

УДК 630*866.9

ИЗВЛЕЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ЛУБА БЕРЕЗОВОЙ КОРЫ

© *А.И. Бадогина**, *С.И. Третьяков*, *Н.А. Кутакова*, *Е.Н. Коптелова*

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

Изучено влияние СВЧ-поля на спирто-щелочную экстракцию луба коры березы. Показано, что максимальный выход экстрактивных веществ (ЭВ) (более 25%) достигается при проведении СВЧ-экстракции, а минимальная продолжительность фильтрования наблюдается при следующих значениях параметров: расход КОН – 17% от массы луба, концентрация этанола – 10%, жидкостный модуль – 17. Указанные значения параметров можно считать оптимальными.

Проведены исследования кинетики процесса СВЧ-экстракции при оптимальных условиях процесса экстрагирования с целью определения продолжительности экстракции. При этом контролировали выход ЭВ и продолжительность фильтрования. Общая продолжительность СВЧ-экстракции составила 15 мин.

Изучено практическое применение экстрактов луба березы для стимуляции роста растений, а луба после экстракции – в качестве структурирующей добавки к почве и калийного удобрения. Выявлен положительный эффект обработки семян экстрактом концентрацией 10^{-4} г/л, начиная с 10-го дня наблюдений по прорастиванию в условиях, рекомендованных ГОСТом. Растворы большей концентрации ЭВ действуют как ингибиторы. Также было замечено, что семена, обработанные растворами ЭВ любой концентрации, не подверглись гниению. Из этого следует, что экстракты обладают свойствами антисептиков. Показано, что при добавлении в почву луба (0,5–1,5%) прорастивание семян улучшается. Выявлено, что чем больше содержание луба в почве, тем выше доля взшедших семян (максимум 45%).

Ключевые слова: березовая кора, луб, экстрактивные вещества, СВЧ-экстракция, стимулятор роста растений.

Введение

Березовая кора является крупнотоннажным отходом переработки древесины березы, составляющим до 15–17% ее объема [1]. Вопросы выделения экстрактивных веществ (ЭВ) и изучения различных индивидуальных соединений экстрактов коры березы рассмотрены в обзорах [2, 3].

Березовая кора имеет две четко различимые части – внешнюю (береста) и внутреннюю (луб), которые значительно отличаются по химическому составу. Наиболее богата ЭВ внешняя кора. Их можно извлекать, в зависимости от используемого растворителя, в количестве до 40% относительно массы бересты. В экстрактах внешней коры различных видов берез преобладают пентациклические тритерпеноиды, основным из которых является бетулин. Его содержание в бересте может достигать 35% [3].

Выделению ЭВ и биологически активных веществ (БАВ) из луба посвящено небольшое число исследований.

Бадогина Алёна Игоревна – аспирант кафедры химии и химических технологий, тел. (8182) 21-61-76, e-mail: allenza@yandex.ru

Третьяков Сергей Иванович – профессор кафедры химии и химических технологий, кандидат технических наук, тел. (8182) 21-61-76, e-mail: sitretyakov@mail.ru

Кутакова Наталья Алексеевна – профессор кафедры химии и химических технологий, кандидат технических наук, тел. (8182) 21-61-76, e-mail: n.kutakova@narfu.ru

Коптелова Елена Николаевна – старший преподаватель кафедры химии и химических технологий, кандидат технических наук, тел. (8182) 21-61-76, e-mail: elen-koptelova@yandex.ru

Выделению ЭВ посвящено небольшое число исследований. Так, в работе [4] выделение ЭВ проводят в аппарате Сокслета следующими растворителями: гексаном, этилацетатом, изопропиловым спиртом и водой. Гексан извлекает до 3,2% смолистых веществ, этилацетат – 13,5%, изопропиловый спирт – 14,5%, вода – 9,7% ЭВ, при этом качественный состав экстрактов существенно отличается.

По данным работ [5, 6] кора березы содержит от 10 до 13% фенольных компонентов (дубильных веществ), извлекаемых полярными рас-

* Автор, с которым следует вести переписку.

творителями. В работе [7] в качестве экстрагента для извлечения веществ фенольной природы из луба березовой коры используют спиртовой раствор гидроксида натрия, при этом концентрацию спирта изменяют от 10 до 20 %, расход щелочи – от 0,5 до 1,5% в растворе этанола. Экстракцию проводят на лабораторной термостатируемой установке при жидкостном модуле, равном 10, и температуре 70 °С. Установлено, что повышение концентрации этанола – от 20 до 30% оказывает существенное влияние на выход и состав спирто-щелочного экстракта луба березовой коры.

Выход ЭВ (% масс.) изменяется от 32,3 до 25,8, водорастворимых – от 30,8 до 22,7, нетаннидов – от 19,2 до 13,4, таннидов – от 11,6 до 9,3. Максимальный выход дубильных веществ достигается при следующих параметрах экстракции: температура – 70 °С, расход NaOH – 1,5% от массы луба, концентрация этанола 15%, гидромодуль – 10, продолжительность – 1 ч. В этих условиях получен экстракт с выходом 38,6% от массы луба.

Цель настоящей работы – выделение БАВ из луба коры березы водно-спиртовым раствором КОН при экстракции в СВЧ-поле и изучение возможности применения полученных экстрактов для стимуляции роста растений.

Экспериментальная часть

Основным преимуществом СВЧ-экстракции растительных материалов перед традиционными способами экстрагирования является значительное сокращение продолжительности процесса, как правило, от нескольких секунд до 15–20 мин вместо 3–4 ч.

При проведении экстракции пользовались СВЧ-камерой, подробное описание которой представлено в работе [8]. Навеску луба загружали в колбу и заливали соответствующим количеством экстрагента, затем колбу помещали в СВЧ-камеру и подсоединяли ее к обратному холодильнику. Включали мешалку и проводили процесс экстракции при перемешивании в течение 15 мин.

Полученный раствор фильтровали, фиксировали продолжительность фильтрации и измеряли объем фильтрата. Экстракт отделяли путем фильтрования под вакуумом, создаваемым водоструйным насосом. В процессе фильтрования применяли двухслойную фильтровальную перегородку. Нижний слой – фильтровальная бумага, а верхний слой – фильтрующая ткань. Уровень фильтрации у фильтрующей ткани составляет 10–50 мкм, материал – полиэстер. Так как фильтрование продолжалось длительное время, фиксировали продолжительность процесса. Далее фильтрат выпаривали на водяной бане при температуре 60 °С и рассчитывали выход ЭВ, % от массы луба.

Нами проведены исследования по сравнению кинетики процесса СВЧ-экстракции и экстракции методом настаивания. Процесс настаивания проводили при температуре кипения раствора 90 °С в колбе с обратным холодильником. Обогрев реактора – на водяной бане. Было установлено, что при воздействии СВЧ-поля скорость экстракции и выход ЭВ возрастают в 1,5–2 раза по сравнению с методом настаивания.

При изучении влияния параметров процесса реализован планированный эксперимент по СВЧ-экстракции луба березы с тремя варьируемыми переменными: концентрация спирта (C) в диапазоне от 10 до 30%, расход КОН (G) от 10 до 20% от массы сырья, жидкостной модуль (M), равный от 10 до 20. В основу эксперимента был заложен ротатабельный центральный композиционный униформ – план второго порядка. При этом получены уравнения регрессии в кодированных переменных, адекватно описывающие процесс экстрагирования и отделения экстракта фильтрованием. Проверку адекватности проводили по критерию Фишера. В опытах отмечено варьирование выхода ЭВ от 10 до 33% и продолжительности фильтрования от 10 до 60 мин.

Обсуждение результатов

В результате математической обработки [9] экспериментальных данных по выходу ЭВ (B , %) получено следующее уравнение регрессии в натуральных переменных:

$$B = -46,7 - 0,229C + 4,054G + 4,348M - 0,1044G^2 - 0,1256M^2.$$

На основании уравнения регрессии построены графики зависимости расчетных значений выхода ЭВ от расхода КОН и жидкостного модуля. На рисунке 1 представлена зависимость выхода ЭВ при фиксированных значениях концентрации спирта, равной 10%, и жидкостного модуля, равного 16. На рисунке 2 показана зависимость выхода ЭВ при фиксированных значениях расхода КОН, равного 16%, и концентрации

спирта, равной 10%. Для подтверждения зависимостей на рисунках показаны маркерами результаты дополнительных экспериментов.

Показано, что с увеличением расхода КОН в диапазоне 10–17% выход ЭВ возрастает и достигает максимума на уровне 24–25%. При возрастании жидкостного модуля выход также увеличивается и достигает максимума при модуле 17.

Также получено уравнение регрессии по продолжительности фильтрования (τ , мин.) от вышеуказанных параметров:

$$\tau = 106,14 - 3,851C - 0,106G - 6,972M + 0,165CM - 0,08GM + 0,0344C^2 + 0,0668G^2 + 0,1376M^2.$$

Соответствующие графики зависимостей представлены на рисунках 3 и 4. С увеличением расхода гидроксида калия продолжительность фильтрования возрастает. Минимальная продолжительность фильтрования 19 мин наблюдается при жидкостном модуле 16. Зависимости выхода ЭВ от концентрации этилового спирта и продолжительности фильтрования от жидкостного модуля носят линейный характер.

При анализе зависимостей, представленных на рисунках 1–4, в совокупности обнаружено, что максимальный выход ЭВ (более 25%) при СВЧ-экстракции и минимальная продолжительность фильтрования наблюдается при значениях параметров: расход КОН – 17% от массы луба, концентрация этанола – 10%, жидкостный модуль – 17. Указанные значения параметров можно считать оптимальными.

Компоненты экстрактов могут проявлять свойства БАВ. Нами проведена работа по исследованию возможности использования экстрактов, полученных методом экстракции луба березовой коры, в качестве стимулятора роста растений, а проэкстрагированного луба – в качестве удобрения и структурирующей добавки к почве. Для оценки биологической активности экстрактов провели обработку семян, использовали пробы экстракта, полученные при концентрации этилового спирта 20%, расходе КОН – 15%, жидкостный модуль – 15.

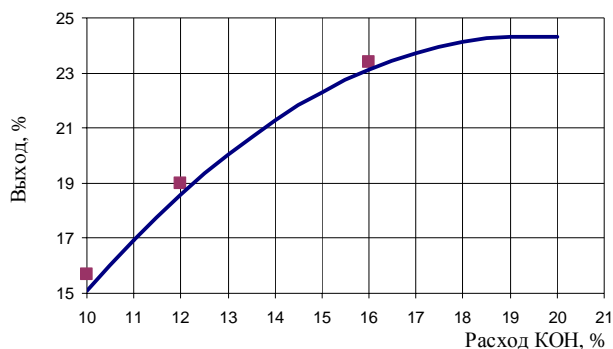


Рис. 1. Зависимость выхода ЭВ от расхода гидроксида калия

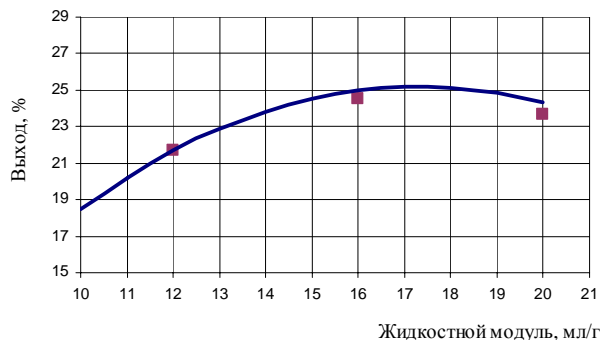


Рис. 2. Зависимость выхода ЭВ от жидкостного модуля

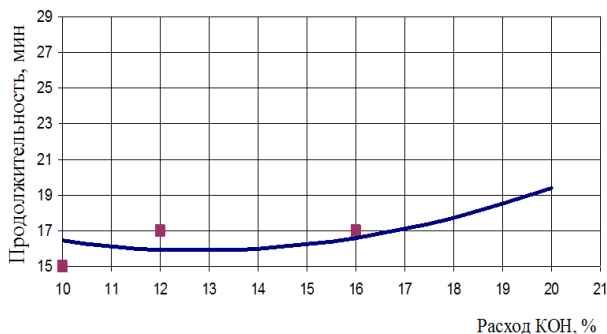


Рис. 3. Зависимость продолжительности фильтрования от расхода гидроксида калия

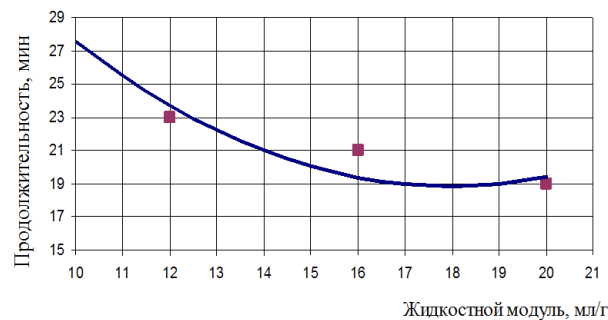


Рис. 4. Зависимость продолжительности фильтрования, мин от жидкостного модуля

Проращивание семян проводилось на специальном термостате (водяной бане) при постоянной температуре 25–30 °С в течение 20 дней в соответствии с ГОСТ 12038-84. Проращивались семена акации желтой (*Caragana arborescens*), предоставленные Дендрологическим садом САФУ, сбор 12.08.13. Обработка семян проведена водой или растворами экстракта в течение 20 мин, затем семена были разложены на подложках по 100 шт. Всего приготовлено 5 проб для обработки: вода, гумат калия, который одновременно является жидким органическим удобрением и стимулятором роста растений, и три раствора ЭВ с концентрацией, мг/мл: 1,0 (1); 10^{-2} (2); 10^{-4} (3). В соответствии с правилами проращивания периодически контролировали количество ростков длиной больше размеров семени и проводили отборы пророщенных семян в соответствии с ГОСТ 13056.6–97 [10].

Ниже приведена диаграмма результатов наблюдений по проращиванию семян (рис. 5). По данному графику можно заметить положительный эффект обработки экстрактом с 10-го дня наблюдения. Раствор под номером 3 с концентрацией 10^{-4} г/л является более эффективным: при его использовании к концу наблюдений проросло более 80% семян, при обработке раствором №1 – 64, №2 – 72%. Обработанные экстрактами семена имели ростки длиной до 8 мм.

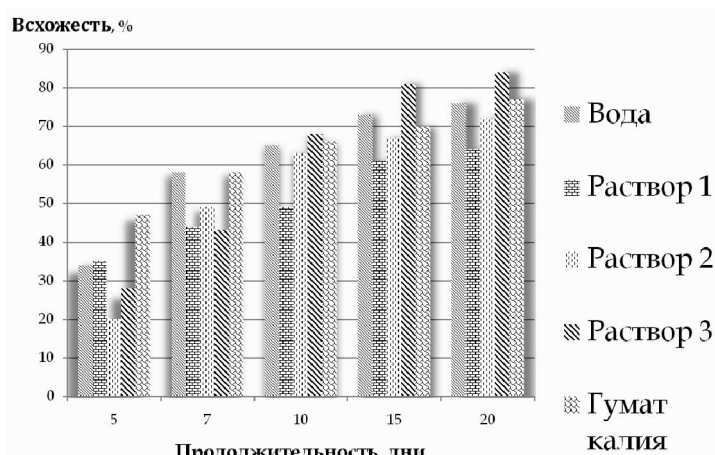


Рис. 5. Диаграмма всхожести семян

Растворы большей концентрации ЭВ действуют как ингибиторы. Также при наблюдении было замечено, что семена, обработанные растворами ЭВ любой концентрации, не подверглись гниению, то есть экстракты обладают свойствами антисептиков.

В случае с водой и раствором гумата калия загнило 10 и 7% семян соответственно. Обработка гуматом калия в начале наблюдения дает повышение всхожести по сравнению с контролем (вода), позднее всхожесть в этих пробах выравнивается.

Затем проведена посадка пророщенных семян, при этом они были перемешаны и разделены на 4 части по 60 штук. Для посадки использовали натуральный торфогрунт производства Торфозавода «АГРОТОРФ» (Ленинградская обл.) на основе природных компонентов с содержанием, мг/л: азота – 300, фосфора – 200, калия – 350. Торфогрунт смешали с промытым песком в соотношении 2 : 1, в качестве добавки использовали проэкстрагированный луб (смесь остатков от реализации эксперимента) с различной дозировкой.

В первой пробе почвы луба не было (контроль). Во вторую пробу было помещено 0,5% луба (по отношению к массе грунта), в третью – 1,0%, в четвертую – 1,5%.

В течение 11 дней визуально оценивалось количество всходов (ростков); ниже приведена таблица для сравнения результатов наблюдений по пробам.

По результатам видно, что при добавлении в почву луба доля взошедших семян возрастает. На 7-й день по сравнению с контролем доля увеличилась в 2 раза, на 11-й – в 1,6 раза. Чем больше содержание луба, тем выше доля взошедших семян (максимум 45%).

При экстракции луба спирто-щелочным раствором происходит удаление смолистых веществ и добавление калия – одного из биогенных элементов, что является хорошим условием для питания растений.

Результаты выращивания семян акации желтой

Содержание обработанного луба в почве, %	Доля взошедших семян, %	
	7-й день наблюдений	11-й день наблюдений
0 (контроль)	13	28
0,5	17	30
1,0	18	35
1,5	27	45

Выводы

1. Изучено влияние основных параметров на процесс СВЧ-экстракции луба березовой коры. При воздействии СВЧ-поля скорость экстракции и выход ЭВ возрастают в 1,5–2 раза по сравнению с методом настаивания.

2. Показано, что с увеличением расхода КОН в диапазоне от 10 до 20% выход ЭВ возрастает, с ростом концентрации этилового спирта от 10 до 30% выход ЭВ уменьшается, а с увеличением жидкостного модуля с 10 до 20 выход проходит через максимум.

3. Определены оптимальные условия процесса экстрагирования для достижения максимального выхода с учетом минимальной продолжительности фильтрации.

4. Спиртово-щелочные экстракты луба березы, полученные при СВЧ-экстракции, содержат БАВ и могут использоваться как стимуляторы роста растений и антисептики для предпосевной обработки семян. Остатки луба после спиртово-щелочной СВЧ-экстракции служат структурирующей добавкой к почве и калийным удобрением.

Список литературы

1. Левданский В.А., Полежаева Н.И., Левданский А.В., Кузнецов Б.Н. Изучение экстракции коры березы гексаном, этилацетатом, изопропиловым спиртом и водой // Химия растительного сырья. 2004. №2. С. 17–20.
2. Кислицын А.Н. Экстрактивные вещества бересты: выделение, состав, свойства, применение (обзор) // Химия древесины. 1994. №3. С. 3–28.
3. Похило Н.Д., Уварова Н.И. Изопреноиды различных видов рода *Betula* // Химия природных соединений. 1988. №3. С. 325–341.
4. Левданский В.А. Комплексная переработка древесной коры с использованием процессов экстракции и взрывного автогидролиза : автореф. дисс. ... д-ра хим. наук. Красноярск, 2006. 40 с.
5. Черняева Г.Н., Долгодворова С.Я., Бондаренко С.М. Экстрактивные вещества березы. Красноярск, 1986. 123 с.
6. Долгодворова С.Я., Черняева Г.Н. Дубильные вещества коры березы. АН СССР. Биологические ресурсы лесов Сибири. Красноярск, 1980. С. 137–143.
7. Рязанова Т.В., Кузнецов Б.Н., Кузнецова С.А., Левданский В.А., Чупрова Н.А., Киселев Е.Г. Оптимизация процесса получения дубильного экстракта из луба березовой коры // Химия растительного сырья. 2004. № 3. С. 29–33.
8. Коптелова Е.Н., Кутакова Н.А., Третьяков С.И. Извлечение экстрактивных веществ и бетулина из бересты при воздействии СВЧ-поля // Химия растительного сырья. 2013. №4. С. 159–164.
9. Богданович Н.И., Кузнецова Л.Н., Третьяков С.И., Жабин В.И. Планирование эксперимента в примерах и расчетах: учеб. пособие. Архангельск, 2010. 126 с.
10. ГОСТ 13056.6–97. Семена деревьев и кустарников. Метод определения всхожести. Введ. 07-01-1998. М., 1998. 28 с.

Поступило в редакцию 13 декабря 2014 г.

После переработки 16 апреля 2015 г.

*Badogina A.I.**, *Tretyakov S.I.*, *Kutakova N.A.*, *Koptelova E.N.* EXTRACTION OF BIOACTIVE SUBSTANCES FROM BIRCH BARK

Northern (Arctic) Federal University, Severnaya Dvina Emb. 17, Arkhangelsk, Russia; 163002 (Russia), e-mail: allenza@yandex.ru

We studied the effect of microwave fields on alcohol-alkaline extraction of birch bark. It is shown that the maximum yield EV (>25%) is achieved when conducting microwave extraction, and the minimum duration of the filtration occurs when the following values of parameters: flow KOH 17% by weight of bark, the concentration of ethanol 10%, liquid module 17. These parameter values can be considered optimal.

Studies of the kinetics of microwave extraction at the optimum conditions of extraction process to determine the duration of the extraction. When this was controlled by the output of extractives (EV) and the duration of filtration. The total duration of microwave extraction was 15 min.

Studied the practical application of phloem extracts of birch to stimulate plant growth, and phloem after extraction as a structuring additives to the soil and potash fertilizers. Revealed a positive effect of seed treatment with the extract concentration of 10^{-4} g/l, starting from the 10th day of observations on the germination under conditions recommended by the standard. Solutions of higher concentration EV act as inhibitors. It was also observed that seeds treated with solutions of EV at any concentration, didn't decay. This implies that the extracts have antiseptic properties. It is shown that when added to the soil bark (0.5–1.5%) seed germination is improved. It is revealed that the more the content of the phloem in the soil, the higher the percentage of germinated seeds (maximum 45 %).

Keywords: birch bark, bark, extractives, microwave extraction, stimulator of plant growth.

References

1. Levdanskii V.A., Polezhaeva N.I., Levdanskii A.V., Kuznetsov B.N. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2004, no. 2, pp. 17–20. (in Russ.).
2. Kislitsyn A.N. *Khimiia drevesiny*, 1994, no. 3, pp. 3–28. (in Russ.).
3. Pokhilo N.D., Uvarova N.I. *Khimiia prirodnykh soedinenii*, 1988, no. 3, pp. 325–341. (in Russ.).
4. Levdanskii V.A. *Kompleksnaia pererabotka drevesnoi kory s ispol'zovaniem protsessov ekstraksii i vzryvnogo avtogidroliza : avtoref. dis. ... d-ra khim. nauk.* [Complex processing of tree bark using extraction processes and explosive autohydrolysis: the Dissertation of the doctor of chemical sciences]. Krasnoyarsk, 2006, 40 p. (in Russ.).
5. Cherniaeva G.N., Dolgodvorova S.Ia., Bondarenko S.M. *Ekstraktivnye veshchestva berezy.* [Extractives birch]. Krasnoyarsk, 1986, 123 p. (in Russ.).
6. Dolgodvorova S.Ia., Cherniaeva G.N. *Dubil'nye veshchestva kory berezy. AN SSSR. Biologicheskie resursy lesov Sibiri.* [Tannins birch bark. USSR Academy of Sciences. Biological resources of Siberian forest]. Krasnoyarsk, 1980, pp. 137–143. (in Russ.).
7. Riazanova T.V., Kuznetsov B.N., Kuznetsova S.A., Levdanskii V.A., Chuprova N.A., Kiselev E.G. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2004, no. 3, pp. 29–33. (in Russ.).
8. Koptelova E.N., Kutakova N.A., Tretyakov S.I. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2013, no. 4, pp. 159–164. (in Russ.).
9. Bogdanovich N.I., Kuznetsova L.N., Tretyakov S.I., Zhabin V.I. *Planirovaniye eksperimenta v primerakh i raschetakh: ucheb. posobie.* [Experimental Design in the examples and calculation: Textbook. allowance]. Arkhangelsk, 2010, 126 p. (in Russ.).
10. GOST 13056.6–97. *Semena derev'ev i kustarnikov. Metod opredeleniia vskhozhesti.* [State Standard 13056.6-97. Seeds of trees and shrubs. Method for determination of germination]. Moscow, 1998, 28 p. (in Russ.).

Received December 13, 2014

Revised April 16, 2015

* Corresponding author.