое действие ультразвука и ультразвуко-вая аппаратура для интенсификации химико-технологических процессов* / В. М. Фридман. – М.: НИИХМ, 1965. – 213 с.
4. *Основы техники и физики ультразвука* / Б. А. Агранат, Н. М. Дубровин, Н. Н. Хавский. – М.: Высш. школа, 1987. – 352 с.
5. Заяс Ю. Ф. *Интенсификация технологических процессов при помощи ультразвука* // *Пищевая промышленность*. – 1960. – № 3. – С. 21.
6. *Опыт применения кавитационных аппаратов в сахарной промышленности* / А. Ф. Немчин. – М.: Агропромиздат. – 1986. – 321 с.
7. *Ультразвуковая очистка* / О. К. Келлер, Г. С. Кротыш, Г. Д. Лубяницкий. – Л.: Машиностроение, 1977. – 253 с.
8. *Ускорение кристаллизации винного камня при воздействии ультразвука* / Г. Н. Гнасюк, И. П. Дульнева, В. Г. Поповский. – М.: ЦНИТИэлектропром, 1960 – 73 с.
9. Феклистов И. Н., Аксельруд Г. А. *Методы интенсификации процесса экстрагирования* // *Инженерный физический журнал*. – 1964. – № 1. – С. 45.
10. *Интенсивная обработка лекарственного растительного сырья* / Г. И. Молчанов. – М.: Медицина, 1981. – 206 с.
11. Могилюк В., Добровольний А. *Сверхкритическая флюидная экстракция растительного сырья: перспективная технологическая платформа для фармацевтической промышленности* // *Фармацевтическая отрасль*. – 2015. – № 1. – с. 62–68.
12. *Биохимические основы действия микрокомпонентов пищи* / А. В. Шабров. – М: Видавництво “Авалон”, 2003. – 184 с.
13. Павлюк І. В., Стадницька Н. Є., Ясіцка-Місяк І., Вечорек П., Загорій Г. В., Брезвин О. М., Рудик Г. В., Новіков В. П. *Дослідження біологічної активності вторинного екстракту зі шроту трави материнки звичайної (*Origanum vulgare*)* // *Український біофармацевтичний журнал*. – 2015. – № 1(36). – С.21–24.
14. Inessa Pavlyuk, Natalia Stadnytska, Izabela Jasicka-Misiak, Bogusława Górkа, Piotr P Wiczorek and Volodymyr Novikov *A Study of the Chemical Composition and Biological Activity of Extracts from Wild Carrot (*Daucus carota* l.) Seeds Waste* // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2015. – 6 (2). – P. 603–611.
15. *Державна фармакопея України 1.4. “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів” на підставі Європейської фармакопеї*. – Харків, 2011.