

УДК 630*866.9

СОСТАВ ЭКСТРАКТОВ ЛУБА КОРЫ БЕРЕЗЫ

© *А.И. Бадюгина**, *С.И. Третьяков*, *Н.А. Кутакова*, *Е.Н. Коттелова*, *Д.И. Фалёв*, *А.В. Ладесов*

*Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова,
Набережная Северной Двины, 17, Архангельск, 163002 (Россия),
e-mail: allenza@yandex.ru*

Осуществлен планированный эксперимент с изменением трех параметров: концентрации спирта, расхода КОН и жидкостного модуля. Экстракция проводилась в СВЧ-поле.

Изучено влияние расхода щелочи и концентрации этилового спирта на выход экстрактов луба коры березы при спиртово-щелочной обработке. Отмечено, что при снижении концентрации этилового спирта и увеличении расхода щелочи выход экстрактивных веществ (ЭВ) возрастает. Показано, что чем больше используется щелочи в процессе обработки исходного сырья, тем больше увеличивается ее содержание в твердом остатке, формируется избыточное содержание щелочи в лубе после экстракции. Обнаружено, что количество свободной щелочи в твердой фазе значительно меньше, чем в экстракте. Отсутствует четкая зависимость содержания щелочи в экстрактах от количества щелочи, используемой для проведения опытов. Получены адекватные уравнения регрессии по содержанию щелочи в экстракте и твердом остатке.

Исследован химический состав спиртово-щелочных экстрактов луба коры березы после СВЧ-экстракции. Проведен выборочный анализ полученных экстрактов. Зарегистрированы хроматограммы стандартной смеси фенольных компонентов и одного из исследуемых образцов экстрактов. Представлены градуировочные зависимости интегральной интенсивности хроматографического сигнала (S) от концентрации c (мг/дм³) анализов. Приведены результаты исследования содержания обнаруженных соединений в экстрактах.

Ключевые слова: березовая кора, луб, экстракт, спиртово-щелочная экстракция, СВЧ-поле.

Введение

По своему химическому составу корка и луб отличаются друг от друга. В работе [1] из бересты извлекали этанолом в два раза больше экстрактивных веществ (ЭВ), чем из луба. Луб включает в себя высокое содержание веществ, экстрагируемых горячей водой. Количество веществ, извлекаемых 1% раствором NaOH, в бересте составляет 34,5%, а в лубе – 25,5%. Отличительной чертой бересты является наличие липофильного компонента – суберина. Его содержание составляет около трети массы бересты и около 1% от массы луба.

Исследований, посвященных изучению химического состава луба и разработке направлений его использования, недостаточно по сравнению с исследованиями бересты. В лубе березы отмечено наличие

большого количества растворимых форм дубильных веществ (ДВ). Они представлены в основном таннидами, не осаждаемыми соляной кислотой [2]. Луб содержит в три раза больше минеральных веществ, чем береста.

В работе [3] изучено влияние технологических факторов на выход ДВ из луба при обработке спиртовым раствором NaOH. Наибольшее влияние на выход ДВ оказывает концентрация щелочи, меньшее влияние – концентрация этанола.

Установлено, что максимальный выход дубильного экстракта (38,6%) достигается при температуре экстракции 70 °С, концентрации щелочи – 1,5%, концентрации этанола в экстрагенте – 15%, гидромомо-

Бадюгина Алёна Игоревна – аспирант,
e-mail: allenza@yandex.ru

Третьяков Сергей Иванович – кандидат технических наук, профессор кафедры химии и химических технологий, e-mail: sitretyakov@mail.ru

Кутакова Наталья Алексеевна – кандидат технических наук, профессор кафедры химии и химических технологий, e-mail: lesochim@agtu.ru

Коттелова Елена Николаевна – кандидат технических наук, доцент кафедры химии и химических технологий, e-mail: elen-kortelova@yandex.ru

Фалёв Данил Иванович – лаборант центра коллективного пользования научным оборудованием «Арктика», e-mail: danil-man2@mail.ru

Ладесов Антон Владимирович – инженер центра коллективного пользования научным оборудованием «Арктика», e-mail: a.ladesov@narfu.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

дуле – 10. Полученный в этих условиях дубильный экстракт имеет невысокую доброкачественность (около 38%), при использовании мембранной ультрафильтрации доброкачественность повышается до 46–82%.

Целью настоящей работы – выборочный анализ фенольных соединений экстрактов луба березовой коры, полученных при экстракции в СВЧ-поле с использованием спиртового раствора КОН.

Экспериментальная часть

Нами был поставлен и реализован планированный эксперимент по спиртово-щелочной экстракции с изменением трех параметров: концентрации спирта от 10 до 30%, расхода КОН от 10 до 20% от массы сырья, жидкостного модуля от 10 до 20 [4]. Характеристика экстрактов луба из планированного эксперимента приведена в таблице 1.

В ходе опытов было установлено, что чем больше расход КОН при обработке, тем больше его содержание в твердом остатке (до 9,3%), т.е. отмечен избыток щелочи. Количество свободной щелочи в экстракте значительно больше, чем в твердой фазе, варьируется от 34 до 53%. Четкой зависимости содержания щелочи в экстрактах от дозировки щелочи не установлено.

Максимальное количество свободной щелочи определено в опыте 5, проведенном с большим жидкостным модулем, высокой концентрацией этанола и минимальным расходом щелочи, что свидетельствует об отрицательном воздействии спирта. В то же время в опытах 2 и 3 расход щелочи и жидкостный модуль одинаковы, концентрация спирта существенно различается, но количество щелочи в экстрактах практически одинаково [5]. В опытах 3, 7, 9 и 12 при снижении концентрации этилового спирта и увеличении расхода щелочи выход ЭВ возрастает.

По экспериментальным данным получено адекватное уравнение регрессии по содержанию щелочи в экстракте:

$$Y_2 = 41,21 + 3,68x_3 + 4,74x_1x_2 + 7,27x_1^2 + 4,17x_2^2.$$

На конечное содержание щелочи в экстракте в основном влияет расход КОН; в уравнении это нашло отражение в усиленном квадратичном эффекте. Также было получено уравнение регрессии по содержанию щелочи в твердом остатке. Анализ уравнения показал, что наиболее выражено влияние расхода КОН.

$$Y_3 = 9,85 + 0,56x_1 - 3,37x_2 + 0,11x_1x_2 - 0,78x_1x_3 + 1,72x_2^2 + 0,58x_3^2.$$

Таблица 1. Характеристика экстрактов луба из планированного эксперимента

№ опыта	Исходные данные	Масса/доля КОН, г (%)		m общ КОН, %	m ЭВ, г	Выход ЭВ, %
		в экстракте	в твердом остатке			
1	ЖМ = 1 : 10, спирт 10%, КОН = 10%	0,51 (85,00)	0,083 (13,83)	98,83	1,05	17,70
2	ЖМ = 1 : 10, спирт 10%, КОН = 30%	0,48 (80,85)	0,088 (14,70)	95,55	0,74	12,43
3	ЖМ = 1 : 10, спирт 10%, КОН = 20%	0,45 (37,80)	0,087 (7,23)	45,03	1,52	25,60
4	ЖМ = 1 : 10, спирт 30%, КОН = 20%	0,54 (45,00)	0,150 (12,46)	57,46	1,56	26,30
5	ЖМ = 1 : 20, спирт 10%, КОН = 10%	0,36 (65,80)	0,090 (14,93)	80,73	0,88	14,82
6	ЖМ = 1 : 20, спирт 30%, КОН = 10%	0,31(51,67)	0,089 (14,84)	66,51	0,78	13,22
7	ЖМ = 1 : 20, спирт 10%, КОН = 22%	0,73 (60,43)	0,088 (7,37)	67,80	1,51	25,49
8	ЖМ = 1 : 20, спирт 30%, КОН = 22% (1,32)	0,71 (59,21)	0,087 (7,23)	66,44	1,51	25,58
9	ЖМ = 1 : 15, спирт 3%, КОН = 15% (0,9)	0,55 (61,52)	0,082 (9,15)	70,67	1,64	27,72
10	ЖМ = 1 : 15, спирт 36,82%, КОН = 15%	0,39 (43,33)	0,092 (10,27)	53,60	1,51	25,46
11	ЖМ = 1 : 15, спирт 20%, КОН = 6,6%	0,19 (47,78)	0,083 (20,75)	68,53	0,51	8,64
12	ЖМ = 1 : 15, спирт 20%, КОН = 25%	0,82 (56,43)	0,142 (9,73)	66,16	1,99	33,65
13	ЖМ = 1 : 6,6, спирт 20%, КОН = 15%	0,16 (18,20)	0,101 (11,22)	29,42	0,81	13,57
14	ЖМ = 1 : 23, спирт 20%, КОН = 15%	0,36 (39,67)	0,140 (15,77)	55,44	1,22	20,59
15	ЖМ = 1 : 15, спирт 20%, КОН = 15%	0,34 (37,78)	0,090 (9,89)	47,67	1,15	19,37
16	ЖМ = 1 : 15, спирт 20%, КОН = 15%	0,38 (42,22)	0,085 (9,46)	54,68	1,21	20,38
17	ЖМ = 1 : 15, спирт 20%, КОН = 15%	0,38 (42,22)	0,085 (9,46)	51,68	1,18	19,96
18	ЖМ = 1 : 15, спирт 20%, КОН = 15%	0,40 (44,44)	0,084 (9,33)	53,77	1,11	18,68
19	ЖМ = 1 : 15, спирт 20%, КОН = 15%	0,39 (43,56)	0,094 (10,45)	54,01	1,13	19,06
20	ЖМ = 1 : 15, спирт 20%, КОН = 15%	0,34 (37,78)	0,094 (10,45)	48,23	1,15	19,42

Анализ полученных экстрактов проведен выборочно методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и ИК-спектроскопии. Предварительная подготовка образцов для анализов методами ВЭЖХ и ИК-спектроскопии включала в себя удаление щелочи из экстрактов.

Хроматографический анализ полученных образцов проводился с использованием ВЭЖХ-системы LC-30 «Nexera» (Shimadzu, Япония), включающей два насоса LC-30AD, дегазатор, автосамплер LC-30AS, термостат колонок СТО-20А, диодноматричный детектор SPD-M30А.

Использовали аналиты (Sigma-Aldrich): галловая кислота (не менее 97,5%), гесперидин (не менее 97%), гиперозид (не менее 97%), лютеолин (не менее 97%), кверцетин (не менее 98%), рутин (не менее 94%), кумарин (не менее 98%), феруловая кислота (не менее 99%), хлорогеновая кислота (не менее 95%), кофейная кислота (не менее 99%), ванилиновая кислота (не менее 97%), эпикатехин (не менее 97%) и сиреневая кислота (не менее 97%, Acros organics).

Для градуировки прибора приготовили смесь исследуемых соединений в ацетонитриле с концентрацией 10 мг/дм³. Путем последовательного разбавления исходного раствора ацетонитрилом готовились градуировочные растворы с концентрациями 5,0; 1,0; 0,5; 0,1; 0,05 и 0,02 мг/дм³.

Для приготовления подвижной фазы применялись ацетонитрил для градиентной хроматографии (0 сорт, ЗАО «Криохром», Россия) и деионизованная вода с удельным сопротивлением 18,2 МОм·см, полученная с использованием системы Simplicity UV (Millipore, Франция).

Разделение проводили в обращенно-фазовом режиме на колонке (размер 150 × 3,0 мм) ZorbaxSb-Aq (Agilent, США), размер частиц 3,5 мкм. Объем пробы, вводимый в колонку – 5 мкл, скорость потока элюента – 0,7 мл/мин. Температура термостата 40 °С. Детектирование проводилось при длине волны 280 нм. Управление хроматографом, сбор и обработка данных осуществлялись с использованием ПО LabSolutions.

Для хроматографического разделения в качестве элюента применялась вода с 0,5% муравьиной кислотой (раствор А) и ацетонитрил с 0,5% муравьиной кислотой (раствор В). Для сокращения продолжительности анализа использовано градиентное элюирование по следующей программе: 0–20 мин – 5% В, 25–30 мин – 20% В, 30–35 мин – 40% В. Общее время анализа составило 35 мин.

Хроматограмма стандартной смеси исследуемых соединений приведена на рисунке 1.

Исходя из данных, полученных с помощью хроматограммы, в представленных для исследования образцах наиболее четко выявлено содержание следующих компонентов: галловой кислоты, кумарина, феруловой кислоты и лютеолина. Эпикатехин обнаруживается в меньшем количестве.

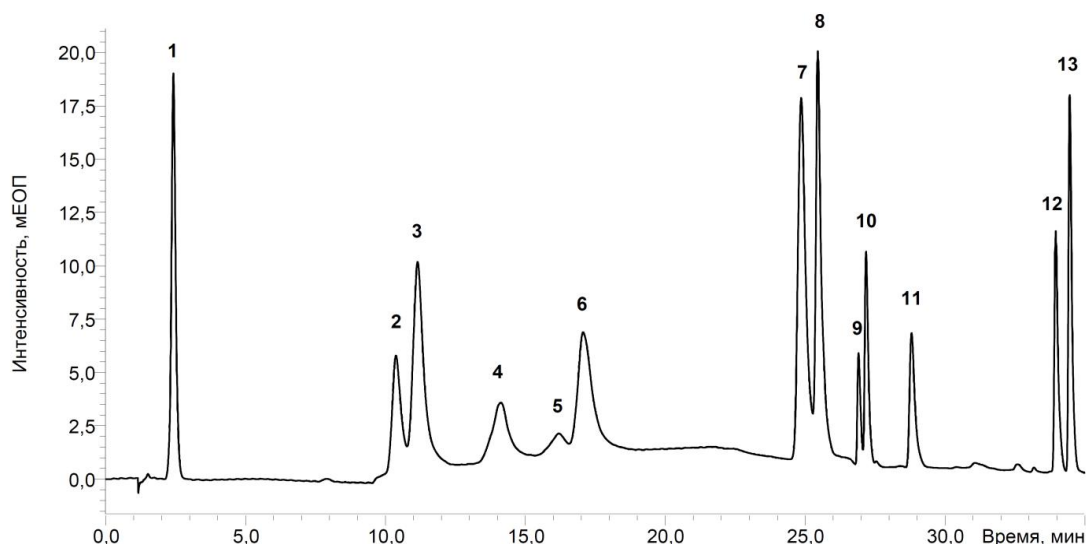


Рис. 1. Хроматограмма стандартной смеси исследуемых образцов с концентрацией 10 мг/дм³: 1 – галловая кислота; 2 – ванилиновая кислота; 3 – кофейная кислота; 4 – хлорогеновая кислота; 5 – эпикатехин; 6 – сиреневая кислота; 7 – кумарин; 8 – феруловая кислота; 9 – рутин; 10 – гиперозид; 11 – гесперидин; 12 – кверцетин; 13 – лютеолин

Градуировочные зависимости для всех исследуемых компонентов в диапазоне концентраций 0,02–10 мг/дм³ линейны, при этом коэффициент корреляции составил более 0,999. По полученным результатам рассчитаны пределы обнаружения для изучаемых соединений на основе 3 σ критерия, а также пределы детектирования (табл. 2).

Данная методика была применена к исследуемым экстрактам. Обнаружено, что в экстрактах присутствуют все определяемые соединения. В наибольшем количестве экстракты содержат кумарин, меньше всего – эпикатехин. Пределы обнаружения и детектирования для эпикатехина значительно превышают значения тех же параметров для кумарина. Пример хроматограммы экстракта показан на рисунке 2.

Результаты определения содержания компонентов в экстрактах представлены в таблице 3. Галловая и сиреневая кислоты в экстрактах, полученных в разных условиях, содержатся примерно в равных количествах.

По содержанию компонентов в экстрактах можно построить ряд в порядке убывания: ванилиновая кислота C₈H₈O₄ (а), галловая кислота C₇H₆O₅ (б), сиреневая кислота C₉H₁₀O₅ (в), рутин C₂₇H₃₀O₁₆ (г), эпикатехин C₁₅H₁₄O₆ (д), структурные формулы которых представлены на рисунке 3.

По приведенным результатам видно, что содержание эпикатехина в пробах одинаковое и не зависит от исходных условий проведения экспериментов.

Таблица 2. Градуировочные зависимости интегральной интенсивности хроматографического сигнала (S) от концентрации c (мг/дм³) вида $S = ac$

Компонент	а	R ²	Предел, мг/дм ³	
			обнаружения	детектирования
Галловая кислота	19962,6	0,999	0,04	0,119
Ванилиновая кислота	12653,9	0,999	0,14	0,418
Кофейная кислота	26297,1	0,999	0,08	0,235
Хлорогеновая кислота	12124,4	0,999	0,27	0,823
Эпикатехин	4539,3	0,999	0,73	2,199
Сиреневая кислота	22253,9	0,999	0,13	0,396
Кумарин	34100,3	0,999	0,04	0,133
Феруловая кислота	23793,3	0,999	0,04	0,119
Рутин	6155,72	0,999	0,08	0,246
Гиперозид	8769,48	0,999	0,07	0,203
Гесперидин	11985,9	0,999	0,08	0,226
Кверцетин	10354,1	0,999	0,03	0,103
Лютеолин	15999,1	0,999	0,02	0,072

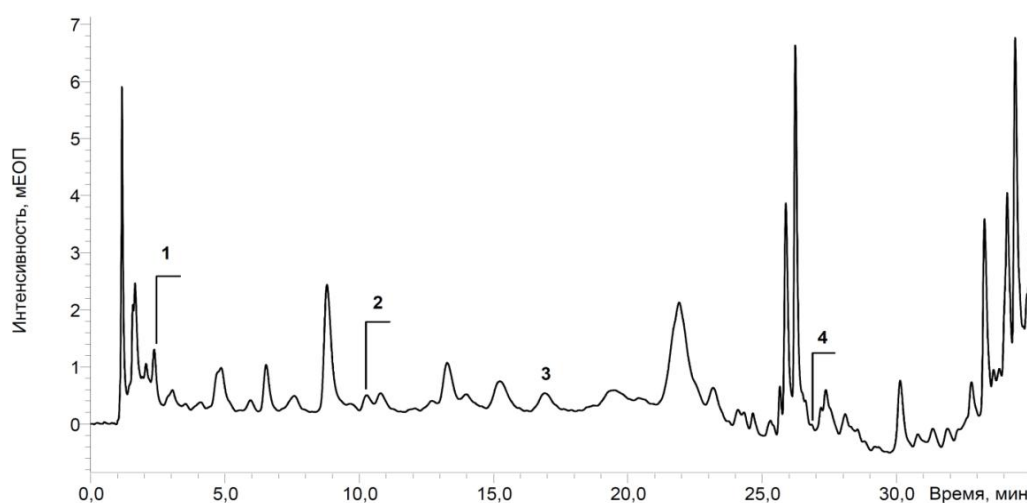


Рис. 2. Пример хроматограммы экстракта: 1 – галловая кислота; 2 – ванилиновая кислота; 3 – сиреневая кислота; 4 – рутин

Таблица 3. Результаты содержания фенольных соединений в экстрактах

Компонент	Содержание соединений в экстрактах, мг/г						
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 5	№ 7	№ 9	№ 16
Галловая кислота	0,019	0,002	0,026	0,004	0,037	0,047	0,005
Ванилиновая кислота	0,039	0,106	0,025	0,011	0,059	0,036	0,100
Эпикатехин	-	-	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Сиреневая кислота	0,026	0,016	0,001	0,001	0,001	0,001	-
Рутин	0,010	0,004	0,001	-	0,002	0,006	0,001

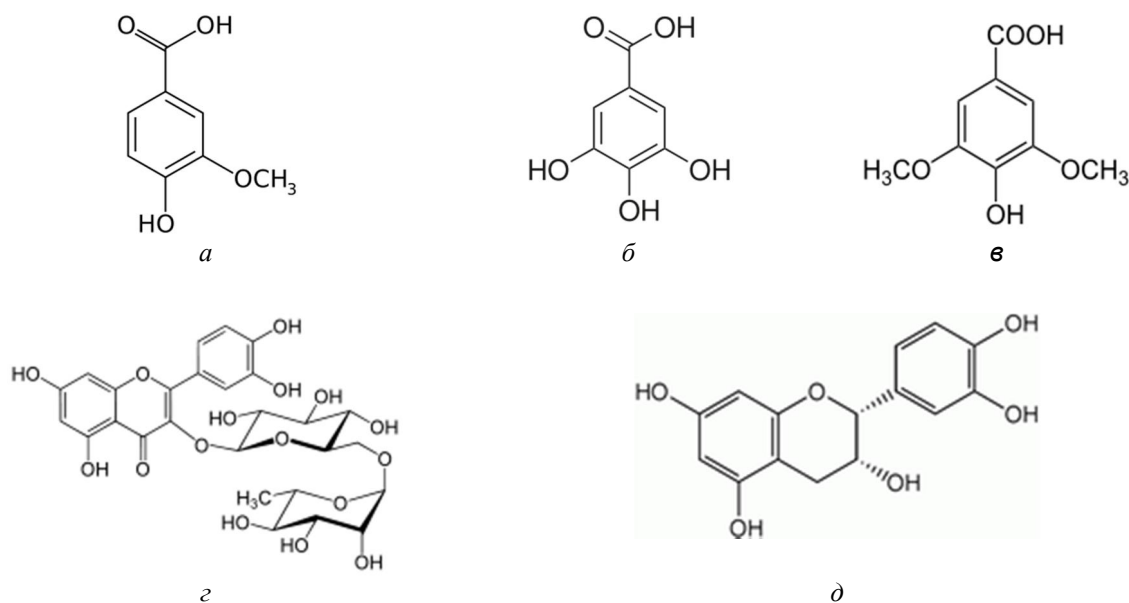


Рис. 3. Структурные формулы компонентов, содержащихся в экстрактах

Количество рутина небольшое по сравнению с остальными компонентами. Чем больше расход КОН при проведении экстракции, тем меньшее количество рутина обнаружено в самих экстрактах, и наоборот. При увеличении жидкостного модуля содержание сиреневой кислоты в экстрактах уменьшается.

По литературным данным [6] в составе конденсированных ДВ коры березы обнаружены мономерные и димерные катехины, проантоцианидины (лейкоантоцианы), эфиры фенолкарбоновых кислот и полимерные формы катехинов и лейкоантоцианов. Наличие фенольных соединений в полученных экстрактах подтверждено ИК-спектроскопией сухих веществ ЭВ.

Запись ИК-спектров двух образцов экстрактов осуществлена с использованием приставки однократного нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) GladiATR (Pike Tech.) с алмазным кристаллом на приборе ИК-Фурье спектрометр Vertex 70 (Bruker, Germany). Условия записи спектра: диапазон 4000–400 см^{-1} , разрешение 4 см^{-1} , 128 сканирований. Полученные спектры совпадают, один из них представлен на рисунке 4.

В ИК-спектре в области 3252 см^{-1} наблюдается широкая полоса поглощения, которая характерна для фенольных –ОН групп. Четко проявляются полосы при 2926 см^{-1} , относящие к валентным колебаниям CH_2 -группы. Колебания связей ароматического кольца проявляются в области 1558 и 1399 см^{-1} . Полоса поглощения при 1009 см^{-1} относится к деформационным колебаниям С–Н связей ароматического кольца. Полоса в области 1047 см^{-1} свидетельствует о присутствии в пробе гетероатома кислорода. Однако карбоксильных групп фенолокислот не обнаружено. Таким образом подтверждено присутствие фенольных представителей.

В экстрактах коры предполагается наличие танина, но ВЭЖХ-метод не позволил количественно определить его содержание.

Работа является научным исследованием, включающим, в том числе, и отработку методики определения фенольных соединений в изучаемых экстрактах. Аттестованных методик для определения выбранных аналитов в экстрактах луба не существует. Достоверность аналитических данных подтверждается совпадением времени удерживания пиков в хроматограммах стандартной смеси и экстрактов, а также соответствием УФ-спектров полученных целевых пиков в экстрактах со спектрами стандартных соединений.

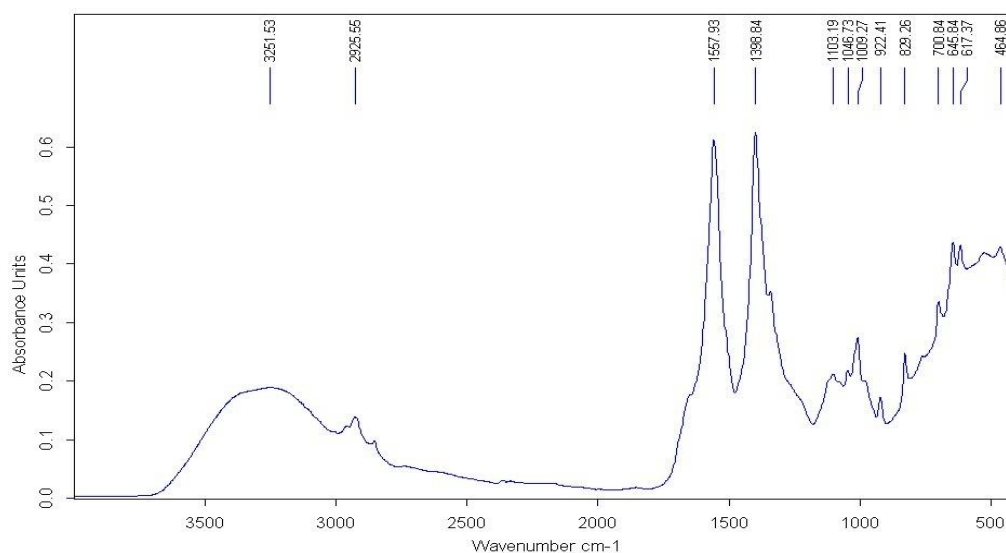


Рис. 4. ИК-спектр образца ЭВ

Выводы

1. Проанализирован химический состав спиртово-щелочных экстрактов луба березовой коры, полученных методом СВЧ-экстракции. Данные образцы содержат простые фенольные вещества в количестве от 0,001 до 0,106 мг/г.

2. В стандартной смеси фенольных веществ методом ВЭЖХ выявлено наибольшее содержание следующих компонентов: галловой кислоты, кумарина, феруловой кислоты и лютеолина. Эпикатехин определяется в данных условиях с затруднениями.

3. При увеличении жидкостного модуля при экстракции количество сиреновой кислоты в экстрактах уменьшается, а при увеличении концентрации КОН снижается содержание рутина. Содержание эпикатехина в образцах одинаковое и не зависит от концентрации спирта, расхода КОН и жидкостного модуля.

4. Методом ИК-спектроскопии предположительно объясняется наличие фенольных компонентов в экстрактах. Для подтверждения данного предположения проведены исследования на газовом хроматографе.

Работы с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии и ИК-спектрометрии выполнены с использованием оборудования ЦКП НО «Арктика» (САФУ) при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (Уникальный идентификатор работ RFMEFI59414X0004).

Список литературы

1. Ведерников Д.Н., Шабанова Н.Ю., Рощин В.И. Изменение химического состава корки и луба березы повислой *betula pendula roth.* (BETULACEAE) по высоте дерева // Химия растительного сырья. 2010. №2. С. 43–48.
2. Бадюгина А.И., Третьяков С.И., Кутакова Н.А., Коптелова Е.Н. Комплексная химическая переработка березовой коры // Новейшие исследования в современной науке: опыт, традиции, инновации : сборник научных статей III Международной научно-практической конференции. Москва; North Charleston, USA, 2015. С. 55–58.
3. Рязанова Т.В., Кузнецов Б.Н., Кузнецова С.А. и др. Оптимизация процесса получения дубильного экстракта из луба березовой коры // Химия растительного сырья. 2004. №3. С. 29–33.
4. Захарова А.И., Третьяков С.И., Кутакова Н.А., Коптелова Е.Н. Выделение экстрактивных веществ из луба коры березы при воздействии СВЧ-поля // Лесной журнал. 2015. №4. С. 148–155.
5. Бадюгина А.И., Третьяков С.И., Кутакова Н.А., Коптелова Е.Н. Луб березовой коры – источник дубильных и биологически активных веществ // Физикохимия растительных полимеров: материалы VI международной конференции (22–25 июня 2015 г). Архангельск, 2015. С. 37–41.
6. Черняева Г.Н., Долгодворова С.Я., Бондаренко С.М. Экстрактивные вещества березы. Красноярск, 1986. 123 с.

Поступило в редакцию 25 декабря 2015 г.

После переработки 26 января 2016 г.

*Badogina A.I.**, *Tret'yakov S.I.*, *Kutakova N.A.*, *Koptelova E.N.*, *Falev D.I.*, *Ladesov A.V.* THE COMPOSITION OF THE EXTRACT OF BIRCH BARK BAST

Northern (Arctic) Federal University, M.V. Lomonosov, Northern Dvina Embankment, 17, Arkhangelsk, 163002 (Russia), e-mail: allenza@yandex.ru

Planned experiment was done with variation of three parameters: the concentration of alcohol KOH and liquid flow module. Extraction was carried out in a microwave field.

The effect of alkali consumption and the concentration of ethanol in the extract yield bast birch bark in the alcohol-alkaline treatment. It is noted that reducing the concentration of ethyl alcohol and alkali consumption increases yield of extractives (EW) increases. It is shown that the larger the alkali is used in the processing of the feedstock, the increasing its content in the solid residue formed excessive alkali content in the phloem after extraction. It has been found that the amount of free alkali in the solid phase is significantly less than in the extract. No clear relationship alkali content in the extracts from the amount of the alkali used for the experiments. Get adequate regression equations of the alkali content in the extract and a solid residue.

Study the chemical composition of an alcohol-alkali bast birch bark extracts obtained after microwave extraction. A selective analysis of the obtained extracts. Standard chromatograms obtained mixture phenolic compounds and one of the extracts of the samples. Presented calibration dependence of the integral intensity of the chromatographic signal (S) the concentration c (mg / dm^3) of analytes. Results of investigation of the compounds detected in the content of the extracts.

Keywords: birch bark, cork, extract, alcohol-alkaline extraction, the microwave field.

References

1. Vedernikov D.N., Shabanova N.Ju., Roshhin V.I. *Himija rastitel'nogo syr'ja*, 2010, no. 2, pp. 43–48. (in Russ.)
2. Badogina A.I., Tret'yakov S.I., Kutakova N.A., Koptelova E.N. *Novejshie issledovaniya v sovremennoj nauke: opyt, tradicii, innovacii: Sbornik nauchnyh sta-tej III Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii*. [The latest research in modern science: experience, tradition, innovation: Collection of Articles III Intertional scientific conference]. Moscow – North Charleston, USA, 2015, pp. 55–58. (in Russ.)
3. Rjazanova T.V., Kuznecov B.N., Kuznecova S.A. i dr. *Himija rastitel'nogo syr'ja*, 2004, no. 3, pp. 29–33. (in Russ.)
4. Zaharova A.I., Tret'yakov S.I., Kutakova N.A., Koptelova E.N. *Lesnoj zhurnal*, 2015, no. 4, pp. 148–155. (in Russ.)
5. Badogina A.I., Tret'yakov S.I., Kutakova N.A., Koptelova E.N. *Fizikohimija rastitel'nyh polimerov: materialy VI mezhdunarodnoj konferencii*. [Physical Chemistry of Plant Polymers: Materials of VI international conference]. Arkhangelsk, 2015, pp. 37–41. (in Russ.)
6. Chernjaeva G.N., Dolgodvorova S.Ja., Bondarenko S.M. *Jekstraktivnye veshhestva berezy*. [Extractives birch]. Krasnojarsk, 1986, 123 p. (in Russ.)

Received December 25, 2015

Revised January 26, 2016

* Corresponding author.

