



Дальневосточный медицинский журнал. 2022. № 1
Far Eastern Medical Journal. 2022. № 1

Научная статья

УДК 615.322

<http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2022-1-6>

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ФЛАВОНОИДОВ В ПЛОДАХ И ПОБЕГАХ ШИКШИ ЧЕРНОЙ

Светлана Григорьевна Пономарчук^{1✉}, Анастасия Александровна Саликова²,
Наталья Васильевна Плаксен³, Любовь Викторовна Устинова⁴, Сергей Викторович Степанов⁵

¹⁻⁵Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

¹ponomarchuk.60@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1060-249X>

²<https://orcid.org/0000-0001-7732-4853>

³<https://orcid.org/0000-0002-6885-004X>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-0977-7353>

⁵<https://orcid.org/0000-0003-0664-4272>

Аннотация. Подбор оптимальных параметров экстрагирования позволяет максимально извлечь биологически активные вещества из сырья и проводить дальнейшее исследование по разработке промышленных методов экстракции. Экспериментально подобраны условия экстракции с наибольшим выходом флавоноидов из плодов шикши черной: экстрагент – спирт 95 %, размер частиц 0,5 мм, соотношение сырья и экстрагента 1:100, время экстракции 45 минут, соотношение извлечения и комплексообразователя 1:2, концентрация комплексообразователя 2 %; из побегов шикши черной: экстрагент – спирт 95 %, размер частиц 1,0 мм, соотношение сырья и экстрагента 1:100, время экстракции 30 минут, соотношение извлечения и комплексообразователя 1:2,5, концентрация комплексообразователя 5 %. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в плодах шикши черной составило 0,77±0,02 %, в побегах шикши черной – 4,23±0,07 %.

Ключевые слова: шикша черная, *Empetrum nigrum*, побеги, плоды, флавоноиды, рутин

Для цитирования: Выбор оптимальных параметров экстрагирования при определении флавоноидов в плодах и побегах шикши черной / С.Г. Пономарчук, А.А. Саликова, Н.В. Плаксен и др. // Дальневосточный медицинский журнал. – 2022. – № 1. – С. 33-37. <https://doi.org/10.35177/1994-5191-2022-1-6>.

SELECTION OF OPTIMAL EXTRACTION PARAMETERS FOR DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN FRUITS AND CORMUS EMPETRUM NIGRUM

Svetlana G. Ponomarchuk^{1✉}, Anastasiya A. Salikova², Natalya V. Plaksen³, Lubov V. Ustinova⁴,
Sergey V. Stepanov⁵

¹⁻⁵Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

¹ponomarchuk.60@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1060-249X>

²<https://orcid.org/0000-0001-7732-4853>

³<https://orcid.org/0000-0002-6885-004X>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-0977-7353>

⁵<https://orcid.org/0000-0003-0664-4272>

Abstract. The selection of the optimal extraction parameters allows the maximum extraction of biologically active substances from raw materials and further research for the development of industrial extraction methods. The conditions of extraction with the highest yield of flavonoids from *Empetrum nigrum* fruits were experimentally selected: extractant – alcohol 95 %, particle size 0,5 mm, ratio of raw materials and extractant 1: 100, extraction time 45 minutes, ratio of extraction and complexing agent 1:2, concentration of complexing agent 2 %; from shoots of *Empetrum nigrum*: extractant – alcohol 95 %, particle size 1,0 mm, ratio of raw materials and extractant 1:100, extraction time 30 minutes, ratio of extraction and complexing agent 1:2,5, concentration of complexing agent 5 %. The content of the sum of flavonoids in terms of rutin in the fruits of the *Empetrum nigrum* was 0,77±0,02 %, in the shoots of the *Empetrum nigrum* – 4,23±0,07 %.

Keywords: *Empetrum nigrum*, cormus, fruit, flavonoids, rutin

For citation: Selection of optimal extraction parameters for determination of flavonoids in fruits and cormus *empetrum nigrum* / S.G. Ponomarchuk, A.A. Salikova, N.V. Plaksen [et al.] // Far Eastern medical journal. – 2022. – № 1. – С. 33-37. <https://doi.org/10.35177/1994-5191-2022-1-6>.

Понятие доброкачественности растительного сырья включает в себя характеристику объекта по содержанию основных групп действующих веществ. Подбор оптимальных параметров экстрагирования позволяет максимально извлечь биологически активные вещества из сырья и в сочетании с современными методами количественного определения стандартизировать его, а также проводить дальнейшее исследование по разработке промышленных методов экстракции.

Шикша черная, водяника или вероника черная в народной медицине используется как успокоительное, церебро- и гепатопротекторное средство [2]. В экспериментах установлена антигипоксическая и противодиабетическая активность шикши черной и её гепатопротекторное действие [1, 2, 3, 6].

Материалы и методы

В данном исследовании изучалось сырье шикши черной, собранное в 2020 году в Камчатском крае. Плоды были собраны в фазу плодоношения, надземная часть – в период цветения растения. Плоды и побеги шикши черной подвергали искусственной сушке в специальных сушилках: плоды при температуре 50-60 °С при регулярном перемешивании, побеги – при температуре 40 °С.

Извлечения из сырья шикши черной получали методом однократной экстракции при нагрева-

Сырье шикши черной содержит тритерпеновые сапонины (урсоловая кислота), кумарины, воск, углеводы, эфирные масла, дубильные вещества, флавоноиды, алкалоиды, фенолкарбоновые кислоты [5, 7].

В различных источниках указывается наличие в шикше черной следующих фенольных соединений: рутин, кверцетин, катехин, мирицетин, феруловая, галловая кислоты и др. [9, 10]. Сведений о количественном содержании суммы флавоноидов в плодах и в побегах шикши черной в доступной литературе нами не обнаружено.

Цель работы – выбор оптимальных параметров экстрагирования при определении суммы флавоноидов в плодах и побегах шикши черной.

нии с обратным холодильником. Дифференциальная спектрофотометрия была выбрана в качестве метода определения содержания суммы флавоноидов в объектах исследования [3].

В качестве стандартного образца использовался рутин, так как максимум спектра поглощения комплекса флавоноидов исследуемого сырья с $AlCl_3$ имеет близкое значение с максимумом спектра поглощения комплекса рутина с $AlCl_3$ (410±2 нм) (рисунок).

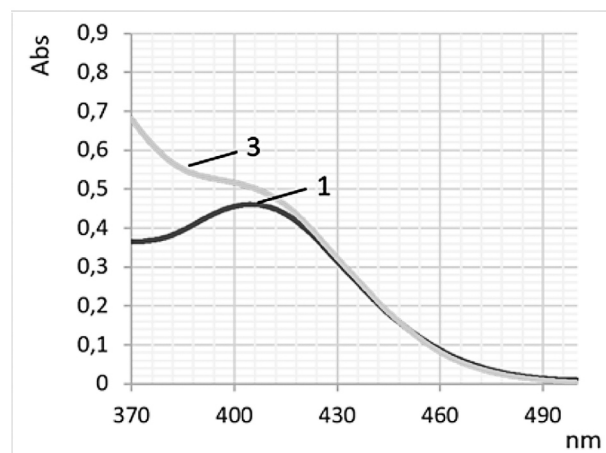
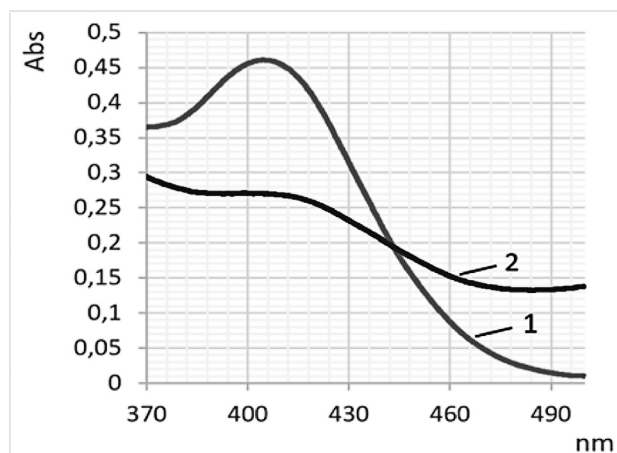


Рис. Дифференциальные спектры: 1 – стандартного образца рутина с $AlCl_3$; 2 – извлечения из плодов шикши черной с $AlCl_3$; 3 – извлечения из побегов шикши черной с $AlCl_3$

Для определения оптимальных параметров экстрагирования флавоноидов из сырья подбирались условия: концентрация спирта, соотношение сырья и экстрагента, продолжительность экстрагирования, размер частиц исследуемого сырья, влияние количества комплексообразователя на концентрацию флавоноидов.

Результаты экспериментов статистически обработаны согласно требованиям ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» ГФ XIV издания [4]. Произведен расчет критерия Стьюдента (t), средних арифметических и доверительного интервала ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$), стандартного отклонения (s) и относительной ошибки методов количественного определения (ϵ) [4].



Результаты и обсуждение

В ходе изучения влияния концентрации спирта на полноту экстрагирования активных веществ были выбраны экстрагенты следующей концентрации: 40 %, 70 % и 95 %.

Полученные результаты (табл. 1) показывают целесообразность использования спирта этилового 95 %, так как данный экстрагент дает более высокий выход суммы флавоноидов из сырья.

Таблица 1 – Влияние экстрагента на выход суммы флавоноидов из сырья

Экстрагент	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %	
	плоды шикши черной	побеги шикши черной
Спирт 40 %	0,28±0,02	2,41±0,08
Спирт 70 %	0,42±0,01	2,33±0,01
Спирт 95 %	0,55±0,04	4,23±0,07

При исследовании оптимальной степени измельченности сырья были отобраны навески, соответствующие размерам частиц 0,5 мм, 1 мм, 2 мм. Сырье изучаемого растения измельчали и просеивали с применением сит. При этом в исходном материале сохранялась клеточная структура, способствующая диффузионным процессам.

Эксперимент показал, что для плодов оптимальным размером частиц для достижения наибольшего выхода суммы флавоноидов является 0,5 мм, для побегов – 1,0 мм (табл. 2).

Таблица 2 – Влияние степени измельченности сырья на выход суммы флавоноидов из сырья

Размер частиц сырья	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %	
	плоды шикши черной	побеги шикши черной
0,5 мм	0,55±0,05	3,8±0,18
1,0 мм	0,33±0,02	4,44±0,12
2,0 мм	0,38±0,02	3,11±0,14

Изучение продолжительности извлечения флавоноидов из плодов проводилось в течение 45, 60, 90 минут, из побегов – в течение 30, 60, 90 минут. Для плодов шикши черной оптимальным временем экстракции является 45 минут, для побегов шикши черной – 30 минут (табл. 3).

Таблица 3 – Влияние продолжительности экстракции на выход суммы флавоноидов из сырья

Время экстракции, мин.	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %	Время экстракции, мин.	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %
плоды шикши черной		побеги шикши черной	
45	0,72±0,04	30	4,23±0,07
60	0,38±0,07	60	3,61±0,02
90	0,35±0,02	90	3,46±0,04

Результаты по выбору соотношения сырья и экстрагента (спирт этиловый 95 %) для объектов исследо-

вания отражены в таблице 4. При этом, максимальный результат, как для плодов, так и для побегов, наблюдается при соотношении сырье/экстрагент 1:100.

Таблица 4 – Влияние соотношения сырья и экстрагента на выход флавоноидов

Соотношение сырья и экстрагента	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %	
	плоды шикши черной	побеги шикши черной
1:50	0,59±0,04	2,25±0,18
1:100	0,72±0,04	4,23±0,07
1:150	0,52±0,08	3,56±0,018

Исследовано влияние количества комплексообразователя на образование стабильного комплекса при определении суммы флавоноидов в плодах и побегах шикши черной, который образуется при добавлении в раствор Б 2 % и 5 % раствора алюминия хлорида 1 мл, 2 мл, 2,5 мл и 3 мл соответственно. Для плодов был получен стабильный комплекс с флавоноидами при добавлении к раствору Б – 2 мл 2 % алюминия хлорида. Для побегов стабильный комплекс с флавоноидами образуется при добавлении 2,5 мл 5 % раствора алюминия хлорида к раствору Б (табл. 5).

Таблица 5 – Влияние количества комплексообразователя на результат определения содержания суммы флавоноидов

Количество извлечения, мл	Количество 2 % $AlCl_3$, мл	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %	Количество извлечения, мл	Количество 5 % $AlCl_3$, мл	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %
плоды шикши черной			побеги шикши черной		
1	1	0,72±0,04	1	1	3,58±0,14
1	2	0,77±0,01	1	2	3,74±0,09
1	2,5	0,77±0,02	1	2,5	4,23±0,07
1	3	0,75±0,01	1	3	3,84±0,05

Плоды шикши черной представляют собой ягодообразную черную костянку, в которой находятся 6-9 косточек [6]. Для такого сырья оптимальным является размер частиц 0,5 мм, позволяющий основной массе косточек оставаться на сите, и таким образом получить максимальное извлечение. Наибольшее количество содержания суммы флавоноидов в плодах шикши черной достигается в течение 45 минут, соотношении сырья и экстрагента 1:100 и использовании при проведении анализа 2,5 мл 2 % раствора алюминия хлорида (для раствора Б).

Побеги шикши черной представляет собой веточки, покрытые корой, с листьями в виде хвоинок [6]. Для побегов шикши черной подобраны оптимальные условия экстракции: размер частиц, проходящих сквозь сито 1 мм, соотношение сырья и экстрагента 1:100, нагревание до 100 °C на водяной бане в течение 30 минут, использование при проведении анализа 2,5 мл 5 % раствора алюминия хлорида (для раствора Б).

Результаты определения суммы флавоноидов в плодах и побегах шикши черной и метрологическая характеристика определения представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Содержание суммы флавоноидов в плодах и побегах шикши черной

Исследуемый объект	n	f	$\bar{X}$, %	s	s ²	P, %	t (P, f)	$\Delta\bar{X}$	ε, %
Плоды шикши черной	7	6	0,77	0,03	0,001	95	2,45	0,02	2,59
Побеги шикши черной	7	6	4,23	0,08	0,0075	95	2,45	0,07	1,65

Экспериментально подобраны условия выхода суммы флавоноидов в пересчете на рутин из сырья шикши черной.

Установлены оптимальные параметры экстракции суммы флавоноидов в плодах шикши черной: экстрагент – спирт 95 %, размер частиц 0,5 мм, соотношение сырья и экстрагента 1:100, время экстрак-

ции 45 минут, при определении суммы флавоноидов соотношение извлечения и комплексообразователя составило 1:2, концентрация комплексообразователя 2 %.

Определены условия экстракции суммы флавоноидов в побегах шикши черной: экстрагент – спирт 95 %, размер частиц 1,0 мм, соотношение сырья и экстрагента 1:100, время экстракции 30 минут, при определении суммы флавоноидов соотношение извлечения и комплексообразователя 1:2,5, концентрация комплексообразователя 5 %.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в плодах шикши черной составляет $0,77 \pm 0,02$ %, в побегах – $4,23 \pm 0,07$ %, что позволяет определить доброкачественность сырья при приемке и совершенствовать технологию экстрагирования.

Подобранные оптимальные параметры экстрагирования суммы флавоноидов могут быть использованы в дальнейшем для разработки реперколяционных методов экстракции при изготовлении пищевых и лечебно-профилактических средств на основе сырья шикши черной.

Список источников

1. Андреева Н.В., Малогулова И.Ш. Виды шикши как перспективный источник БАВ в условиях Якутии // Современные наукоемкие технологии. – 2013. – № 9. – С. 51-52.
2. Арбузов В.П., Некрасова К.Л. Водяника (шикша) – ценное сырьё для производства пищевой продукции анти-стрессового действия // Региональный рынок потребительских товаров и продовольственная безопасность в условиях Сибири и Арктики. – 2019. – С. 185-189.
3. Барнаулов О.Д. Сравнительная оценка противодиабетической активности лекарственных растений порядка Вересковые // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2011. – Т. 9, № 2. – С. 68-74.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIV издание. Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmascorea.php> (дата обращения 10.09.2021).
5. Кострицын В.В., Лобанов А.А., Кочкин Р.А., Кобелькова И.В., Попов А.И., Андронов С.В., Лобанова Л.П. Экспериментальные исследования при создании функциональных продуктов питания на основе растительного сырья Ямало-Ненецкого округа // Научный вестник Ямало-Ненецкого автономного округа. – 2016. – № 4. – С. 144-149.
6. Никитин А.А. Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений. – М.: Наука, 1982. – 182 с.
7. Плассен Н.В., Устинова Л.В., Пономарчук С.Г., Логунова Л.Н., Ли О.Н., Мотлук Е.А. Биохимические маркеры влияния сока шикши черной (*Empetrum nigrum*) на течение аллоксанового диабета // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2021. – № 3 (85). – С. 59-62.
8. Уваров Д.М., Чирикова Н.К. Сравнительный анализ суммарного содержания фенольных соединений и органических кислот ягод Якутии // Электронная версия размещается на сайте www.rae.ru. – 2021. – № 6. – С. 17-23.
9. Jurikova T., Mlcek J., Skrovankova S., Balla S., Sochor Ji., Baron M. Sumczynski D. Evaluation of fruit anatomy, accumulation and detection of polyphenols in black crowberry (*Empetrum nigrum*) from nw Slovakia // Acta Biologica cracoviensia series Botanica. – 2019. – Т. 61, № 2. – С. 25-33.
10. Jurikova T., Mlcek J., Skrovankova S., Balla S., Sochor Ji., Baron M. Sumczynski D. Black crowberry (*Empetrum nigrum* L.) flavonoids and their health promoting activity // Molecules. – 2016. – Т. 21, № 12. – С. 1685-1696.

References

1. Andreeva N.V., Malogulova I.Sh. Crowberry species as a promising source of biologically active substances in conditions of Yakutia // Modern Science-intensive Technologies. – 2013. – № 9. – P. 51-52.
2. Arbuzov V.P., Nekrasova K.L. Crowberry (shiksha) – a valuable raw material for the production of food products with anti-stress action // Regional consumer goods market and food security in Siberia and the Arctic. – 2019. – P. 185-189.
3. Barnaulov O.D. Comparative estimation of antidiabetic activity of Ericales plants // Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. – 2011. – Vol. 9, № 2. – P. 68-74.



4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV-th edition. Access mode: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (Date of access: September 10, 2021).
5. Kostritsyn V.V., Lobanov A.A., Kochkin R.A., Kobelkova I.V., Popov A.I., Andronov S.V., Lobanova L.P. Experimental studies conducted to create functional foods on the basis of vegetable raw materials of the Yamal-Nenets Autonomous District // Scientific Bulletin of the Yamal-Nenets Autonomous District. – 2016. – № 4. – P. 144-149.
6. Nikitin A.A. Anatomical atlas of useful and some poisonous plants. – M.: Nauka, 1982. – 182 p.
7. Plaksen N.V., Ustinova L.V., Ponomarchuk S.G., Logunova L.N., Li O.N., Motlukh E.A. Biochemical markers of the influence of black crowberry ouice (Empetrum nigrum) on the process of alloxan diabetes // Pacific Medical Journal. – 2021. – № 3 (85). – P. 59-62.
8. Uvarov D.M., Chirikova N.K. Comparative analysis of the total content of phenolic compounds and organic acids in berries of Yakutia // International Journal of Applied and Fundamental Research. – 2021. – № 6. – P. 17-23.
9. Jurikova T., Mlcek J., Skrovankova S., Balla S., Sochor Ji., Baron M. Sumczynski D. Evaluation of fruit anatomy, accumulation and detection of polyphenols in black crowberry (Empetrum nigrum) from nw Slovakia // Acta Biologica cracoviensia series Botanica. – 2019. – T. 61, № 2. – C. 25-33.
10. Jurikova T., Mlcek J., Skrovankova S., Balla S., Sochor Ji., Baron M. Sumczynski D. Black crowberry (Empetrum nigrum L.) flavonoids and their health promoting activity // Molecules. – 2016. – T. 21, № 12. – C. 1685-1696.

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

The authors declare no conflicts of interests.

Статья принята к публикации 11.01.2022.

The article was accepted for publication 11.01.2022.