

УДК 661.123

АНАЛИЗ ЭКСТРАКТОВ ШАЛФЕЯ, ПОЛУЧЕННЫХ СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ УГЛЕКИСЛОТНОЙ ЭКСТРАКЦИЕЙ

© А.М. Алиев^{1,2*}, И.Н. Зилфикаров³, Г.В. Степанов¹, З.А. Гусейнова²

¹Институт физики Дагестанского научного центра РАН, ул. М. Ярагского, 94, Махачкала, 367003 (Россия) E-mail: aslan4848@yahoo.com

²Горный ботанический сад ДНЦ РАН, ул. Гаджиева, 45, Махачкала, 367025 (Россия)

³Пятигорская государственная фармацевтическая академия, пр. Калинина, 11, Пятигорск, 357533 (Россия)

В работе приведены результаты хроматографического анализа экстрактов шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.), полученных сверхкритической углекислотной экстракцией при давлениях 10, 20 и 30 МПа и постоянной температуре 31,5 °С. Показан состав и соотношение основных соединений в экстрактах, определена динамика извлечения различных классов соединений из высушенных листьев шалфея лекарственного. В оптической ячейке показано влияние давления на фазовое перераспределение экстракта.

Введение

Для современного производства растительных лекарственных средств и биологически активных добавок характерен высокий темп научно-технического прогресса, основными направлениями которого являются создание малоотходных технологий, комплексное использование ценного природного сырья, расширение ассортимента целевых продуктов, получаемых из одного растения. Большой интерес для исследований представляют некоторые способы промышленной переработки растительного сырья, активно применяемые в пищевой отрасли. К их числу относится экстракция сжиженными газами, в частности, наиболее изученная технология CO₂-экстракции. Способ сверхкритической экстракции растительного сырья открывает новые возможности для более широкого применения углекислотных экстрактов в пищевой, медицинской и косметической промышленности [1].

К числу особенностей экстракции сверхкритическими флюидами относится возможность широкого варьирования термодинамическими и технологическими параметрами, что позволяет получать из одного сырья различные по составу и свойствам продукты.

В настоящей работе приведены результаты исследований сверхкритических углекислотных экстрактов шалфея лекарственного, выращенного в культуре на Гунибском плато Республики Дагестан на высоте 1750 м над уровнем моря. Экстракты были получены на экспериментальной установке, позволяющей проводить комплексные исследования процессов экстракции растительного сырья как в статическом, так и в динамическом режиме [2].

Известны работы [3–8] по изучению экстрактов шалфея лекарственного, полученных различными растворителями, в том числе сверхкритическим диоксидом углерода. В настоящей работе мы исследовали изменение соотношения различных веществ в экстрактах шалфея, полученных при разных термодинамических параметрах. Решение этих задач позволит максимально эффективно использовать биологический потенциал растения.

* Автор, с которым следует вести переписку.

Материалы и методы

Шалфей был собран во второй декаде июня и высушен в тени в проветриваемом помещении при температуре 35–38 °С. Перед экстракцией шалфеем измельчали до размеров 0,3–0,5 мм.

Экстракцию проводили на экспериментальной установке, которая состоит из экстрактора емкостью один литр, куда загружается измельченный шалфей. Далее в экстрактор подается диоксид углерода при необходимых сверхкритических параметрах и настаивается в течение 20 мин, после чего диоксид углерода с растворенным экстрактом выводится в сепаратор, где поддерживаются температура 25 °С и давление 0,5 МПа, при которых диоксид углерода переходит в газообразное состояние, а экстракт осаждается в сепараторе.

Для определения динамики экстрагирования различных классов соединений были отобраны три сверхкритических CO₂-экстракта шалфея лекарственного, полученных в изотермическом режиме (t = 31,5 °С) при давлениях 10, 20 и 30 МПа. Они различались по массе, внешнему виду, плотности и консистенции. Экстракт, полученный при давлении 10 МПа, представляет собой подвижную прозрачную жидкость желто-коричневого цвета с выраженным запахом шалфейного эфирного масла. При давлении 20 МПа был получен экстракт, состоящий из двух фаз – воды (примерно 0,5 мл), содержащейся в остаточном количестве в образце сырья, и густой малоподвижной массы коричневого цвета с запахом шалфейного масла. Экстракт, полученный при давлении 30 МПа, представлял собой густую мазеобразную массу темно-коричневого цвета со слабым шалфейным запахом.

Химический анализ полученных фракций проводился методом газовой хроматографии с масс-спектральной и УФ-детекцией на приборе Saturn 2000 (Varian) на колонке Stabilwax длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм и толщиной неподвижной фазы 0,5 микрон.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 приведены результаты химических анализов экстрактов шалфея лекарственного, выделенных при разных термодинамических параметрах. На рисунке 1 показана динамика экстрагирования различных классов соединений из листьев шалфея лекарственного сверхкритическим CO₂ при давлениях 10, 20 и 30 МПа.

На рисунке 2 изображена изотерма выхода экстрактивных веществ из шалфея лекарственного. Для каждой точки эксперимента брали новую порцию сырья. Из первой загрузки сырья получали экстракт при 5 МПа, определяли выход экстрактивных веществ; из второй порции сырья проводили экстракцию уже при 10 МПа, определяли выход и т.д. Для всех экспериментов температура была постоянной и равной 31,5 °С.

В многокомпонентных системах, которыми являются экстракты из растительного сырья, с приближением термодинамических параметров растворителя к критической точке начинается предкритическое межфазное перераспределение веществ, при котором возможно выделение чистых соединений. В предкритической области многокомпонентные системы можно разделить на составляющие компоненты простым изменением давления и температуры. Предкритические межфазные перераспределения веществ экстракта шалфея лекарственного при разных давлениях показаны на рисунке 3. Для этого предварительно полученный экстракт загружали в оптическую ячейку высокого давления [9], где поддерживалась такая же температура, при которой был получен экстракт, но меняли давление. Распределение по фракциям в ячейке происходит по молекулярной массе так, что высокомолекулярные соединения (углеводы, производные высших жирных кислот, смолы и др.) образуют темноокрашенную область в нижней части трубки, а компоненты эфирного масла, доминирующего в составе CO₂-экстракта, распределены в средней части.

На рисунке 3(а) показано начало разделения экстракта на фракции при давлении 5,5 МПа (I – экстракт, II – газ CO₂).

Таблица 1. Химический состав сверхкритических CO₂-экстрактов шалфея лекарственного по фракциям, полученных при t = 31,5 °C: а – 10 МПа; б – 20 МПа; с – 30 МПа

Соединение	Содержание, %		
	а	б	с
1	2	3	4
Манол	17,726	22,256	20,734
α-Туйон	17,615	9,857	7,443
Камфора	9,099	6,520	5,418
1-Циклопропилазулен-4-ол	6,145	7,365	6,314
Азулен	5,936	4,865	4,186
Кариофиллен	4,722	3,842	3,322
1,8-Цинеол (Эвкалиптол)	4,334	3,282	2,243
β-Туйон	3,834	2,667	2,001
Борнеол	2,569	2,307	1,963
А-Пинен	1,804	0,978	1,117
Октадекатриеновая кислота	1,560	2,110	3,117
Н-Гексадекановая кислота	1,322	2,077	3,704
Борнилацетат	1,238	0,851	0,808
Камфен	1,209	0,364	0,106
12-Оксибицикло[9.1.0]додека-3,7-диен	0,910	0,754	0,737
Глауциловый спирт	0,665	1,118	1,007
Октадеценовая кислота	0,638	1,209	1,572
Лимонен	0,642	0,297	0,132
β- Пинен	0,602	0,190	0,072
Тотарол	0,546	1,171	1,438
Кариофиллен-оксид	0,544	0,501	0,466
9(1Н)-Фенантрон	0,539	0,661	1,018
Декагидро-1,1,4а-триметилнафтален	0,476	0,427	0,347
Октадекадиеновая кислота	0,438	0,659	1,406
6,6-Диметил-бицикло[3.1.1]гептан	0,401	0,109	0,029
п-Цимол	0,390	0,237	0,234
Аромандрен-оксид	0,324	0,306	0,332
Линалоол	0,306	0,210	0,163
Цис-α-санталол	0,296	0,134	0,054
Миртенол	0,263	0,200	0,126
Фитол	0,255	0,267	0,444
Этиловый эфир гексадекановой кислоты	0,244	0,194	0,141
Нимбиол	0,212	0,360	0,570
Аромадендрен	0,184	0,144	0,141
Ацетофенон	0,167	0,114	0,104
1,2,2,3-Тетраметилциклопентен-3-енол	0,160	0,132	0,102
Изотуйол	0,140	0,117	0,091
Этиловый эфир 9,12,15-октадекатриеновой кислоты	0,138	0,104	0,120
α-Терпинен	0,135	0,054	0,036
γ-Терпинен	0,134	0,061	0,066
Терпинолен	0,127	0,077	0,077
Пинанон-3	0,119	0,083	0,116
Тимол	0,105	0,100	0,101
Бензиловый спирт	0,091	0,152	0,349
Нафталин	0,091	0,127	0,293
1,2,3,5,6,8а-гексагидронафталин	0,086	0,050	0,026
Гексадека-2,6,10,14-тетраен-1-ол	0,084	0,163	0,173
Спатуленол	0,074	0,102	0,114
Этиловый эфир линолевой кислоты	0,057	0,025	0,032
α-Терпинеол	0,056	0,047	0,036
Аллоаромандендрен-оксид	0,056	0,032	0,018
Тетрацикло[6.3.2.0(2,5).0(1,8)]тридекан	0,054	0,051	0,054
3-Карен	0,048	0,080	0,086
Карвон	0,047	0,035	0,046

Окончание таблицы 1

	1	2	3	4
Этиловый эфир олеиновой кислоты		0,047	0,033	0,081
Метилэвгенол		0,042	0,033	0,011
5-Метил-2-(1-метилэтил)-циклогексанол		0,029	0,027	0,048
d-Пинандиол		0,021	0,006	0
Каламенен		0,017	0,008	0,012
Насыщенные углеводороды (парафины)		8,042	17,838	22,043
Не идентифицированные соединения		1,806	1,858	1,589

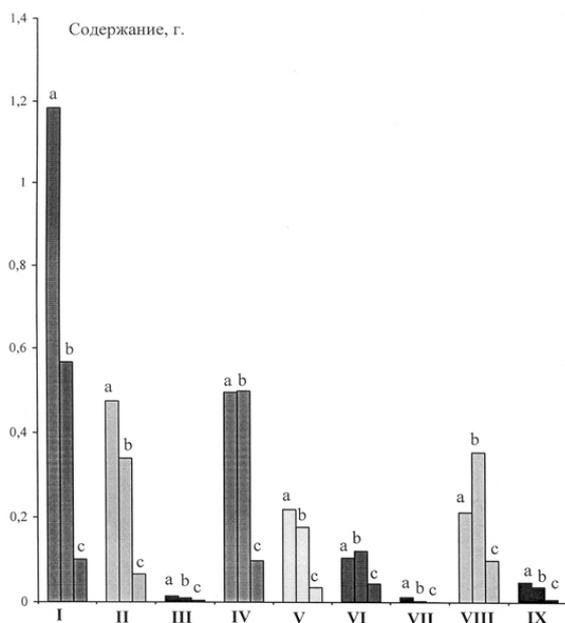


Рис. 1. Динамика экстрагирования различных классов соединений из листьев шалфея лекарственного сверхкритическим флюидом (оксид углерода (IV)) при давлении 10 (a), 20 (b) и 30 (c) МПа. I – монотерпены, II – сесквитерпены, III – ароматические соединения, IV – спирты, V – сложные эфиры, VI – высшие органические кислоты, VII – циклические углеводороды, VIII – ациклические насыщенные углеводороды, IX – не идентифицированные соединения

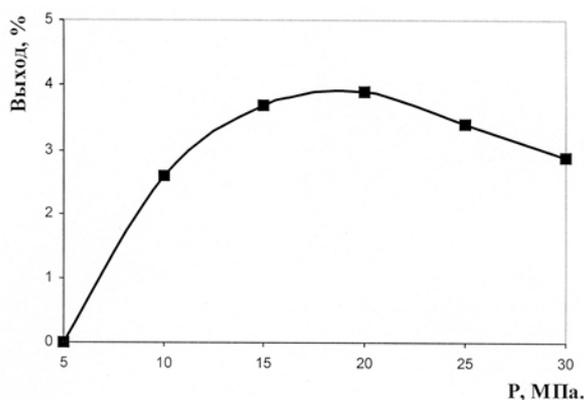


Рис. 2. Изотерма выхода экстрактивных веществ из шалфея лекарственного ($t=31,5\text{ }^{\circ}\text{C}$)

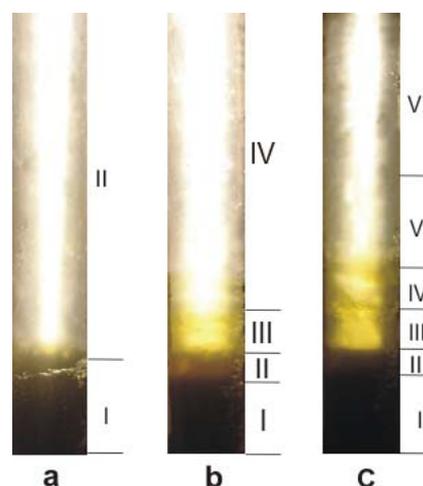


Рис. 3. Разделение экстракта шалфея лекарственного на фракции от изменения давления при постоянной температуре $31,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. a – 5,5 МПа; b – 6,5 МПа; c – 13 МПа

С повышением давления в ячейке начинается взаимное растворение CO_2 и экстракта, появляются новые фракции, которые занимают все больший объем трубки. Различные компоненты экстракта, растворяясь в CO_2 расслаиваются в зависимости от их молекулярной массы. Более тяжелые фракции оказываются в нижней части ячейки.

Каждая фракция отличается одна от другой оттенком цвета от темно-коричневого до желтого. При давлении 6,5 МПа экстракт расслаивается на 3 фракции (рис. 3б). С последующим повышением давления продолжается образование новых фракций. При давлении 13 МПа экстракт расслаивается на 6 фракций (рис. 3с).

Фракционирование сложных смесей соединений, какими являются растительные экстракты, на практике достигается несколькими способами. Один из них реализован в ряде лабораторных установок, и заключается в последовательном выводе из рабочей камеры фракций от самой легкой до максимально тяжелой, что наилучшим образом подходит для выделения в чистом виде индивидуальных фото- и термолabile соединений. Другой способ заключается в последовательной обработке образца растительного сырья одним экстрагентом в нескольких технологических режимах. При этом образуются различные по физико-технологическим свойствам продукты (по внешнему виду, плотности и др.). Если первый способ выделения более технологичен, то второй значительно доступнее и находит наибольшее практическое применение, так как для большинства растительных экстрактов допускается в составе какое-то количество близких по структуре сопутствующих веществ. Еще больший интерес представляют возможности сочетания различных методов экстрагирования и фракционирования.

Выводы

Полученные в работе данные показывают заметное изменение соотношения биологически активных компонентов шалфейного эфирного масла и индифферентных углеводов в зависимости от стадии и параметров процесса экстрагирования. Исходя из суммарного выхода каждой фракции можно заключить, что для получения целевого биологически активного экстракта шалфея методом сверхкритической флюидной экстракции достаточно изначально до полного истощения сырья применить условия второй стадии экстрагирования ($P=20$ МПа).

Визуальные исследования процесса растворения биологически активных веществ в CO_2 могут быть использованы в разработке технологий фракционирования.

Проводимые нами визуальные исследования процесса экстракции сверхкритическим диоксидом углерода показывают изменение критических параметров CO_2 в процессе экстракции, в связи с чем часто наступает высокий выход экстракта (высокая растворимость флюидов) при параметрах диоксида углерода намного выше критических, что подтверждает и приведенная в работе изотерма.

Список литературы

1. Ветров П.П. Экстрагирование природных веществ из растительного сырья сжиженными газами // Технология и стандартизация лекарств: сб. научных трудов ГНЦЛС. Харьков, 1996. С. 220–232.
2. Джаруллаев Д.С., Алиев А.М., Расулов Э.М., Гасанов Р.З. Экспериментальная установка сверхкритической CO_2 -экстракции // Пищевая промышленность. 2007. №9.
3. Reverchon R. Taddeo and G. Delta Porta Extraction of sage oil by supercritical CO_2 : Influence of some process parameters // The Journal of Supercritical Fluids. 1995. V. 8. №4. P. 302–309.
4. Menaker A., Kravets M., Koel M., Orav A. Identification and characterization of supercritical fluid extracts from herbs // Comptes Rendus Chimie. 2004. V. 7. №6-7. P. 629–633.
5. Weckesse S., Engel K., Simon-Haarhaus B., Wittmer A., Pelz K. Schempp C.M. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance // Phytomedicine. 2007. V. 14. №7-8. P. 508–516.
6. Aleksovski S.A., Sovová H. Supercritical CO_2 extraction of *Salvia officinalis* L. // The Journal of Supercritical Fluids. 2007. V. 40. №2. P. 239–245.
7. Зильфикаров И.Н., Челомбитко В.А., Алиев А.М. Обработка лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами. Пятигорск, 2007. 244 с.
8. Касьянов Г.И. Технологические основы CO_2 -обработки растительного сырья. М., 1994. 134 с.
9. Aliiev A.M., Stepanov G.V. The visual investigation of solubility of biological active substances // 9th Meeting on Supercritical Fluids. Trieste, Italy, 2004, June, 13–16.

Поступило в редакцию 10 июня 2008 г.

После переработки 1 октября 2008 г.