УДК 54.052

Ю.А. Москвин, Д.Ю. Корулькин, Н.А. Верещагин
Казахский Национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова
факультет химии и химической технологии

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ИЗВЛЕЧЕНИЯ ЛИГНАН-СОДЕРЖАЩЕЙ ФРАКЦИИ СЕМЯН ЛЬНА L. USITATISSIMUM.

В статье представлены результаты исследований по оптимизации метода селективного выделения фитопрепарата из семян льна посевного (лат. Linum usitatissimum*), который является широко распространенным культивируемым сельскохозяйственным растением, в том числе произрастающим на территории Казахстана, и являющийся перспективным сырьем для выделения биологически активных растительных лигнанов. Приведено описание разработанного метода выделения лигнан-содержащего фитокомплекса на основе секоизоларицирезинол диклюкозида, включая выбор наилучшего экстрагента, времени, температуры, pH и режима экстракции для наибольшего выхода целевого вещества.*
Ключевые слова: *Лигананы, соевые бобы, семена льна, выделение, УФ-детектирование*

Введение.
Различные свойства полифенолов упоминаются во многих работах. Таким образом описана возможность применения гормональных лигнанов в ситуациях, связанных с гормональными сбоями организма человека [1], такими как менопаузальные расстройства [2], климактерический синдром [3, 4], гиперчувствительность к эстрогенам. Различные возможности применения природных гормонов подчеркивают возможности исследования по изучению их биологической активности в различных направлениях и ответной реакции организма на данные вещества [5].
Таким образом качество извлечения и количество извлекаемых лигнанов является ключевым фактором в развитии исследований активности лигнан. Целью данной работы является изучение влияния параметров экстракции и определение оптимальных параметров.
Материалы и методы.
За объект исследования были взяты семена льна посевного как сырье содержащее фракцию лигнанов. В качестве экстрагентов были опробованы вода и этиловый спирт различной концентрации[6].
Методы извлечения представляли собой различные вариации методик, предложенные отечественными и зарубежными авторами, такие как настаивание, температурная экстракция, температурная экстракция с параллельным гидролизом.
Метод (1) настаивания был предложен авторами [7], который включал в себя предварительное измельчение семян, обезжиривание сырья гексаном (1:6) в течении 12 часов при комнатной температуре. Далее обезжиренные семена льна (ОСЛ) просушивались, настаивались в смеси этанол-вода в течении 28 часов при температуре 40^0C. Экстракт фильтровался от взвеси и обрабатывался щелочью в течении 12 часов при комнатной температуре. Полученный экстракт центрифугировался при 3000 rpm для осаждения белков и полисахаридов. Очищенный раствор упаривался на роторном испарителе, концентрат упаривался до сухого остатка.
Метод (2) включал в себя методику подготовки ОСЛ по методу 1, экстракцию 50%-ным этанолом в течении 2-х часов. Далее экстракт отделялся от жмыха методом фильтрации через марлю, и подвергался щелочному гидролизу посредством 0,2M NaOH при температуре 78^0C в течении 2-х часов. Полученный экстракт пропускался через слой марли, нейтрализовался раствором 0,01H HCl до pH=6-7. Полученный раствор охлаждался до 15-18^0C и подвергался центрифугированию при 3000 rpm. Очищенный экстракт осушался.
Метод (3) включал в себя обезжиривание измельченных семян гексаном при 50^0C в течении 2-х часов. Далее гексан удалялся, сырье высушивалось и проводилась экстракция 50% этанолом одновременно с щелочным гидролизом (NaOH) при pH=10 при 80^0C в течении 2-х часов [8]. Полученный экстракт проходил фильтрацию через марлю, затем нейтрализацию, очистку и осушение аналогично методике 2.
Метод (4) включал подготовку сырья аналогично методу 3. Обезжиренные семена подвергались экстракции 50% этанолом, подкисленным до pH=3 (0,2M H_2SO_4), при 80^0C в течении 2-х часов. Полученный экстракт отделялся от жмыха методом фильтрации через марлю, подщелачивался до pH=10 и подвергался гидролизу в течение 2 часов при 80^0C. Нейтрализация, очистка и осушение проводились аналогично методике 2.
Методика (5) включала в себя предварительную обработку измельченных семян льна микроволновым излучением при мощности 800W в течение 10 с. Обработанное сырье далее экстрагировалось по методике 4.
По совокупности методов были замерены выходы сухой фракции в зависимости от времени экстракции (50% этанол, pH= 9, сырье/растворитель 1 к 8, температура 80), от pH среды (время = 150 мин., 50% этанол, сырье/растворитель 1 к 8, температура 80^0C), от соотношения сырье-растворитель (время = 150 мин., 50% этанол, температура 80^0C, pH= 9), от концентрации спирта этилового (время = 150 мин., сырье/растворитель 1 к 8, температура 80^0C, pH= 9), от температуры экстракции (время = 150 мин., сырье/растворитель 1 к 8, время = 150 мин., pH= 9).
Результаты и обсуждение.
Фракция полифенолов, содержащих секоизоларицирезинола диклюкозид [9] представляет собой полимерную цепочку (которая разрушается на мономеры при щелочном гидролизе), связанную полисахаридным комплексом. Данный комплекс позволяет веществу растворяться в воде, меньше в слабополярных и неполярных растворителях. Фракция слизей, составляющая до 9% от массы навески, затрудняет процессы разделения, фильтрации и идентификации полифенольной фракции, таким образом возникает необходимость в повышении содержания спирта в воде, для удаления слизей из раствора.

Необходимость получения ОСЛ обусловлена миграцией липидного слоя в водно-спиртовой экстракт. При гидролизе и осушении экстракта, загрязненного липидамми, образуется буро-желтая густая маслянистая субстанция, растворимая в воде и ограниченно растворимая в 95% этаноле.

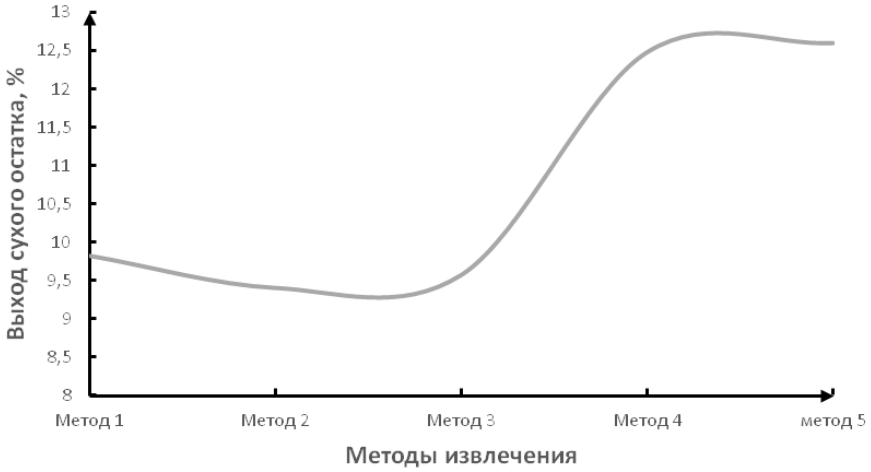

Рисунок 1 - График зависимости выхода фракций полифенолов от метода извлечения

Как видно из рисунка 1, наибольший выход экстракции по сухому остатку достигается в методах 4 и 5. Данные методы основываются на использовании кислотного гидролиза серной кислотой, тогда как остальные методы включали в себя только стадии щелочного гидролиза. Проводя сравнительный анализ схожих методов 1, 2 и 3 можно сделать вывод, что снижение концентрации спирта с 70% (метод 1) до 50% (метод 2 и 3) не создает значимой разницы в выходе фракции.

Таблица 1 - Зависимость выхода фракции сухих веществ из семян льна посевного от времени и кислотности среды

Время, мин.	Выход фракции, %	pH среды	Выход фракции, %	Соотношение сырье/экстрагент	Выход фракции, %
30	2,12	2	12,5	1 : 2	11,5
60	5,56	3	12,4	1 : 4	10,1
90	8,51	4	8,45	1 : 6	9,8
120	9,82	5	4,8	1 : 8	7,33
150	9,78	6	4,45	1 : 10	5,85
180	9,84	7	4,5	1 : 25	2,38
210	10,05	8	5,74	1 : 50	1,176
240	10,1	9	7,91	1 : 100	0,563
270	10,12	10	9,6		
300	10,11	11	9,81		

Таблица 2 - Зависимость выхода фракции сухих веществ из семян льна посевного от соотношения сырье-растворитель и концентрации этилового спирта

Концентрация спирта	выход фракции, %	Температура, град Цельсия	выход фракции, %
20	4,95	20	0,22
30	4,83	30	1,13
40	8,51	40	2,76
50	9,23	50	5,44
60	9,78	60	7,87
70	9,84	70	8,65
80	8,72	80	9,54
90	7,74		

Из приведенных таблиц (1-2) видно, что получение оптимального выхода фракции напрямую зависит от параметров экстракции.

Таким образом, анализ полученных результатов показал, что наиболее оптимальными условиями для извлечения лигнан-содержащей фракции являются:

- концентрация спирта: 50-60%,
- время экстракции: 1,5-2,5 часов,
- температура: 60-82^{0}С,
- введение 2-х этапов гидролиза: кислотного (H_2SO_4, pH=3-4 во время экстракции) и щелочного (NaOH, pH=10 последующая экстракция).

Заключение.

Была проведена работа по изучению влияния условий экстракции на выход фракции полифенолов из семян льна для последующего использования в фармпромышленности. Установлено, что оптимизация условий процесса экстракции по 4 параметрам (температура, время, pH и природа растворителя) может повысить практический выход фракции полифенолов в 1,33 раза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Радзинский В.Е., Костромина А.А. Сравнение эффективности гормональных и негормональных методов лечения ранних проявлений климактерического синдрома // Мать и дитя в Кузбассе. – 2017. – №2(69). – С. 13-16.
2 Кузнецова И.В., Войченко Н.А., Акарачкова Е.С., Мычка В.Б., Кириллова М.Ю. Фитоэстрогены в лечении и профилактике менопаузальных расстройств // Медицинский совет. – 2010. – №54. – С. 42-43.
3 Каримсакова Б.К., Салимова К.В. Фитоэстрогены в лечении климактерического синдрома // Медицинский журнал Западного Казахстана. – 2011. – №1(29). – С. 66-67.
4 BulajicE. Fitoestrogen sandbreast tightness in menopause women on hrt // Maturitas. – 2009. – V. 63. – P. 72-74.
5 Ботоева Е.А. К вопросу о фитоэстрогенах (обзор литературы) // ActaBiomedicaScientifica. – 2010. – № 4. – С. 234-238.
6 Феськова Е.В., Леонтьев В.Н., Жарский И.М. Комплексная переработка семян льна масличного // Труды БГТУ. – 2009. – №2. – С. 207-210.
7 Стасевич О.В. Михаленок С.Г. Экстракционные способы выделения лигнансодержащих композиций из семян льна масличного // Труды БГТУ. – 2008. – №2. – С. 48-51.
8 Zhen-Shan Zhang, Dong Li, Li-Jun Wang, Necati Ozkan, Xiao Dong Chen, Zhi-Huai Mao, Hong-Zhi Yang Optimization of ethanol-water extraction of lignans from flaxseed // Separation and Purification Technology. – 2007. – №57. – P. 17-24.
9 Зотов А.С., Поступаленко А.В., Верещако Р.И. Фитоэстрогены: молекулярные механизмы действия в онкологическом контексте // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія.– 2015. – №3 (51). – С. 7-16.
10 Супрунова И.А., Чижикова О.Г., Самченко О.Н. Мука льняная – перспективный источник пищевых волокон для разработки функционалных продуктов // Техника и технология пищевых производств. – 2010. – №4. – С. 1-4.

Ю.А. Москвин, Д.Ю. Корулькин, Н.А. Верещагин
С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық медицина университеті
Химия және химиялық технология факультеті

L.USITATISSIMUM ЗЫҒЫР ТҰҚЫМЫНЫҢ ҚҰРАМЫНДА ЛИГАН БАР ФРАКЦИЯСЫН АЛУ ӘДІСІН ОҢТАЙЛАНДЫРУ

Түйін: Мақалада зығыр тұқымынан (лат. (Linum usitatissimum L.), ол кең таралған, оның ішінде Қазақстан аумағында өсетін ауыл шаруашылығы өсімдіктері болып табылады және биологиялық белсенді өсімдік лигнандарын бөлу үшін перспективалы шикізат болып табылады. Ең жақсы экстрагентті, уақытты, температураны, pH және мақсатты заттың ең көп шығуы үшін экстракция режимін таңдауды қоса алғанда, секоизоларицирезинол диклюкозид негізінде құрамында лигнанс бар фитокешені бөлудің әзірленген әдісінің сипаттамасы келтірілген.

Түйінді сөздер: Лиганды, соя бұршақтары, зығыр тұқымдары, бөлу, УК детекторы.

Yu.A. Moscow, D.Yu. Korulkin, N.A. Vereshchagin
Asfendiyarov Kazakh National medical university
Department of Chemistry and Chemical Technology

OPTIMIZATION OF THE METHOD FOR EXTRACTING LIGNAN-CONTAINING FRACTION OF FLAX SEEDS L. USITATISSIMUM

Resume: The article presents the results of studies on optimizing the method of selective isolation of a phytopreparation from seeds of flax (Lat. Linum usitatissimum), which is a widespread cultivated agricultural plant, including those growing in Kazakhstan, and which is a promising raw material for the isolation of biologically active plant lignans . The developed method is described for the isolation of a lignan-containing phytocomplex based on secoisolaricresinol diclucoside, including the choice of the best extractant, time, temperature, pH, and extraction mode for the highest yield of the target substance.

Keywords: Liganans, soybeans, flax seeds, isolation, UV detection.