

УДК 536.66 +543.86

МЕТОДЫ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ЛИПИДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ. ТЕСТИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ

H.B. Сизова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии нефти
Сибирского отделения Российской академии наук
634055, г. Томск, пр. Академический, 4,
e-mail: SizovaNV@mail.ru

В работе рассмотрены методы экстракции природных соединений из растительного сырья, и протестирована их антиоксидантная активность. Содержание антиоксидантов измерено методом микрокалориметрии по регистрации теплоты модельной реакции радикального окисления кумола в присутствии экстрактов. Исследовались масляные, углеводородные, углекислотные экстракты. Показана эффективность докритической углекислотной экстракции при низкой температуре углекислоты (21-24 °C), и давлении 5,8 до 6,8 МПа. Для увеличения выхода липидных компонентов проведена со-экстракция ягод облепихи и жмыха рапса, и показано, что такая технология позволяет выделить из сырья в два раза больше биологически-активных веществ. Количество антиоксидантов зависит от исходного сырья и метода выделения, максимальные концентрации обнаружены в экстрактах, выделенных углекислотой и углеводородами из жмыхов ягод клюквы, брусники, облепихи (до $5,5 \cdot 10^{-2}$ моль/кг). Применяемая в работе методика оценки качества экстрактов по выходу липидных АО позволяет выбрать наиболее эффективный способ переработки растительного сырья.

Ключевые слова: углекислотная экстракция растительного сырья, кинетический метод определения антиоксидантов, масляная экстракция, природные антиоксиданты.

Природные соединения, которые проявляют себя как антиоксиданты (АО) растительного происхождения, одновременно обладают противовоспалительным, антимикробным, противовирусным действием, поэтому антиоксидантная активность является косвенной оценкой лечебных свойств растительных экстрактов.

Источники природных антиоксидантов. Ранее мы изучали зависимость АО-активности объектов растительного происхождения от способа выделения экстрактов [1]. Установлено, что источниками природных антиоксидантов являются розмарин, шалфей, прополис, кора лиственницы, пелоиды, масла черного тмина и зародышей пшеницы, семена и оболочки ягод и т.д. Концентрация антиоксидантов зависит от технологии проведения экстракции, максимально эффективно использовать в качестве экстрагентов органические растворители (спирт, ацетон, гексан, эфиры), что практикуется в исследовательских лабораториях. Для крупнотоннажной переработки растительного сырья этот способ не подходит, вследствие токсичности и дороговизны растворителей. В последние годы развивается флюидная экстракция углекислотой, которая не уступает по эффективности экстракции органическими растворителями, и позволяет получать в едином технологическом процессе как масличную, так и водную фракцию растений. Большой плюс этого вида переработки экстракта - отсутствие термического разложения биологически активных веществ (БАВ), недостатками можно назвать высокие требования к технике безопасности и невозможность селективного выделения компонентов. Углекислота экстрагирует эфирные и жирные масла, восковые фракции, которые при вводе в жирные масла выпадают в осадок. Воскообразные углекислотные экстракты успешнее всего применяются в эмульсионных косметических средствах, где воски являются дополнительным загустителем и активом. Часто для увеличения выхода в экстрактор добавляют органический растворитель, на примере экстракции душистых растений диоксидом углерода авторами работы [2] показано, что самый высокий выход экстрактов был получен с помощью полярных растворителей (ацетона или смеси метанол-вода). Высокую антиокислительную активность проявили эфирные масла

чабреца и шалфея, полученные путём экстракции ацетоном, эти экстракты считаются наиболее перспективными для использования в качестве пищевых антиоксидантов.

В натуральных растительных маслах максимально активными антиоксидантами являются гомологи и стереоизомеры токоферола (ТФ), имеющие в составе структурный фрагмент экранированного фенола, они обладают схожей биологической активностью и объединены в группу «витамина Е» [3]. Для разных образцов одного сорта масла количество витамина Е может быть критерием качества и пищевой ценности, его содержание зависит от способа получения, качества сырья, метода очистки. Например, для подсолнечного масла содержание ТФ изменяется от 64 до 98 мг%, в прессованном при низкой температуре масле витамина Е содержится на 30 % больше, чем в рафинированном, дезодорированном масле [4]. Из изученных жирных масел максимальной АО-активностью обладает масло зародышей пшеницы, содержащее токоферолов до 350 мг% Широко рекламируемое как анти-канцерогенное и анти-мутагенное действие масло черного тмина (*Nigella sativa oil*), (активные вещества: тимохинон, дитимохинон, тимогидрохинон, тимол, токоферолы) по суммарному количеству АО превышает все остальные масла $(6\text{--}9)\cdot10^{-3}$ моль/кг [4].

Ранее, на примере различных технологий извлечения БАВ из облепихи, мы показали эффективность углекислотной экстракции, максимальной АО-активностью обладает сухой концентрат, обогащенный тритерпеновыми кислотами урсанового и олеананового ряда, востребованными для БАД с гиполипидемическим и противосклеротическим действием, и косметики с противовоспалительной и противовозрастной активностью [5].

Материалы и методы

Антиоксидантная активность изучалась в соответствии с методиками, применяемыми для исследования объектов растительного происхождения [1,4,5] на модельной реакции радикального инициированного окисления кумола при 60°C , инициатор - азо-бис-изобутиронитрил (АИБН), скорость инициирования - $w_i=6.8\cdot10^{-8}$ л/моль·с. Метод микрокалориметрии (МК) относится к кинетическим методам и основан на регистрации теплоты модельной реакции инициированного окисления кумола в присутствии синтезированных или природных ингибитирующих добавок. Измерения проведены на микрокалориметре, произведенным в ИХН СО РАН по оригинальной конструкции. Определив период индукции модельной реакции окисления кумола в присутствии исследуемого объекта, и можно вычислить количество антиоксидантов по формуле:

$$[AO]_0 = \frac{w_i \cdot \tau_0}{f} \quad (1)$$

где f -коэффициент ингибирования; $[AO]_0$ - начальная концентрация антиоксидантов; w_i - начальная скорость инициирования; τ_0 – период индукции модельной реакции.

Объекты исследования. В настоящей работе тестировались масла, масляные экстракты, углекислотные экстракты, масла косметические с добавкой эфирных масел. Масла предоставлены производителями, куплены в аптечных сетях или изготовлены в процессе работы. Докритическая углекислотная экстракция проведена на оборудовании, спроектированном и изготовленном ИП Колесниченко Е.А. (г. Томск). Рабочее давление в установке, при различной плотности сырья, регулируется от 5,8 до 6,8 МПа. Температура углекислоты, при циркуляционном непрерывном процессе внутри установки, составляет 21-24 градуса, время экстракции может варьироваться от 2,5 часов до 96 часов.

Результаты и их обсуждение

В таблице 1 приведены результаты определения антиоксидантной активности масел, экстрактов. Экстракция маслом (сырье заливается маслом и несколько дней выдерживается при небольшой температуре), незначительно извлекает биологически активные вещества. Одна из причин неэффективности заключается в окислении масла-основы, особенно это проявляется в экстракции свежесобранной травы, как показывают данные таблицы 1, на примере экстракта зверобоя, содержание АО убывает в два раза. Свежая трава содержит влагу, ферменты липазы, что на свету, при доступе кислорода увеличивает гидролитическое окисление.

Исследовали несколько образцов репейного масла от трех разных производителей. ООО ПКП "Лазурин" производит репейное масло способом экстракции корней лопуха подсолнечным

маслом, течении 3-4 суток, при температуре 45-60 °С. Интересная закономерность обнаружена - чем больше емкость для экстракции, тем больше выход экстрактивных веществ корня лопуха, концентрация АО увеличивается с 1,45 до $1,57 \cdot 10^{-3}$ моль/кг, что эквивалентно ТФ 62 мг% (основа) до 68 мг% (экстракт). ООО «БИОЛИТ» производит масло также экстракцией корней лопуха, и это по нашим данным более эффективно, чем добавка СО₂ экстракта корней лопуха, возможно из-за низкого процента ввода.

Если для производства косметического масла использует минеральное масло, то количество АО будет низким, так, например, в косметическом масле зверобоя (ООО НПФ «МЕДИКОМЕД») АО= $1,1 \cdot 10^{-3}$ моль/кг. А вот при выборе в качестве базового масло семян ряжика ярового (*Camelina sativa*), изначально имеем богатую антиоксидантами-токоферолом основу, и заметим, что добавки эфирных масел АО-статус не меняют, а вот экстракция вместо корней семян лопуха значительно повышает активность готового продукта (табл. 1).

Выход СО₂-липидной фракции из сухой травы или ягод может составлять от доли процентов до нескольких процентов, поэтому нами показано, что для увеличения эффективности выхода липидной фракции рекомендуется со-экстракция растительного сырья со жмыхами масличных культур. На примере со-экстракции углекислотой рапса и калины, рапса и жмыха облепихи показано, что выход биологически-активных веществ увеличивается в два раза, по сравнению с экстракцией чистого жмыха облепихи. Максимальную активность показали масла и экстракты, полученные метилтретбутиловым (МТБЭ) и диэтиловым (ДЭЭ) эфирами, количество антиоксидантов многократно превышает значения для других объектов, особенно в экстрактах ягод, по причине синергизма токоферолов и тритерпеновых кислот урсанового и олеананового ряда.

Таблица 1.

Содержание антиоксидантов в маслах и экстрактах.

Объект исследования, производитель	Способ получения, состав	[АО] 10^{-3} моль/кг	Эквив. ТФ, мг%
Масла и масляные экстракты			
Подсолнечное масло, исходное для экстракции Масло репейное ООО «БИОЛИТ», г. Томск	Масло подсолнечное, раф., дезодорированное Экстракция корней лопуха подсолнечном маслом	1,56 1,78	67 77
Масло репейное, с добавкой СО ₂ экстракта корня лопуха.	Масло подсолнечное, раф., дезод., СО ₂ экстракт лопуха.	1,56	67
Экстракт масляный облепихи. ООО «БИОЛИТ», г. Томск.	Экстракция ягод облепихи подсолнечном маслом	1,28	55
Масло репейное, экстракция корней лопуха, ООО ПКП "Лазурин", г. Новосибирск	Масло подсолнечное, рафинированное, основа Репейное масло, емкость 100 л Репейное масло, емкость 400 л	1,41 1,45 1,57	62 63 68
Масло зверобой косметическое ООО НПФ «МЕДИКОМЕД»	Натуральное косметическое масло зверобоя	1,1	45
Масла на основе масла семян ряжика ярового (<i>Camelina sativa</i>)			
Масло ряжиковое. ООО ПКП «Провансаль», г. Томск	Масло ряжиковое раф., дез., основа для экстракции. АО 0.5% Controx AP 10	2,06	90-100
Масло ряжиковое раф., дез. с добавками эфирных масел.	Масло ряжиковое раф., дез., масла эфирные масла чайного дерева, лаванды розмарина	2,20	95

Исходное для экстракции масло рыжиковое нерафинированное	Масло рыжиковое нерафинированное		2,60	105-117
Экстракт семян лопуха на нерафинированном рыжиковом масле	Экстракт семян лопуха на нерафинированном рыжиковом масле		3.20	140
Экстракт зверобоя на рыжиковом масле	Экстракция маслом свежесобранной, перетертоей травы		1,1	44
Масло рыжиковое с углекислотным экстрактом жмыха клюквы 2%	Масло из семян рыжика, раф., дез., СО-2 экстракт жмыха брусники 2%		9.5	410
Масло с углекислотным экстрактом жмыха брусники 2%	Масло из семян рыжика, раф., дез., СО-2 экстракт жмыха брусники 2%		3,2	140
Углекислотные экстракты				
Докритическая углекислотная экстракция боярышника ИП Колесниченко Е.А., г. Томск	Липидная фракция углекислотного экстракта		2.7	120
Докритическая углекислотная экстракция калины и рапса ИП Колесниченко Е.А., г. Томск	Липидная фракция углекислотного экстракта		4,1	180
Сверхкритическая флюидная экстракция брусника, ягода (ООО НИЦ ГОРО)	Липидная фракция углекислотного экстракта		44,6	1900
Сверхкритическая флюидная экстракция клюква, ягода СО2 (ООО НИЦ ГОРО)	Липидная фракция углекислотного экстракта		12,5	530
ИП Колесниченко Е.А. СО2 экстракт жмыха облепихи СО2 экстракт жмыха облепихи и рапса	Липидная фракция экстракта Липидная фракция экстракта		5,9 12,1	254 520
Сухие и углеводородные экстракты				
Масло амаранта сорт Чергинский	Экстракция ДЭЭ семян амаранта		6,3	270
Масло амаранта сорт Кизлярец	Экстракция ДЭЭ семян амаранта		3,4	145
Экстракт шрота клюквы	Экстракция шрота МТБЭ		140	6100
Экстракт шрота брусника	Экстракция шрота МТБЭ		84	3600
Экстракт шрота черники	Экстракция шрота МТБЭ		18,5	860
Сухой экстракт облепихи, обогащенный тритерпеновыми кислотами урсанового и олеананового ряда	Экстракция шрота МТБЭ, сушка		55	2400

Выводы. Установлено, что количество антиоксидантов зависит от исходного сырья и способа экстрагирования. Концентрация антиоксидантов, состоящих из комплекса токоферолов,

каротиноидов, тритерпеноидов, липофильных кислот, флавоноидов и др. соединений является хорошим критерием качества и биологической активности экстрактов. Масляная экстракция не эффективно экстрагирует БАВ, при использовании свежесобранного сырья процесс окисления масла-основы сильно ускоряется. Органические растворители максимально активно выделяют АО, но применяются чаще в лабораторной практике. Показано, что СО₂ экстракция является эффективным и экологически чистым способом выделения биологически-активных веществ растительного и животного происхождения. Выход липидной фракции из сухой травы или ягод может составлять от доли процентов до нескольких процентов, поэтому для увеличения эффективности выхода липидной фракции рекомендуется со-экстракция растительного сырья со жмыхами масличных культур. На примере со-экстракции углекислотой рапса и жмыха облепихи показано, что выход биологически-активных веществ увеличивается в два раза, по сравнению с экстракцией жмыха облепихи. Применяемая в работе методика оценки качества экстрактов по содержанию и активности липидных АО позволяет выбрать эффективную технологию переработки растительного сырья.

Благодарности. Исследование выполнено в рамках Государственного задания ФГБУН Института химии нефти СО РАН, финансируемого Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, проект FWZN-2021-0003.

Библиографический список

1. Сизова Н.В. Оценка эффективности экстракции растительного сырья по содержанию липидных антиоксидантов. Материалы Международной научно-практической конференции «Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине». Новосибирск, 1-4 октября, 2013 г. Стр.107-109.
2. Кузьмина Т.Д. Влияние способов экстракции на антиоксидантную активность вытяжек ряда ароматических трав, возделываемых в Литве (Нидерладны). Пищевая и перерабатывающая промышленность. 2000. №3. С.975.
3. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты. Успехи химии. 1985, т.LIV, вып.9, с.1540-1558.
4. Sizova Natalia V. Content of Tocopherols as a Criterion of Natural Fatty Oil Quality. Book of Abstracts 2 Annual Russian-Korean Conference “Current issues of natural products chemistry and biotechnology -2012.-September 18-21 -Novosibirsk— Russia. – P. 150
5. Сизова Н.В. Определение биологической активности облепиховых масел и экстрактов методом микрокалориметрии по выходу липидных антиоксидантов Химия растительного сырья. 2020. №2. С. 223-230.
6. Патент РФ № 2414234. Способ получения средства, обладающего гипохолестериническим и гиполипидемическим действием, из шрота клюквы. Колесникова И.В., Митасов М.М., Оганесян Э.Т., Попов С.А., Терехов А.Ю., Шевцов С.А., Щукин Г.И. БИ №8, 2011.