

УДК 664.8.022

А. Ф. Дмитрук, Ю. О. Лесишина, И. И. Володченко (Донецкий национальный университет экономики и торговли имени Михаила Туган-Барановского)

АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ В СРЕДЕ СУБКРИТИЧЕСКОЙ ВОДЫ

Изучен качественный и количественный состав растительных экстрактов, полученных в среде субкритической воды; исследована антирадикальная активность водо- и этанольнорастворимых фракций полученных экстрактов в реакции с дифенилпикрилгидразильным радикалом.

Ключевые слова: субкритическая вода, экстракция, фенольные соединения, флавоноиды, антирадикальная активность,ДФПГ.

Введение

В последние годы для выделения биологически активных соединений из растительного сырья широкое распространение получил метод экстракции в среде субкритической воды (перегретая вода под давлением при температуре от 373 К до 647 К), которая является экологически безопасным и нетоксичным растворителем. Экстракты, полученные в таких условиях, хорошо сохраняют запах, вкус и биологическую ценность исходного сырья, поэтому находят все большее применение в производстве пищевых и косметических продуктов [1–4].

Цель данной работы заключалась в изучении качественного и количественного состава ряда растительных экстрактов, полученных в среде субкритической воды, и оценке их антирадикальной активности.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования были использованы листья и цветки боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.), цветки липы сердцевидной (*Tilia cordata* Mill.), бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium* L.), ромашки аптечной (*Matricaria recutita* L.) и трава зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.). Выбор растительного сырья обусловлен высоким содержанием в данных растениях фенольных соединений, которые являются эффективными ингибиторами процессов окисления.

Экстракцию в субкритических условиях проводили следующим образом: навеску измельченного растительного сырья помещали в реактор из нержавеющей стали, куда добавляли бидистиллированную воду в соотношении сырье:бидистиллят = 1:10. Реактор герметично закрывали и выдерживали при температуре 393 К в течение 10 минут. После охлаждения реактора до комнатной температуры его содержимое переносили на стеклянный фильтр и последовательно обрабатывали водой, этанолом, этилацетатом и гексаном.

Количество извлеченных веществ характеризовали величиной сухого остатка, которую определяли гравиметрическим методом согласно [5]. Количественное содержание в экстрактах фенольных соединений (в перерасчете на танин) определяли перманганатометрическим методом [6], содержание флавоноидов (в перерасчете на рутин) — методом

дифференциальной спектрофотометрии [7]. Качественный анализ экстрактов проводили методами УФ-спектроскопии на спектрофотометре «Helios-γ» и ИК-спектроскопии на ИКФурье-спектрофотометре «Tensor-27».

Антирадикальную активность полученных экстрактов оценивали, изучая кинетику реакции взаимодействия их водо- и этанольнорастворимой фракций со свободным стабильным радикалом дифенилпикрилгидразилом (ДФПГ). Изменение концентрации ДФПГ определяли спектрофотометрическим методом при температуре 290 К. Молярный коэффициент поглощения этанольного раствора ДФПГ при длине волны 518 нм равен 5719 л/моль·см. Концентрация растворов сухих остатков экстрактов составляла 0,2–0,3 г/л, концентрация этанольного раствора ДФПГ — 0,0197 г/л (или $0,5 \times 10^{-4}$ моль/л).

Результаты и обсуждение

Количественное содержание веществ, извлекаемых в среде субкритической воды, представлено в таблице 1.

Таблица 1. Количественное содержание веществ, извлекаемых в среде субкритической воды

Экстракт	Сухой остаток*, %				
	вода	этанол	этилацетат	гексан	суммарный выход
Боярышник	26,93	3,43	1,93	0,72	33,01
Липа	22,59	2,57	1,51	0,44	27,11
Бессмертник	22,44	3,85	1,06	0,44	27,79
Зверобой	17,73	5,67	2,67	0,42	26,49
Ромашка	30,36	4,04	2,78	0,59	37,77

*в пересчете на воздушно-сухое сырье

Как видно из приведенных в таблице 1 данных, экстракция в данных условиях позволяет извлекать из растительного сырья до 38% веществ различной химической природы. Максимальным выходом сухого остатка характеризуются водорастворимые фракции полученных экстрактов (17–30%), выход сухого остатка этанольной фракции составляет (3–6%), выход веществ, растворимых в этилацетате — (1–3%), минимальным содержанием экстрактивных веществ характеризуется гексановая фракция (0,4–0,7%).

В УФ-спектрах водных фракций всех исследуемых экстрактов, представленных на рисунке 1, имеются полосы поглощения с максимумами при

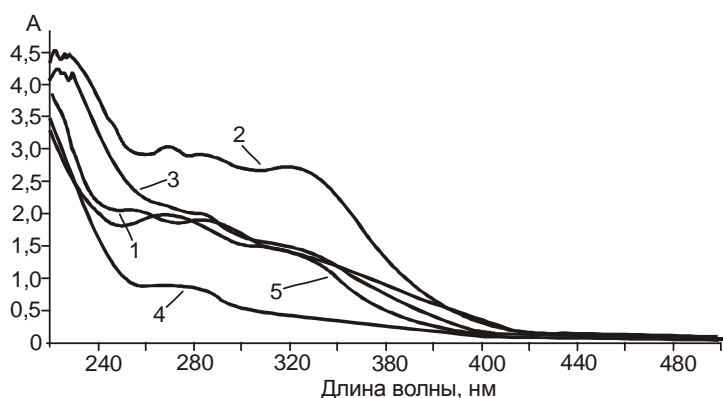


Рис. 1. УФ-спектры водорастворимых фракций растительных экстрактов: 1 – бессмертника, 2 – боярышника, 3 – зверобоя, 4 – липы, 5 – ромашки. $T = 293$ К

250–270 нм (полоса II), что свидетельствует о присутствии соединений ароматического ряда. В УФ-спектрах водных фракций боярышника, бессмертника, зверобоя, ромашки также имеются широкие полосы поглощения с максимумами в области 300–350 нм (полоса I), что является характерным для различных групп флавоноидов. Две полосы погло-

щения с максимумами в указанных диапазонах обнаруживаются также в УФ-

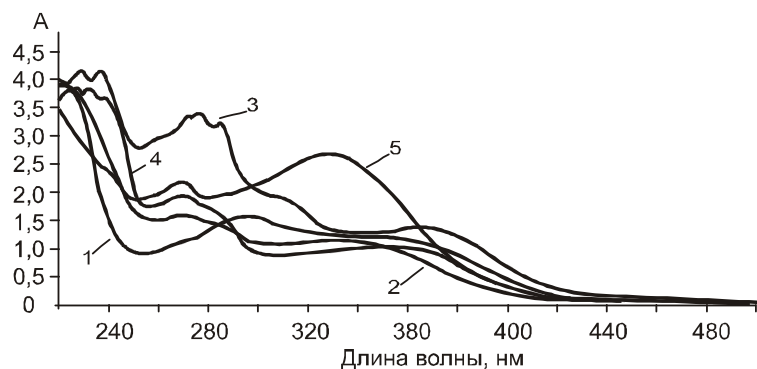


Рис. 2. УФ-спектры этанольнорастворимых фракций растительных экстрактов: 1 – бессмертника, 2 – боярышника, 3 – зверобоя, 4 – липы, 5 – ромашки. $T = 293\text{ K}$

фракций. Смещение длинноволнового максимума поглощения при добавлении AlCl_3 на 50–70 нм свидетельствует о присутствии соединений с орто- и пероксикарбонильными группами, к которым относятся флавонолы и флавоны, их гликозиды.

В УФ-спектре этилацетатных фракций экстрактов также обнаруживаются полосы поглощения с максимумами при 400–500 нм, что указывает на присутствие в них соединений с сопряженными двойными связями. В УФ-спектрах этилацетатной и гексановой фракций имеются полосы поглощения с максимумом при 670 нм. Наличие этих полос поглощения свидетельствует о присутствии каротиноидов и хлорофилла, которые в случае экстракции водой традиционным методом не извлекаются.

ИК-спектры фракций экстрактов, полученных с помощью разных растворителей, тоже отличаются. (На рисунке 3 представлены ИК-спектры водо- и этанольнорастворимой фракций экстракта травы зверобоя). В ИК-спектрах всех экстрактов имеется полоса поглощения с максимумом при 3400 см^{-1} , что указывает на наличие соединений с фенольным гидроксильным. Ей соответствует интенсивная полоса поглощения с максимумом при 1410 см^{-1} , отнесенная к деформационным колебаниям связи OH в фенольных соединениях.

В области спектра от 3000 до 2700 см^{-1} отмечается основной максимум при 2920 см^{-1} с плечом 2960 см^{-1} и дополнительный максимум при 2846 см^{-1} . Полосы поглощения при 2960 , 2920 , 2846 см^{-1} обусловлены валентными колебаниями алифатических CH_3 -, CH_2 -групп, соответственно. Им отвечают полосы поглощения при 1455 см^{-1} и при 1378 см^{-1} , относящиеся к алифатическим деформационным колебаниям. Причем интенсивность этих полос поглощения в ИК-спектрах этанольных фракций экстрактов значительно выше, чем в ИК-спектрах водных. Кроме того, в ИК-спектрах этанольных фракций на основной

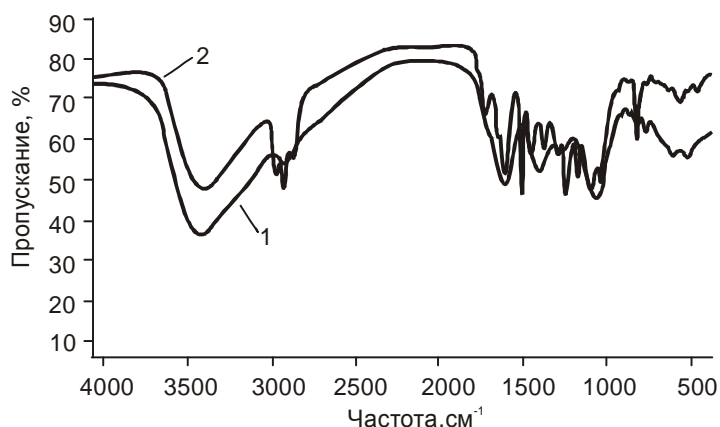


Рис. 3. ИК-спектры экстрактов зверобоя: 1 – водорастворимой фракции, 2 – этанольнорастворимой фракции. Таблетки KBr. $T = 293\text{ K}$

алифатической полосе проявляется плечо с максимумом при 3010 см^{-1} , обусловленное колебаниями С-Н связи в ароматических кольцах в молекулах, в которых присутствуют также алифатические цепи.

Четкие полосы поглощения с максимумами при 1610 см^{-1} и 1510 см^{-1} были отнесены к валентным колебаниям связи С=C бензольного кольца (в ИК-спектре этилацетатной фракции боярышника эти полосы не обнаруживаются).

Полосы поглощения с максимумами при $1740\text{--}1710\text{ см}^{-1}$ и при 1655 см^{-1} , относящиеся к валентным колебаниям карбонильной группы, обнаруживаются только в ИК-спектрах этанольной и этилацетатной фракций. Полоса поглощения при 1740 см^{-1} была отнесена к валентным колебаниям карбоксильной группы. Полосы поглощения с максимумами при 1655 см^{-1} была отнесена к колебаниям карбонильной группы γ -пирона.

В области $1300\text{--}900\text{ см}^{-1}$ выделяются полосы поглощения с максимумами при 1260 см^{-1} и при 1075 см^{-1} , отнесенные к валентным колебаниям С-О связи в простых ароматических эфирах и свидетельствующие о наличии в спирторастворимых фракциях соединений с метоксильными группами. Полосы поглощения с максимумами в области $1100\text{--}1010\text{ см}^{-1}$ были отнесены к валентным колебаниям С-О связи в спиртовых группировках, входящих в состав углеводов компонентов.

Исходя из данных спектрального анализа полученных фракций, можно предположить, что в водные фракции содержат в основном простые фенолы и восстановленные формы флавоноидных соединений, углеводные компоненты; в составе этанольнорастворимой фракции, очевидно, присутствуют флавоноиды (флавоны и флавонолы, их гликозиды), фенолкарбоновые кислоты, метоксилированные производные этих соединений.

Результаты количественного определения содержания фенольных соединений в водной и этанольной фракциях экстрактов представлены в таблице 2.

Таблица 2. Содержание фенольных соединений в водной и этанольной фракциях экстрактов

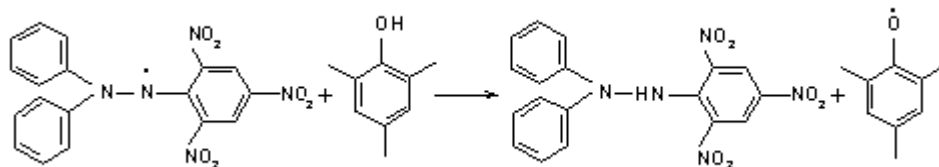
Экстракт	Содержание фенольных соединений*, %		Содержание флавоноидов*, %	
	водная фракция	этанольная фракция	водная фракция	этанольная фракция
Боярышник	0,88	1,29	0,41	0,49
Липа	3,19	0,49	0,23	0,31
Бессмертник	2,51	0,83	0,29	1,48
Зверобой	2,71	2,35	0,46	1,84
Ромашка	5,30	1,45	-	0,80

*в пересчете на воздушно-сухое сырье

Из таблицы 2 следует, что количество извлекаемых субкритической водой водорастворимых фенольных соединений выше по сравнению с количеством фенолов, растворимых в этаноле (кроме экстракта боярышника). Максимальным содержанием водорастворимых фенольных соединений характеризуется водная фракция экстракта ромашки, минимальным — водная фракция экстракта боярышника.

Максимальным содержанием фенольных соединений, растворимых в этаноле, характеризуется экстракт зверобоя, минимальным — экстракт липы. Максимальное содержание флавонолов содержится в этанольной фракции зверобоя, минимальное — в липе.

Антирадикальную активность (АРА) растительных экстрактов оценивали по величине константы скорости реакции их взаимодействия со свободным стабильным радикалом дифенилпикрилгидразилом (ДФПГ), который реагирует с фенольными соединениями, входящими в состав экстрактов, по механизму гомолитического отрыва атома водорода от гидроксильной группы фенола [8]:



Константы скорости реакции взаимодействия водо- и этанольнорастворимых фракций растительных экстрактов с ДФПГ (k) при $T = 290$ К представлены в таблице 3.

Таблица 3. Константы скорости реакции взаимодействия водо- и этанольнорастворимых фракций растительных экстрактов с ДФПГ при $T = 290$ К

Экстракт	Водорастворимая фракция, $k, \text{с}^{-1}$	Этанольнорастворимая фракция, $k, \text{с}^{-1}$
Боярышник	0,09	0,03
Липа	0,14	0,14
Бессмертник	-	0,05
Зверобой	0,10	0,44
Ромашка	0,12	0,12

Кинетика реакции взаимодействия исследуемых фракций растительных экстрактов с ДФПГ в интервале 0–200 секунд подчиняется кинетическому уравнению псевдопервого порядка по ДФПГ, за исключением водной фракции экстракта бессмертника. Как видно из таблицы 3, АРА соединений, входящих в состав водорастворимых фракций экстрактов, практически одинакова. Активность соединений этанольнорастворимых фракций экстрактов возрастает в ряду: боярышник < бессмертник < ромашка < липа < зверобой. Активность соединений водорастворимой фракции экстракта боярышника в 3 раза выше активности соединений, входящих в состав его этанольной фракции. Активность соединений этанольной фракции экстракта зверобоя в 4 раза выше соединений его водорастворимой фракции. АРА соединений, входящих в состав водной и этанольной фракции экстрактов липы и ромашки, практически одинакова.

Таким образом, экстракция в среде субкритической воды позволяет извлекать из растительного сырья до 38% веществ различной химической природы, среди которых присутствуют фенольные соединения. Водорастворимые фракции полученных экстрактов содержат простые фенолы и восстановленные формы флавоноидных соединений, углеводные компоненты; в составе этанольнорастворимых фракций обнаружены флавоны и флавонолы, их гликозиды, фенолкарбоновые кислоты, метоксилированные производные этих соединений. Водо- и этанольнорастворимые фракции всех растительных экстрактов обладают антирадикальной активностью. АРА водных фракций экстрактов разных растений практически одинакова ($k \approx 0,1 \text{ с}^{-1}$), АРА этанольных фракций изменяется в пределах ($k \approx 0,03\text{--}0,44 \text{ с}^{-1}$).

Литература

1. Aditya Kulkarni. Antioxidant compounds from Eucalyptus grandis biomass by subcritical liquid water extraction / Aditya Kulkarni, Shunsuke Suzuki, Hideo Etoh // J. Wood Sci. — 2008. — Vol 54. — P. 153–157.
2. Annamaria Basile. Extraction of Rosemary by Superheated Water / Annamaria Basile, Maria M. Jimnez-Carmona, Anthony A. Clifford // J. Agric. Food Chem. — 1998. — Vol 46. — № 12. — P. 5205–5209.
3. Боголицин К. Г. Перспективы применения сверхкритических флюидных технологий в химии растительного сырья / К. Г. Боголицин // Сверхкритические флюиды: теория и практика. — 2007. — Т. 2. — № 1. — С. 16–27.
4. Алиев А.М. Исследование влияния давления на процесс сверхкритической экстракции биологически активных веществ из растительного сырья / А.М. Алиев, Г.В. Степанов // Сверхкритические Флюиды: теория и практика. — 2006. — Т. 1. — № 1. — С. 101–105.
5. Ладыгина Е.Я. Химический анализ лекарственных растений / Ладыгина Е.Я., Сафронович Л.Н., Отряшенкова В.Э. и др.; Под ред. Н.И. Гринкевича. — М.: Высшая школа, 1983. — 176 с.
6. Государственная фармакопея СССР. — 11-е изд. — Москва, 1979. — Вып. 1. — 500 с.
7. Л.П. Смирнова. Количественное определение флавоноидов в цветках бессмертника песчаного / Л.П. Смирнова, Л.Н. Первых // Хим.-фарм. журн. — 1998. — № 6. — С. 35–38.
8. Т.В. Починок. Экспресс-метод определения антиокислительной активности лекарственных веществ / Починок Т.В., Тараховский М.Л., Портнягина В.А. и др. // Хим.-фарм. журн. — 1985. — Т. 19. — № 6. — С. 565–569.

© Дмитрук А.Ф., Лесишина Ю.О., Володченко И.И., 2011

Надійшла до редколегії 10.02.2011 г.

УДК 622.411.52:532: 62 – 784.4

**В. Б. Малеев, В. Б. Гого, Н. И. Скорынин, А. В. Малеев,
А. А. Кудрявцев (ДонНТУ)**

ИЗМЕНЕНИЕ ДИСПЕРСНОСТИ И КОНЦЕНТРАЦИИ ПЫЛИ НАД ПОВЕРХНОСТЬЮ ШАХТНОГО КОМПЛЕКСА

Показано, что процессы выбросов пыли вентиляторными установками в воздух техногенного пылевого колпака непрерывны и системны, поэтому являются установившимися. Разработана модель процесса выпадения частиц пыли на территории поверхности шахты.

Ключевые слова: дисперсность, шахтная технологическая пыль, пылеобразование, шахтный поверхностный комплекс, концентрация пыли, скорость осаждения пыли, диффузия частиц пыли.

Проблема и её связь с научными и практическими задачами

В условиях поверхностного технологического комплекса шахты имеет смысл определить понятие «шахтной технологической пыли», которое будет обобщать понятия «рудничная пыль» в рудничной атмосфере шахты и «технологические пыли» в атмосфере поверхностного комплекса предприятия, когда к рудничной пыли, выбрасываемой в атмосферу вентиляторными установками главного проветривания, добавляются твёрдые составляющие от