

Н. И. Белая, Т. А. Филиппенко, А. В. Белый, Н. Ю. Грибова,  
А. Н. Николаевский, А. А. Бирюкова

## ЭКСТРАГИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ ТОЛОКНЯНКИ (*Arctostaphylos Adans*) В ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ

Донецкий национальный университет, Украина

Исследовано влияние условий экстракции природных антиоксидантов из листьев толокнянки. Установлено, что более полное извлечение наблюдается при экстракции водой методом мацерации в постоянном электрическом поле ( $U = 35$  В и  $I = 250$  мА) в течение 2 часов при температуре  $30$  °С и постоянном перемешивании. Предложенный способ получения растительных экстрактов с антиоксидантными свойствами позволяет увеличить эффективность и скорость экстракции фенольных соединений, снизить температуру и время тепловой обработки экстракта. Полученный в таких условиях экстракт из листьев толокнянки позволяет в 2 раза увеличить стабильность подсолнечного масла к окислению при содержании в нем экстракта до  $0,1$  масс. %.

Известно [1], что в состав растений входят различные группы фенольных соединений, которые способны обеспечивать антиоксидантное действие. Наиболее эффективным и доступным способом выделения фенолов из растительного сырья является экстракция. Традиционные методы экстракции веществ из растений предполагают длительное воздействие температуры и химических реагентов, что снижает долю активной части экстрагируемых компонентов в результате их участия в побочных химических реакциях при высоких температурах. Для повышения эффективности извлечения действующих веществ из растительного сырья, экстрагирование проводят в турбулентном потоке экстрагента, при вибрации жидкости в слое сырья, с применением ультразвука и т.д. [2]. Экстрагирование в электрическом поле является одним из методов интенсификации процесса экстракции, применяемым на практике как для увеличения общего количества извлеченных из растений веществ, так и для получения отдельных групп биологически активных веществ, например алкалоидов [3].

Целью настоящей работы стало изучение влияния условий экстракции в электрическом поле на максимальное количество извлеченных из растения веществ с антиоксидантной активностью (АОА).

### Экспериментальная часть

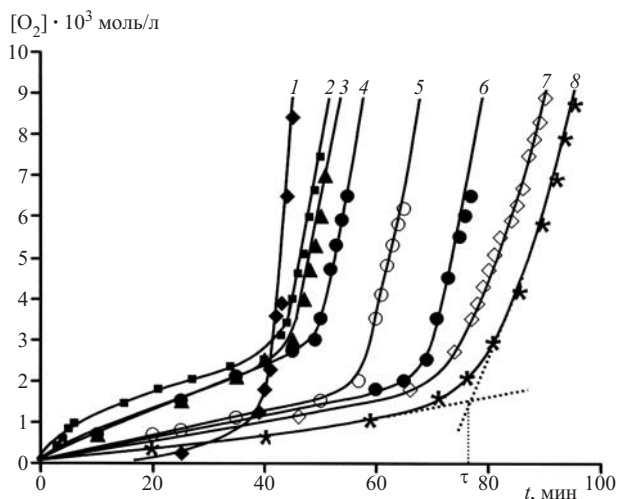
В качестве объекта исследования выбраны листья толокнянки, в состав которых, согласно литературным данным [1, 4], входит значительное количество фенольных соединений. Экстрагентом являлась дистиллированная вода. Размер частиц растительного сырья составлял от 1 до 2 мм в диаметре, соотношение сырье — экстрагент — 1:10 [5]. Экстракцию проводили методом мацерации (одноразовой экстракции) в электрическом поле при постоянном перемешивании. Для проведения исследований был изготовлен электроэкстрактор, представляющий собой стеклянную емкость с закрепленными внутри углеродными электродами в виде пластин, присоединенных к клеммам для подключения к источнику постоянного тока. Полученный раствор экстракта фильтровали, высушивали в сушильном шкафу при температуре  $30 \pm 2$  °С в течение 3 сут и использовали в сухом виде. Экстракты

стандартизировали по количеству сухого остатка ( $W_{с.о.}$ , масс. %), определенного методом гравиметрии [5]. За извлечением суммарного количества фенолов из сырья следили путем отбора проб экстракта по ходу эксперимента и измерения величины оптической плотности ( $D$ ) экстракта методом фотоколориметрии при длине волны  $\lambda_{max} = 360 - 370$  нм. Выбор такого диапазона длин волн обусловлен тем, что  $\lambda_{max}$  индивидуальных фенолов отличаются незначительно, поэтому УФ-спектральные характеристики экстрактов растений, представляющих собой смесь фенолов, дают усредненную величину максимумов поглощения в области 330 – 370 нм, которая характеризует общее количество фенолов [6]. Антиоксидантное действие полученных экстрактов изучалось в условиях инициированного окисления (инициатор — азодиизобутиронитрил (АИБН),  $T = 343$  К) растительного масла из семян подсолнечника заводского производства. За кинетикой окисления масла наблюдали, контролируя количество поглощенного кислорода газовольнометрическим методом [7]. Антиоксидантную активность полученных экстрактов характеризовали величиной  $\tau/\tau_0$ , где  $\tau$  — период индукции окисления масла в присутствии  $0,1$  масс. % экстракта,  $\tau_0$  — без экстракта.

### Результаты и их обсуждение

Среди факторов, способных влиять на процесс экстрагирования в электрическом поле и на антиоксидантную активность получаемого экстракта, изучены: напряжение электрического поля, сила тока, температура и время экстракции. Уровни варьирования этих факторов выбраны, исходя из анализа литературных данных [3].

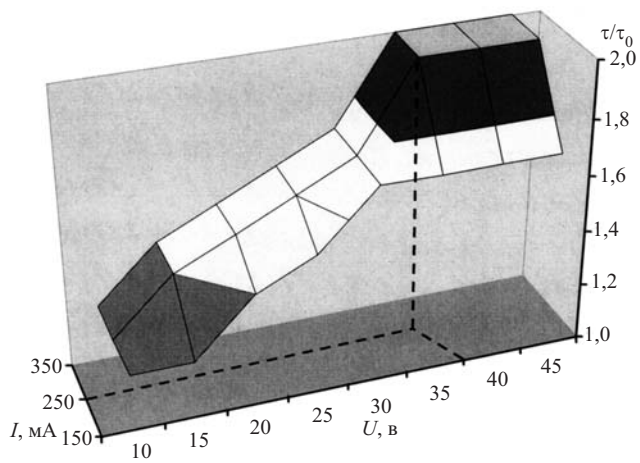
С целью выбора оптимального токового режима процесс экстракции проводили в постоянном электрическом поле с напряжением от 10 до 45 В при силе тока от 150 до 350 мА. Прохождение электрического тока через смесь вода — листья толокнянки обеспечивает экстрагирование веществ по принципу электродиализа. Перенос экстрагируемых веществ в ионизированной форме идет под действием электрического тока через полупроницаемую мембрану, которой является стенка растительной клетки. Для оценки эффективности экстракции в электрическом поле ее результаты сравнивались с экстракцией природ-



**Рис. 1.** Кинетические кривые поглощения кислорода при инициированном ( $[AIБН] = 2 \cdot 10^{-2}$  моль/л,  $T = 343$  К) окислении подсолнечного масла ( $I$ ) в присутствии водных экстрактов листьев толокнянки ( $C = 0,1$  масс. %), полученных методом мацерации без применения электрического поля (2) и в электрическом поле при силе тока 250 мА и напряжениях (В): 3 – 10; 4 – 15; 5 – 20; 6 – 25; 7 – 30; 8 – 35

ных фенолов в тех же условиях без применения электрического тока. Результаты проведенных экспериментов приведены на рис. 1 и в табл. 1. Видно (рис. 1), что водные экстракты из листьев толокнянки, полученные в электрическом поле при низких напряжениях (до 20 В), не только не тормозят окисление масла, но даже усиливают его в периоде индукции ( $\tau$ ) по сравнению с контрольным экстрактом. Вероятно, при таком токовом режиме больше извлекается веществ, способных ускорять процесс окисления. С увеличением напряжения электрического поля ( $U$ ), равно как и силы тока ( $I$ ), наблюдается рост общего количества извлеченных веществ ( $W_{c.o.}$ , масс. %), суммарного содержания фенолов ( $D$ ) и антиоксидантной активности ( $\tau/\tau_0$ ) экстракта (табл. 1). Это обусловлено тем, что под воздействием напряжения, которое накладывается на электроды, ионы экстрактивных веществ типа электролитов ускоряют свое движение внутри полости растительных клеток и в капиллярах клеточных оболочек. В итоге происходит резкое возрастание внутренней диффузии и выход ионов из растительного материала на его поверхность. Непрерывное перемешивание во время экстракции способствует тому, что экстрагент, двигаясь между частицами сырья, уносит вещества, вышедшие из частичек сырья, в объем раствора [2].

Обращает на себя внимание и тот факт, что с увеличением напряжения и силы тока суммарное количество извлеченных фенолов и, соответственно, АОА экстракта растут до определенного значения (рис. 2), в то время как величина  $W_{c.o.}$  продолжает увеличиваться (табл. 1). Это, вероятно, связано с тем, что фенольные соединения являются слабыми электролитами и содержатся в растениях в небольших количествах, а значит их доля в экстракте невелика по сравнению с другими экстрагируемыми веществами — электролитами (алкалоиды, сапонины, некоторые витамины и т.д.). Максимально полное извлечение фенолов достигается при определенном токовом режиме и дальнейшее увеличение  $U$  и  $I$  не приводит к росту ко-



**Рис. 2.** Зависимость антиоксидантной активности ( $\tau/\tau_0$ ) водных экстрактов листьев толокнянки, полученных методом мацерации в постоянном электрическом поле, от напряжения ( $U$ ) и силы тока ( $I$ )

личества извлеченных фенолов и АОА экстракта. При этом количество сухого остатка экстракта продолжает расти с увеличением  $U$  и  $I$  за счет дальнейшего извлечения веществ-электролитов, не являющихся антиоксидантами, поскольку рост  $W_{c.o.}$  не приводит к увеличению АОА экстракта. Таким образом, оптимальным режимом для быстрого и полного извлечения водой фенольных АО из листьев толокнянки является напряжение, равное 35 В, и сила тока 250 мА. Выбор температуры экстракции ( $T$ ) природных фенолов в электрическом поле проводили, сравнивая  $D$  и АОА экстрактов, полученных при температуре 303 К и 343 К. Установлено (табл. 2), что с повышением температуры, величины  $W_{c.o.}$  и  $D$  увеличиваются, а АОА уменьшается. Известно [5], что повышение температуры приводит к увеличению растворимости экстрагируемых веществ, в том числе фенолпроизводных, а также к увеличению скорости их массопереноса. В то же время тепловое воздействие вызывает побочные химические реакции (полимеризации и поликонденса-

Таблица 1  
**Зависимость сухого остатка ( $W_{c.o.}$ ), оптической плотности ( $D$ ) и антиоксидантной активности ( $\tau/\tau_0$ ) водных экстрактов листьев толокнянки от напряжения постоянного электрического поля и силы тока ( $T = 303$  К)**

$U, В$	$I, мА$								
	150			250			350		
	$W_{c.o.},$ масс. %	$D$	АОА, $\tau/\tau_0$	$W_{c.o.},$ масс. %	$D$	АОА, $\tau/\tau_0$	$W_{c.o.},$ масс. %	$D$	АОА, $\tau/\tau_0$
10	2,00	0,20	1,2	3,70	0,25	1,2	3,74	0,25	1,2
15	2,00	0,22	1,2	3,80	0,26	1,4	3,85	0,26	1,4
20	3,10	0,23	1,4	3,86	0,27	1,5	3,88	0,27	1,5
25	3,41	0,24	1,5	3,91	0,29	1,6	3,96	0,29	1,6
30	3,60	0,26	1,7	3,96	0,30	1,7	3,98	0,30	1,7
35	3,62	0,26	1,7	4,20*	0,31*	2,0*	4,20	0,31	2,0
40	3,65	0,26	1,7	4,21	0,31	2,0	4,22	0,31	2,0
45	3,68	0,26	1,7	4,23	0,31	2,0	4,24	0,31	2,0

\* Для экстракта, полученного без применения электрического тока ( $U = 0, I = 0$ ),  $W_{c.o.} = 1,8$ ;  $D = 0,13$ ;  $\tau/\tau_0 = 1,1$ .

Таблица 2  
Зависимость количества сухого остатка ( $W_{с.о.}$ ), оптической плотности ( $D$ ) и антиоксидантной активности ( $\tau/\tau_0$ ) водных экстрактов листьев толокнянки от температуры и времени экстракции в электрическом поле ( $U = 35$  В,  $I = 250$  мА)

Температура $T$ , К (при $t = 120$ мин)	$W_{с.о.}$ , масс. %	$D$	АОА, $\tau/\tau_0$
303	4,20	0,31	2,0
343	5,10	0,34	1,5
Время $t$ , мин (при $T = 303$ К)	$W_{с.о.}$ , масс. %	$D$	АОА, $\tau/\tau_0$
5	1,9	0,15	1,1
10	2,15	0,16	1,3
15	2,60	0,20	1,5
20	2,90	0,23	1,5
25	3,00	0,26	1,6
30	3,68	0,29	1,7
40	3,70	0,29	1,8
60	3,90	0,29	1,8
90	4,00	0,30	1,9
120	4,20	0,31	2,0
150	4,25	0,32	2,0
180	4,28	0,32	2,0

ции) с участием фенольных соединений в составе экстракта, что приводит к снижению доли экстрагируемых мономерных фенолов, обладающих выраженной антиоксидантной активностью. Проведение экстракции в электрическом поле дает возможность понижать температуру, что предотвращает изменение фенольных соединений. Эффективность экстракции в существенной степени зависит и от продолжительности экстрагирования. Устанавливалось влияние времени экстракции ( $t$ ) на количество извлеченных веществ и их антиоксидантную активность. Полученные экспериментальные данные представлены в табл. 2. Видно, что с ростом продолжительности экстрагирования от 5 мин до 2 ч величина сухого остатка, количество фенолов и антиоксидантная активность экстракта возрастают. Дальнейшее увеличение продолжительности экстракции (до 3 ч) практически не влияет на характеристики экстракта, что связано, по-видимому, с полным истощением сырья. Это позволяет считать 2 ч оптимальным временем при выбранном токовом режиме процесса экстракции. Обращает на себя внимание и тот факт, что оптическая плотность экстракта ( $D$ ), характеризующая суммарное содержание извлеченных фенолов, резко возрастает только в течение первых 30 мин, а затем наблюдается более медленное увеличение  $D$ . Вероятно, это связано с тем, что в первую очередь экстрагируются вещества, более легко диссоциирующие

на ионы. К таким фенолам относятся фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты, у которых при диссоциации образуется ион гидроксония из карбоксильной группы (константы диссоциации  $K_d$  составляют порядка  $10^{-4} - 10^{-5}$ ) [6]. Труднее экстрагируются в электрическом поле фенолы, диссоциирующие по гидроксигруппе, такие как производные оксибензолов и флавоноиды, у которых  $K_d \approx 10^{-9} - 10^{-11}$  [6]. Поэтому водные экстракты листьев толокнянки, полученные в электрическом поле, должны содержать большее количество таких эффективных антиоксидантов как фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты. Для повышения содержания в экстракте доли флавоноидов, обладающих также выраженными антиоксидантными свойствами, необходимо, по-видимому, изменить состав экстрагента, применяя спирт или водно-спиртовую смесь, лучше извлекающих эту группу фенолов [5].

Таким образом, исследование влияния условий экстракционного выделения из листьев толокнянки природных антиоксидантов позволило установить следующее: более полное извлечение АО наблюдается водой методом мацерации в постоянном электрическом поле в течение 2 ч при температуре 30 °С и при перемешивании. Оптимальным токовым режимом в данных условиях являются  $U = 35$  В и  $I = 250$  мА. Экстракция в электрическом поле позволяет увеличить эффективность экстрагирования природных антиоксидантов и скорость их экстракции, снизить температуру и время тепловой обработки экстракта. Полученный водный экстракт из листьев толокнянки позволяет в 2 раза увеличить стабильность подсолнечного масла к окислению при содержании в нем экстракта 0,1 масс. %.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. К. Лавренов, Г. В. Лавренова, *Полная энциклопедия лекарственных растений*, Т. 1, Нева, С.-Петербург (1999), сс. 100 – 750.
2. Т. С. Кондратьева, Л. А. Иванова, Ю. И. Зеликсон и др., *Технология лекарственных средств*, Т. 2. Медицина, Москва (1991), сс. 250 – 400.
3. А. Б. Голованчиков, М. В. Попов, *Хим.-фарм. журн.*, **32**(8), 31 – 33 (1998).
4. Т. А. Филиппенко, Н. И. Белая, А. Н. Николаевский, *Хим.-фарм. журн.*, **38**(8), 34 – 36 (2004).
5. Н. И. Базыкина, А. Н. Николаевский, Т. А. Филиппенко, В. Г. Калоева, *Хим.-фарм. журн.*, **36**(2), 46 – 49 (2002).
6. А. Блажей, Л. Шутый, *Фенольные соединения растительного происхождения*, Наука, Москва (1977), сс. 110 – 239.
7. В. В. Азатян, Е. Т. Денисов, *Ингибирование цепных реакций*, Черногловка, Москва (1997), сс. 71 – 78.

Поступила 07.04.05

## ELECTRIC-FIELD-ASSISTED EXTRACTION OF ANTIOXIDANTS FROM BEARBERRY (*Arctostaphylos Adans*)

N. I. Belaya, T. A. Filippenko, A. V. Belyi, N. Yu. Gribova, A. N. Nikolaevskii, and A. A. Biryukova

Donetsk National University, Donetsk. Ukraine

The influence of the extraction conditions on the yield of natural antioxidants from leaves of bearberry has been studied. It is established that more complete extraction is ensured by maceration with water in constant electric field ( $U = 35$  V and  $I = 250$  mA) for 2 h at a temperature of 30°C with continuous mixing. The proposed method of obtaining extracts with antioxidant properties increases the efficiency and rate of extraction of phenolic compounds, reduces the process temperature, and decreases the time of thermal processing of the extract. The extract of bearberry leaves obtained under such conditions ensures a twofold increase in the resistance of sunflower oil to oxidation (at an extract concentration of 0.1 wt.%).