

УДК 668.411:674.032.14

DOI: 10.15372/KhUR20150509

Модифицированная технология получения полисахарида арабиногалактана из древесины лиственниц сибирской (*Larix sibirica*) и Гмелина (*Larix gmelinii*)

В. А. МЕЛЬНИКОВ¹, Л. П. СУНЦОВА², А. В. ДУШКИН², С. П. ЧЕПУРИН¹, В. Г. ШЕЛЕПОВ¹¹Сибирское отделение аграрной науки,
пос. Краснообск, Новосибирский р-он, Новосибирская обл. 630501 (Россия)

E-mail: melnikovatn@mail.ru

²Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения РАН,
ул. Кутателадзе, 18, Новосибирск 630128 (Россия)

Аннотация

Рассмотрена модифицированная технология получения арабиногалактана из древесины лиственниц сибирской и Гмелина, основанная на водной экстракции арабиногалактана в ультразвуковой установке, фильтрации полученного экстракта, разделении его на фракции методом ультразвукового распыления и концентрировании в вакуумно-ротационном испарителе. Далее концентрат осаждают в органическом растворителе, промывают, сушат и измельчают. Примечательно, что экстракция арабиногалактана осуществляется без предварительной экстракции дигидрокверцетина.

Ключевые слова: лиственница, арабиногалактан, дигидрокверцетин, флавоноиды, экстракт, ультразвуковая экстракция, флокулянты

ВВЕДЕНИЕ

Хотя современная химия достигла впечатляющих успехов в области синтеза, главным источником многих биологически активных веществ (БАВ) все еще остается натуральное сырье, как животного, так и растительного происхождения. По этой причине особого внимания заслуживает изучение и интенсификация процесса экстрагирования разнообразных ценных компонентов из природного сырья.

Традиционные методы экстрагирования ценных компонентов из природного сырья характеризуются большой продолжительностью, трудоемкостью и низкой эффективностью.

Сложная экологическая обстановка определяет актуальность новых подходов к переработке природного сырья, предполагающих его максимально полное использование. Возникает вопрос рационального выбора технологического оборудования для осуществления процес-

са экстрагирования. Один из новых и перспективных методов основан на использовании ультразвукового воздействия в процессе экстракции БАВ из природных материалов. Для достижения максимального выхода БАВ в жидкую фазу при сохранении их нативной структуры необходим индивидуальный подход к выбору оптимальных режимов ультразвуковой обработки для каждого вида сырья.

Решение проблемы рационального использования лесной биомассы основано на вовлечении в переработку сырьевых ресурсов, которые относятся к древесным отходам.

Древесина – наиболее распространенный и непрерывно возобновляемый продукт биосферы. Современные тенденции ее переработки свидетельствуют о том, что в скором будущем она станет основным видом органического сырья для химической промышленности, включая производство полимеров, новых композиционных материалов, медицинских и

ветеринарных препаратов и стимуляторов роста растений.

Лиственница (лат. *Larix*) – род древесных растений сем. Сосновые. Это одна из наиболее распространенных пород хвойных деревьев Горного Алтая представлена двумя видами – лиственницами сибирской и Гмелина. Химический состав экстрактивных веществ этих видов включает низкомолекулярные продукты вторичного метаболизма древесины и коры, такие как терпеноиды, флавоноиды, фенолокислоты, лигнины, стилбены, липиды и полимерные соединения (арабиногалактан, пектин).

Феноменом лиственниц сибирской и Гмелина считается химический состав флавоноидов в экстрактивных метаболитах древесины и коры. Так, флавоноиды древесины на 80–85 % представлены дигидрокверцетином (ДГК) – соединением с чрезвычайно высокой антиоксидантной и капилляропротекторной активностью. Из высокомолекулярных соединений, выделяемых из древесины лиственниц, особую ценность представляет водорастворимый полисахарид АГ, который биоразлагается в живом организме и может использоваться в качестве носителя ЛС в составе ветеринарных препаратов и в функциональных продуктах питания.

Во всех известных способах получения арабиногалактана (АГ) из древесины лиственницы на первой стадии из сырья извлекается ДГК. Вторая стадия предполагает выделение АГ и его очистку от фенольных примесей.

Для получения АГ, как правило, на первом этапе из измельченной технологической щепы лиственницы экстрагируют ДГК этилацетатом, промывают щепу от этилацетата, а затем извлекают АГ путем водной экстракции при температуре 80–90 °С в режиме непрерывной циркуляции в течение 2 ч. Водный экстракт, не охлаждая, при перемешивании обрабатывают водным раствором флокулянта и фильтруют. Концентрирование экстракта осуществляют методом ультрафильтрации с использованием ацетатцеллюлозных мембран, а выделение из концентрата порошкообразного целевого продукта – распылительной сушкой [1].

Этот способ имеет ряд недостатков:

1) привязка технологии к производству ДГК, так как в процессе его извлечения АГ, связанный с ДГК, частично переходит в экстрагент;

2) значительное загрязнение экстракта фенольными и смолистыми веществами, экстрагируемыми из древесины при нагревании и, как следствие, быстрое загрязнение и невысокая эффективность работы ацетатцеллюлозных мембран;

3) высокие энергозатраты на получение экстракта АГ, связанные с нагревом воды до температуры 80–90 °С и продолжительностью экстракции при заданной температуре 2 ч;

4) необходимость использования высокого гидромодуля (1 : 7) для эффективной пропитки щепы.

Настоящее исследование посвящено разработке самостоятельной экономичной технологии получения АГ с заданной молекулярной массой и отвечающего требованиям СанПиН 2.3.2.1078–01 “Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов”, позволяющей использовать в качестве сырья измельченную древесину лиственницы – технологической щепы (отходов деревоперерабатывающих производств) и включающей предварительную экстракцию ДГК органическим растворителем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Для исследования использованы следующие материалы: древесина лиственниц сибирской и Гмелина, произрастающих на территории Онгудайского района (Республика Алтай); АГ (контроль), полученный из древесины лиственницы даурской (ЗАО “Аметис”, Благовещенск), ФС 000905-190814, серия 010814; ДГК – 3,3',4,5,7-пентагидроксифлавоон, субстанция флавоноида ДГК (ООО ИНПФ “Химия древесины”, Иркутск), серия 9022007. Брутто-формула $C_{15}H_{12}O_7$.

Тестируемые образцы

Тестируемые образцы состояли из АГ, выделенного из древесины лиственницы. Процесс выделения АГ включал два этапа. На первом этапе технологическую древесную щепу замачивали в воде на 15–20 ч при температуре 20–25 °С с гидромодулем 1 : 1. За это время вода практически полностью уходила

на влагонасыщение сырья. На втором этапе технологическую цепу помещали в ультразвуковую камеру с частотой волн 27–42 кГц. Гидромодуль составлял 1 : 5 к массе сухого сырья; температура воды 20–25 °С; время экстрагирования: образец № 1 – 20 мин, образец № 2 – 30 мин, образец № 3 – 45 мин. Далее водный экстракт сливали через фильтр, распыляли ультразвуковым испарителем, при этом аэрозоль экстракта циклично осаждался в последовательно соединенных четырех колонках. Осаждали АГ из экстракта отдельно, из каждой колонки четырехкратным объемом этилового спирта, декантацией, промыванием осадка спиртом и высушиванием. После осаждения АГ и его промывки спирт фильтровали, подвергали перегонке и снова включали в процесс производства АГ.

Методы

Идентификация получаемого АГ. Для идентификации получаемого АГ записаны ИК-спектры опытного и контрольного образцов. Анализ проводили на спектрометре Spereord 75 IR в интервале 500–4000 см⁻¹.

Определение молекулярной массы АГ. Молекулярную массу образцов определяли методом гелепроникающей хроматографии. Анализ проводили с использованием хроматографа Agilent 1200 с колонкой PL aquel-ОН 40, 300 × 7.5 мм. Температура колонки 30 °С. Детектор рефрактометрический. В качестве растворителя и элюента использовали водный раствор 0.1 М LiNO₃, скорость потока 1 мл/мин. Калибровку проводили по стандартам декстранов фирмы Sigma-Aldrich с молекулярными массами 1, 5, 12, 25, 80, 150, 270 и 410 кДа. Для обработки полученных результатов использовали программу Agilent GPC Date Analysis.

Определение содержания ДГК в АГ. Навески образцов массой 0.5 г растворяли в 5 мл дистиллированной воды при 25 °С и перемешивании (180 мин⁻¹) в течение 30 мин. Затем растворы центрифугировали и фильтровали через бумажный фильтр. Концентрацию ДГК определяли методом ВЭЖХ относительно специально приготовленного стандартного спиртового раствора. Анализ ВЭЖХ проводили на хроматографе Agilent 1200 с колонкой Zorbax

Eclipse XDB-C18, 4.6 × 150 мм. Температура колонки 30 °С; диодно-матричный УФ-детектор. В качестве элюента использовалась система ацетатный буфер – ацетонитрил (соотношение 70 : 30). Детектирование проводилось в диапазоне длин волн 260–291 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При экстрагировании растительного сырья (технологической цепи лиственницы) рекомендуется предварительное замачивание, длительность которого зависит от скорости вытеснения воздуха из клетки. Однако многие капилляры заканчиваются в пачках и фибриллах, не выходя наружу. Ультразвук, создавая звукокапиллярный эффект, не только ускоряет вытеснение таких пузырьков воздуха, но и создает условия для растворения его в жидкостях. На концах капилляра возникает разность давлений в результате турбулентного движения пограничного слоя при наложении ультразвука. Протекая с большой скоростью мимо отверстия капилляра, слой проявляет отсасывающий эффект, поэтому здесь формируется зона с пониженным давлением [2].

Ранее [3] было показано, что ультразвуком из сырья растительного происхождения в диапазоне частот 19 кГц – 1 МГц можно извлекать практически все известные соединения, продуцируемые растениями. Кинетика ультразвуковой экстракции БАВ зависит от принадлежности к определенной химической группе, а степень извлечения возрастает в ряду: масла < алкалоиды < фуранохромы < флавоноиды < сапонины < гликозиды [3]. При использовании ультразвука процесс экстракции интенсифицируется, так как под действием ультразвуковых колебаний быстро и активно разрушаются внутриклеточные ткани растительного сырья [4].

Можно выделить несколько основных параметров, определяющих преимущества процесса ультразвукового экстрагирования по сравнению с традиционными методами экстракции:

- увеличение скорости обтекания;
- ускорение пропитки твердого тела жидкостью;
- увеличение коэффициента внутренней диффузии;

ТАБЛИЦА 1

Молекулярно-массовые характеристики образцов и содержание ДГК в АГ

| Образцы | Время, мин | | M_n , кДа | M_w , кДа | $C_{\text{ДГК}}$, мг/г |
|---------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------------------|
| | экстракции | удерживания | | | |
| АГ (контроль) | – | 9.02 | 12 450 | 14 337 | 5.0 |
| 1 | 20 | 9.02 | 12 615 | 14 219 | 0.7 |
| 2 | 30 | 9.01 | 12 690 | 14 384 | 0.3 |
| 3 | 45 | 9.01 | 12 761 | 14 452 | 0.3 |

Примечание. M_n – среднечисловая молекулярная масса, M_w – среднемассовая молекулярная масса, $C_{\text{ДГК}}$ – содержание ДГК в АГ.

– кавитационный эффект, влияющий на структуру пористых тел и приводящий к появлению микротрещин;

– свойства звуковых и ультразвуковых колебаний предотвращать экстракцию пористых частиц твердыми инертными примесями [4].

При получении АГ описанным способом его выход по отношению к массе сухого сырья составляет 13–15 % в зависимости от места

происхождения древесины и времени хранения древесины после ее заготовки. Степень извлечения АГ не определялась.

Результаты исследования молекулярно-массовых характеристик образцов АГ и содержания ДГК в АГ приведены в табл. 1.

Видно, что при продолжительности экстракции АГ из древесины более 30 мин содержание ДГК в АГ не уменьшается, а при

ТАБЛИЦА 2

Результаты испытания опытного образца № 3 на соответствие фармакопейной статье 000905-190814 (ЗАО “Аметис”)

| Показатели | Нормативные требования по НД | Результаты испытаний |
|--------------------------------|--|--|
| Описание | Мелкокристаллический порошок от светло-кремового до кремового цвета со слабым характерным запахом древесины | Мелкокристаллический порошок светло-кремового цвета, со слабым характерным запахом древесины |
| Растворимость | Легко растворим в воде, практически не растворим в 96 % спирте и в хлороформе | Соответствует требованиям |
| Подлинность | ИК-спектр субстанции в таблетке КВг, в области от 4000 до 400 см ⁻¹ по положению полос поглощения должен соответствовать спектру арабиногалактана Качественные реакции: – с α -нафтолом и кислотой серной конц. (сахара); – с тимолом и кислотой серной конц. (сахара); | Соответствует требованиям |
| pH раствора | 4.5–6.5 (0.5 % водный р-р) | 5.4 |
| Посторонние примеси | Не более 1.0 % дигидрокверцетина | 0.3 % |
| Сульфатная зола | Не более 0.5 % | 0.28 % |
| Тяжелые металлы | Не более 0.001 % | Менее 0.001 % |
| Потеря в массе при высушивании | Не более 10.0 % | 5.4 % |
| Микробиологическая чистота | ГФ XII, часть 1, с. 160, категория 3.2 (ОФС 42-0067–07) | Соответствует требованиям |
| Количественное определение | Не менее 95.0 % арабиногалактана в пересчете на сухое вещество | 96.5 % |

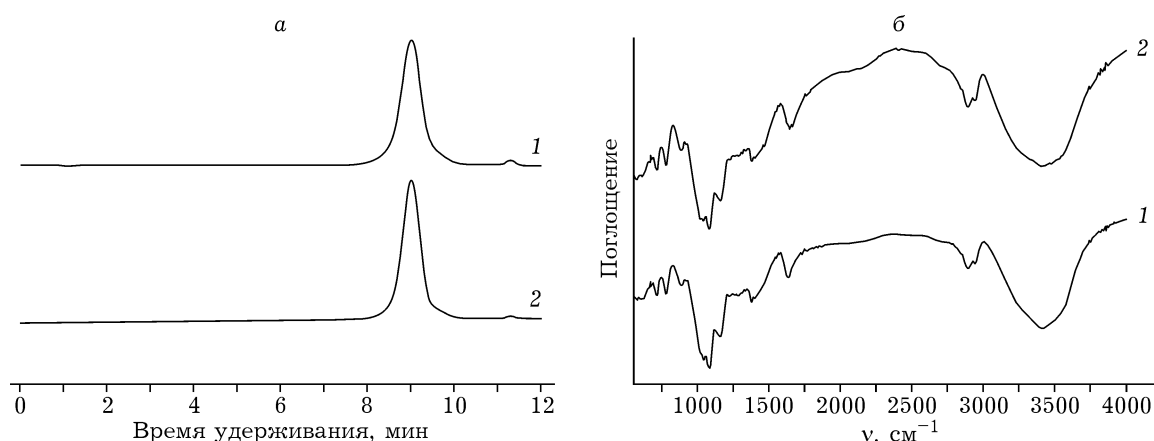


Рис. 1. Гель-хроматограммы (а) и ИК-спектры (б) образцов АГ: 1 – контрольный, 2 – опытный.

экстракции менее 30 мин выделяется АГ с более низкой молекулярной массой. Следовательно, оптимальное время экстрагирования составляет 30–45 мин.

Полученный АГ (образец № 3) также был испытан на соответствие фармакопейной статье ФС 000905–190814 (табл. 2).

На хроматограммах (рис. 1, а), полученных методом гель-хроматографии и ИК-спектрах (см. рис. 1, б), отличий полученного препарата от контроля не обнаружено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенный способ получения АГ характеризуется следующими преимуществами по сравнению с прототипом:

1. Исключена стадия предварительного обессмоливания и извлечения ДГК из исходного сырья – измельченной древесины лиственницы (экстракция органическим растворителем), а также стадия сушки сырья от остатков органического растворителя.

2. Технологический процесс получения АГ осуществляется в условиях комнатной температуры, без дополнительных энергетических затрат на нагрев воды и получение концентрата.

3. Время процесса экстракции определяется диффузией раствора АГ под действием ультразвука; за счет кавитационного эффекта ультразвука из технологической щепы лиственницы можно извлекать АГ за 30–40 мин, в то время как в прототипах для извлечения его из щепы требуется гораздо больше времени (от 4 ч до нескольких суток, при нагревании).

4. Благодаря использованию экстракции без дополнительного нагрева и получения растворов арабиногалактана с фазовым разделением, продукт содержит значительно меньше примесей (флавоноидов, лигнина, смолистых веществ), что значительно упрощает его очистку.

5. Осуществление замкнутого цикла позволит снизить расход растворителя и воды, а также значительно сократить объемы сточных вод.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Пат. 2256668 РФ, 2005.
- 2 Новицкий Б. Г. Применение акустических колебаний в химико-технологических процессах. М.: Химия, 1983. 192 с.
- 3 Гершал Д. А., Фридман В. М. Ультразвуковая аппаратура. М.: Энергия, 1967. 300 с.
- 4 Физика и техника мощного ультразвука. Том II. Мощные ультразвуковые поля / под ред. Л. Д. Розенберга. М.: Наука, 1968. 269 с.

