

УДК 66.02

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ  
СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ЭКСТРАКЦИЕЙН.В. Меньшутина<sup>1</sup>, И.В. Казеев<sup>2</sup>, А.И. Артемьев<sup>1</sup>, П.А. Флегонтов<sup>3</sup>, Р.Р. Дашкин<sup>3</sup><sup>1</sup> РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина, Москва, Россия<sup>3</sup> Инжиниринговый центр «Продукты и технологии тонкого органического синтеза, РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

**Введение.** Экстракция – неотъемлемый процесс извлечения ценных биологически активных веществ (БАВ) из растительного сырья в пищевой и фармацевтической промышленности, сельском хозяйстве [1]. Получаемые экстракты обладают антиоксидантными, антибактериальными, противовирусными, противовоспалительными и противоаллергическими свойствами [2]. Благодаря уникальным свойствам экстракты применяются в качестве лекарственных препаратов, биологических добавок к пищевым продуктам [3]. В процессе экстрагирования требуется сохранение целостности и биологической активности извлекаемых БАВ. Таким образом, изучаются различные методы экстрагирования растительного сырья с применением ультразвукового и микроволнового воздействия [4]. Одним из перспективных направлений является применение сверхкритических технологий при процессе экстрагирования [5].

Сверхкритическая экстракция (СКЭ) основывается на применении альтернативных растворителей, как сверхкритический диоксид углерода. Сверхкритический диоксид углерода бесцветен, безопасен, нетоксичен, не горюч и дешевле по сравнению с другими растворителями [6]. Диоксид углерода переходит в сверхкритическое состояние при температуре большей 31,1 °С и давлению больше 7,38 Мпа [7]. Путем регулирования технологических параметров проведения процесса СКЭ, таких как температура, давление и скорость потока растворителя, появляется возможность влияния на степень извлечения БАВ [8]. Полученный экстракт легко отделяется от диоксида углерода, который при нормальных условиях переходит в газообразное состояние. В сверхкритическом состоянии диоксид углерода ведет себя как липофильный растворитель, поэтому он совместим для солюбилизации липофильных соединений [9]. Однако диоксид углерода неполярное соединение, что затрудняет процесс извлечения полярных соединений. Для решения данной проблемы применяются полярные сорастворители, такие как вода, этанол, и др. [10]. Благодаря добавлению небольшого количества сорастворителя в поток экстрагента извлечение полярных БАВ проходит более эффективно.

Одни из БАВ, применяемых для лечения опухолей, рака, сердечно-сосудистых заболеваний и обладающих успокаивающими и антиоксидантными свойствами, являются гинзенозиды [11]. Гинзенозиды считаются основными биологически активными компонентами входящими в состав женьшеня. Всего из женьшеня выделено и охарактеризовано 38 гинзеноцидов. Основные из них это Rg1, Rb1 и Rf представлены на рисунке 1 [12].

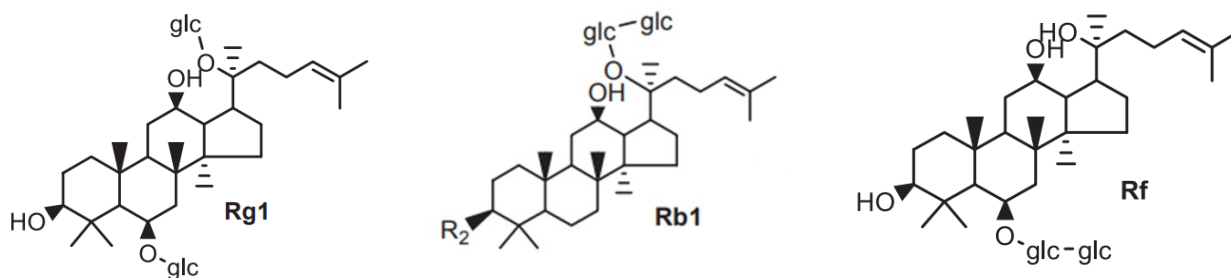


Рисунок 1. Структурные формулы гинзенозидов Rg1, Rb1 и Rf [12]

Получаемые экстракты женьшеня отличаются уникальными лечебными свойствами и входят в государственный реестр лекарственных средств [13]. Благодаря свойствам СКЭ с применением в качестве экстрагента сверхкритического диоксида углерода, этанола и воды появляется возможность извлечения гинзенозидов из женьшеня сохраняя его биологическую активность и фармакологические свойства.

В данной работе изучали эффективность СКЭ гинзенозидов из женьшеня. Для сравнения эффективности применения сверхкритических технологий при экстрагировании гинзенозидов проводилась жидкостная экстракция женьшеня. Для сохранения статистической достоверности результатов проводилась серия из трех экспериментов с одинаковыми заданными параметрами.

**Материалы и методы.** Для приготовления экстрактов использовали сертифицированное сырье. В качестве исследуемого объекта использовались высушенные корни женьшеня. Экстракцию проводили этанолом (объемная доля 95 %), дистиллированной водой и диоксидом углерода (99,8 %).

СКЭ гинзенозидов из женьшеня проводится на установке высокого давления. Принципиальная схема установки для извлечения гинзенозидов изображена на рисунке 2.

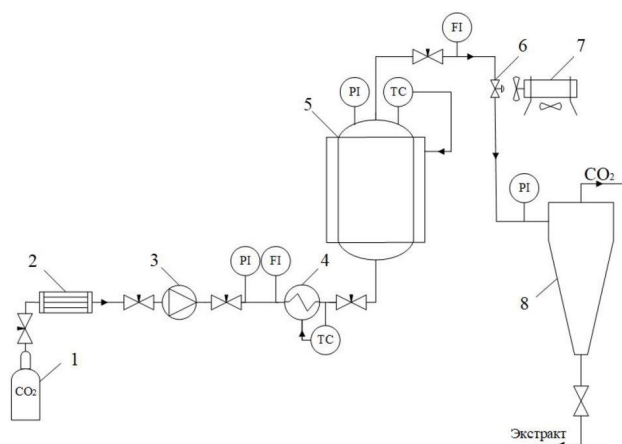


Рисунок 2. Принципиальная схема установки для извлечения гинзенозидов СКЭ: 1 – баллон CO<sub>2</sub>; 2 – конденсатор; 3 – насос для подачи CO<sub>2</sub>; 4 – теплообменник; 5 – экстрактор; 6 – нагревательный элемент; 7 – регулятор давления; 8 – сепаратор; ТС – регулятор температуры; FI – расходомер; PI – датчик давления

Процесс экстракции проводится в несколько этапов: подготовка сырья; термостатирование, СКЭ в статическом режиме, СКЭ при постоянном расходе сверхкритического диоксида углерода. Сырье предварительно измельчали. Полученную навеску помещали в 33 % этиловый спирт. Смесь из этилового спирта и растительного сырья помещали в термостат при постоянной температуре на строго заданный период времени. После термостатированную смесь помещают в экстрактор. После герметизации экстрактора устанавливали рабочие параметры для проведения процесса СКЭ в статическом режиме. Спустя строго заданный период времени начинается процесс СКЭ при постоянном расходе сверхкритического диоксида углерода. Процесс проводится при постоянных рабочих параметрах: расходе сверхкритического диоксида углерода, температуре и давлении. После определенного периода времени изотермически понижали давление до атмосферного с постоянным расходом экстрагента. Полученный экстракт собирали в виае.

Жидкостная экстракция проводилась в несколько этапов: подготовка сырья; термостатирование, вакуумное фильтрование. Благодаря повторению этапов подготовки сырья перед проведением экстракции, полученные результаты можно сравнить. Сырье предварительно измельчали. Полученную навеску добавляли в 33 % этиловый спирт. Смесь из этилового спирта и растительного сырья помещали в термостат при постоянной температуре на строго заданный период времени. После термостатирования экстракт получали путем вакуумного фильтрования. Для этого смесь помещали в воронку Бюхнера. Получаемый экстракт собирали в колбе Бунзена.

Анализ образцов полученных экстрактов проводили с использованием масс-спектрометра модели LCMS-8040, соединенного с ВЭЖХ-хроматографом Shimadzu Nexera XR спектрофотометрическим детектором на диодной матрице SPD-M20A. Выход определяли через процентное содержание БАВ в исследуемых экстрактах. Качественный анализ проводился по данным ВЭЖХ-МС на основании литературных данных [14].

**Результаты.** На основе результатов ВЭЖХ-МС определены массовый выход гинзенозидов Rg10, Rg9 20(z) – Rg9, Rg1, Rb1 и 20-gluco-Rf. Состав экстрактов женьшеня, полученных методом СКЭ и жидкостной экстракцией, соответствует литературным данным [14]. Массовый выход гинзенозидов в экстрактах СКЭ более чем в 1,2 превысил массовый выход методом жидкостной экстракции.

**Дискуссия.** Анализы образцов указывают на то, что:

- сверхкритическая экстракция позволяет увеличить массовый выход БАВ;
- качественный анализ фракционного состава экстракта женьшеня методом СКЭ при заданных температуре и давлении указывает на целостность термолабильных БАВ и отсутствие конформационных изменений белка, что способствует сохранению биологической ценности экстракта и его возможности применения в качестве фармацевтического препарата и добавок к пищевым продуктам.

**Заключение.** По результатам экспериментальных и аналитических данных можно предположить, что: применение сверхкритических технологий эффективно для получения гинзенозидов из женьшеня; процесс СКЭ сохраняет целостность БАВ веществ наряду с их высоким массовым выходом; в дальнейших работах будут подробно исследованы биологическая активность полученных экстрактов.

### Литература

- В.В. Кафаров Исследование и оптимизация процесса твердофазной экстракции биологически активных веществ из растительного сырья / МХТИ им. Д.И. Менделеева. – 1979. – №.106. – С. 48–53.
- Saini A., Panesar P.S. Beneficiation of food processing by-products through extraction of bioactive compounds using neoteric solvents // LWT. – 2020. – V. 134. – P. 1–44.
- M. Herrero, J.A. Mendiola, A. Cifuentes, E. Ibáñez. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications // Journal of Chromatography a. – 2010. – T. 1217. – №. 16. – С. 2495–2511.
- C. Tsaltaki, M. Katsouli, T. Kekes, S. Chanioti, C. Tzia. Comparison study for the recovery of bioactive compounds from Tribulus terrestris, Panax ginseng, Ginkgo biloba, Lepidium meyenii, Turnera diffusa and Withania somnifera by using microwave-assisted, ultrasound-assisted and conventional extraction methods // Industrial Crops and Products. – 2019. – V. 142. – P. 1–9.
- G. Brunner. Supercritical fluids: technology and application to food processing // Journal of food engineering. – 2005. – V. 67. – №. 1–2. – С. 21–33.
- Capuzzo A., Maffei M.E., Occhipinti A. Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances // Molecules. – 2013. – V. 18. – № 6. – P. 7194–7238.
- Sahena F. et al. Application of supercritical CO<sub>2</sub> in lipid extraction—A review // Journal of Food Engineering. – 2009. – T. 95. – №. 2. – С. 240–253.
- T. Anukiruthika, S. Dutta, J.A. Moses, C. Anandharamkrishnan. Modern Applications of Supercritical Fluids Extraction in Food Toxicology. – 2021. – P. 640–659.
- Awasthi A., Trivedi R.K. A review on supercritical carbon dioxide extraction of natural products // Chemical engineering world. – 1997. – T. 32. – №. 10. – С. 65–71.
- Da Silva R.P., Rocha-Santos T.A., Duarte A.C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds // TrAC Trends in Analyt. Chem. – 2016. – V. 76. – P. 40–51.
- Saba E., Lee Y.Y., Kim M., Kim S.H., Hong S.B., Rhee M.H. A comparative study on immune-stimulatory and antioxidant activities of various types of ginseng extracts in murine and rodent models // Journal of ginseng research. – 2018. – V. 42. – №. 4. – P. 577–584.
- Kim I.W., Sun W.S., Yun B.S., Kim N.R., Min D., Kim S.K. Characterizing a full spectrum of physico-chemical properties of (20S) – and (20R) – ginsenoside Rg3 to be proposed as standard reference materials // Journal of ginseng research. – 2013. – V. 37. – №. 1. – P. 124.
- Государственный реестр лекарственных средств. Интернет ресурс: (Дата обращения: 26.07.2021) – <https://grls.rosminzdrav.ru/>
- Lee S.M. et al. Characterization of Korean Red Ginseng (Panax ginseng Meyer): History, preparation method, and chemical composition // Journal of ginseng research. – 2015. – T. 39. – №. 4. – С. 384–391.