

УДК 66.061.34

А.С. Крвавич, В.Р. Гамада, Р.Т. Конечна, А.О. Милянч, Л.Р. Журахівська, І.Р. Бучкевич, В.П. Новіков

ЕКСТРАКЦІЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК З ТРАВИ *ADONIS VERNALIS*

Національний університет «Львівська політехніка», м. Львів, Україна

В даній роботі досліджено кінетику екстрагування фенольних сполук з трави горицвіт весняний *Adonis vernalis*. Для цього процес здійснювали при різних гідродинамічних умовах, а також при різному ступені подрібнення. Кількісне визначення вмісту фенольних сполук проводили спектрофотометричним методом. Показано, що екстракція в умовах перемішування протікає більш ефективно, порівняно з настоюванням, і визначено оптимальний діаметр частинок для максимального вилучення фенольних сполук з рослинної сировини. Згідно з одержаними результатами, екстрагування трави *Adonis vernalis* доцільно виконувати 70% етиловим спиртом за температури кипіння екстрагенту при перемішуванні та діаметрі частинок ~1,6 мм. За цих умов досягається концентрація фенольних сполук $0,920 \pm 0,018$ г/л.

Ключові слова: фенольні сполуки, екстракція, оптимальні умови, *Adonis vernalis*, кінетика.

DOI: 10.32434/0321-4095-2019-126-5-54-57

Вступ

Фенольні сполуки – найбільш розповсюджені вторинні метаболіти рослин, які, маючи низьку токсичність, позитивно впливають на фізіологічні процеси в організмі людини, володіють антиоксидантними, антибактеріальними, цитотоксичними, нейротоксичними та іншими властивостями [1]. Джерелом фенольних сполук може слугувати лікарська рослина горицвіт весняний (*Adonis vernalis*), а саме її надземна частина [2,3]. Основним процесом, що застосовується для одержання фенольних сполук з рослинної сировини є екстрагування [4–6]. До традиційних методів екстрагування у фармацевтичній промисловості належить водно-спиртова екстракція.

Для оцінювання кінетики процесу, а отже і оцінювання ефективності екстракції фенольних сполук з трави *Adonis vernalis* необхідні дослідження факторів, які сприяють максимальному виходу діючих речовин. Вирішення цих питань дозволить покращити якість та конкурентоспроможність вітчизняних фітопрепаратів у порівнянні з імпортованими.

Для аналізу механізму екстракції було використано методику, в якій застосовано рівняння Аксельруда [7]. З метою визначення механізму

екстракції за даним методом доцільно результати експериментальних досліджень кінетики ідентифікувати у вигляді залежності $C=f(t)$ з наступним визначенням безрозмірної величини φ_0 , яку визначають з рівняння матеріального балансу:

$$M_0(1 - \varphi_0^3) = WC_1, \quad (1)$$

$$\frac{M_0}{W} = \beta,$$

де M_0 – вміст цільового компонента в пористому матеріалі, W – об'єм екстрагента.

Тоді рівняння (1) зводиться до вигляду:

$$\beta(1 - \varphi_0^3) = C_1. \quad (2)$$

Відповідно, φ_0 розраховують за рівнянням:

$$\varphi_0 = \sqrt[3]{(1 - C_1 / \beta)} = f(t). \quad (3)$$

Якщо припустити протікання процесу за внутрішньо-дифузійним механізмом, між величинами $\Phi = 1 - 3\varphi_0^2 + 2\varphi_0^3$ і часом t повинна

існувати лінійна залежність $\Phi=f(t)$. Тому для встановлення лімітувальної стадії необхідне проведення експерименту із встановлення залежності $\Phi=f(t)$.

Методика експерименту

Об'єктом для досліджень була лікарська рослина горицвіт весняний (*Adonis vernalis*). Як сировину використовували траву, зібрану з природних місць проростання (Івано-Франківська обл.) в період максимального накопичення біологічно активних речовин у ній.

Дослідження кінетики екстракції фенольних сполук з трави *Adonis vernalis* здійснювали трьома способами: мацерацією (настоюванням), в апараті Сокслета та в апараті з мішалкою.

При настоюванні окремі фракції (1,6; 2,5 та 4 мм) попередньо висушеної сировини масою 50 г поміщали у колбу, доливали екстрагент (70% етиловий спирт) у співвідношенні 1:10 та настоювали протягом 6 год. Через певні проміжки часу (90, 180, 270 та 360 хв) відбирали проби об'ємом 50 мл. Для збереження об'єму, після кожного відбору проби, в колбу додавали таку саму кількість чистого розчинника.

Екстракцію в апараті Сокслета здійснювали наступним чином. Наважку сухої рослинної сировини *Adonis vernalis* масою 50 г поміщали у паперовий патрон, який завантажували в екстрактор. У колбу заливали етиловий спирт (70%) і приєднували до екстрактора. Процес екстрагування відбувався при температурі кипіння екстрагента протягом 6 годин. Через певні проміжки часу процес екстрагування зупиняли та відбирали пробу фільтрату. Далі добавляли чистий розчинник в кількості відібраної проби, після чого знову нагрівали до температури кипіння розчину.

При здійсненні процесу в апараті з мішалкою попередньо висушену подрібнену сировину *Adonis vernalis* масою 50 г засипали в колбу, куди одночасно завантажували розчинник об'ємом 500 см³ (спирт етиловий 70%). Процес екстрагування здійснювали при температурі кипіння екстрагента, при постійному перемішуванні.

В кожному досліді відібрані проби фільтрували та аналізували на вміст фенольних сполук. Визначення виконували використовуючи спектрофотометричний аналіз за модифікованим методом Фоліна-Чокальтеу [8,9]. До 1 мл аналізованого розчину, розведеного у співвідношенні 1:20, додавали 1 мл реактиву Фоліна, 20 мл дистильованої води і 3 мл розчину 20% Na₂CO₃. Приготовану суміш струшували 10 хв, потім витримували на водяній бані при температурі 40°C протягом 20 хв. Розчин охолоджували і вимірю-

вали оптичну густину одержаного розчину при 760 нм.

Перерахунок виконували на галову кислоту за калібрувальною кривою, яку будували, в аналогічних умовах, замінюючи аналізований розчин на розчин галової кислоти (0–500 мг/л), яку використовували як стандарт.

Для оптимізації екстракції важливим фактором є дослідження такого параметра, як діаметр частинки. Для одержання фракцій досліджуваної лікарської рослинної сировини (1,6; 2,5 та 4 мм) використовували набір сит з діаметром отворів у межах 1,0–6,3 мм.

Для обробки експериментальних даних та для розрахунків використовували програмні пакети – MathCAD, MS Excel, STATISTICA та Advanced Grapher 2.2.

Результати та їх обговорення

Одержані кінетичні залежності екстрагування трави *Adonis vernalis* 70% етиловим спиртом ($C=f(t)$) наведені на рис. 1, 2 та 3.

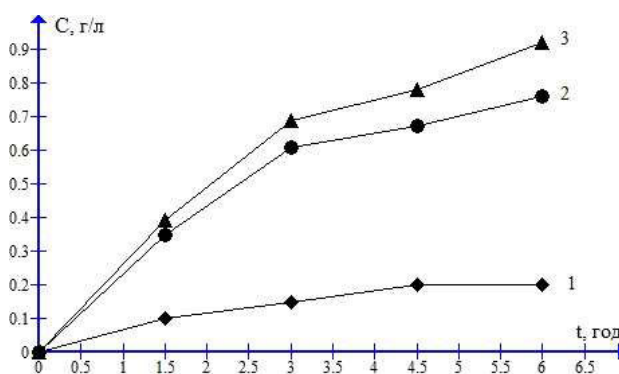


Рис. 1. Залежність концентрації від поточного часу екстракції для настоювання (1) в апараті Сокслета (2) і при перемішуванні (3) для $d_c=1,6$ мм

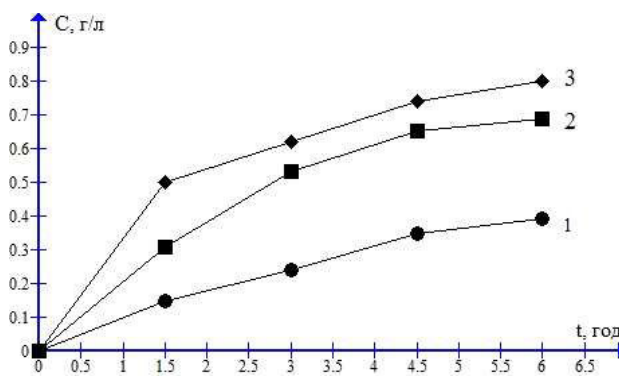


Рис. 2. Залежність концентрації від поточного часу екстракції для настоювання (1) в апараті Сокслета (2) і при перемішуванні (3) для $d_c=2,5$ мм

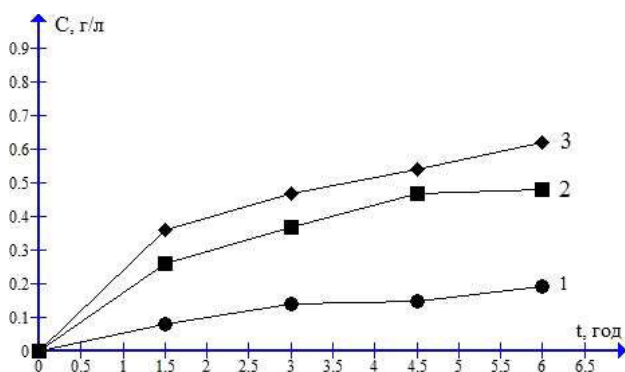


Рис. 3. Залежність концентрації від поточного часу екстракції для настоювання (1) в апараті Сокслета (2) і при перемішуванні (3) для $d_c=4$ мм

Аналіз експериментальних даних показує, що процес з настоюванням відбувається з відносно невеликою швидкістю. В апараті Сокслета процес відбувається швидше, з графіка видно, що перемішування інтенсифікує процес. В результаті можна припустити, що при перемішуванні вилучення фенольних сполук протікає в умовах змішаної кінетики (зовнішньо- і внутрішньо-дифузійній).

Подрібнення рослинної сировини в умовах екстрагування є одним із важливих процесів, які дають можливість провести процес з внутрішньо-дифузійного режиму в зовнішньо-дифузійний, швидкість останнього залежить від гідродинамічних параметрів. При подрібненні певна кількість речовини вилучається за рахунок зовнішньо-дифузійного процесу внаслідок збільшення поверхні в процесі подрібнення і відкриття вільного доступу до оновленої поверхні. Як видно, найбільш ефективно процес протікає при $d=1,6$ мм.

На рис. 4 показана залежність величини Φ від поточного часу екстракції $\Phi=f(t)$ згідно з рівнянням (3) (табл.). В розрахунках прийнято $G=50$ г, $\eta=0,35$, $W=0,500$ л, $M_0=G \cdot \eta$,

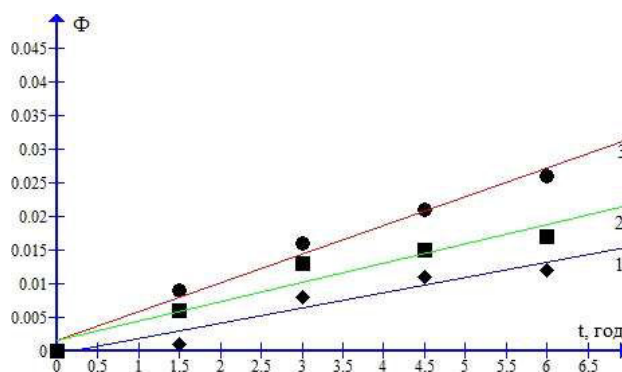


Рис. 4. Залежність величини Φ від поточного часу екстракції: 1 – $d=4$ мм; 2 – $d=2,5$ мм; 3 – $d=1,6$ мм

$$\beta = \frac{M_0}{W} = \frac{50 \cdot 0,35}{0,5} = 35.$$

Аналіз даних рис. 4 підтверджує протікання процесу екстрагування фенольних сполук з трави *Adonis vernalis* за внутрішньо-дифузійним механізмом, оскільки графічна залежність є лінійною [10].

Висновки

Досліджено кінетику вилучення фенольних сполук з трави *Adonis vernalis* в різних гідродинамічних умовах та при різних розмірах частинок (1,6, 2,5 та 4 мм). Показано, що зменшення розмірів частинок і перемішування сприяє інтенсифікації процесу екстрагування.

Встановлено, що механізм екстрагування є внутрішньо-дифузійним.

Згідно з одержаними результатами, при екстрагуванні трави *Adonis vernalis* 70% етиловим спиртом за температури кипіння екстрагенту у готовому екстракті вміст фенольних сполук складав $0,920 \pm 0,018$ г/л.

Одержані дані допоможуть при створенні екологічно безпечних препаратів природного походження для фармацевтичної, харчової,

Розрахунок $\Phi = 1 - 3 \cdot \varphi_0^2 + 2 \cdot \varphi_0^3 = f(t)$ в апараті з мішалкою

t, год	C_1 , г/л			$\varphi_0 = \sqrt[3]{(1 - C_1 / \beta)} = f(t)$			$\Phi = f(t)$		
	$d_c=1,6$ мм	$d_c=2,5$ мм	$d_c=4$ мм	$d_c=1,6$ мм	$d_c=2,5$ мм	$d_c=4$ мм	$d_c=1,6$ мм	$d_c=2,5$ мм	$d_c=4$ мм
0	0	0	0	1,00	1,00	1	0	0	0
1,5	0,56	0,46	0,23	0,944	0,954	0,978	0,009	0,006	0,001
3,0	0,72	0,67	0,51	0,926	0,932	0,949	0,016	0,013	0,008
4,5	0,84	0,70	0,62	0,913	0,928	0,937	0,021	0,015	0,011
6,0	0,92	0,76	0,64	0,903	0,922	0,935	0,026	0,017	0,012

сільськогосподарської промисловості.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa, buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking / Alvarez-Jubete L., Wijngaard H., Arendt E.K., Gallagher E. // *Food Chem.* – 2010. – Vol.119. – P.770-778.
2. Latte K.P. Adonis vernalis L. Das Fruhlingsadonisroschen // *Z. Phytother.* – 2018. – Vol.39(1). – P.45-51.
3. Al-Snafi A.E. Therapeutic properties of medicinal plants: a review of plants with cardiovascular effects (part 1) // *Int. J. Pharmac. Toxicol.* – 2015. – Vol.5(3). – P.163-176.
4. Extraction of biologically active compounds from *Sideritis* ssp. L. / Tsibranska I., Tylkowski B., Kochanov R., Alipieva K. // *Food Bioprod. Proces.* – 2011. – Vol.89(4). – P.273-280.
5. Extraction methods for the releasing of bound phenolics from *Rubus idaeus* L. leaves and seeds / Wang L., Lin X., Zhang J. et al. // *Ind. Crops Prod.* – 2019. – Vol.135. – P.1-9.
6. Extraction of phenolic compounds from hazelnut shells by green processes / Perez-Armada L., Rivas S., Gonzalez B., Moure A. // *J. Food Eng.* – 2019. – Vol.255. – P.1-8.
7. Кінетика та механізм екстракції біологічно активних речовин з дикорослого виду *G.imbricatus* / Крвавич А.С., Конечна Р.Т., Милянч А.О. та ін. // *Питання хімії та хімічної технології.* – 2018. – № 5 (120). – С.111-115.
8. Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants / Skotti E., Anastasaki E., Kanellou G., Polissiou M. Tarantilis P.A. // *Ind. Crops Prod.* – 2014. – Vol.53. – P.46-54.
9. *European pharmacopoeia*. 8th Ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2013. – 1380 p.
10. Семеншин Є.М., Стадник Р.В., Троцький В.І. Експериментальне визначення коефіцієнтів внутрішньої дифузії для умов екстрагування рідких та твердих цільових компонентів / *Наук. праці Одес. Нац. акад. харчових технол.* – 2010. – Вип.37. – Т.1. – С.341.

Надійшла до редакції 22.04.2019

EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM THE PLANT ADONIS VERNALIS

A.S. Kravych*, V.R. Hamada, R.T. Konechna, A.O. Mylyanych, L.R. Zhurakhivska, I.R. Buchkevych, V.P. Novikov

Lviv Polytechnic National University, Lviv, Ukraine

* e-mail: anna.s.kravych@lpnu.ua

The kinetics of extraction of phenolic compounds from *Adonis vernalis* was investigated in this work. To this end, the process was carried out under different hydrodynamic conditions and different extent of grinding of the plant. Quantitative determination of the overall content of phenolic compounds in extracts was performed by spectrophotometric method. The extraction proceeds more efficiently under the conditions of continuous stirring than after the infusion; this is associated with an internal character of diffusion. An optimal

diameter of components was determined for the best extraction of phenolic compounds. The extraction of *Adonis vernalis* is recommended to perform using 70.0% ethyl alcohol at the boiling point. The diameter of the components should be equal ~1.6 mm. Under these conditions, the concentration of phenolic compounds was $0.920 \pm 0.018 \text{ g L}^{-1}$.

Keywords: phenolic compounds; extraction; optimal conditions; *Adonis vernalis*; kinetics.

REFERENCES

1. Alvarez-Jubete L., Wijngaard H., Arendt E.K., Gallagher E. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa, buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, 2010, vol. 119, pp. 770-778.
2. Latte K.P. Adonis vernalis L. Das Fruhlingsadonisroschen, *Zeitschrift für Phytotherapie*, 2018, vol. 39, no. 1, pp. 45-51.
3. Al-Snafi A.E. Therapeutic properties of medicinal plants: a review of plants with cardiovascular effects (part 1). *International Journal of Pharmacology & Toxicology*, 2015, vol. 5, no. 3, pp. 163-176.
4. Tsibranska I., Tylkowski B., Kochanov R., Alipieva K. Extraction of biologically active compounds from *Sideritis* ssp. L. *Food and Bioprocess Processing*, 2011, vol. 89, pp. 273-280.
5. Wang L., Lin X., Zhang J., Zhang W., Hu X., Li W., Li C., Liu S. Extraction methods for the releasing of bound phenolics from *Rubus idaeus* L. leaves and seeds. *Industrial Crops and Products*, 2019, vol. 135, pp. 1-9.
6. Perez-Armada L., Rivas S., Gonzalez B., Moure A. Extraction of phenolic compounds from hazelnut shells by green processes. *Journal of Food Engineering*, 2019, vol. 255, pp. 1-8.
7. Kravych A.S., Konechna R.T., Mylyanych A.O., Petrina R.O., Fedoryshyn O.M., Mykytyuk O.M., Semenishyn Ye.M., Atamaniuk V.M., Novikov V.P. Kinetika ta mekhanizm ekstrakttsii biologichno aktyvnykh rehovyn z dykoroslogo vydu *G. imbricatus* [Kinetics and mechanism of the extraction of biologically active substances from wild species *G. imbricatus*]. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*, 2018, no. 5, pp. 111-115. (in Ukrainian).
8. Skotti E., Anastasaki E., Kanellou G., Polissiou M. Tarantilis P.A. Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants. *Industrial Crops and Products*, 2014, vol. 53, pp. 46-54.
9. *European pharmacopoeia*. 8th Edition. Council of Europe, Strasbourg, 2013. 1380 p.
10. Semenishyn Ye.M., Stadnyk R.V., Trotskyi V.I. Eksperymental'ne vyznachenniya koeffitsientiv vnutrishn'oi dyfuzii dl'ya umov ekstraguvanniya ridkykh ta tverdikh tsil'ovykh komponentiv [Experimental determination of the coefficients of internal diffusion for the conditions of extraction of liquid and solid target components]. *Naukovi Pratsi Odeskoi Natsionalnoi Akademii Kharchovykh Tekhnologii*, 2010, no. 37(1), pp. 341. (in Ukrainian).