

УДК 615.32:615.07:615.451.16:581.19

ТЕРМИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РУДБЕКЦИИ ШЕРШАВОЙ ЦВЕТКОВ КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ЭКСТРАКЦИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Лукашов Р.И., Гурина Н.С.

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
220083, Республика Беларусь, г. Минск, пр-т Дзержинского, 85, корп. 15
E-mail: r_lukashov@mail.ru

Цель. Изучить влияние термической обработки на качественный и количественный состав фенольных соединений (ФС) рудбекии шершавой цветков.

Материалы и методы. Для определения содержания ФС использовали спектрофотометрический метод и высокоэффективную жидкостную хроматографию. Изучали влияние на экстракцию следующих параметров термической обработки: температура с и без упаковки; продолжительность; толщина слоя обрабатываемого сырья и степень его измельчения. Изучена температурная и временная зависимость экстракции ФС из термически обработанного сырья.

Результаты. Подобраны следующие условия термической обработки рудбекии шершавой цветков, обеспечивающие наибольший выход ФС из сырья: температура обработки в упаковке – 140°C; продолжительность обработки – 6 ч; толщина слоя обрабатываемого сырья – более 5 см; степень измельчения – измельченное в порошок сырье. При использовании данных параметров обработки содержание ФС возрастает на 69,0% по сравнению с нативным сырьем, его качественный состав значимо не изменялся. При экстракции из термически обработанного сырья наибольшее количество ФС извлекается на кипящей водяной бане в промежутке от 2 до 6 ч.

Закключение. Полученные результаты могут быть использованы для разработки ресурсосберегающих и экономически выходных технологий переработки лекарственного растительного сырья.

Ключевые слова: рудбекия шершавая; фенольные соединения; термическая обработка

THERMAL TREATMENT OF *RUDBECKIA HIRTA* FLOWERS AS A METHOD FOR INCREASING THE EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS

Lukashov R.I., Gurina N.S.

Belarusian State Medical University,
Bld. 15, 85, Dzerzhinsky Ave., Minsk, Republic of Belarus, 220083
E-mail: r_lukashov@mail.ru

The aim. To study the effect of thermal treatment on the qualitative and quantitative composition of phenolic compounds (PhC) of *Rudbeckia hirta* flowers.

Materials and methods. For determination of the content of PhC, a spectrophotometric method and high-performance liquid chromatography are used. The influence on the extraction of the parameters of subsequent thermal treatment is studied: temperature with and no packaging; duration; the thickness of the layer of processed plant raw material and the degree of its grinding. The temperature and time extraction of PhC from thermally treated plant raw material was studied.

Results. Possible conditions for thermal treatment of *Rudbeckia hirta* flowers are selected, the maximum yield of PhC from vegetables: processing temperature in the package – 140°C; processing time – 6 h; the thickness of the layer of the processed product is more than 5 cm; degree of crushing – plant raw materials crushed into powder. In the settings of processing parameters, the content of PhC increases by 69.0% compared to natural plant raw materials, its qualitative composition of the sensors does not change. When extracting from the

thermally treated plant raw materials, the required amount of PhC from is consumed on a bale in a water bath in the range from 2 to 6 hours.

Conclusion. Obtaining the results of the organization's activities on the development of resource-saving and economic technologies for the processing of medicinal plants of plant origin.

Keywords: *Rudbeckia hirta*; phenolic compounds; thermal treatment

ВВЕДЕНИЕ. Рудбекии шершавой цветки – новое лекарственное растительное сырье (ЛРС), включенное в Государственную фармакопею Республики Беларусь, для которого соответственно разработаны все необходимые показатели качества, безопасности и эффективности [1–3]. Стандартизация сырья ведется по сумме фенольных соединений (ФС) спектрофотометрическим методом и по доминирующему флавоноиду – патулитрину методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Современные требования к лекарственным препаратам, в т.ч. растительного происхождения, основываются на принципах доказательной медицины. Для ЛРС и лекарственных препаратов на его основе при реализации этой концепции важным этапом является экстракция биологически активных соединений (БАС), которая должна обеспечивать полноту выхода действующих веществ при экстракции.

Для повышения экстракции БАС в последнее время широко применяются предварительная обработка самого ЛРС, в частности термическая обработка. Термическая обработка сырья – кратковременное температурное воздействие на сухое и свежее ЛРС с целью повышения выхода БАС при экстракции (термическая активация) [4].

Целесообразность проведения термической обработки рудбекии шершавой цветков вызвана тем, что данные соцветия-корзинки из-за достаточно жесткой морфологической структуры не измельчаются в порошок менее 2 мм [5] и, соответственно, остаются крупные частицы сырья, из-за которых экстракция может быть затруднена. Для разрушения структур, накапливающих фенольных соединений, и деструкции инактивирующих ФС ферментов в данном случае логично применить термическую обработку.

ЦЕЛЬ. Изучить влияние термической обработки на качественный и количественный состав ФС рудбекии шершавой цветков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В качестве объекта исследования использовали рудбекии шершавой цветки, заготовленные от культивируемых форм на учебно-опытном участке Белорусского государственного медицинского университета в д. Новое Поле (Минский район) в 2020–2022 гг. Сырьё подвергали воздушно-теновой сушке.

Для оценки возможности объединения данных трех серий исследований и расчёта объединенного среднего применяли критерий Кохрена, т.к. объединяемые дисперсии имели одинаковое количество степеней свободы¹. По итогам расчета получили следующие значения при $g=3$; $v=2$: $G_{\text{табл}}=0,8709$ и $G_{\text{эмп}}=0,5231$ ($G_{\text{табл}} > G_{\text{эмп}}$, то результаты, полученные на разных образцах сырья, можно объединить и рассчитать объединенное среднее).

При проведении термической обработки измельченное воздушно-сухое сырье взвешивали (точная навеска), помещали в фольгу (в упаковке) или в выпарительную чашу (без упаковки) и подвергали в сушильном шкафу воздействию различных температур: 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160 и 180°C. Теплоагентом в данном случае являлся нагретый воздух, теплопередача происходила через фольгу, материал чаши или непосредственно при контакте с нагретым воздухом. После подбора температуры устанавливали влияние различных промежутков времени обработки (0,5; 1; 1,5; 2; 3 и 6 ч) на выход БАС. Также оценивали влияние толщины слоя обрабатываемого сырья: до 1; 1–2, 2–3, 3–4 и более 5 см и степени измельчения сырья (цельное, резанное,

¹ Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II): в 2 т. / М-во здравоохранения Республики Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно: тип. «Победа», 2012. – Т. 1 : Общие методы контроля качества лекарственных средств. – 1220 с.

порошок 2 мм). После обработки для проведения экстракции сырье измельчали до оптимальной степени измельчения, указанной выше.

По итогам подбора параметров термической обработки для обработанного сырья дополнительно изучали температурную и временную зависимость экстракции. Для подтверждения роли ферментов при термической обработке принимали во внимание активность полифенолоксидазы по методике А.Н. Бояркина².

Содержание суммы ФС и их качественный состав оценивали согласно методикам Государственной фармакопеи Республики Беларусь³.

Статистическую обработку проводили при помощи компьютерной программы Microsoft Office Excel 2016 (пакет «Анализ данных»). Каждое испытание проводили в трех повторностях ($n=3$). Результаты представляли в виде $\bar{X} \pm \Delta_{\bar{x}}$, где \bar{X} – среднее значение выборки; $\Delta_{\bar{x}}$ – полуширина доверительного интервала средней величины. Для выявления статистически значимого влияния факторов термической обработки сырья на экстракцию ФС проводили дисперсионный анализ. Значения статистически значимо различались при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. На рисунках 1–4 представлены результаты оценки влияния на содержание ФС рудбекии шершавой следующих параметров термической обработки: температура обработки с и без упаковки, толщина обрабатываемого слоя сырья и степень его измельчения соответственно.

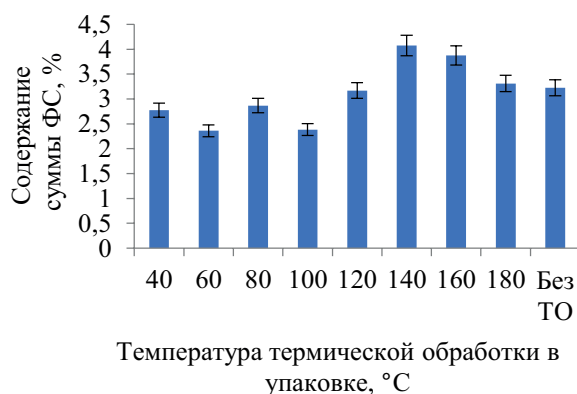


Рисунок 1 – Зависимость содержания ФС от температуры термической обработки в упаковке
Примечание (здесь и для Рис. 2): Без ТО – в отсутствие термическая обработка отсутствовала (нативное ЛРС).

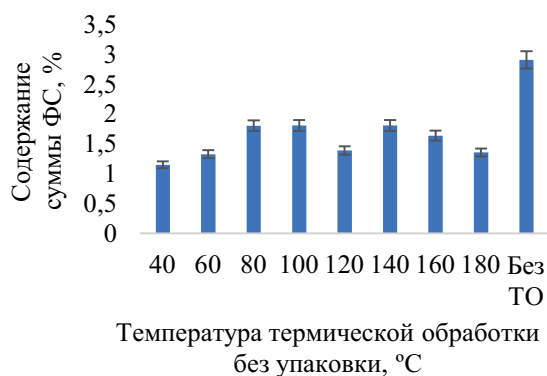


Рисунок 2 – Зависимость содержания ФС от температуры термической обработки без упаковки

² Мазец Ж. Э. Практикум по физиологии растений: учебно-методическое пособие / Ж.Э. Мазец, С.В. Судейная, Е.Р. Грицкевич. – Минск, 2010. – Ч. 2. – С. 17–20.

³ Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II): в 2 т. / М-во здравоохранения Республики Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: тип. «Победа», 2012.

При обработке рудбекии шершавой цветков в упаковке максимальная экстракция ФС приходилась на температуру 140°C при RSD=6,9% (на 26,4% (отн.) ($p=0,035$) больше, чем в нативном сырье), что на 5,1% (отн.) ($p=0,12$) и 21,6% (отн.) ($p=0,042$) больше, чем при температурах 160 (RSD=19,2%) и 120°C (RSD=8,4%) соответственно.

В диапазоне температур от 40 до 100°C содержание ФС было меньше на 12,4–35,3% ($p=0,0024–0,054$) по сравнению с нативным сырьем. Содержание при 120 и 180°C было сопоставимо ($p=0,078$ и $0,098$ соответственно) с нативным сырьем. Данный факт можно объяснить сохранением активности полифенолоксидазы (Рис. 6) в указанном диапазоне температур с минимумом при 120°C ($p=7,8 \cdot 10^{-4}$; $F_{\text{крит}}(4,96) < F(22,5)$). При этом ее активность при 60°C совпадала с активностью в нативном воздушно-сухом сырье ($p=0,25$). Минимум содержания ФС при 60°C совпадал с максимумом активности фермента. Снижение содержания при 100°C было связано, предположительно, с изменением фазового состояния системы из-за удаления воды из сырья.

При термической обработке в отсутствие упаковки содержание было значимо ниже в 1,6–2,5 раза ($p=4,3 \cdot 10^{-4}–5,2 \cdot 10^{-6}$) по сравнению с нативным сырьем.

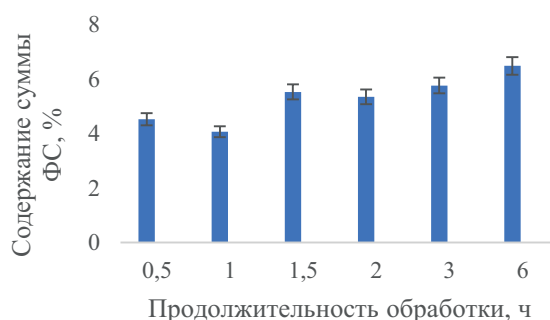


Рисунок 3 – Зависимость содержания ФС от продолжительности термической обработки

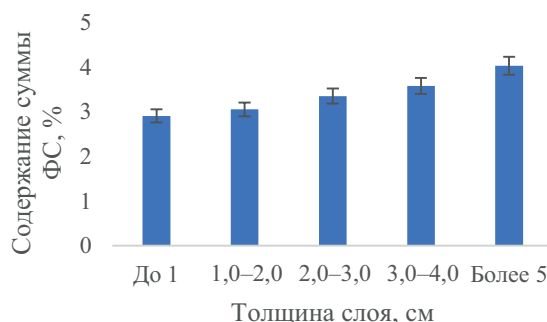


Рисунок 4 – Зависимость содержания ФС от толщины слоя термически обрабатываемого сырья

С увеличением продолжительности обработки авторами было отмечено повышение экстракции ФС ($r=0,8662$) с максимумом на 6 ч, что на 12,5% (отн.) ($p=0,084$) больше, чем при 3 ч. С повышением толщины слоя обрабатываемого сырья выявлено повышение экстракции ФС ($r=0,9734$) с максимумом у сырья слоем более 5 см, что на 12,5% (отн.) ($p=0,079$) больше, чем у слоя от 3 до 4 см.

Наибольший выход ФС отмечали для резанного сырья, что на 14,2% ($p=0,067$) и на 22,1% ($p=0,044$) больше, чем для цельного и измельченного в порошок сырья соответственно.

При проведении дисперсионного анализа влияния параметров термической обработки на экстракцию ФС установлено, что температура ($p=2,3 \cdot 10^{-6}$), продолжительность обработки ($p=4,4 \cdot 10^{-4}$) и наличие упаковки ($p=1,9 \cdot 10^{-6}$) статистически значимо ($p < 0,05$) влияли на экстракцию ФС. Толщина слоя обрабатываемого сырья ($p=0,076$) и степень его измельчения ($p=0,088$) статистически значимо не влияли на процесс экстракции ($p > 0,05$).

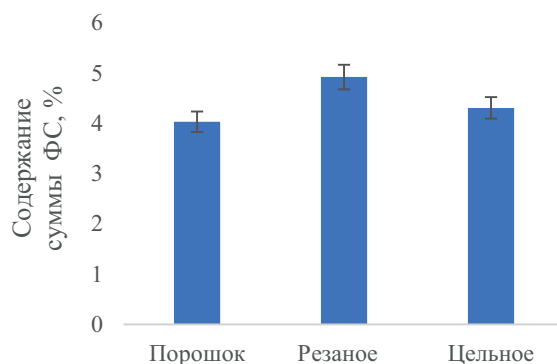


Рисунок 5 – Зависимость содержания ФС от степени измельчения сырья при термической обработке

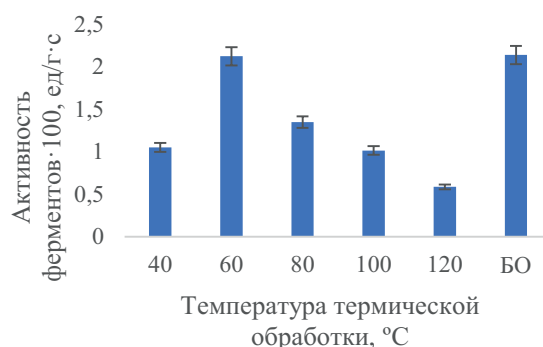


Рисунок 6 – Зависимость активности полифенолоксидазы сухого сырья от температуры термической обработки

На основе экспериментально подобранных параметров предложен следующий способ термической обработки рудбекии шершавой цветков: резанные рудбекии шершавой цветки раскладывают слоем более 5 см на фольге, герметично заворачивая в нее, помещают в сушильный шкаф при температуре 140°C на 6 ч. После истечения времени сырье в фольге не разворачивая охлаждают при комнатной температуре, после развертывания и взвешивания используют для экстракции.

При использовании предложенного способа термической обработки выход ФС возрос на 69,0% (отн.) ($p=4,5 \cdot 10^{-5}$) по сравнению с ЛРС, которое не прошло предварительную обработку (Рис. 7).

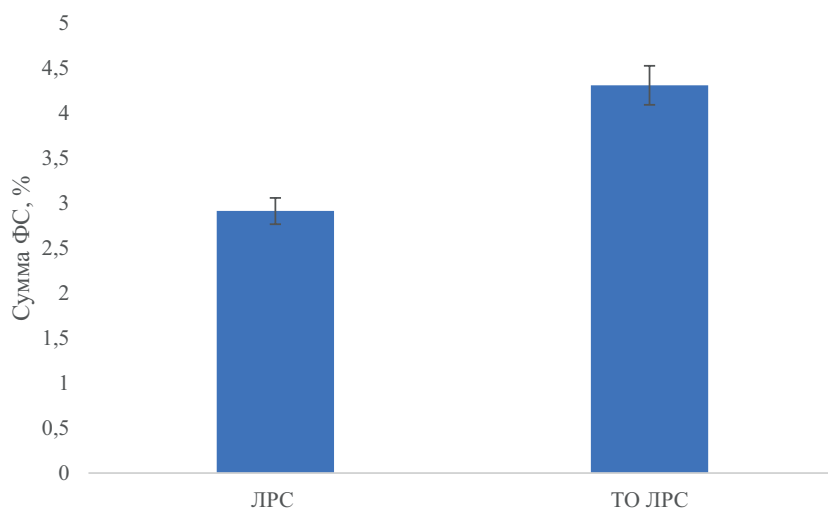


Рисунок 7 – Содержание ФС в термически обработанных рудбекии шершавой цветках (ТО ЛРС) и нативных рудбекии шершавой цветках (ЛРС)

Для оценки влияния термической обработки на качественный состав доминирующих ФС рассчитывали их относительное содержание (табл. 1).

Таблица 1 – Качественный состав доминирующих ФС термически обработанных и нативных рудбекии шершавой цветков

Название ФС	Термически обработанное ЛРС, %	ЛРС, %	Значение <i>p</i>
Кверцетин-3-О-диглюкозид	15,6±2,14	14,6±1,99	0,12
Патулетин-3-О-галактозид	14,4±1,01	13,2±1,02	0,23
Патулитрин	23,9±1,99	25,8±2,09	0,31
Мирицетин	18,4±2,01	18,5±1,89	0,69
Кверцетагетин	10,2±1,04	9,67±0,989	0,41
Патулетин	9,88±0,976	10,2±0,896	0,42
Хлорогеновая кислота	7,62±1,00	8,03±0,674	0,28

Из таблицы 1 видно, что относительное содержание доминирующих ФС в термически обработанных и нативных цветках практически одинаково, что указывает на то, что термическая обработка не влияла на качественный состав извлекаемых ФС.

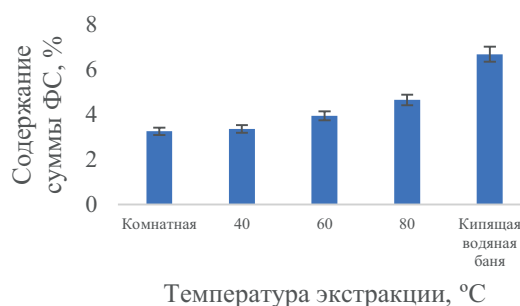


Рисунок 8 – Зависимость содержания ФС от температуры экстракции из термически обработанного сырья

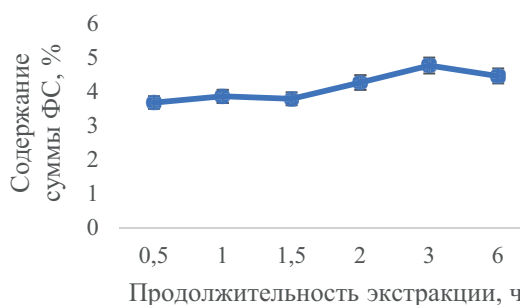


Рисунок 9 – Зависимость содержания ФС от продолжительности экстракции из термически обработанного сырья

Увеличение температуры экстракции из термически обработанных цветков привело к увеличению содержания ФС с максимумом на кипящей водяной бане ($r=0,9047$) – на 43,7% (отн.) ($p=2,7 \cdot 10^{-4}$) больше, чем при 80°C. Наблюдали минимум при 40°C (16,1% (отн.), $p=0,069$). При этом содержание ФС было в 2,3 раза выше ($p=1,1 \cdot 10^{-4}$) по сравнению с экстракцией при 60°C из нативных цветков.

Содержание ФС возрастало при увеличении продолжительности экстракции ($r=0,7120$). При этом формировались два плато экстракции: от 0,5 до 1,5 ч и от 2 до 6 ч. Шестичасовая экстракция из термически обработанного сырья была ниже на 43,2% ($p=0,032$), чем при термической шестичасовой обработке сырья.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Подобраны оптимальные условия термической обработки рудбекии шершавой цветков, обеспечивающие наибольший выход ФС из сырья: температура обработки в упаковке – 140°C; продолжительность обработки – 6 ч; толщина слоя обрабатываемого сырья – более 5 см; степень измельчения – измельченное в порошок сырье. При использовании данных параметров обработки содержание ФС возрастает на 69,0% по сравнению с нативным сырьем, при этом его качественный состав значимо не менялся. При экстракции из термически обработанного сырья наибольшее количество ФС извлекается на кипящей водяной бане в промежутке от 2 до 6 ч.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА. Работа выполнена в рамках задания 2.2.3 «Получить и стандартизировать экстракционные лекарственные формы с повышенным содержанием биологически активных веществ» (2021–2025 гг.) в рамках государственной программы научных исследований 2 «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биооргхимия» подпрограммы 2.2 «Синтез и направленное модифицирование регуляторов биопроцессов (Биорегуляторы)».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Лукашов Р.И., Моисеев Д.В. Влияние комплекса биологически активных веществ цветков рудбекии шершавой на показатели тимуса крыс // Вестник фармации. – 2013. – № 1. – С. 50–56.
2. Лукашов Р.И., Моисеев Д.В. Иммуностропная активность цветков рудбекии шершавой (*Rudbeckia hirta* L.) // Рецепт. – 2013. – № 4. – С. 96–103.
3. Лукашов Р.И., Моисеев Д.В. Острая токсичность комплекса биологически активных веществ цветков рудбекии шершавой // Вестник фармации. – 2013. – № 4. – С. 62–68.
4. Лукашов Р.И., Гурина Н.С. Влияние параметров термической обработки травы золотарника канадского на экстракцию флавоноидов // БГМУ – в авангарде медицинской науки и практики: рецензируемый сборник научных трудов; редколлегия: А.В. Сикорский, В.Я. Хрыщанович. – Минск: БГМУ, 2019. – Вып. 9. – С. 357–362.
5. Лукашов Р.И., Моисеев Д.В. Количественное определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот в цветках рудбекии шершавой // Рецепт. – 2013. – № 5. – С. 95–105.

АВТОРЫ

Лукашов Роман Игоревич – кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармацевтической химии БГМУ, Республика Беларусь. ORCID ID: 0000-0001-5234-6319. E-mail: r_lukashov@mail.ru

Гурина Наталия Сергеевна – доктор биологических наук, профессор, декан фармацевтического факультета БГМУ, Республика Беларусь. E-mail: nsgur@mail.ru

**Материалы
V Международной научно-практической
конференции**

**«АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
И КЛИНИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИИ:
ОТ МОЛЕКУЛЫ К ЛЕКАРСТВУ»**

(19–20 октября 2023 года)