

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

На правах рукописи

Васильева Полина Андреевна

**Влияние коллоидных свойств дисперсий растительного сырья на процесс
экстракции флавоноидов**

Научная специальность 1.4.10. Коллоидная химия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата
химических наук

Научный руководитель: доктор
химических наук, доцент
Дмитриева Ирина Борисовна

Санкт-Петербург 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	13
1.1 Коллоидные факторы, влияющие на процесс экстракции БАВ из растительного сырья..	13
1.1.1 Измельчение растительного материала.....	13
1.1.2 Процесс смачивания и набухания высушенного растительного сырья как первый этап экстракции.....	14
1.1.3 Электрокинетические свойства дисперсии растительного материала.....	18
1.1.4 Выбор экстрагента.....	19
1.1.5 Выбор метода экстракции.....	23
1.1.6 Влияние ПАВ на экстракцию флавоноидов из растительного сырья.....	28
1.2 Процессы, происходящие при экстракции БАВ из растительного сырья.....	32
1.2.1 Массообменные процессы при экстракции БАВ из растительного сырья.....	32
1.2.2 Кинетика процесса экстракции БАВ из растительного сырья.....	36
1.2.3 Явление гидродинамики в слое растительного материала.....	38
1.3 Флавоноиды как класс соединений.....	41
1.3.1 Структура и классификация флавоноидов.....	41
1.3.2 Распространение флавоноидов.....	43
1.3.3 Фармакологические свойства флавоноидов.....	44
1.3.4 Физико-химические свойства флавоноидов.....	46
1.3.5 Методы определения флавоноидов.....	48
1.4 Антиоксидантные свойства экстрактов.....	51
1.5 Выводы по результатам анализа обзора литературы.....	52
ГЛАВА 2. МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	55
2.1 Характеристика используемых материалов.....	55
2.2 Методы.....	60
2.2.1 Подготовка плодов софоры японской.....	60
2.2.2 Получение извлечения.....	60
2.2.2.1 Получение извлечения методом мацерации.....	60
2.2.2.2 Получение извлечения методом перколяции.....	60
2.2.2.3 Получение извлечения методом мацерации с нагреванием.....	61
2.2.3 Определение параметров набухания.....	62
2.2.4 Определение ζ -потенциала.....	63
2.2.5 Определение сорбции ионов H^+ и OH^-	64
2.2.6 Определение поверхностного натяжения.....	66

2.2.7	Определение антиоксидантной активности	68
2.2.8	Количественное определение флавоноидов в извлечении	69
2.2.9	Определение влияния СВЧ-воздействия и УЗ-воздействия на количественное содержание флавоноидов в извлечении	71
2.2.10	Определение влияния заморозки/разморозки на количественное содержание флавоноидов в извлечении	71
2.2.11	Получение экстрактов из плодов софоры японской в условиях многократной экстракции	72
2.2.12	Получение экстрактов из плодов софоры японской с целью описания кинетики экстракции	72
2.2.13	Определение БАВ в извлечении	72
2.2.13.1	Определение флавоноидов	72
2.2.13.2	Определение простых фенолов	75
2.2.13.3	Определение полисахаридов	76
2.2.13.4	Определение сапонинов	77
2.2.13.5	Определение алколоидов	78
2.2.13.6	Определение дубильных веществ	78
2.2.14	Статистическая обработка данных	79
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ		81
3.1	Обоснование выбора методов экстракции БАВ из растительного сырья	81
3.2	Качественное определение БАВ в извлечении из плодов софоры японской	81
3.2.1	Определение флавоноидов	82
3.2.2	Определение простых фенолов	83
3.2.3	Определение полисахаридов	83
3.2.4	Определение сапонинов	84
3.2.5	Определение алкалоидов	84
3.2.6	Определение дубильных веществ	84
3.3	Количественное определение флавоноидов в извлечении из плодов софоры японской	84
3.4	Многократная экстракция	86
3.5	Влияние физико-химических факторов на процесс экстракции флавоноидов из плодов софоры японской	88
3.5.1	Влияние метода экстракции и концентрации спирта в водно-спиртовом экстрагенте на извлечение флавоноидов из плодов софоры японской	88
3.5.2	Экстракция в пропиленгликоле	90
3.5.3	Влияние рН среды на экстракцию флавоноидов из плодов софоры японской	91
3.5.4	Влияние УЗ- и СВЧ-воздействия на экстракцию флавоноидов	92

3.5.5 Влияние заморозки на экстракцию флавоноидов	95
3.6 Влияние коллоидных свойств дисперсий частиц плодов софоры японской на процесс экстракции флавоноидов	96
3.6.1 Влияние размера частиц плодов софоры японской на экстракцию флавоноидов.....	96
3.6.2 Определение точки нулевого заряда и изоэлектрической точки.....	99
3.6.3 Параметры набухания	103
3.6.3.1 Влияние природы экстрагента на процесс набухания плодов софоры японской	105
3.6.3.2 Влияние размера частиц софоры японской на параметры набухания.....	105
3.6.3.3 Влияние рН экстрагента на параметры набухания плодов софоры японской.....	106
3.6.3.4 Влияние электролитов на параметры набухания плодов софоры японской.....	107
3.6.3.5 Влияние ПАВ на параметры набухания плодов софоры японской	108
3.6.3.6 Влияние температуры на параметры набухания плодов софоры японской	109
3.6.3.7 Влияние ультразвукового воздействия на параметры набухания плодов софоры японской.....	110
3.6.4 Изучение десорбции флавоноидов из водных и водно-спиртовых дисперсий частиц софоры японской	111
3.6.5 Влияние ПАВ на процесс экстракции флавоноидов из плодов софоры японской.....	114
3.7 Определение антиоксидантной активности извлечения	116
ВЫВОДЫ.....	118
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	119
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	122

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Биологически активные вещества (БАВ) занимают важное место в фармации, благодаря своему комплексному фармакологическому действию и отсутствию вредных примесей [1]. В частности, флавоноиды являются одним из важных классов БАВ, которые широко используются из-за своего выраженного антиоксидантного действия [2, 3, 4]. Также они обладают противовоспалительным, противовирусным, противоопухолевым и иммуномодулирующим действием [5, 6].

Увеличение выхода флавоноидов при из лекарственного растительного сырья является актуальной задачей для фармацевтической, косметической и пищевой промышленности, поскольку это позволяет повысить эффективность и качество конечных продуктов, содержащих данный экстракт [7]. Для достижения этой цели используются различные методы и стратегии [8, 9, 10, 11, 12].

Физико-химические условия, такие как температура, время экстракции, соотношение сырья и экстрагента, pH влияют на процесс экстракции флавоноидов из растительного сырья [13, 14, 15, 16]. Изучение этих параметров помогает выбрать оптимальные условия для максимального выхода флавоноидов. Важное значение имеют такие методы интенсификации процесса как сверхвысокочастотное (СВЧ-) и ультразвуковое (УЗ-) излучение, температура [8, 9, 11, 12]. Особую роль занимает природа экстрагента и использование добавок, таких как ПАВ [17].

Качество и количество извлечения флавоноидов из растительного сырья в значительной мере определяется коллоидными свойствами и процессами, происходящими на границе раздела фаз: свойствами поверхности «частиц растительного сырья - раствор экстрагента, степенью раздробленности сырья, характером смачивания и набухания высушенного растительного сырья, скоростью диффузии флавоноидов из раздробленных частиц в раствор, скоростью и степенью десорбции, извлекаемых веществ. Явления, происходящие на этой границе раздела фаз, зависят от величины поверхности, от способности изменять заряд поверхности в зависимости от природы и состава растворителя, pH, добавок ПАВ, электролитов, температуры, механического воздействия и других факторов. Физико-химические условия, такие как температура, время экстракции, соотношение сырья и экстрагента, pH влияют на процесс извлечения флавоноидов из растительного сырья. Изучение этих параметров помогает выбрать оптимальные условия для максимального выхода флавоноидов [8, 18]. Важное значение имеют такие методы интенсификации процесса как СВЧ- и УЗ- излучение, температура. Особую роль занимает природа растворителя и использование добавок, таких как ПАВ.

Глубокое изучение процесса экстракции расширяет наше понимание механизмов, лежащих в его основе. Межфазный слой, который образуется между растительным сырьем и экстрагентом является ключевым элементом экстракционного процесса. В межфазном слое происходят процессы диспергирования, адсорбции, десорбции и диффузии флавоноидов. Изучение механизмов данных процессов позволяет улучшить эффективность извлечения и контролировать качество получаемых флавоноидов [8, 18].

Проведение исследований в этой области может привести к разработке новых и более эффективных методов экстракции флавоноидов, что, в свою очередь, позволит улучшить качество и безопасность конечных продуктов фармацевтической, косметической и пищевой промышленности.

Степень разработанности темы исследования. В области экстракции флавоноидов существует множество исследований, охватывающих различные аспекты этого процесса. Некоторые из них сосредоточены на оптимизации условий экстракции для повышения выхода и качества продукта, в то время как другие стремятся понять механизмы взаимодействия между растворителями и флавоноидами, чтобы улучшить эффективность процесса [8, 9, 10, 11, 12].

Вместе с тем, коллоидные закономерности извлечения флавоноидов из растительного сырья практически не изучены. Например, не изучены особенности влияния индивидуальных ПАВ и смесей ПАВ на этот процесс. Отсутствуют работы, рассматривающие взаимосвязь заряда поверхности частиц растительного сырья с процессами их набухания, десорбции. Несмотря на значительные усилия в этой области, ещё остаётся много невыясненных вопросов. Имеются основания для дальнейшего изучения влияния различных факторов, таких как тип растворителя, температура, давление и продолжительность экстракции, на выход и качество флавоноидов. Также важно углубить понимание влияния различных физико-химических методов воздействия ультразвуком или микроволновой обработкой на процессы дробления, смачиваемости, набухания частиц растительного сырья, на степень десорбции флавоноидов и на конечные характеристики продукта. Кроме того, некоторые аспекты взаимодействия между флавоноидами и другими компонентами растительного материала остаются недостаточно исследованными. Понимание этих взаимодействий может помочь оптимизировать процесс экстракции и повысить его эффективность.

Экстракция БАВ из растительного сырья зависит от разных факторов, и каждый вид сырья требует индивидуального подхода. Растения содержат комплекс соединений, которые могут быть выделены с помощью разнообразных методов экстракции. Вещества, извлекаемые вместе с флавоноидами, также могут повлиять на выход целевых компонентов [19].

Следует отметить, что, как правило, исследователи рассматривают процесс экстракции с биохимической, фармакологической фармацевтической и фитотехнологической точки зрения [1, 8, 11, 15, 18], не уделяя достаточного внимания коллоидным аспектам, происходящим в межфазном слое - «поверхность частиц растительного сырья - раствор экстрагента». Экстракцию с коллоидной точки зрения можно рассматривать как десорбцию веществ, содержащихся в твёрдой фазе, в раствор. Она определяется свойствами поверхности раздела «частиц растительного сырья - раствор экстрагента». Явления, происходящие на границе раздела фаз, зависят от величины поверхности, от способности изменять заряд поверхности в зависимости от природы экстрагента, рН, добавок ПАВ, электролитов, температуры, механического воздействия и других причин. Изучение этих процессов, несомненно, представляет интерес как с научной, так и с практической точек зрения.

Таким образом, несмотря на значительный объем существующих исследований, область экстракции флавоноидов все ещё остаётся подверженной активному исследованию, предлагая множество возможностей для дальнейших открытий и инноваций.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы является изучение влияния коллоидных свойств дисперсий растительного сырья на процесс экстракции флавоноидов.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. определить состав плодов софоры японской (ПСЯ);
2. изучить влияние измельчения, смачивания и набухания высушенного растительного сырья на процесс извлечения биологически активных веществ;
3. оценить зависимость заряда поверхности растительных частиц от состава экстрагента и его влияния на процесс экстракции;
4. определить значение электрокинетического заряда поверхности измельчённых частиц растительного сырья на процесс извлечения флавоноидов из ПСЯ;
5. изучить влияние природы и рН растворителя, добавок ПАВ, электролитов на скорость и полноту экстракции флавоноидов из ПСЯ;
6. изучить влияние физических факторов (температуры, СВЧ- и УЗ- излучения, заморозки) на физико-химические процессы, происходящие в межфазном слое;
7. методом многократной экстракции определить общее содержание флавоноидов в ПСЯ;
8. изучить процессы десорбции флавоноидов из растительного сырья;
9. определить антиоксидантную активность полученного извлечения.

Научная новизна работы. Научная новизна диссертации состоит в разработке коллоидных факторов, определяющих процесс экстракции флавоноидов из растительного сырья.

Впервые определено, что в области изоэлектрической точки поверхности частиц ПСЯ не наблюдается минимума набухания в отличие от растворов высокомолекулярных соединений (ВМС). Это связано с тем, что частички ПСЯ имеют клеточную структуру и сворачивание в глобулу, как в растворах ВМС, не происходит.

Определено, что ПАВ оказывают значительное влияние на процесс экстракции флавоноидов из растительного сырья. Это влияние зависит от типа используемых ПАВ и их концентрации и происходит вследствие улучшения смачиваемости поверхности частиц измельчённых плодов софоры, уменьшения межфазного натяжения и увеличения солубилизации флавоноидов. Применение смеси ПАВ в процессе экстракции флавоноидов из плодов софоры японской демонстрирует синергетический эффект.

Оценено значение набухания растительного сырья - плодов софоры японской на процесс экстракции флавоноидов. Установлены факторы, влияющие на процесс набухания ПСЯ.

Доказано, что рН среды значительно влияет на полноту извлечения. При увеличении рН содержание флавоноидов в извлечении возрастает благодаря улучшению растворимости флавоноидов в экстрагенте, облегчению их диффузии и разрушению каркаса высушенной растительной клетки.

Впервые установлено, что влияние содержания спирта этилового в экстрагенте на процесс экстракции зависит от выбранного метода. Методы экстракции могут иметь разные требования к экстрагенту и обладать разными эффектами на выход целевых компонентов и качество экстракции.

Изучены процессы влияния СВЧ- и УЗ- излучения на экстракцию флавоноидов из ПСЯ и определено, что такое влияние является незначительным без дополнительного воздействия температуры после обработки. Однако, если после предварительного облучения растительного сырья, провести экстракцию с нагреванием, извлечение флавоноидов существенно увеличивается.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты изучения коллоидных свойств дисперсий растительных частиц, таких как набухание, электрокинетические параметры, $pH_{изт}$, $pH_{тнз}$ и влияния на них различных факторов (природы жидкой фазы, температуры, рН,

электролитов, ПАВ), анализ процессов десорбции БАВ из растительного сырья способствует развитию коллоидной химии природных растительных дисперсных систем.

Практическое значение диссертационной работы состоит в оптимизации методов экстракции флавоноидов, что, в свою очередь, позволит улучшить качество конечных продуктов. В частности, разработаны смеси ПАВ, применение которых позволяет в два раза увеличить выход флавоноидов. Извлечение, полученное с использованием экстрагентов с добавками ПАВ может быть использовано в косметической или фармацевтической области для создания кремов, мазей, мицеллярных растворов с антиоксидантным и капилляроукрепляющим действием. Флавоноиды, полученные из плодов софоры японской, также могут быть использованы для получения лечебных шампуней, так как они помогают в борьбе с перхотью. Выработаны оптимальные условия обработки плодов софоры японской УЗ- и СВЧ- излучением; а также температурного режима для увеличения степени извлечения флавоноидов, что позволит совершенствовать технологические процессы, связанные с экстракцией из растительного сырья.

Методы исследования. В работе использовались статические и динамические методы экстракции флавоноидов из плодов софоры японской (мацерация и перколяция) при варьировании температуры процесса, а также с использованием УЗ- и СВЧ- излучения.

Для количественного определения флавоноидов использовались спектрофотометрические методы.

Для анализа извлечения применялись кондуктометрический метод, потенциометрическое титрование и электрофорез.

Положения, выносимые на защиту

1. Основные коллоидные параметры дисперсии измельчённых частиц ПСЯ влияющие на выход флавоноидов в ходе экстракции: размер частиц, степень набухания, электрокинетический потенциал, $pH_{\text{тнз}}$ и $pH_{\text{изт}}$, вязкость дисперсии.

2. Разработан процесс получения извлечений с высоким содержанием БАВ, а именно содержащих максимально возможное количество флавоноидов в данном виде растительного сырья. Определено:

2.1 влияние природы ПАВ и их смесей на механизм экстракции флавоноидов из растительного сырья;

2.2. эффективность выбора растворителя в качестве экстрагента;

2.3. влияние УЗ-излучения на экстрагирование флавоноидов при нагревании;

2.4. воздействие СВЧ-излучения на процесс извлечения флавоноидов из измельчённых ПСЯ.

3. Установлены особенности процесса десорбции и его влияния на эффективность извлечения флавоноидов из растительного сырья.

4. Описан механизм интенсивного разрушению растительных клеток, способствующий извлечению флавоноидов.

Основные научные результаты. В диссертации определено влияние коллоидных факторов и физико-химических условий на извлечение целевых компонентов - флавоноидов из ПСЯ.

1. Установлены оптимальные размеры частиц ПСЯ для извлечения флавоноидов – 0,1 – 0,2 см. Размеры частиц менее 0,1 см затрудняют экстракцию целевых компонентов в связи с образованием слизи и трудностей фильтрации; размер частиц более 0,2 см является менее эффективным из-за уменьшения поверхности соприкосновения экстрагента с частицами [20, 21] (личный вклад автора составляет 90%, статьи написаны Васильевой П.А. под руководством Дмитриевой И.Б.).

2. Оценено значение набухания растительного сырья на процесс экстракции флавоноидов. Определены факторы, влияющие на процесс набухания частиц ПСЯ [22] (личный вклад автора составляет 70%):

- впервые показано, что в области изоэлектрической точки поверхности частиц софоры японской не наблюдается минимум набухания в отличие от ВМС. Это связано с тем, что частицы имеют клеточную структуру и сворачивание в глобулу, как в растворах ВМС, не происходит;

- наибольшая степень набухания происходит для частиц с размером 0,1 - 0,2 см, так как при уменьшении размера частиц происходит увеличение вязкости экстрагента и уменьшение диффузии растворителя в клетке;

- наибольшая степень набухания отмечена в растворе неионогенного ПАВ (Лаурет-2). Для ионогенных ПАВ характерна более сильная гидратация, что не способствует набуханию и может приводить к обратному процессу - дегидратации частиц;

- увеличение температуры значительно увеличивает степень набухания ПСЯ вследствие возрастания скорости диффузии растворителя и более активного разрушения растительных клеток;

- УЗ-излучение способствует увеличению степени набухания ПСЯ ввиду большего разрушения оболочки растительной клетки [20, 21, 23] (личный вклад автора в указанных статьях составляет 90%, статьи написаны Васильевой П.А. под руководством Дмитриевой И.Б.).

3. Оценено влияние различных ПАВ и их смесей на экстракцию флавоноидов из ПСЯ [20, 21, 22] (личный вклад автора составляет 90%, 90% и 70% соответственно). Наибольший

выход флавоноидов отмечен в присутствии неионогенного ПАВ. Катионный и анионный ПАВ не оказывают влияния на степень извлечения флавоноидов из ПСЯ. Неионогенные и цвиттерсионные ПАВ, и их смеси обладают более высокой поверхностной активностью и значительно сильнее понижают межфазное натяжение на границе «клетка - раствор ПАВ», способствуя интенсивному разрушению растительных клеток, и тем самым облегчают извлечение флавоноидов.

4. Определено, что в щелочной области рН значение электрокинетического потенциала частиц софоры увеличивается по абсолютной величине за счёт увеличения сорбции ионов OH^- как на поверхности частиц, так и на активных центрах молекул флавоноидов, что усиливает их переход в диффузионный слой ДЭС и десорбцию из частиц софоры [20, 21] (личный вклад автора в отмеченных статьях составляет 90%, статьи написаны Васильевой П.А. под руководством Дмитриевой И.Б.). Сравнение выхода флавоноидов в области $\text{pH}_{\text{изт}}$ и в щелочной области при высоких значениях $|\zeta|$ -потенциала показывает увеличение выхода флавоноидов в два раза.

5. Определено, что воздействие УЗ- и СВЧ- излучения при экстракции с нагреванием значительно увеличивает степень извлечения флавоноидов вследствие разрушения растительной клетки, улучшению десорбции и растворения БАВ в экстрагенте [20, 21, 22] (личный вклад составляет 90%, 90% и 70% соответственно).

6. Результаты изучения десорбции флавоноидов из растительного сырья позволили установить, что кинетика десорбции соответствует реакциям первого порядка. Расчёт степени извлечения флавоноидов по результатам десорбции показал, что в водно-спиртовых растворах их выход выше, чем в воде, что связано с увеличением растворимости флавоноидов в водно-спиртовых растворах и согласуется с результатами изучения экстракции.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов диссертационной работы подтверждается их высокой воспроизводимостью, применением в работе стандартизованных методик и общепризнанного современного комплекса физико-химических методов анализа. Основные результаты диссертационной работы докладывались на следующих конференциях:

- Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург - 2021 г., 2022 г., 2024 г.;

- Всероссийская научно-практической конференции с международным участием «Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине», Санкт-Петербург - 2020 г., 2021 г., 2023 г., 2024 г.;

- X, XII Межвузовская конференция-конкурс (с международным участием) научных работ студентов имени члена-корреспондента АН СССР Александра Александровича Яковкина, Санкт-Петербург – 2021 г., 2022 г.;

- Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2019», «Ломоносов-2020», «Ломоносов-2023», Москва, 2019 г, 2020 г, 2023 г;

- Всероссийская конференция «Поверхностные явления в дисперсных системах», посвященная 125-летию со дня рождения выдающегося советского ученого, академика АН СССР Петра Александровича Ребиндера, Москва, 2023 г.

По материалам настоящей диссертационной работы опубликовано 18 публикаций, в том числе 5 статей в научных журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий (3 из которых соответствуют научной специальности 1.4.10 Коллоидная химия (химические науки)), рекомендованных ВАК РФ, 3 тезиса докладов на научных конференциях.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Коллоидные факторы, влияющие на процесс экстракции БАВ из растительного сырья

Экстракция биологически активных веществ из растительного сырья – это процесс выделения из растений (твёрдого тела) различных соединений, обладающих физиологической активностью и полезными свойствами, при помощи экстрагента (извлекающей жидкости).

Экстракция состоит из следующих основных этапов: смачивания растительного сырья и набухания, образование внутреннего первичного сока и массообмен [24]. Каждый из этапов зависит от определенных факторов, которые могут как увеличивать, так и уменьшать скорость и полноту извлечения.

1.1.1 Измельчение растительного материала

Измельчение растительного сырья способствует увеличению выхода целевых компонентов, так как степень измельчения влияет на поверхность соприкосновения фаз (чем она больше, тем скорее протекает диффузия) [19, 25].

Однако, использование очень мелких растительных порошков для экстрагирования может быть не рекомендовано по следующим причинам [24, 25, 26]:

- **потери:** Очень мелкие частицы могут легко распыляться и вымываться вместе с растворителем в процессе экстрагирования, что приведет к потере ценных компонентов растения.
- **уменьшения диффузии целевых компонентов:** Очень мелкий порошок образует с экстрагентом тестообразную или студенистую массу, экстрагирование которой затруднено, так как она оказывает большое сопротивление прохождению извлекателя.
- **трудности в фильтрации:** Мелкие частицы могут забивать поры фильтра или слеживаться и препятствовать прохождению экстрагента между ними. Также они содержат много разрушенных клеток, из которых в извлечение переходит большое количество балластных веществ, нерастворимых частиц и коллоидов. В результате получается мутная, трудно очищаемая жидкость.

Обычно для различного растительного материала рекомендуют следующую крупность измельчения (более крупное измельчение нецелесообразно, так как в слое замедляется процесс экстракции лекарственных веществ, а при длительном настаивании в извлечение переходит много балластных веществ): листья, цветки и травы — до частиц размером 3—5 мм, стебли, корни и кора — до частиц размером 1—3 мм, плоды и семена — до частиц размером 0,3—0,5 мм (так как оболочка их клеток покрыта гидрофобными веществами) [10, 18, 27].

Характер измельчения растительного сырья оказывает большое влияние на процесс экстракции и качество вытяжки. Например, в Харьковском научно-исследовательском химико-

фармацевтическом институте проведено исследование влияния различных методов измельчения растительного сырья на эффективность экстракции установлено, что измельчение растительного сырья целесообразно проводить на валковых дробилках, так как в этом случае быстрее наступает динамическое равновесие в системе твёрдое тело-жидкость.

Клетки сухого растительного материала заполнены воздухом. Воздух и пористые перегородки органоидов оказывают сопротивление прохождению растворителя. При вальцевании сырьё подвергается раздавливанию, в результате происходят разрыв воздухоносных полостей, образование микротрещин. Это приводит к более эффективному разрушению растительных тканей, ускоряет процесс проникновения экстрагента и растворение экстрагируемых веществ.

Для интенсификации процесса экстрагирования для семян и плодов рекомендован комбинированный способ измельчения: сначала на молотковой или ударно-центробежной мельнице, а затем на валковой дробилке до размера частиц 0,1 - 0,2 мм.

1.1.2 Процесс смачивания и набухания высушенного растительного сырья как первый этап экстракции

Важной стадией процесса экстракции является набухание высушенного растительного сырья. Растительный материал при сушке претерпевает значительные изменения: из клеточного сока получают сухой остаток, внутренняя часть клетки заполнена воздухом, клеточная стенка и мембраны органоидов клетки после сушки приобретают свойства пористых перегородок [28].

Каркас клетки обладает дифильными свойствами, однако гидрофильность клетчатки выражена гораздо сильнее, чем гидрофобность. В связи с этим применение гидрофильных экстрагентов более эффективно на данном этапе [29]. Данный процесс сопровождается увеличением массы и объема растительного сырья [30].

Клеточная оболочка растительного сырья имеет сложный состав: в основе находится растворимая в воде целлюлоза, пектины – растворимые и нерастворимые в воде, лигнин. Клеточная мембрана представляет собой вкрапления кутина, суберина, которые не смачиваются с водой. Высушенная растительная клетка имеет свои особенности: в процессе сушки клетки растительного сырья теряют влагу, протоплазма сморщивается, а содержимое клеток превращается в сухой остаток. Внутренняя часть такой клетки состоит из воздуха, а высушенный материал представляет собой губчатую структуру. В отличие от живой клетки, где экстрагент проникает внутрь клетки в процессе осмоса через полупроницаемую протоплазму, в высушенный растительный материал экстрагент проникает через пористую перегородку [26].

При обработке измельченного растительного материала экстрагент за счет смачивания и капиллярных сил проникает через поры в клетку. Большое значение в процессе экстрагирования имеют поверхностное натяжение и вязкость растворителя. Впитываясь жидкость должна

растекаться по поверхности клетки, что приводит к значительному увеличению поверхности соприкосновения и ускоряет процесс растворения экстрагируемых веществ. Чем больше поверхностное натяжение экстрагента, тем труднее пропитывается жидкостью растительный материал [18].

Так как в результате высушивания в клетке остается концентрированный раствор – «первичный сок», благодаря разности осмотических давлений растворимые вещества выходят из клетки, а в нее проникает растворитель; «сталкивание» процессов осмоса и диализа приводят к набуханию растительного материала.

Заполнение капилляров клетки экстрагентом может протекать длительно, так как воздух препятствует перемещению жидкости. Этот процесс можно ускорить при помощи вакуумирования. Если экстрагент хорошо смачивает сырье, процесс заполнения клетки ускоряется, таким образом коэффициент растекания зависит от угла смачивания (смачиваемости сырья) и поверхностного натяжения экстрагента.

Поверхностное натяжение рассчитывается по следующей формуле (1):

$$d_{13} = d_{23} + d_{12} \cos q \quad (1),$$

где d_{13} , d_{23} , d_{12} – поверхностное натяжение на границе раздела фаз; номера фаз 1- экстрагент, 2 – воздух (газ), 3 – твердое тело, q - краевой угол смачивания.

Если $d_{13} > d_{23} + d_{12}$ жидкая фаза растекается по поверхности твердого тела, движущей силой процесса смачивания является растекание, а коэффициент растекания S определяется по формуле (2):

$$S = d_{13} - d_{23} - d_{12} \quad (2)$$

Таким образом, чем лучше сырье будет контактировать с экстрагентом, тем легче и больше БАВ будут переходить из клеточного сока в экстрагент. При контакте с экстрагентом растворимые вещества растворяются, высокомолекулярные соединения (ВМС) и коллоидные вещества набухают, далее неограниченно набухающее вещества переходят в золь, а часть гелей пептизируется. Степень набухания сырья зависит от химической природы жидкости. Наиболее сильное набухание вызывает вода, наименьшее неполярные растворители. Набухаемость сырья при экстрагировании спиртом зависит от содержания в нем воды. Являясь гидрофильным веществом, спирт вступает в конкуренцию с клеточным коллоидом за воду [18].

Сухой остаток в клетке представляет собой комплекс веществ, которые могут быть как растворимыми, так и нерастворимыми. Растворимые вещества могут быть адсорбционно связаны с нерастворимыми веществами [26, 31, 32]. Далее происходит диффузия экстрагента под действием капиллярных сил внутрь клетки.

Процесс набухания растительного сырья зависит от множества факторов, к которым относятся:

- вид лекарственного сырья (листья, цветки, корни, плоды и т.д.), а также его химический состав [33, 34, 35];
- размер частиц [19, 36];
- заряд частиц лекарственного растительного сырья [37],
- природа экстрагента;
- значение рН, ионная сила и осмотическая активность экстрагента [38, 39];
- присутствие в растворе поверхностно-активных веществ [40],
- время контакта частиц с экстрагентом [41],
- температура, при которой проводится процесс набухания [9, 27].

Состав растительного сырья значительно влияет на процесс его набухания. Определяющие место занимают способность высокомолекулярных соединений, из которых состоит растительная клетка, взаимодействовать с экстрагентом [19].

При набухании в воде - наличие в макромолекуле ВМВ полярных групп. Оценку степени набухания возможно проводить для ограниченно набухающих веществ. Наличие в составе клетчатки гемицеллюлозы и лигнина предполагают, что набухание растительной клетки может носить ограниченный характер, так как эти вещества имеют разветвленную и сшитую структуру, в свободное пространство этой структуры при контакте заполняется экстрагентом [19].

Белки и полисахариды обладают способностью к набуханию в воде, а взаимодействие вода – полимер носит адсорбционный характер. Причем, при нагревании некоторые белки, например альбумины, могут растворяться [19].

Существуют два типа набухания: ограниченное и неограниченное. При неограниченном набухании увеличение массы и объема полимера происходит в течении всего времени и заканчивается растворением полимера. При ограниченном набухании увеличение объема и массы происходит за определенный промежуток времени и дальше остается неизменным.

Количественной характеристикой набухания является степень набухания, которая показывает относительное увеличение массы и объема ВМВ в процессе гидратации [19]. Она зависит от веществ, входящих в состав каркаса растительной клетки (жесткости цепей), а также сродства клетки к растворителю. Рассчитывается по формулам 3 или 4, в зависимости от методов исследования:

$$\alpha_t = \frac{m_t - m_0}{m_0} \quad (3)$$

$$\alpha_t = \frac{V_t - V_0}{V_0} \quad (4)$$

где m_t и V_t масса и объем сырья соответственно через время набухания; t , m_0 и V_0 масса и объем в начальный момент времени.

Максимальная (предельная) степень набухания – это степень набухания при времени, когда процесс набухания прекращается, то есть объем, и масса полимера прекращают увеличиваться. Так как степень набухания при неограниченном набухании возрастает при увеличении времени и в конечном счете сопровождается растворением полимера, максимальную степень набухания возможно определить для неограниченно набухающих веществ (к которым также относится растительное сырье). Показателем скорости набухания в данном случае является константа набухания, которая рассчитывается по формуле [30] (5):

$$K_t = \ln \frac{\alpha_{\max}}{\alpha_{\max} - \alpha_t} \quad (5)$$

где K_t – константа скорости набухания, мин^{-1} ; α_{\max} – максимальная степень набухания; t – время, мин.

При ограниченном набухании максимальная степень набухания достигает предельного значения, после чего остается постоянной на протяжении всего времени. Это происходит вследствие сильных межмолекулярных взаимодействий в полимере; вклад свободной энергии, обусловленной энтальпией смещения становится равным вкладу свободной энергии, обусловленной силами упругого втягивания в сетке; нет движущей силы для набухания и экстрагент не может разобщить макромолекулы, достигается равновесие набухания [42].

Существуют два типа центров сорбции с разными энергиями связи. Первичные центры сорбции – это гидрофильные центры ВМВ оболочки клетки (целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина). Вторичные центры сорбции – центры сорбции первого и последующего слоев воды [30].

Набухания растительного сырья состоит из двух стадий [19]. В некоторых исследованиях процесс набухания растительного сырья делят на три стадии (первая – быстрая, вторая медленная, третья – неподвижная) [43]. Но при любом делении механизм деления схож.

На первом этапе протекает слабая *экзотермическая реакция*, в ходе которой происходит связывание свободной воды. Этот процесс происходит наиболее быстро. Поглощение воды происходит при взаимодействии с первичными центрами сорбции, при этом молекулы воды оказываются непосредственно связанными с -ОН группами ВМВ оболочки растительной клетки [30]. А на втором этапе имеет значение осмотическая активность, в ходе которой происходит поглощение свободной воды, заполнение пустот в каркасе клетки [19].

Изменение *значения pH среды* также может влиять на максимальную степень набухания, но это влияние индивидуально и зависит от химического состава сырья. Измельченное лекарственное растительное сырье имеет определенное значение изоэлектрической точки. Белки,

входящие в состав сырья в изоэлектрической точки способны сворачиваться в глобулы и, тем самым снижается их степень набухания [19]. Однако влияние на изоэлектрическую точку лекарственного растительного сырья оказывают все компоненты и зависимость набухания может носить индивидуальный характер.

В исследовании «Carbohydrate Gel Beads as Model Probes for Quantifying Non-ionic and Ionic Contributions behind the Swelling of Delignified Plant Fibers» Rose-Marie Pernilla Karlsson и других было определено, что при увеличении плотности заряда на гелевых шариках, аналогичных клеточным стенкам растений, происходит заметное увеличение поглощения воды с увеличением рН раствора. В данной работе определено, что максимальное поглощение возможно при значении рН равном 10. Это явление происходит вследствие диссоциации карбоксильных групп при значениях рН выше pK_a заряженных групп. В свою очередь эта диссоциация увеличивает осмотическое давление внутри шариков из-за дисбаланса концентрации ионов внутри и вне гелевых шариков в результате неподвижности карбоксильных групп [38].

Важной характеристикой процесса набухания сырья является тепловой эффект смачивания (Q), который происходит при добавлении в воду высушенного растительного сырья. С помощью этого значения можно рассчитать удельную поверхность (S) одного грамма смачиваемого растения. Для этого принимается во внимание следующее: смачивание идет равномерно, молекулы воды соединяются с поверхностью твердого тела и образуется немолекулярный адсорбционный слой. Удельная поверхность одного грамма смачиваемого растения определяется по формуле 6 [40]:

$$S = \frac{Q}{q} \quad (6)$$

где q - полная энергия поверхности воды между фазами жидкость–пар, которая равна $116 \cdot 4,188 \cdot 10^7$ Дж/см².

1.1.3 Электрокинетические свойства дисперсии растительного материала

Дзета-потенциал может влиять на электростатическое взаимодействие между частицами растительного материала и растворителем. Это в свою очередь может повлиять на способность растворителя извлекать определенные компоненты из растительного материала.

Точка нулевого заряда и изоэлектрическая точка имеют важное значение в процессе экстракции и влияют на поведение поверхности частиц в дисперсной системе.

Точка нулевого заряда - это рН раствора, при котором поверхность частицы не имеет заряда. В этой точке заряды положительные и отрицательные ионы на поверхности частицы компенсируют друг друга, что приводит к нулевому заряду. Это важно, так как при рН ниже точки нулевого заряда поверхность частицы будет заряжена положительно, а при рН выше - отрицательно.

Изоэлектрическая точка - это значение рН, при котором заряд поверхности частицы равен нулю. В этой точке происходит переход между доминированием положительного и отрицательного зарядов на поверхности частицы. За пределами изоэлектрической точки поверхность частицы будет заряжена положительно при низких значениях рН и отрицательно при высоких значениях рН.

В процессе экстракции изоэлектрическая точка и точка нулевого заряда могут влиять на взаимодействие частиц растительного материала с растворителем и другими компонентами смеси:

- При рН, близком к изоэлектрической точке, взаимодействие между частицами растительного материала и экстрагентом может быть наименьшим, что может усложнить процесс экстракции.

- В районе точки нулевого заряда поверхность частиц может быть менее заряженной и более подверженной агрегации, что также может влиять на эффективность экстракции.

Поэтому учет этих параметров, а также контроль рН раствора, могут быть важными при разработке стратегий экстракции для максимальной эффективности извлечения БАВ из растительного материала.

Заряд поверхности частицы и рН раствора влияют на *электростатическое взаимодействие* между частицами и растворителем. Это может приводить к различным силам адсорбции и диффузии, влияющим на эффективность процесса экстракции.

Заряд поверхности частиц также может влиять на *растворимость БАВ* в экстрагенте. Например, для заряженных частиц могут быть предпочтительными определенные типы растворителей или условия экстракции.

Изменения рН раствора могут также влиять на *взаимодействие с другими компонентами*, такими как соли, другие БАВ или добавки, которые могут присутствовать в растительном материале или растворителе.

1.1.4 Выбор экстрагента

Экстракция может осуществляться с помощью различных растворителей, таких как этанол, метанол, вода, пропиленгликоль и другие. Выбор оптимального экстрагента в технологии фитохимических препаратов имеет большое значение [13, 14, 15].

Экстрагент должен удовлетворять следующим требованиям:

- обладать способностью извлекать определенные классы соединений и минимизировать извлечение балластных веществ;
- способствовать десорбции флавоноидов и их эффективному растворению. Различные растворители имеют разное сродство к флавоноидам, поэтому их выбор может повлиять на

эффективность экстракции. Важное значение имеет полярность, диэлектрическая проводимость, вязкость и другие свойства экстрагентов;

- хорошо смачивать материал. Это свойство позволяет обеспечить эффективный контакт между экстрагентом и растительным материалом, что в свою очередь способствует более эффективному извлечению действующих веществ;
- быть инертным к лекарственным веществам и не должен изменять их фармакотерапевтических свойств. Это важно для обеспечения сохранности активных ингредиентов и эффективности конечного лекарственного продукта;
- быть безопасным для человека при последующем использовании извлечения;
- быть доступным.

Некоторые авторы отмечают, что растворы диметилсульфоксида (ДМСО), полиэтиленоксида 400 (ПЭО 400), пропиленгликоля (ПГ) также обладают высокой экстрагирующей способностью по отношению к флавоноидам [17, 44].

Однако процессы сольватации растительного материала и десорбции БАВ в случае ДМСО отличаются от алкогольных растворителей из-за его апротонного характера. В результате общая экстракционная способность ДМСО не превосходит таковую для водных растворов ПГ и ПЭО 400. ПЭО 400 обладает высокой вязкостью, что может негативно сказываться на процессе экстракции [17].

Вода и этиловый спирт чаще всего используются в качестве экстрагентов для извлечения флавоноидов, поскольку многие из них растворимы в воде, спирте или их смеси [13]. В частности, агликаны флавоноидов лучше растворимы в спирте, а гликозиды в воде. Этанол наиболее широко используется для извлечения флавоноидов благодаря более высоким выходам [28, 45].

Преимущества воды очищенной как извлекателя:

- хорошо проникает через клеточные стенки,
- растворяет многие лекарственные вещества (в т. ч. лучше других извлекателей — соли алкалоидов, гликозиды, дубильные вещества),
- доступность,
- дешевизна,
- соответствие всем требованиям техники безопасности,
- фармакологическая индифферентность.

Недостатки воды очищенной как извлекателя:

- не растворяет неполярные лекарственные вещества (например, масла, смолы, кумарины),
- имеет большое поверхностное натяжение,

- отсутствуют антисептические свойства (поэтому водные извлечения не стойки при хранении),
- вызывает гидролитическое расщепление многих веществ (особенно при высокой температуре),
- имеет большие значения температуры кипения (100 °С) и теплоты парообразования (539 ккал/кг, или 2258 кДж/кг).

Преимущества этилового спирта как извлекателя:

- обладает бактериостатическим действием (в извлечениях, содержащих не менее 20% этилового спирта, не развиваются микроорганизмы),
- инактивирует ферменты (поэтому препятствует течению гидролитических процессов в растительных тканях),
- вследствие летучести этилового спирта спиртовые растворы легко сгущаются до состояния густых и порошкообразных веществ,
- имеет более низкие, чем у воды, значения теплоты парообразования (216,4 ккал/кг, или 906,7 кДж/кг) и температуры кипения,
- доступность и относительная дешевизна.

Недостатки этилового спирта как извлекателя:

- огне- и взрывоопасность,
- фармакологически не индифферентен (оказывает местное и общее действия на организм человека).

Многие исследования свидетельствуют, что экстракцию флавоноидов эффективнее проводить не чистыми спиртами, а растворами спиртов с водой. Молекулы воды в экстрагенте лучше смачивают поверхность растительного сырья, что увеличивает экстракцию [45].

Принцип "подобное растворяется в подобном" является основой выбора растворителя при экстракции. Для извлечения полярных веществ чаще всего применяют полярные экстрагенты, такие как вода, метанол или этанол, которые обладают высокой диэлектрической проницаемостью и способны хорошо растворять полярные соединения. Неполярные вещества, такие как эфирные масла, кумарины и основания алкалоидов, лучше извлекаются с использованием неполярных экстрагентов, например, дихлорметана или гексана [10]. Оценка полярности экстрагента может проводиться по значению его диэлектрической проницаемости: чем она выше, тем более полярен экстрагент. Однако, следует также учитывать и другие факторы, такие как растворимость вещества в экстрагенте, его селективность и стабильность.

Вязкость экстрагента также оказывает большое влияние на процесс извлечения БАВ [45]. Это происходит вследствие того, что коэффициент диффузии обратно пропорционален

вязкости экстрагента. Растворы с меньшей вязкостью обладают большей диффузионной способностью, в то время как вязкий экстрагент характеризуется высоким гидравлическим сопротивлением. Важно отметить, что температура также оказывает значительное влияние на вязкость извлекателя. Обычно повышение температуры приводит к снижению вязкости, что улучшает диффузию и ускоряет процесс извлечения.

Большая вязкость экстрагента и его поверхностное натяжение могут затруднить проникновение жидкости в узкие капилляры клеточных оболочек, что может препятствовать полному извлечению целевых соединений.

Значение pH имеет важное значение при экстракции флавоноидов [46]. Обычно оптимальное значение pH зависит от конкретного типа флавоноидов и используемого растворителя. Например, для флавоноидов, чувствительных к кислотности, таких как антоцианы, оптимальное значение pH может быть ниже 7, в то время как для других флавоноидов, таких как кверцетин, оптимальное значение pH может быть ближе к нейтральному (около 7) или даже слегка щелочному. Известно, что при значении pH выше 8 флавонолы постепенно окисляются кислородом воздуха [16].

Изменение pH может влиять на стабильность и растворимость флавоноидов, а также на их способность к образованию комплексов с другими молекулами в растворе. Поэтому при экстракции флавоноидов важно контролировать и поддерживать оптимальное значение pH, чтобы достичь максимальной эффективности извлечения [16].

Свойства растворителей, используемых в качестве экстрагентов, представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Свойства растворителей, используемых в качестве экстрагентов

растворитель	Диэлектрическая проницаемость	температура кипения, °С	плотность при 20 °С, г/см ³	поверхностное натяжение при 20 °С, Н/м*10 ³	вязкость при 20 °С, мПа*с
вода очищенная	78,2	100,0	1,00	72,75	1,00
спирт метиловый	37,9	64,6	0,793	22,99	0,60
спирт этиловый	25,2	78,39	0,789	22,03	1,20
Ацетон	20,7	56,24	0,790	23,70	0,32
спирт пропиловый	19,7	97,2	0,804	22,90	2,23
дихлорэтан	10,3	83,5	1,26	32,2	0,89
метиленхлористый	9,1	40,00	1,33	27,50	0,45
этилацетат	6,0	77,15	0,90	23,75	0,49
хлороформ	4,7	61,26	1,49	27,14	0,57

Продолжение таблицы 1 - Свойства растворителей, используемых в качестве экстрагентов

растворитель	Диэлектрическая проницаемость	температура кипения, °С	плотность при 20 °С, г/см ³	поверхностное натяжение при 20 °С, Н/м*10 ³	вязкость при 20 °С, мПа*с
эфир этиловый	4,2	34,5	0,71	16,49	0,23
бензол	2,3	78,50	0,88	28,87	0,65
Углеродчетырех-хлористый	2,2	76,80	1,595	25,68	0,97
Гексан	1,9	68,74	0,659	1,41	0,31

1.1.5 Выбор метода экстракции

Большинство биологических свойств флавоноидов в значительной степени определяются режимом экстракции.

Все существующие методы экстрагирования можно классифицировать по характеру процесса на статические и динамические. В статических методах сырье периодически насыщают экстрагентом и оставляют настаиваться в течение определенного времени. В динамических методах предусматривается движение, постоянная смена экстрагента либо сырья и экстрагента [24].

По периодичности процесса выделяют периодические, когда подача сырья (экстрагента и/или растительного материала) в экстракционные аппараты осуществляется периодически, и непрерывные (с непрерывной подачей сырья) [24].

По количеству циклов (повторов) экстракции различают одноступенчатые и многоступенчатые методы [24].

Для экстракции флавоноидов обычно используют такие методы мацерация, перколяция. И применяют способы интенсификации процесса такие как нагревание, использование ультразвука или микроволнового излучения и другие.

Мацерация и перколяция являются традиционными методами экстракции, которые использовались в течение многих лет для извлечения БАВ из растительного сырья, таких как флавоноиды.

Мацерация - это процесс выделения активных компонентов, где сырье находится в контакте с растворителем в течение определенного времени. Этот процесс может занимать длительное время, и обычно требуется большое количество растворителя для эффективного извлечения [11].

Перколяция включает процесс прохождения растворителя через слой сырья, что позволяет извлеченным компонентам перемещаться с одной точки в другую и обогащаться активными веществами. Этот метод также может потреблять много времени и растворителя.

Существуют многоступенчатые методы извлечения флавоноидов, такие как ремацерация и реперколяция (повторяющаяся перколяция).

Хотя эти методы просты в осуществлении и широко использовались в прошлом, они имеют недостатки, такие как длительное время экстракции, большое потребление растворителя и иногда низкие выходы экстракции [28].

Современные методы экстракции, такие как суперкритическая экстракция, ультразвуковая экстракция и микроволновая экстракция, экстракция жидкостью под давлением, экстракция горячей водой под давлением могут быть более эффективными в плане времени, ресурсов и выхода экстракции.

В последнее время широко используется метод извлечения флавоноидов в микроволновой печи, или сверхвысокочастотная экстракция (СВЧ-экстракция) и технология ультразвуковой экстракции [12]. Также используется сверхкритическая флюидная экстракция и экстракция при повышенной температуре.

СВЧ - это электромагнитный спектр излучения в диапазоне от 300 МГц (радиоизлучение) до 300 ГГц (инфракрасное излучение). Этот метод нагрева использует микроволновую энергию и основан на прямом воздействии микроволн на дипольную поляризацию и молекулы ионной проводимости (Рис. 1). В отличие от обычной теплопередачи при СВЧ-нагреве энергия передаётся сразу в объём экстрагируемой смеси. Увеличение температуры экстрагента приводит к повышению его растворяющей способности и снижению вязкости, что в свою очередь улучшает процесс массообмена. Однако, эффект микроволновой экстракции не ограничивается лишь повышением температуры экстрагента. СВЧ-излучение взаимодействует с диполями полярных и поляризуемых веществ в растворителе и сырье. Этот процесс приводит к их нагреву и разрушению водородных связей, что в результате усиливает миграцию растворенных ионов и способствует проникновению растворителя в сырье [11].

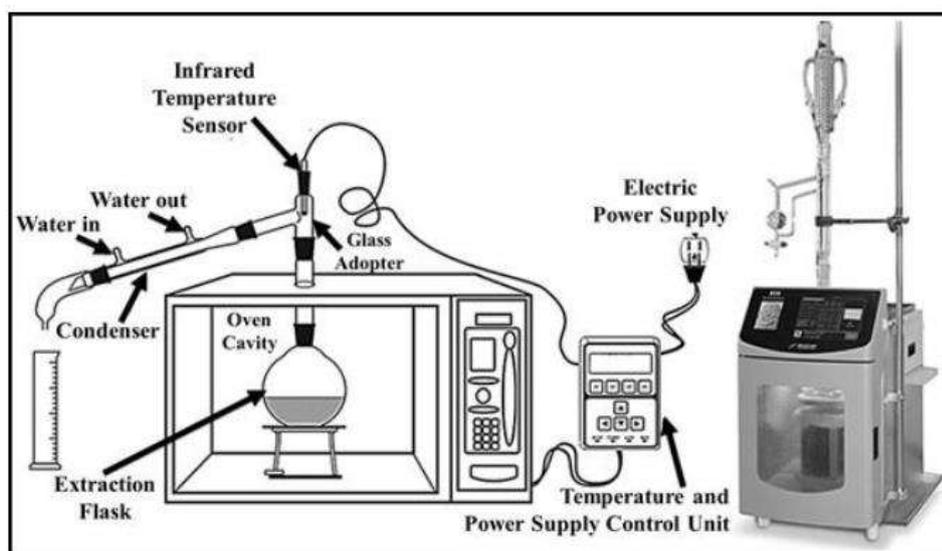


Рис. 1 - Схема сверхвысокочастотной экстракции

Особенность СВЧ-извлечения в том, что оно влияет как на сырье, так и на экстрагент [47].

На извлечение флавоноидов может влиять большое количество параметров, среди которых наиболее важными являются: время, температура, соотношение растительного материала и растворителя, концентрация растворителя, растворитель полярность, облучение, частота интенсивности и СВЧ-мощность [1].

Таким образом, в электромагнитном поле высокочастотных волн сильно полярные молекулы диэлектрика стремятся выстраиваться в пространстве в соответствии с направлением изменяющегося поля. Это приводит к увеличению выделения экстрагируемых веществ за счет снижения степени их гидратации. В результате размеры молекул сольватирующего вещества уменьшаются, что усиливает общий перенос массы в системе клетка – экстрагент. Кроме того, при диэлектрическом нагреве вязкость внутриклеточного сока снижается за счет появления внутренних источников тепла с неравномерной температурой, связанных с различными диэлектрическими свойствами клеток и тканей, что значительно увеличивает коэффициент свободной диффузии. Это способствует более быстрой коагуляции белковых соединений и крупных полимеров растительного происхождения, что снижает их влияние на диффузию основной массы внутриклеточного содержимого. Положительным эффектом СВЧ-экстракции также является сокращение микробной обсемененности обрабатываемого сырья до 10 раз [24].

СВЧ-экстракция позволяет значительно сократить время экстракции широкого спектра соединений, а также уменьшает объемы используемых растворителей, также было доказано, что выходы при экстракции БАВ из многих видов сырья превосходят традиционные методы, такие как мацерацию, экстракцию в аппарате «соклет» и др. Основным недостатком данного метода являются значительные энергозатраты [1, 48].

Однако, в некоторых случаях увеличение выхода БАВ при обработке СВЧ-излучением не происходит. Данные изменения возможно происходят из-за недостаточного разрушения оболочки клетки или деструкции целевых компонентов [8].

Ультразвуковая экстракция - это метод, который используется для разрушения растительного материала и извлечения БАВ. Метод основан на явлении акустической кавитации, которое заключается в образовании пузырьков и последующем разрыве, вызывающем высвобождение БАВ, причем этот разрыв зависит от условий экстракции (Рис. 2) [11].

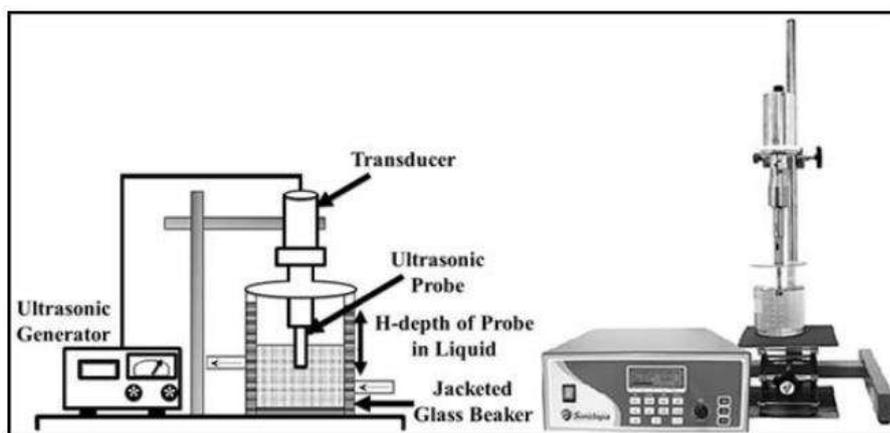


Рис. 2 - Схема экстракции ультразвуком

Кавитационный эффект, создаваемый этой методикой, не только позволяет разрушать клеточные стенки растительного материала, но также способствует уменьшению размера частиц, что благоприятствует взаимодействию растворитель–субстрат. Существует множество переменных, которые могут оказывать влияние на процессы экстракции флавоноидов и, следовательно, на количество экспериментов; для оптимизации конкретного процесса обычно используются экспериментальные матрицы для выполнения процесса оптимизации с целью определения условий, способствующих восстановлению максимального содержания флавоноидов.

К достоинствам данной методики относят высокий выход, а также сокращение времени экстракции [8, 48, 49, 50]. Так как этот метод позволяет избежать длительного нагрева и высоких температур, он может быть рекомендован для экстракции термолабильных веществ [10].

Наиболее рациональными для извлечения большинства видов лекарственного растительного сырья являются интенсивность ультразвука в пределах $1,5 - 2,3 \text{ Вт/см}^2$ [24].

Также некоторые авторы отмечают, что в этом режиме экстракции положительное воздействие на процесс оказывает повышение температуры при УЗ-экстракции [24].

В некоторых случаях увеличение выхода БАВ при данном виде экстракции не происходит. Это происходит потому, что диффузия извлекаемых веществ в экстрагент и деструкции компонентов, которые уже находятся в нем, протекают одновременно [8].

Сверхкритическая флюидная экстракция. Любое вещество при температуре и давлении выше его термодинамической критической точки является сверхкритической жидкостью. В этих условиях свойства жидкостей порождают высокую диэлектрическую проницаемость и низкую вязкость растворителей, используемых для улучшения процесса переноса вещества [10].

Наиболее часто используемым растворителем в этом методе экстракции является углекислый газ (CO_2). многочисленные преимущества, такие как то, что он легко воспламеняется, нетоксичен, дешев и очень легко удаляется из-за своей летучести. Схематично данная методика представлена на рис. 3.

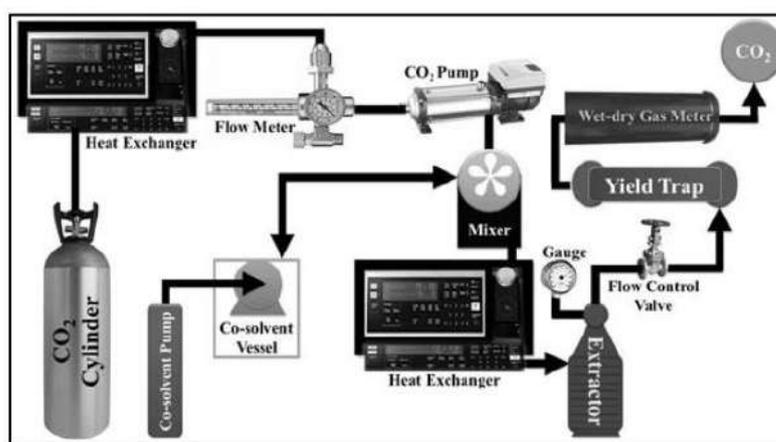


Рис. 3 - Схема сверхкритической флюидной экстракции

Определенными преимуществами данной методики экстракции являются низкие температуры, которые поддерживают целостность продуктов, высокая летучесть растворителей, которые сохраняют отходы на низком уровне, экстракция осуществляется без фазовых превращений, легкое разделение летучих и нелетучих соединений. Однако данная методика представляет собой некоторые ограничения: трудное равновесие между растворенным веществом и растворителем, которое может потребовать применение других процессов разделения, высокое давление препятствующее непрерывному добавлению твердых веществ в экстракт, высокие эксплуатационные расходы, затраты на техническое обслуживание и т. д.

Температура является одним из самых важных факторов в этом процессе. В этой методике использование пониженных температур направлено на то, чтобы сохранить продукт как можно более стабильным [1].

Экстракция при повышенной температуре. Повышение температуры может оказать значительное влияние на процесс экстракции за счёт усиления диффузии и десорбции действующих веществ из растительного материала. При повышении температуры происходит ускоренное движение молекул, уменьшение вязкости экстрагента, что способствует более быстрой диффузии веществ через клеточные стенки и улучшению контакта частиц с

экстрагентом [8, 9]. Повышение температуры на 50 °С приводит к увеличению коэффициента диффузии в 3 раза.

Однако повышение температуры не всегда целесообразно, так как может привести к разрушению термолабильных лекарственных веществ, ухудшению растворения или испарению некоторых веществ (например, эфирных масел), переходу в извлечение большего количества балластных веществ (например, крахмала, пектина, инулина), а также коллоидов и нерастворимых веществ, вследствие разрыва клеточных стенок. Это может привести к выделению в раствор более широкого спектра компонентов, включая балластные вещества, что в свою очередь может снизить качество экстракции и увеличить количество нежелательных соединений, это также затрудняет дальнейшую очистку извлечения, увеличивает его вязкость и ухудшает процесс фильтрации.

1.1.6 Влияние ПАВ на экстракцию флавоноидов из растительного сырья

Для увеличения скорости экстрагирования и большей полноты извлечения используют ПАВ. Эти вещества значительно ускоряют процесс экстракции многих веществ из растительного сырья [17].

ПАВ относятся к органическим соединениям, которые имеют как полярные, так и неполярные группы в своей молекуле. Молекулы ПАВ являются амфифильными или дифильными, что означает, что они обладают как гидрофильной, так и гидрофобной частями. Полярные группы в молекуле ПАВ могут включать группы, такие как гидроксильные ($-OH$), карбоксильные ($-COOH$), аминные ($-NH_2$) и другие. Неполярные углеводородные цепочки, например, алкильные или арильные группы, предоставляют гидрофобные свойства. Это дифильное строение определяет поверхностную активность ПАВ, то есть их способность притягиваться к межфазным границам и адсорбироваться на них [51].

ПАВ могут значительно ускорить процесс экстракции за счет понижения поверхностного натяжения, что облегчает проникновение растворителя в материал. Это способствует лучшему смачиванию поверхности материала и увеличению доступной поверхности для контакта между растворителем и экстрагируемым веществом.

Различные типы ПАВ могут изменять поверхностное натяжение и вязкость растворителя, улучшать промывку, увеличивать массоотдачу и селективность экстракции. Некоторые ПАВ могут также модифицировать межфазные поверхности и улучшать процесс отделения фаз [52, 53].

Некоторые авторы отмечают о способности флавоноидов встраиваться в мицеллы ПАВ, что также увеличивает их извлечение из растительного сырья [17].

Кроме того, ПАВ могут также помочь разрушить эмульсии и дисперсии, которые могут образовываться в процессе экстракции, что может существенно повысить эффективность процесса.

Полярность ПАВ определяет их способность взаимодействовать с различными компонентами растительного сырья.

Молекулярная структура ПАВ может определять их способность образовывать мицеллы или микроэмульсии, что также может повлиять на их способность извлекать флавоноиды.

Существуют различные классификации ПАВ, но основная связана с их способностью диссоциировать в водных растворах: ионогенные, цвиттер-ионные и неионогенные [51].

Ионогенные ПАВ в свою очередь делятся на анионные (АПАВ) и катионные (КПАВ).

АПАВ диссоциируют, образуя поверхностно-активные анионы. Большинство традиционных АПАВ, таких как соли высших алифатических карбоновых кислот, алкилсульфаты, алкилсульфонаты, алкилбензолсульфонаты и другие, включают гидрофобные алифатические радикалы или алкилароматические фрагменты в их структуре. Гидрофильные свойства обычно предоставляются карбоксильными, сульфатными, сульфонатными и фосфатными группами. Катион может представлять собой ион металла (например, натрия, калия, кальция), ион аммония или органический ион (например, ДЭА, ТЭА).

Некоторые анионные ПАВ могут вызывать осаждение алкалоидов и поэтому требуют особого внимания при использовании в процессе экстракции.

КПАВ диссоциируют, образуя поверхностно-активные катионы. Это в основном азотсодержащие и фосфорсодержащие соединения. Кроме них, КПАВ также являются соединения сульфония и сульфоксония, соединения фосфония и соединения иодония.

КПАВ могут эффективно взаимодействовать с анионными группами флавоноидов, такими как карбоксильные и фенольные группы, благодаря их ионообменным свойствам. Также эти свойства могут способствовать более эффективному выделению алкалоидов из растительного материала.

Цвиттер-ионы, также известные как амфифильные ПАВ, являются амфотерными ПАВ. Это означает, что они могут проявлять как катионные, так и анионные свойства в зависимости от условий окружающей среды, таких как pH. Подходящее pH окружающей среды позволяет им находиться в различных ионных формах, что делает их полезными в различных промышленных и научных приложениях, включая обработку воды, моющие средства и процессы экстракции.

Полярная группа в амфотерных ПАВ электронейтральна, но противоположные заряды разделены в пространстве структурными элементами молекулы. К данному виду ПАВ относятся бетаины и сульфобетаины.

Неионогенные ПАВ не диссоциируют на ионы в воде. К ним относятся полиоксиэтиленовые эфиры алифатических спиртов и кислот, алкилфенолов, аминов и других соединений. Неионогенные ПАВ могут также играть важную роль в процессе экстракции, особенно при извлечении гликозидов. Их применение может способствовать увеличению выхода целевых соединений из растительного материала.

Важной характеристикой всех ПАВ является критическая концентрация мицеллообразования (ККМ). ККМ - это минимальная концентрация ПАВ, при которой происходит образование большого количества мицелл в растворе, которые находятся в термодинамическом равновесии с молекулами или ионами. Приближаясь к ККМ, наблюдается резкое изменение физико-химических свойств системы ПАВ - вода, что часто проявляется в появлении характерных изломов на концентрационных зависимостях различных физико-химических параметров. Значение ККМ зависит от структуры углеводородного радикала в молекуле ПАВ и характера полярной группы, а также от таких внешних факторов, как природа растворителя, присутствие электролитов и органических соединений, температура и давление [51].

Использование **смеси ПАВ** вместо отдельных компонентов может быть эффективнее при извлечении флавоноидов по нескольким причинам [51]:

Синергетический эффект: Различные типы ПАВ могут взаимодействовать с флавоноидами в смеси, что приводит к синергетическому усилению их экстракционных свойств. Это может повысить эффективность извлечения и увеличить выход флавоноидов.

Полярность: Флавоноиды могут иметь разную полярность, что делает их экстракцию более эффективной при использовании смеси ПАВ различного типа, способствующей извлечению как более полярных, так и менее полярных соединений.

Улучшение смачиваемости: Смесь различных ПАВ может обеспечить более эффективную смачиваемость флавоноидов, что способствует их более полному выделению из растительного материала.

Адсорбционные свойства: Различные ПАВ могут воздействовать на поверхность твердой фазы (например, клеточные стенки растительных клеток), улучшая доступность флавоноидов для экстрагента и способствуя их более эффективному извлечению.

Из-за разных свойств каждый тип ПАВ может проявлять разное влияние на процесс извлечения флавоноидов из растительного сырья.

Например, катионные ПАВ могут быть эффективными при извлечении анионных флавоноидов, а неионогенные ПАВ могут обеспечивать лучшую смачиваемость растительного

материала. Поэтому выбор оптимальной смеси ПАВ зависит от конкретных условий экстракции и целей исследования.

Существует теория, что ПАВ способствуют лучшему набуханию растительного сырья не только за счет уменьшения поверхностного натяжения экстрагента, но и за счет того, что они укрепляют структуру воды [40]. В статье «Влияние поверхностно-активных веществ на теплоту смачивания и набухания душицы мелкоцветковой (*Origanum tittanthum*)» авторы отмечают, что «В объеме воды имеются ассоциаты (s-структура), образованные за счет водородных связей между молекулами воды, а также взаимно не связанные свободно двигающиеся (трансляционные) молекулы (h-структура). При постоянной температуре отношение этих структур - число постоянное. Молекулы (или ионы) поверхностно-активного вещества размещаясь в “пустотах” между s-структурами (интерстициальное растворение), усиливают связи между молекулами воды; вероятность перехода h-структуры в s-структуру повышается. Число трансляционно движущихся молекул воды уменьшаются. В результате, значение теплового эффекта смачивания дисперсии растения понижается» [40].

Увеличение количества ПАВ в растворе дает возможность взаимного связывания молекул растворенного вещества. При постоянной температуре отношение s- и h-структур в некоторой степени становится неизменным. В результате тепловой эффект смачивания растительного сырья в растворе почти не изменяется. Повышение концентрации раствора приводит к связям между молекулами растворенного вещества, и переходу молекулярного раствора в мицеллярный. Между молекулами, составляющих мицеллу, в некотором смысле имеется «пустоты» (например, мицелла Гартли), в которых вероятность расположения (иммобилизации) трансляционно движущихся молекул воды, возрастает. В результате количество теплового эффекта смачивания резко понижается. Еще большее повышение концентрации ПАВ приводит к увеличению числа молекул, присоединяющихся к мицелле. Появляется мицелла, относящаяся к мицелле Мак Бена, и плотность молекул в мицелле относительно возрастает, вытесняются иммобилизованные молекулы воды и в объеме воды число h-структур увеличивается. Такое обстоятельство приводит к возрастанию теплового эффекта смачивания. Однако тепловой эффект мицеллярного раствора значительно меньше, чем тепловой эффект молекулярного раствора.

Таким образом, выбор оптимального типа ПАВ зависит от конкретных целей экстракции и характеристик растительного сырья, а также от требований к качеству и количеству извлекаемых соединений.

Однако, в некоторых случаях растительное сырье содержит природные ПАВ, которые могут быть достаточно эффективными для разрушения эмульсий и улучшения процесса экстракции без необходимости добавления дополнительных ПАВ.

В таких ситуациях добавление дополнительных ПАВ может быть излишним и не приводить к ускорению процесса экстракции, поскольку природные ПАВ уже выполняют необходимые функции.

1.2 Процессы, происходящие при экстракции БАВ из растительного сырья

Во время процесса экстракции происходит вымывание как растворимых, так и нерастворимых вещества из растительного сырья, таких как крахмал, слизь, белки и пектиновые вещества.

Через макропоры клеток протекает процесс диффузии, когда молекулы экстрагента и растворенных веществ перемещаются из области более высокой концентрации в область более низкой концентрации.

Через микропоры оболочки клетки происходят процессы осмоса и диализа. Осмос - это движение воды из области с более низкой концентрацией растворенных веществ в область с более высокой концентрацией. Диализ - это процесс разделения молекул по размеру и заряду, когда молекулы меньшего размера и с меньшим зарядом проходят через мембрану, а молекулы большего размера и с большим зарядом задерживаются.

Некоторые вещества внутри клеток связаны между собой или растительной оболочкой. Таким образом, в процессе экстракции происходит процесс десорбции ряда веществ [24].

1.2.1 Массообменные процессы при экстракции БАВ из растительного сырья

Основными физико-химическими процессами экстракции являются: диффузия, протекающая до наступления динамического равновесия концентраций растворенных веществ в клетке и вне ее, а также адсорбция (процесс сорбции молекул растворенного вещества на поверхности твердой фазы) и десорбция (переход веществ с поверхности твердой фазы в экстрагент) [18].

Диффузия – это процесс перемещения молекул растворенного вещества через мембрану клетки. Она происходит в результате разности концентраций растворенных веществ внутри и вне клетки. Этот процесс особенно важен при извлечении активных компонентов из растительного сырья, так как он определяет скорость и эффективность экстракции. Данный процесс называют массообменом, или массопередачей, в изолированной замкнутой системе, состоящей из двух или большего количества фаз. Он возникает самопроизвольно и протекает до установления динамического фазового равновесия, при котором в единицу времени из первой фазы во вторую переходит столько же молекул, сколько в первую из второй [18].

Передача массы из сырья с клеточной структурой происходит через три последовательные и взаимосвязанные стадии, которые определяются процессами диффузии [24]:

1. "Внутренняя диффузия", которая охватывает все явления переноса веществ внутри частиц сырья.
2. "Свободная диффузия", где происходит перенос вещества в пределах диффузионного пограничного слоя раствора экстрактивных веществ, вышедшего на поверхность частиц растительного материала.
3. Перенос вещества движущимся экстрагентом, известный как конвективная диффузия.

На первой стадии происходит перенос молекул растворенных веществ сначала в экстрагент, присутствующий в межклеточном пространстве, затем в экстрагент, заполняющий микро- и макротрещины, и, наконец, на поверхность кусочков материала. За определенный период времени концентрация раствора экстрактивных веществ выравнивается во всех точках внутри частицы сырья и на ее поверхности [24].

Затем происходит диффузия веществ от поверхности частицы сырья через диффузионный пограничный слой растворенных экстрактивных веществ в окружающий сырье экстрагент. Этот пограничный слой создает сопротивление для дальнейшего перемещения экстрагируемых веществ в экстрагент и его толщина зависит от гидродинамических процессов, происходящих у поверхности. Следовательно, процесс активируется при перемешивании - чем выше скорость перемешивания, тем тоньше пограничный слой [24].

Фактор интенсивности в процессах массообмена, таких как диффузия и экстракция, обычно связан с разностью концентраций растворенных веществ в различных фазах. Это является следствием второго закона термодинамики, который утверждает, что самопроизвольные процессы стремятся к установлению равновесия, минимизируя разность потенциалов или факторов интенсивности.

По характеру диффузии различают три основных *этапа экстракции*.

1. Диффузия экстрактивных веществ из внутренней части клеток к их поверхности.
2. Диффузия веществ через ламинарный подслоя, окружающий частицу и возникающий за счёт сил трения (сил вязкости) экстрагента при протекании через слой сырья.
3. Конвективный перенос экстрактивных веществ от наружной поверхности ламинарного подслоя в общий поток растворителя. Конвективная (принудительная) диффузия тем эффективнее, чем интенсивнее гидродинамический режим (перемешивание и циркуляция). От гидродинамического режима зависит и толщина ламинарного подслоя.

Процесс массопередачи при установившемся режиме описывает уравнение (7):

$$dG = K \cdot F \cdot (C_1 - C_2) \cdot dt \quad (7)$$

где K — коэффициент массопередачи, м/с; F — поверхность растительного материала, через которую проходит массообмен, м²; t — время экстракции, с; C_1 — концентрация вещества в твёрдой фазе, кг/м³; C_2 — концентрация веществ в жидкой фазе, кг/м³.

Коэффициент массопередачи рассчитывают по формуле (8):

$$K = \frac{1}{\frac{R}{D_B} + \frac{d}{D_{ж}} + \frac{1}{\beta}} \quad (8)$$

где D_B , — коэффициент внутренней диффузии вещества (из-за наличия ряда пористых перегородок внутри клетки он приблизительно в 10 раз меньше коэффициента молекулярной диффузии в жидкости); $D_{ж}$, — коэффициент молекулярной диффузии вещества в жидком ламинарном подслое; R — средний радиус размера частицы растительного материала (или 1/2 размера частицы, если она не круглая), м; d — толщина среднего диффузионного слоя вокруг частицы (ламинарный подслоя), м; β — коэффициент массоотдачи (конвективной диффузии).

Основной фактор, определяющий скорость массопередачи, — внутреннее сопротивление твёрдой фазы. Уменьшение размера частиц приводит к снижению сопротивления.

По закону Фика—Щукарева количество растворённого вещества G (кг), продиффундировавшего сквозь некоторый слой растворителя (изэкстрагента), прямо пропорционально разности концентраций этого слоя ($C_1 - C_2$) (кг/м), времени t (ч), площади поверхности слоя E (м²) и обратно пропорционально толщине диффузионного слоя d (м) (уравнение 9).

$$G = - \frac{D * F * t * (C_1 - C_2)}{d} \quad (9)$$

где D — коэффициент диффузии, равный количеству вещества, способного продиффундировать в единицу времени через единицу поверхности при разности концентраций, равной единице, м²/ч.

Коэффициент диффузии зависит от рода диффундирующего вещества (K_0), прямо пропорционален температуре (T) и обратно пропорционален вязкости извлекателя (μ) (уравнение 10).

$$D = \frac{K_0 * T}{\mu} \quad (10)$$

где K_0 — постоянная, не зависящая от температуры и обратно пропорциональная радиусу частиц (r) растворённого вещества (уравнение 11).

$$K_0 = \frac{R}{6 * N_0 * \rho * r} \quad (11)$$

где R — газовая постоянная (8,314 462 618 153 24 Дж/(моль·К)); N_0 - число Авогадро (6,023 x 10²³); r — радиус диффундирующих частиц, м; T — абсолютная температура, градус; μ — вязкость, кг*с/м².

Таким образом, коэффициент диффузии увеличивается с повышением температуры и уменьшается с увеличением вязкости среды и размера частиц экстрагируемого вещества. Чем меньше радиус частиц, тем быстрее идёт диффузия [18].

На третьем этапе происходит конвективная диффузия, которая отличается от молекулярной тем, что перенос вещества происходит не отдельными молекулами, а объемами его раствора. Этот процесс возникает вследствие перемещения экстрагента относительно сырья [24].

Чем интенсивнее перемешивание, тем выше коэффициент конвективной диффузии (β). Он становится максимальным при турбулентном движении. Поэтому при расчётах коэффициента массопередачи третьей составляющей можно пренебречь. В этом случае определяющей для процесса экстракции становится первая составляющая знаменателя, т.е. величина коэффициента внутренней диффузии (D_v), так как свободная диффузия веществ в ламинарном подслое (вторая составляющая) оказывает незначительное влияние вследствие его малой толщины (d). Для аналитического расчёта коэффициента массопередачи (β) часто используют выражение, полученное из уравнения массопередачи (уравнение 12, 13):

$$B = \frac{m}{F \cdot \Delta C \cdot \tau} \quad (12)$$

$$\Delta C = \frac{\Delta C_n - \Delta C_k}{2,3 \cdot \lg \frac{\Delta C_n}{\Delta C_k}} \quad (13)$$

где m — количество проэкстрагированного вещества; F — поверхность экстрагирования твёрдой фазы; ΔC — среднелогарифмическая разность концентраций; ΔC_n и ΔC_k — начальная и конечная разности концентраций соответственно.

Уравнение Фика-Шукарева может быть также выражено в дифференциальной форме (первый закон Фика) (уравнение 14):

$$dG = -D \cdot F \cdot \frac{\partial c}{\partial x} \cdot d\tau \quad (14)$$

где $\frac{\partial c}{\partial x}$ — градиент концентрации, показывающий изменение концентрации за бесконечно малый промежуток времени ($d\tau$) на единице длины нормали (∂x). По мере протекания процесса градиент концентраций падает [18].

Второй закон Фика описывает динамический процесс, идущий при изменении градиента концентрации (уравнение 15):

$$\frac{dc}{d\tau} = D \cdot \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (15)$$

Уравнение показывает изменение концентрации вещества в определённой точке в зависимости от времени. В пространственной форме уравнение имеет следующий вид (16):

$$\frac{dc}{dt} = D_m * \left(\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} \right) \quad (16)$$

где D_m , — коэффициент массопроводности.

Таким образом, диффузия продолжается до тех пор, пока не наступит динамическое равновесие концентраций в системе твёрдое тело-жидкость. Поэтому в процессе экстракции необходимо поддерживать максимальную разность концентраций, чего на практике достигают перемешиванием, циркуляцией экстрагента или заменой извлечения чистым экстрагентом (можно осуществлять периодически и непрерывно).

Стоит отметить, что количество вещества, протиффундировавшего через слой сырья, прямо пропорционально длительности процесса. Во время экстракции в извлечение переходят не только БАВ, но и балластные вещества. Поэтому о конце процесса извлечения необходимо судить не по сумме экстрактивных, а по количеству целевых компонентов. Которые (например, алкалоиды, гликозиды) имеют меньшую молекулярную массу (300- 500) и диффундируют быстрее ВМВ, в этом случае увеличение длительности экстракции нецелесообразно (ухудшается качественный состав извлечения вследствие большого содержания балластных веществ). Таким образом, нужно при помощи факторов, ведущих к интенсификации процесса экстракции, стремиться к увеличению полноты извлечения.

1.2.2 Кинетика процесса экстракции БАВ из растительного сырья

Кинетика процесса экстракции может быть описана различными математическими моделями, в зависимости от условий экстракции и свойств растительного материала. Это позволяет получить кинетические характеристики процесса экстрагирования, что дает возможность более глубоко изучить процесс и разработать математические модели, описывающие его. Для анализа кинетики таких процессов применяются несколько широко используемых подходов, таких как уравнения первого или второго порядка, модель Пелега, модель Минчева и Минкова и другие. Они применяются для описания динамики извлечения компонентов из различных типов растительного сырья [8].

Уравнение первого порядка - это уравнение, которое описывает кинетику процесса, зависящего линейно от концентрации компонента, подлежащего экстракции (17):

$$\frac{dt}{dc} = - k_1 c \quad (17),$$

где c - концентрация экстрагируемого компонента, t - время, а k_1 - скоростная константа первого порядка.

Уравнение второго порядка – это уравнение, описывающее кинетику процесса, который зависит квадратично от концентрации экстрагируемого компонента (18):

$$\frac{dt}{dc} = k_2 c^2 \quad (18),$$

где k_2 - скоростная константа второго порядка.

Модель Пелега – это эмпирическая модель, широко используемая для аппроксимации кривых экстракции (19):

$$\frac{x}{x_\infty} = kt^n \quad (19),$$

где X - количество экстрагированного компонента к моменту времени t , X_∞ - общее количество экстрагированного компонента, k и n - параметры модели

Модель Минчева и Минкова – это еще одна эмпирическая модель, используемая для описания кинетики экстракции (20):

$$X = kt^m(1 - e^{-kt}) \quad (20),$$

где k и m - параметры модели

Эти модели используются для аппроксимации экспериментальных данных о кинетике процесса экстракции и помогают лучше понять и оптимизировать процесс.

Чтобы получить надежные кинетические характеристики процесса экстракции БАВ из растительного материала, необходимо учитывать влияние всех условий экстракции.

Многофакторность процесса экстракции биологически активных веществ (БАВ) из растительного сырья при получении кинетических характеристик вызывает определенные трудности. Полученные данные о кинетике обычно применимы только к конкретному методу извлечения, который определяется типом сырья, условиями процесса и составом компонентов. Поэтому сравнение кинетических параметров для извлечения компонентов из растительного сырья при различных методах экстракции часто не проводится и требует дополнительного исследования [8].

Процесс экстрагирования начинается с поверхности частиц растительного сырья. Постепенно экстрагент проникает во внутренние поры частицы по мере их перехода в объем раствора. Поверхность, на которой происходит взаимодействие между экстрагентом и извлекаемым компонентом, постепенно смещается внутрь частицы. В этом процессе сопротивление массопереносу в области между указанной поверхностью и наружной поверхностью частицы возрастает с течением времени. Если через $\beta_v(t)$ обозначить эффективный коэффициент массоотдачи через эту область, то поток экстрагируемого компонента $j(t)$, отнесенный к единице поверхности частицы, может быть выражен с помощью уравнения массоотдачи (21) [54]:

$$j(t) = \beta_B(t)[C_H - C_{гр}(t)] \quad (21),$$

где C_H – концентрация извлекаемого компонента на поверхности, где происходит взаимодействие реагентов, и она соответствует концентрации насыщенного раствора; $C_{гр}$ – концентрация извлекаемого компонента на поверхности частицы растительного материала.

Тот же удельный массовый поток $j(t)$ можно описать через уравнение массообмена, применяемое к внешнему диффузионному пограничному слою частицы (22) [54]:

$$j(t) = \beta_H(t)[C_{гр}(t) - C(t)] \quad (22),$$

где β_H – коэффициент массоотдачи от поверхности частицы в объем экстрагента, который зависит только от гидродинамических условий в аппарате; $C(t)$ – концентрация извлекаемого компонента в объеме раствора.

Из уравнений 1.2.2.5 и уравнений 1.2.2.6 можно получить следующее (23):

$$j(t) = \frac{C_H - C(t)}{\frac{1}{\beta_B(t)} + \frac{1}{\beta_H}} \quad (23),$$

Это означает, что скорость экстрагирования с течением времени снижается из-за уменьшения движущей силы массопереноса и увеличения диффузионного сопротивления внутри частицы. Именно процесс массопереноса внутри частицы в конечном итоге определяет продолжительность процесса экстрагирования при заданном уровне извлечения [54].

Также имеет место уравнение удельного потока через скорость изменения концентрации в объеме суспензии $C(t)$ (24) [54]:

$$j(t) = \frac{V}{S} \frac{dC(t)}{dt} \quad (24),$$

где S – общая поверхность всех частиц в суспензии; V – ее объем экстрагента.

Из уравнения 1.2.2.6 и 1.2.2.7 следует следующее (25) [54]:

$$\beta_B(t) = \left[\frac{C_H - C(t)}{\frac{V}{S} \frac{dC(t)}{dt}} - \frac{1}{\beta_H} \right]^{-1} \quad (25)$$

1.2.3 Явление гидродинамики в слое растительного материала

В процессе экстракции особое место занимает *явление гидродинамики в слое растительного материала*. При движении экстрагента через пористый неоднородный слой растительного сырья внутри каналов сложной формы скорость жидкости неоднородна из-за взаимодействия с твёрдыми частицами. В таких условиях удобно использовать фиктивную (среднюю) скорость, которая определяется как отношение объемного расхода жидкости к площади поперечного сечения потока. Фиктивная скорость позволяет упростить расчёты, представив сложную систему движения жидкости через пористый неоднородный слой как эквивалентный поток с однородной скоростью. Это облегчает применение законов

гидродинамики для определения разности давлений, необходимой для перемещения определённого количества жидкости с нужной скоростью через слой материала.

Эффективность диффузионного процесса в экстракции зависит от следующих факторов: дельной загрузки экстрактора, общей длины (высоты) слоя растительного сырья в экстракторе, его пористости, скорости и принципа подачи экстрагента, а также от равномерности движения экстрагента.

Дельная загрузка экстрактора - это количество извлекаемого вещества на единицу объема экстрактора. Чем выше дельная загрузка, тем больше вещества может быть извлечено за определенный период времени, при условии, что остальные параметры процесса остаются постоянными.

Общая длина (высота) слоя. Длина слоя материала в экстракторе (удельная загрузка) определяет путь, который должен пройти экстрагент для того. Увеличение длины слоя может повысить эффективность процесса, позволяя более полно использовать доступную поверхность материала.

Пористость - это доля объема материала, занятая полостями или порами, которые могут заполняться жидкостью. Пористость зависит от удельной загрузки сырья в экстрактор, размера и формы частиц измельченного растительного сырья. При увеличении удельной загрузки экстрактора общая пористость слоя может уменьшаться из-за более плотного упаковывания материала. Это может привести к уменьшению объема доступных пор для жидкости и, следовательно, увеличению сопротивления прохождению жидкости через слой материала. При спресовывании слоя материала поры могут сжиматься или даже закрываться, что приводит к уменьшению доступного пространства для проникновения жидкости. Это создает "мёртвое пространство пор" - области, где жидкость не может проникнуть из-за закрытых или слишком узких пор. Уменьшение доступной поверхности для контакта между материалом и экстрагентом снижает эффективность массообмена, так как обмен веществами происходит на поверхности материала.

Эффективному и быстрому проникновению экстрагента в сырье мешает наличие воздуха. Для его удаления часто применяются методы вакуумирования смеси сырья и экстрагента или замена экстрагента на газ, легко растворимый в нем, на этапе смачивания сырья, с последующей заменой газа на необходимый экстрагент [24].

Скорость подачи экстрагента. Увеличение скорости поступления экстрагента может увеличить скорость диффузии БАВ из материала в экстрагент и ускорить достижение равновесия между концентрациями в материале и экстрагенте. Это может привести к более высокой скорости извлечения и увеличению выхода целевых соединений. Однако важно учитывать, что увеличение

скорости поступления экстрагента также может вызвать нежелательные эффекты, такие как турбулентность или неравномерное распределение экстрагента внутри экстрактора. Это может привести к неоднородности процесса извлечения и снижению его эффективности.

Принцип подачи экстрагента. При подаче экстрагента сверху происходит неравномерное сжатие слоя материала в экстракторе. Разница между давлением жидкости, окружающей частицу, и давлением вышележащих частиц играет ключевую роль в этом процессе. Наибольшее сопротивление проходу жидкости возникает в нижней части экстрактора, где давление жидкости наибольшее, а сжимающие усилия наибольшие. Решением этой проблемы служит установление промежуточных решеток или подача экстрагента сверху.

Равномерность движения экстрагента. Важно, чтобы экстрагент равномерно распределялся по сечению экстрактора, чтобы обеспечить равномерный контакт с материалом и извлечение вещества без образования каналов или прослойки. Для увеличения объемной нагрузки экстракторов измельченное сырье стремятся загружать с большей плотностью. Когда растительное сырье измельчается, частицы разных размеров образуют смесь.

В результате формирования слоя в экстракторе, эластичные частицы увеличивают поверхность соприкосновения и изгибы, а мелкие частицы могут закрывать каналы между крупными, увеличивая извилистость пути движения жидкости. При набухании сырья упругие свойства слоя снижаются, что приводит к его деформации под воздействием давления экстрагента. Эти процессы содействуют образованию извилистости и неравномерности каналов, увеличивая гидравлическое сопротивление слоя.

Изменения направления и скорости движения жидкости в слое, состоящем из извилистых каналов переменного сечения, часто приводят к потере напора. Эта потеря обусловлена как силами вязкости, вызванными трением жидкости о частицы материала, так и силами инерции, связанными с извилистым движением по каналам. Влияние каждой из этих составляющих на общую потерю напора зависит от структуры слоя и может быть описано уравнением 26, где первый член уравнения выражает потерю напора от сил трения, а второй — от сил инерции.

$$\frac{\Delta P}{L} = aw + \delta \rho w^2 \quad (26),$$

где $\frac{\Delta P}{L}$ — потеря напора на единицу высоты слоя, Н/м²*с; w — фиктивная (средняя) скорость движущейся сквозь слой среды, м/с; ρ — плотность среды, кг/м³; a и d — коэффициенты, являющиеся функцией переменных, характеризующих свойства среды и свойства слоя.

Д.О. Коллеровым было предложено уравнение, включающее большее количество гидродинамических параметров, характеризующих слой (уравнение 27):

$$\frac{\Delta P}{Lw} = K_0 \left(\frac{Lg}{L}\right)^2 * S_0^2 \frac{(1-\varepsilon)^2}{\varepsilon^3} * \mu + K_x \left(\frac{Lg}{L}\right)^3 * S_0 \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon^3} * \rho * w \quad (27)$$

где S_0 — удельная поверхность материала, $\text{м}^2/\text{м}^3$; ε — пористость (порозность) слоя сырья, $\text{м}^3/\text{м}^2$; $\frac{Lg}{L}$ — относительная длина поровых каналов (извилистость), $\text{м}/\text{м}$; L — высота слоя, м ; Lg — действительная длина порового канала, м ; μ — динамический коэффициент вязкости, $\text{н}^*\text{с}/\text{м}^2$; K_0 — коэффициент, равный 2,5 (фактор формы); K_x — коэффициент, для растительных материалов равный 0,227.

Следует отметить, что увеличение скорости вращения ротора значительно усиливает процесс экстракции. Особенно заметное влияние скорости вращения ротора проявляется на начальном этапе процесса, когда подвергаются экстрагированию поверхностные слои частиц растительного сырья [54].

Упругость сырья зависит от его вида. А наибольшего сопротивления слой растительного материала достигает после полного набухания.

1.3 Флавоноиды как класс соединений

1.3.1 Структура и классификация флавоноидов

Флавоноиды получили свое название от латинского слова *flavus* - желтый, поскольку первые выделенные из растений вещества, относящиеся к этой группе, имели желтую окраску [55].

Считается, что флавоноиды были открыты нобелевским лауреатом Сент-Дьердем, который в 1930 году выделил вещество цитрин из кожуры лимона, регулирующее проницаемость капилляров из кожуры лимона. Флавоноиды были впервые отнесены к витаминам Р (из-за способности повышать проницаемость капилляров) и витамина С (потому что некоторые флавоноиды имели сходные свойства с витамином С). Однако, в некоторых источниках указано, что изучение флавоноидов началось еще в первой половине XIX в., когда в 1814 г. Шевроле выделил из коры дуба кристаллическое вещество, названное кверцетрином [56].

Флавоноиды - это многочисленная группа фенольных соединений, в основе структуры которых лежит скелет из 15 карбонов ($\text{C}_6 - \text{C}_3 - \text{C}_6$), сгруппированный в два бензольных кольца (А и В), соединенных между собой трехуглеродной цепочкой (пропановым мостиком). Посредством пропанового мостика в большинстве флавоноидов образуется гетероцикл, являющийся производным пирана или γ -пирона [57]. Значительное количество флавоноидов можно рассматривать как производные 2-фенилхромана (флавана, рис. 3) или 2-фенилхромона (флавона, рис. 4) [58, 59].

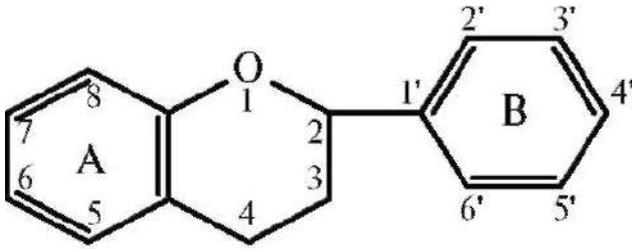


Рис. 3 - Флаван

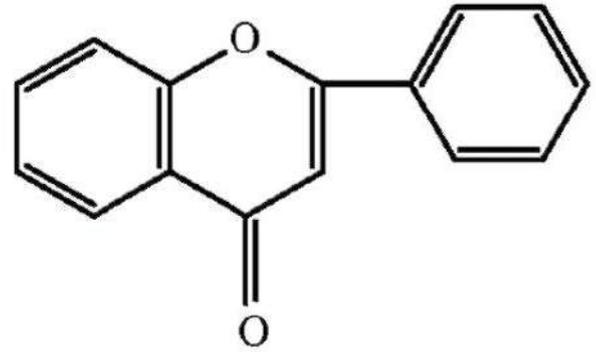


Рис. 4 - Флаванон

Флавоноидные гликозиды представляют собой соединения, в которых один или несколько моносахаридных остатков присоединены к агликону, который является основной структурной единицей флавоноидов. Эти сахара обычно присоединяются к гидроксильным группам на углеродных атомах C_3 или C_7 агликонов [60].

Флавоноиды представляют собой водорастворимые пигменты, присутствующие в царстве растений в качестве вторичных метаболитов растений, которые могут быть обнаружены специфически в цитозоле и храниться в вакуоли растительных клеток [1].

В основе классификации лежит [58]:

- 1) степень окисленности и гидроксильирования пропанового фрагмента;
- 2) положение бокового фенильного радикала;
- 3) величина гетероцикла.

Различия по степени окисления и степени ненасыщенности гетероциклического кольца (или его отсутствием в случае халконов) приводит к появлению шести различных классов: изофлавоны, флаванон, флаванон, флаван-3-ол, флавонол и антоцианидин, каждый из которых имеет особые характеристики [58].

В зависимости от положения кольца В выделяют следующие подгруппы флавоноидов:

- I. Собственно флавоноиды (эуфлавоноиды) с боковым фенильным радикалом у C_2 .
- II. Изофлавоноиды с фенильным радикалом у C_3 .
- III. Неофлавоноиды с фенильным радикалом у C_4 .
- IV. Бифлавоноиды.

Флавоноиды, получаемые из растительного сырья, называют биофлавоноиды. Они представляют большой интерес, так как обладают разнообразными фармакологическими эффектами, они также метаболитно близки к организму человека, что в конечном счете определяет перспективность и востребованность веществ природного происхождения [28]. Они

представляют собой группу растительных компонентов, называемых фенольными соединениями [13].

1.3.2 Распространение флавоноидов

Было идентифицировано более 7000 флавоноидов, которые считаются веществами, оказывающими лечебное действие на здоровье человека [1]. Кроме мономерных флавоноидов существуют димерные формы флавоноидов. В этом случае флавоноиды соединяются между собой углеродными связями или конденсируются с другими фенольными соединениями: фенолкарбонowymi и ксикоричными кислотами, лигнанами, изопреноидами и алкалоидами [58].

Флавоноиды в различных количествах содержатся почти во всех растениях, встречаются также в водорослях, грибах, микроорганизмах и насекомых. В растениях флавоноиды содержатся в листьях, цветках и плодах, реже - в стеблях и подземных органах [2].

Флавоноиды в растениях встречаются как в виде агликонов, так и в виде гликозидов. В качестве сахаров в флавоноидных гликозидах присутствуют глюкоза, галактоза, ксилоза, арабиноза, рамноза. Обычно флавоноидные гликозиды содержат не более трех моносахаридных остатков [60].

В растениях большинство флавоноидов присутствует в виде гликозидов, которые лучше растворяются в клеточном соке. Основную группу связанных флавоноидов составляют О-гликозиды; в меньшей степени распространены С-гликозиды (гликофлавоноиды). В качестве сахарных остатков чаще встречаются: из гексоз - глюкоза, галактоза; из пентоз - ксилоза, арабиноза; из метилированных пентоз - рамноза; из уроновых кислот - кислота глюкуроновая [1].

Флавоноиды известны своими антиоксидантными свойствами и способностью защищать организм от повреждений, вызванных окислителями. Окислители, такие как ультрафиолетовые лучи, загрязнение окружающей среды и химические соединения в пище, могут вызывать повреждения клеток и тканей в организме путем повышения уровня свободных радикалов. Свободные радикалы являются нестабильными молекулами, которые могут причинить повреждения клеткам, ДНК и другим биологическим молекулам. Флавоноиды могут помочь предотвратить или уменьшить такие повреждения, действуя как антиоксиданты, которые нейтрализуют свободные радикалы и защищают клетки от окислительного стресса [2, 3].

Флавоноиды содержат в своей химической структуре переменное количество фенольных гидроксильных групп и отличные свойства хелатирования железа и других переходных металлов, которые придают им высокую антиоксидантную способность; поэтому они играют существенную роль в защите от окислительного повреждения и оказывают терапевтическое действие. Они обладают широким спектром действия, включая ишемические болезни сердца или рак атеросклероза [5, 61].

1.3.3 Фармакологические свойства флавоноидов

Как известно, направленность фармакологических эффектов биофлавоноидов определяется химическими различиями в их структуре. Так, диосмин, получаемый из растений рода Rutaceae, как известно, в первую очередь обладает доказанным капилляропротекторным, венотонизирующим, лимфостимулирующим и противоотечным действием. Линарин является флавоновым гликозидом, обладающим обезболивающей, противовоспалительной активностью. Изорхоифолин – это флавоон, снижающий проницаемость сосудов, улучшающий микроциркуляцию и проявляющий противовоспалительную и слабую антирадикальную активность. Гесперидин, в свою очередь, классифицируется как цитрусовый флавоноид, который укрепляет капиллярную сеть и обладает доказанными антиоксидантными, противовоспалительными и высокими эндотелиопротекторными свойствами. Противовоспалительная активность этого вещества обусловлена ингибированием оксигеназного пути, метаболизма арахидоновой кислоты, синтеза простагландина E2. Данные литературы свидетельствуют, что гесперидин уменьшает агрегацию тромбоцитов и способен предотвращать микрососудистые нарушения путем ингибирования фермента гиалуронидазы, которая регулирует проницаемость капиллярных стенок [6].

Флавоноиды известны своими антиоксидантными свойствами и способностью защищать организм от повреждений, вызванных окислителями. Окислители, такие как ультрафиолетовые лучи, загрязнение окружающей среды и химические соединения в пище, могут вызывать повреждения клеток и тканей в организме путем повышения уровня свободных радикалов. Свободные радикалы являются нестабильными молекулами, которые могут причинить повреждения клеткам, ДНК и другим биологическим молекулам. Флавоноиды могут помочь предотвратить или уменьшить такие повреждения, действуя как антиоксиданты, которые нейтрализуют свободные радикалы и защищают клетки от окислительного стресса [4].

Выраженность желчегонного действия возрастает в ряду: флавоны-халконы-флаваноны. Флавонолы в основном оказывают влияние на обезвреживающую функцию печени, механизм действия связан с изменением окислительно-восстановительных процессов в митохондриях клеток печени.

Флавоноиды обладают выраженным спазмолитическим эффектом (агликоны сильнее, чем гликозиды) [18]. Их спазмолитическое действие на коронарные сосуды и сосуды внутренних органов немного уступает по силе кумаринам.

Большинство флавоноидов обладает умеренным диуретическим эффектом, в механизме которого основная роль принадлежит расширяющему действию на сосуды почек. Противоязвенное действие наиболее выражено у гликозидов флавонолов и халконов. Данная

активность связана с включением этих соединений в специфические биохимические реакции, происходящие в стенке желудка [62].

Изофлавоноиды проявляют эстрогенную активность [18].

Таким образом, флавоноидные соединения обладают сильным антиоксидантным действием с комплексной фармакологической активностью, которая включает капилляроукрепляющее, антиаллергическое, спазмолитическое, анаболическое, антитромботическое, вентонизирующее, гипохолестеринемическое, антиатеросклеротическое, кардиостимулирующее, противоопухолевое, противовирусное, гепатозащитное и эндотелиопротекторное действие [1, 43, 58, 63]. Отмечено противовоспалительные (в том числе снижение нейрофосфалений при нейродегенеративных заболеваниях, таких как Паркинсон, Альцгеймер, рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз и других [64]), противовирусное и противоаллергическое действие флавоноидов, а также их защитная роль против сердечно-сосудистых заболеваний [6, 65, 66, 67], рака [68] и различных патологий. Однако, данные эффекты проявляются в больших дозировках флавоноидов [1].

В Государственный реестр лекарственных средств, разрешенных к применению в Российской Федерации, включен лишь антиоксидант диквертин, представляющий собой дигидрокверцетин (таксифолин) – флавоноид, получаемый из древесины лиственницы сибирской. Однако считается, что лекарственные растения, содержащие флавоноиды рутин, дигидрокверцетин, гиперозид, кверцетин, бисапигенин, являются перспективным источником антиоксидантных и лекарственных средств. Наиболее вероятное проявление антиоксидантной активности возможно в случае флавоноловых гликозидов - рутина и гиперозида, достаточно велика вероятность проявления антиоксидантной активности кверцетина и бисапигенина [1, 6].

В литературе имеются данные, что антиоксидантный эффект флавоноидов реализуется по комбинированному механизму и наиболее эффективны комбинации или смеси флавоноидов (в первую очередь природные), что обусловлено синергизмом их действия. Так, более слабый антиоксидант гесперидин способствует восстановлению расходуемых на обезвреживание радикалов более активных молекул диосмина, выступая в качестве синергиста последнего в реакциях обрыва цепей свободнорадикального процесса перекисного окисления липидов. Кроме того, изофлавоноидные агликаны, в отличие от гликозидов, способны абсорбироваться из желудка, поэтому можно предположить, что благодаря наличию в составе диосмина при приеме комбинации перечисленных выше флавоноидов эффект будет наступать быстрее [63].

Большинство флавоноидов обладает высокой Р-витаминной активностью, то есть способностью уменьшать хрупкость и проницаемость стенок капилляров. Эти свойства наиболее выражены у флаванов и флаванонов, особенно у рутина [69]. Для появления биологической

активности необходимо наличие двух гидроксильных групп в положениях 5 и 7 ядра бензопирона и заместителя в положениях 3' и 4' фенильного радикала [18]. Существенно сказывается на капилляроукрепляющей активности отсутствие в флавоноидных генинах оксигрупп в положениях 3 и 3'. Усиление действия наблюдается при переходе от агликонов к монозидам, а снижение - в ряду биозидов и триозидов. Некоторые авторы отмечают, что для лечения хронического венозного отека рекомендованы всего лишь три препарата из имеющихся на фармацевтическом рынке: МОФФ, рутин и гидроксиэтилрутозиды, экстракт иглицы [70].

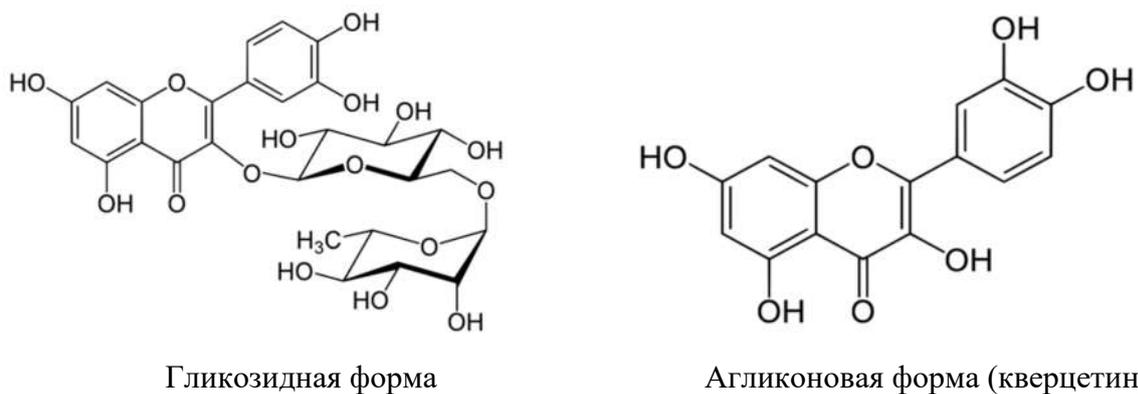
Это доказывает актуальность использования лекарственного сырья, содержащего рутин и другие флавоноиды, для создания лекарственных и косметических средств [7, 71, 72]. Средства на основе растительного лекарственного сырья можно отнести к безопасным, что увеличивает их востребованность на рынке [73].

1.3.4 Физико-химические свойства флавоноидов

Большинство флавоноидов представляют собой твердые кристаллические вещества с определенной температурой плавления, не имеющие запаха [58].

Флавоны, флавонолы, халконы, ауруны окрашены в желтый цвет, катехины, лейкоантоцианидины, флаваноны, изофлавоны бесцветные. Антоцианы имеют наиболее яркий цвет и придают растительным тканям красную или синюю окраску в зависимости от pH среды (в кислой среде они имеют красный цвет (соли катионов), в щелочной - синий (соли анионов) [58].

На физико-химические свойства флавоноидов большое влияние оказывает то, в какой форме они представлены в извлечении (рис. 5).



Гликозидная форма

Агликоновая форма (кверцетин)

Рис. 5 - Формы рутина

Флавоноиды обладают различной *растворимостью* в зависимости от того, в какой форме находятся (таблица 2).

Таблица 2 - Растворимость флавоноидов

Растворители	Гликозиды флавоноидов*	Агликоны флавоноидов
вода	Растворимы	нерастворимы
водно-спиртовые смеси	Растворимы	-
спирты	растворимы при нагревании	хорошо растворимы в низших спиртах (метиловом и этиловом)
этилацетате	растворимы при нагревании	-
органические растворители	Нерастворимы	хорошо растворимы
растворы щелочей	-	хорошо растворимы

* - содержащие более трех остатков сахара

Липофильность флавоноидов определяется его распределением между различающимися по полярности фазами, это возникает вследствие наличия различных функциональных групп.

Гликозиды и агликоны флавоноидов растворимы в щелочах с образованием фенолятов. Гликозиды подвергаются гидролизу под действием кислот и ферментов [18].

Гидролиз флавоноидов происходит по-разному. Например, О-гликозиды при действии разбавленных минеральных кислот и ферментов легко гидролизуются до агликона и углеводного остатка. С-гликозиды с трудом расщепляются под действием даже концентрированных кислот (HCl или CH₃COOH) или их смесей при длительном нагревании [58].

Флавоноиды относительно устойчивы к окислению, за исключением катехинов и лейкоантоцианидинов. Последние окисляются в присутствии кислорода, под действием света и щелочей, превращаясь в окрашенные соединения - продукты конденсации, вплоть до высокомолекулярных полимерных форм [58].

Были отмечены также следующие **химические особенности веществ** данного класса [58]:

- ОН-группа в 7 положении способна диазотироваться;
- способность образовывать комплексы с солями металлов различной степени устойчивости благодаря карбонильным и фенольным оксигруппам;
- способность восстанавливаться атомарным водородом в кислой среде в присутствии магния или цинка;
- взаимодействие с щелочами с образованием фенолятов желтой окраски, которая при нагревании изменяется до оранжевой или коричневой.

Антиоксидантные свойства флавоноидов могут быть связаны с [67]:

- энтальпией диссоциации связи O–H, где относительно низкое значение облегчает реакцию выделения H между антиоксидантом и радикалом;
- способностью отдавать электроны, такие как потенциал ионизации (относительный адиабатический потенциал ионизации);
- факторами, стабилизирующими соответствующий радикал после выделения водорода;
- электрохимическими свойствами, такими как окислительно-восстановительные потенциалы;
- растворимостью.

Физико-химические свойства основных представителей класса флавоноидов представлены в таблице А.1 Приложения А.

1.3.5 Методы определения флавоноидов

Для определения флавоноидов применяют *качественные реакции*, основанные на образовании окрашенных комплексных соединений. В качестве основной специфической реакции на флавоноиды используется цианидиновая проба (проба Шинода). При добавлении порошка магния и конц. HCl к экстрактам, содержащим флавоноиды, появляется красное окрашивание (образование пирилиевых солей при восстановлении водородом флавоноидного фрагмента) (рис.6) [57, 72].

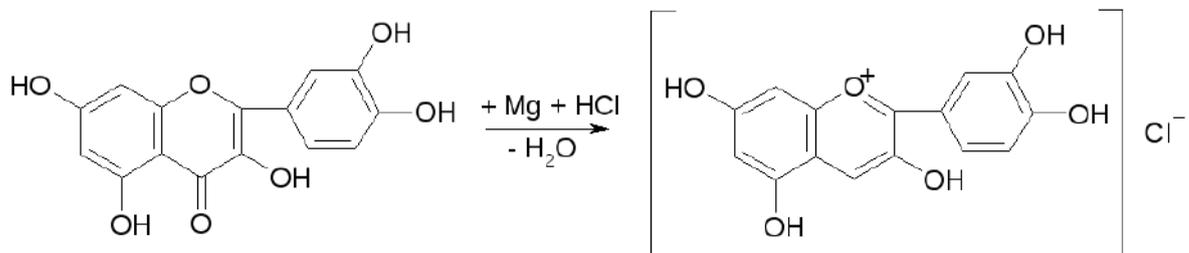


Рис. 6 - Реакция флавоноидов с магнием (проба Шинода)

Аналогично происходит реакция со смесью цинковой пыли в присутствии соляной кислоты – образование цианидинхлорида из дигидрокверцетина (рис. 7) [73]:

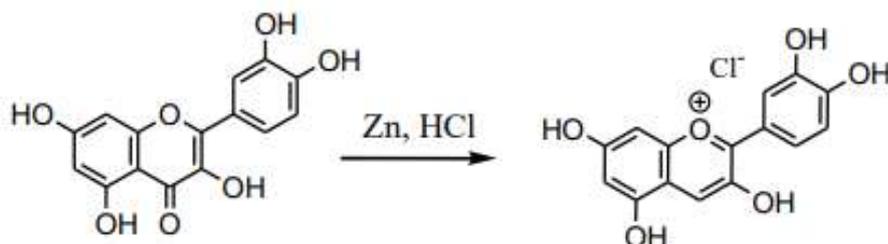


Рис. 7 - Реакция флавоноидов с цинковой пылью

Другие реакции на флавоноиды - с раствором аммиака, гидроксидом натрия и хлоридом железа (III) - малоспецифичны. С раствором аммиака наблюдали буро-желтое окрашивание, характерное для флавонов. С хлоридом железа - зеленое окрашивание за счет образования комплексных соединений флавоноидов по фенольным гидроксилам.

В методиках качественного и количественного определения флавоноидов наиболее часто используется реакция комплексообразования с хлоридом алюминия. Данная реакция рекомендована Государственной Фармакопеей для определения флавоноидов [57, 73].

В ходе этой реакции происходит формирование комплексов флавоноидов с ионами алюминия (III) (рис. 8) [73]. В данной реакции необходимо поддерживать постоянное значение pH, так как это является критичным, для этого в раствор добавляют фиксированное значение уксусной кислоты [16].

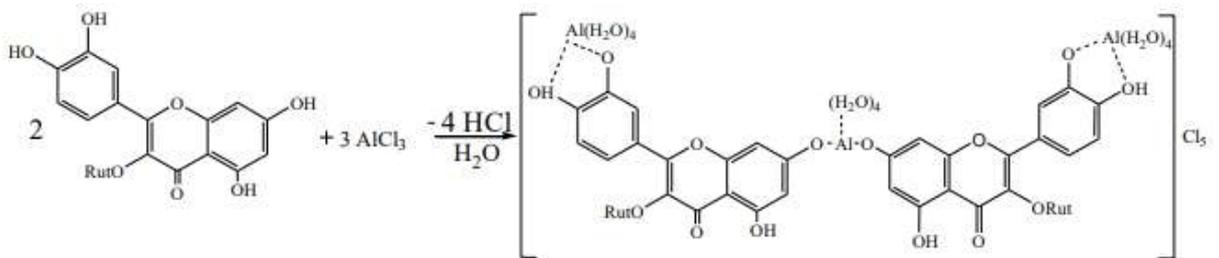


Рис. 8 - Реакция флавоноидов с хлоридом алюминия (III)

Важной характеристикой гликозидов флавоноидов является *оптическая активность* [58, 72].

При исследовании флавоноидов методом *УФ-спектрофотометрии* обнаружено два основных пика поглощения: в области длин волн 240-400 нм, один из которых связан с поглощением В-кольцевой системы, другой - связанный с поглощением, включающим бензоильную систему А-кольца. Отмечено также, что наличие функциональных групп, присоединенных к флавоноидному каркасу, могут вызывать сдвиг в поглощении, например, кверцитине с 367 нм до 371 нм [67].

Некоторые флавоноиды имеют вторую полосу поглощения с максимумом в области 300-550 нм. Эта полоса отчетливо проявляется у флавонолов и флавонов, т.е. классов флавоноидов, в которых имеется сопряжение между кольцами В и С (двойная связь в положении $\text{C}_2\text{-C}_3$) [57].

Спектрофотометрические методы определения фенольных соединений в лекарственном растительном сырье основаны на нескольких процессах, таких как дериватизация с 2,4-динитрофенилгидразином, восстановление фосфорномолибденовольфрамового комплекса и комплексообразование с ионами алюминия с предварительным нитрозированием или без него. Однако эти методы не обеспечивают возможность четкого разграничения различных подгрупп полифенолов в зависимости от их структуры.

В результате комплексообразования с ионом алюминия после нитрозирования рутина и лютеолин среди флавонов и флаванолов проявили наибольшее смещение максимумов до 531 и 517 нм соответственно. В то время кверцетин, как флавонол, показал значительно более коротковолновой максимум – 477 нм, а дигидрокверцетин, как флаванолол, демонстрировал максимум полосы поглощения в длинноволновой области (507 нм). Флаванолы и другие флавоны с гидроксильными группами в положениях 3 и/или 5 дают поглощение в области 410-430 нм. При наличии $NaNO_3$ в щелочной среде при взаимодействии катехинов и некоторых других полифенолов с $AlCl_3$ наблюдается поглощение в области 510 нм [74].

Следовательно, хотя комплексообразование с ионом алюминия не обеспечивает однозначную идентификацию конкретных подгрупп флавоноидов и гидроксикоричных кислот, данный метод позволяет сократить влияние сопутствующих веществ на оптическую плотность исследуемых растворов [74].

Метод Фолина–Чокалтеу широко используется для определения общего содержания фенольных соединений в извлечениях из лекарственного растительного материала [74, 75]. Он основан на восстановлении фосфоромолибденовольфрамового комплекса, что приводит к появлению полосы поглощения при 765 нм. Пересчет результатов на массу эквивалента галловой кислоты в заданной массе образца позволяет количественно определить полифенолы в извлечениях. Спектрофотометрическая методика, использующая реактив Фолина–Чокалтеу для определения суммарного содержания полифенолов в сложных материалах, обладает рядом преимуществ, включая специфичность, точность, линейность и сходимость [74].

Поскольку флавоноиды принадлежат к группе полифенолов, которые широко распространены в растениях, их наличие в растительном сырье оказывает влияние на результаты анализа. Если флавоноиды преобладают среди других фенольных соединений, результаты, полученные при использовании методов комплексообразования с алюминием хлоридом и Фолина–Чокалтеу, будут схожими. Например, анализ софоры, содержащей преимущественно рутин, календулы (с рутином и изокверцетином) и тысячелистника (с лютеолином и апигенином) продемонстрировал подобные результаты. Однако, в некоторых случаях, таких как корень солодки, плоды боярышника и цветки календулы, содержание полифенолов, определенное методом комплексообразования с хлоридом алюминия, оказалось ниже, чем при использовании реактива Фолина–Чокалтеу. Это объясняется тем, что в этих образцах присутствуют соединения, либо не реагирующие с хлоридом алюминия, либо поглощающие его комплексы в ультрафиолетовой области спектра: например, катехины, фенольные кислоты и аскорбиновая кислота в плодах боярышника, ликвиритин и галлотанин в корне солодки, галловая кислота в календуле [75].

Флавоноиды также определяют при *тонкослойной хроматографии*. Флавоноиды на хроматограммах обычно имеют слабую или отсутствующую окраску, что затрудняет их обнаружение в видимой области спектра. Для повышения эффективности и специфичности анализа хроматографических методов используют реактивы, которые способны образовывать окрашенные соединения и флуоресцировать при исследовании в УФ-свете. Для визуализации пятен на хроматографической пластине применяют спиртовой раствор алюминия хлорида, хлористый цирконий с лимонной кислотой, раствор калия гидроксида, раствор треххлористой сурьмы в тетрахлорметане, 1% раствор ванилина в концентрированной соляной кислоте, раствор железоаммонийных квасцов, аммиачные пары и другие.

Метод ТСХ рекомендован Государственной Фармакопеей Российской Федерации, а также другими Фармакопеями, например, ЕАЭС, для определения флавоноидов.

В исследованиях описываются зависимости между химическим строением флавоноидов и поведением в процессе хроматографирования [76, 77]:

1. Величина R_f снижается с увеличением гидроксильных групп в молекуле.
2. Метилирование гидроксильных групп вызывает повышение величины R_f агликонов.
3. Гликозидирование обуславливает понижение величины R_f . Образование биозида приводит к меньшему снижению величины R_f , чем образование дигликозида.
4. Ацетилирование может способствовать как повышению, так и понижению R_f .
5. Орто- и вициальные положения заместителей приводят к исключению из данных правил в сторону увеличения R_f .

Флавоны, флавонол-3-гликозиды, флаваноны, халконы обнаруживаются на хроматограммах в виде коричневых пятен, флавонолы и их 7-гликозиды - в виде желтых или желто-зеленых пятен [58].

1.4 Антиоксидантные свойства экстрактов

Флавоноиды известны своей антиоксидантными свойствами (АО). Они способны защищать клетки организма от воздействия свободных радикалов, тем самым помогая снизить окислительный стресс и предотвратить повреждения клеток.

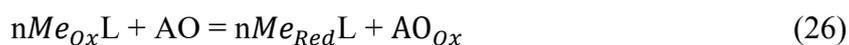
АО веществ в экстрактах растений характеризуется константой скорости реакции пероксильных радикалов с ингибитором [78].

Свободные радикалы и окислительный стресс – это основные факторы, которые лежат в основе физико-химических механизмов повреждения клеток. АО флавоноидов делают их важными для защиты клеток от окислительного стресса, а также делают их потенциально

полезными в профилактике различных заболеваний, таких как рак, сердечно-сосудистые заболевания и некоторые нейродегенеративные заболевания [44].

Радикалы, такие как гидроксильный радикал, супероксидный радикал и перекисные радикалы, могут быть образованы в организме в результате окислительных процессов и способствуют повреждению клеток и тканей. Флавоноиды обладают способностью нейтрализовать эти радикалы путем донорства водорода или электронов, что делает их эффективными антиоксидантами. После взаимодействия с радикалами, образующиеся радикалы флавоноидов могут вступать в реакции диспропорционирования, в результате которых формируются более стабильные продукты [79].

Существуют оптические, электрохимические, хроматографические методы определения АО [80]. Электрохимические методы являются наиболее простыми и информативными, наиболее перспективным из них является потенциометрический метод. В его основе лежит измерение потенциалов после прохождения химической реакции между антиоксидантом и реагентом. Изменение потенциала происходит в результате реакции, которая может быть описана уравнением 26 [79].



где $Me_{Ox}L$ – окисленная форма металла;

$Me_{Red}L$ – восстановленная форма металла;

AO_{Ox} – продукт окисления антиоксиданта.

АО является характеристикой системы в целом, на которую влияет комплексный состав экстракта [79].

1.5 Выводы по результатам анализа обзора литературы

Экстракция флавоноидов является эффективным способом получения экологически чистых БАВ из растений, которые отвечают концепции «зеленой химии».

Флавоноиды – это многочисленная группа фенольных соединений, которая обладает разнообразными фармакологическими свойствами. Основное действие флавоноидов антиоксидантное с комплексной фармакологической активностью, которая включает капилляроукрепляющее, антиаллергическое, спазмолитическое, анаболическое, антитромботическое, вентонизирующее, гипохолестеринемическое, антиатеросклеротическое, кардиостимулирующее, противоопухолевое, противовирусное, гепатозащитное и эндотелиопротекторное действие. В связи с чем, флавоноиды, полученные из лекарственного растительного сырья находят применение в различных отраслях промышленности таких как: пищевая, фармацевтическая, косметическая.

Нахождение флавоноидов в природе очень разнообразно – они содержатся почти во всех растениях, встречаются также в водорослях, грибах, микроорганизмах и насекомых. В растениях флавоноиды содержатся в листьях, цветках и плодах, реже - в стеблях и подземных органах.

Флавоноиды являются производными 2-фенилхромана или 2-фенилхромона. В свою очередь в растениях флавоноиды встречаются в виде гликозидов или агликонов. Гликозиды представляют собой соединения, в которых один или несколько моносахаридных остатков присоединены к агликону, который является основной структурной единицей флавоноидов.

Форма, в которой находятся флавоноиды, влияет на их физико-химические свойства. Также различные виды обладают своими физико-химическими особенностями. При экстракции флавоноидов из растительного сырья важно понимать какой из них преобладает в составе. По данному веществу проводят количественное определение суммы флавоноидов в сырье.

Экстракция состоит из следующих основных этапов: смачивания растительного сырья и набухания, образование внутреннего первичного сока и массообмен. В процессе экстракции происходят такие процессы адсорбция, десорбция, диффузия, в частных случаях – диализ и осмос. Массообменные процессы можно описать основными уравнениями массоотдачи и массопереноса. Особое место занимает явление гидродинамики в слое растительного материала, так как при движении экстрагента через пористый неоднородный слой растительного сырья внутри каналов сложной формы скорость жидкости неоднородна из-за взаимодействия с твёрдыми частицами. При этом стоит оценивать удельный напор экстрагента и принцип его подачи.

Важное значение в понимании процесса экстракции составляет получение кинетических характеристик процесса экстрагирования. Для анализа кинетики таких процессов применяют уравнения первого или второго порядка, модель Пелега, модель Минчева и Минкова и другие.

На сегодняшний день существует большое количество исследований, направленных на извлечение флавоноидов из растительного сырья. Разнообразие методов экстракции объясняется многофакторностью процесса. Не существует единого наилучшего способа извлечения всех флавоноидов из всего разнообразия растительного сырья. В каждом случае подбор метода является индивидуальным.

На данный процесс влияет вид сырья, его состав, измельчение. Так как в процессе извлечения в экстрагент могут переходить балластные вещества, которые также влияют на процесс экстракции.

В процессе выбора экстрагента важное значение имеет средство экстрагента к извлекаемым компонентам, его вязкость, значение pH, поверхностное натяжение. Он должен также хорошо смачивать материал, быть доступным.

Влияние ПАВ может оказывать существенный эффект на извлечение БАВ из растительного сырья. Это происходит вследствие понижения поверхностного натяжения, что облегчает проникновение растворителя в материал, а также смачиванию растительной оболочки. Некоторые авторы отмечают о способности флавоноидов встраиваться в мицеллы ПАВ, что также увеличивает их извлечение из растительного сырья. Существенное влияние на процесс экстракции оказывает природа ПАВ.

Заряд поверхности частицы и рН раствора могут влиять на электростатическое взаимодействие между частицами и растворителем. Это может приводить к различным силам адсорбции и диффузии, влияющим на эффективность процесса экстракции. Заряд поверхности частиц также может влиять на растворимость БАВ в экстрагенте.

Существуют классические методы экстракции флавоноидов, такие как мацерация и перколяция. Также существуют методы интенсификации процесса: использование СВЧ- и УЗ-излучения, температуры и т.д. В каждом случае экстрагирования влияние данных факторов отлично: иногда их применение способствует увеличению выхода и сокращению времени экстракции, а иногда служит причиной разрушения веществ.

Так как флавоноиды обладают выраженными антиоксидантными свойствами, оценка их в извлечении носит практический интерес. Свободные радикалы и окислительный стресс – это основные факторы, которые лежат в основе физико-химических механизмов повреждения клеток. Антиоксидантные свойства флавоноидов могут иметь положительное воздействие на здоровье человека, помогая в борьбе с различными заболеваниями и стимулируя общее оздоровление организма.

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика используемых материалов

В качестве объекта исследования использовались плоды софоры японской ТУ 10.89-066-14721358-2017. Софора японская относится к семейству Бобовых, произрастает в восточных странах, но культивируется в России. Лекарственное растительное сырье (плоды) представляют собой нераскрывающиеся, приплюснуто-цилиндрические, зеленовато-бурые, многосеменные бобы длиной до 10 см, шириной 0,5-1 см, с хорошо заметным желтоватым швом (рис. 9).



Рис. 9 - Плоды софоры японской

Данное сырье представляет интерес так как содержит разнообразные биологически-активных веществ (БАВ), основное количество из которых составляют флавоноиды. Преобладающим среди них является рутин. Также лекарственное растительное сырье отвечает концепции «зеленой химии», обладает меньшими побочными эффектами, чем синтетические субстанции. Это позволяет использовать экстракт из плодов софоры японской, обладающий обширным спектром действия [66, 68].

Рутин или рутозид, представляет собой гликозид, сочетающий флавонол кверцетина и дисахарид рутинозу (α -L-рамнопиранозил- (1 \rightarrow 6) - β -D-глюкопиранозу) рис. (10) CAS номер: 153-18-4.

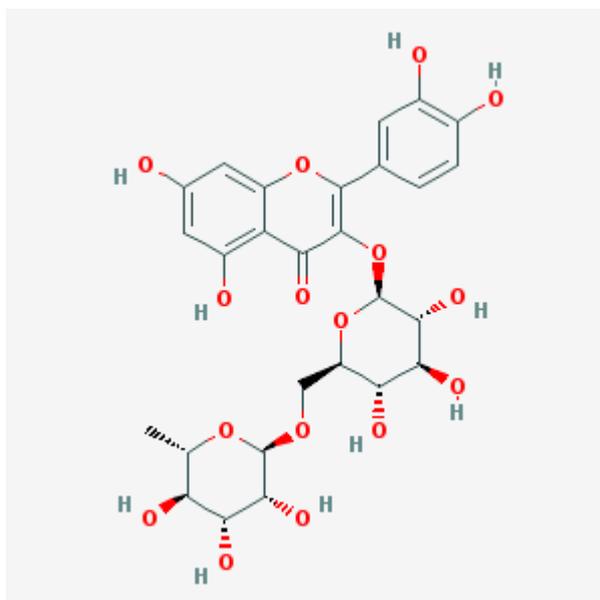


Рис. 10 - Формула рутина

В качестве экстрагента использовали воду дистиллированную со значением удельной электропроводности $\kappa = 2 \cdot 10^{-6} \text{ Ом} \cdot \text{см}^{-1}$, спирт ректификованный этиловый 95% изготовленный по ГОСТ 5962-201.

В работе использовали реагенты, представленные в таблице 3.

Таблица 3 - Характеристика используемых реагентов

Реакция	Используемый реактив	Чистота	Производитель
<i>Определение флавоноидов</i>			
Цианидиновая проба	магний,		Merck KGaA, Darmstadt, Germany
	соляная кислота конц., бутиловый спирт	х.ч. х.ч.	АО «ЭКОС-1», Россия АО «ЭКОС-1», Россия
Реакция Вильсона	борная кислота,	х.ч.	АО «ЭКОС-1», Россия
	щавелевая (этандиовая) кислота	х.ч.	АО «ЭКОС-1», Россия
С хлоридом алюминия	хлорид алюминия (III),	х.ч.	ПКФ "Интерметхим", ООО, Россия
	уксусная кислота (ледяная)	х.ч.	
С хлоридом железа	хлорид железа (II)	х.ч.	ООО «Русреактив», Россия
С аммиаком	Аммиак	ч.д.а.	ООО АКТИВСАНТЕХПРОМ, Россия

Продолжение таблицы 3 - Характеристика используемых реагентов

Реакция	Используемый реактив	Чистота	Производитель
Количественное определение	Стандарт рутина	СО	Rutin, партия 332, Sichuan Guangsong Pharmaceutical Co., Ltd., Китай
Определение простых фенолов			
С сульфатом железа	сульфат железа (II),	х.ч.	ООО «ЭкспрессХим», Россия ПКФ "Интерметхим", ООО, Россия
	бутиловый спирт	ч.д.а.	
С железоммонийными квасцами	сульфат железа(III)-аммоний	ч.д.а.	ООО «Югреактив», Россия
Определение полисахаридов			
С этиловым спиртом	этиловый спирт	96 %	КурскПродукт ООО, Россия
С натрия хлоридом	натрий хлористый	х.ч.	АО "ЛенРеактив", Россия
С соляной кислотой	соляная кислота конц.	х.ч.	АО «ЭКОС-1», Россия
Определение сапонинов			
С ацетатом свинца	ацетат свинца	х.ч.	ООО «ГРАНХИМ», Россия
Пенообразования/ создание рН экстрагента	соляная кислота 0,1N, гидроксид натрия	Фикс	ООО «Нева Реактив», АО "ЛенРеактив", Россия
		х.ч.	
Пенообразования/ создание рН экстрагента	соляная кислота 0,1N, гидроксид натрия	Фикс.	ООО «Нева Реактив», АО "ЛенРеактив", Россия
		х.ч.	
Определение алкалоидов			
Реакция с танином	Танин	техн.	ООО «Ливагос», Россия
Определение дубильных веществ			
С желатином	желатин,	техн.	ООО «ГРАНХИМ», Россия
С калия бихроматом	калия бихромат	техн.	ООО «ХимГТ», Россия
С железоммонийными квасцами	сульфат железа(III)-аммонием	ч.д.а	ООО «Югреактив», Россия

Продолжение таблицы 3 - Характеристика используемых реагентов

Реакция	Используемый реактив	Чистота	Производитель
С нитратом натрия	натрия нитрат,	х.ч.	АО "ЛенРеактив", Россия АО «ЭКОС-1», Россия
	соляная кислота конц.	х.ч.	
<i>Прочее</i>			
Изучение процесса высаливания	Хлорид натрия	х.ч.	АО "ЛенРеактив", Россия
	Иодит натрия	х.ч.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany
	Натрий роданистый	х.ч.	ООО «ГРАНХИМ», Россия
Определение влияния поверхностно-активных веществ (ПАВ)	лаурет-2	-	Атаман Химия, Турция
	лаурил саркозинат	-	Атаман Химия, Турция
	мирамистин	-	Атаман Химия, Турция
	Кокамидопропиленгликольдимоний хлорид фосфат	-	Атаман Химия, Турция

Для приготовления рабочих растворов и проб использовалось мерная посуда и оборудование, представленные в таблице 4.

Таблица 4 - Мерная посуда и оборудование, используемое для приготовления рабочих растворов и проб

Мерная посуда/Оборудование	Класс точности	Предел погрешности/ точность измерения
Мерная посуда		
Цилиндр на 10 мл	1	± 0,10 мл
Цилиндр на 25 мл	1	± 0,25 мл
Колба на 25 мл	1	-
Пипетка на 5 мл	1	-
Бюретка на 10 мл	1	± 0,05 мл
Микробюретка на 5 мл	2	± 0,02 мл
Оборудование		
Аналитические весы Shinko HTR-220 CE	1	± 0,00005 г
Аналитические весы CAS MWP-3000H	2	± 0,05
pH-метре 150-M	-	± 0,02 ед. pH

Продолжение таблицы 4 - Мерная посуда и оборудование, используемое для приготовления рабочих растворов и проб

Плитка электрическая Kitfort КТ-175	-	-
Цифровой термометр Hanna Instruments HI98509 Checktemp 1	-	$\pm 0,2^{\circ}\text{C}$

2.2 Методы

2.2.1 Подготовка плодов софоры японской

Высушенные плоды софоры японской измельчали на мельнице для сухого помола Kinematica POLYMIX ® PX-MFC 90 D, далее просеивали при помощи набора сит фракционных по ГОСТ 6613-86 [81]. В работе использовались частицы плодов софоры японской следующих размеров: менее 0,0315 см; 0,0315 – 0,05 см; 0,05 – 0,1 см; 0,1 – 0,2 см; 0,2 – 0,5 см; 0,5 – 1,0 см. Размер частиц определялся целями исследования.

2.2.2 Получение извлечения

Извлечение получали одним из методов, соответствующим задачам исследованию.

К навеске сырья добавляли 10 мл экстрагента. Необходимое количество экстрагента рассчитывали следующим образом. Соотношение сырья к экстрагенту приняли как 1:4 соответственно, так как данное значение отмечено как наиболее эффективное для извлечения из плодов [82]. Количество необходимого экстрагента рассчитывали по формуле (27):

$$V_{\text{экстрагента}} = V_{\text{извлечения}} + (m_{\text{сырья}} * K) \quad (27),$$

где $V_{\text{извлечения}}$ – объем необходимого извлечения;

$m_{\text{сырья}}$ – масса сырья;

K – коэффициент водопоглощения принимали равным 2.

В работе использовались следующие экстрагенты (в зависимости от задачи исследования): дистиллированная вода; дистиллированная вода подкисленная соляной кислотой 0.1 моль/л до определённого значения pH ($2.80 \pm 0,05$; $3.90 \pm 0,05$; $5.29 \pm 0,05$); дистиллированная вода, подщелоченная гидроксидом натрия 0.01 моль/л до pH ($8.00 \pm 0,05$; $8.23 \pm 0,05$; $9.00 \pm 0,05$); раствор этилового спирта различной концентрации; растворы ПАВ (лаурет-2, натрия лаурил саркозинат и кокамидопропиленгликольдимонийхлоридфосфат).

2.2.2.1 Получение извлечения методом мацерации

Метод мацерации является статическим и заключается в настаивании сырья в экстрагенте [83, 84, 85].

К навеске сырья 5 г добавляли 10 мл экстрагента. Оставляли укупоренным в течение часа. Далее добавляли 20 мл экстрагента и оставляли настаиваться в течение 30 минут.

Полученное извлечение фильтровали, используя фильтры обеззоленные «синяя лента».

2.2.2.2 Получение извлечения методом перколяции

Метод перколяции является динамическим и заключается в пропускании через сырьё потока экстрагента с заданной скоростью [83, 84].

К навеске сырья 5 г добавляли 10 мл экстрагента. Оставляли укупоренным в течение часа. Далее набухшее сырье загружали в нижний перколятор (3), на дне которого была установлена марля, добавляли 10 мл экстрагента. Выше перколятора помещали верхний перколятор (2), в него заливали оставшееся количество рассчитанного экстрагента (10 мл).

Подачу экстрагента устанавливали таким образом, чтобы скорость подачи была равна скорости выхода. Сбор извлечения осуществляют в стеклянный стаканчик – приемник (4). Схема установки представлена на рис. 11.

Полученное извлечение фильтровали, используя фильтры обеззоленные «синяя лента».

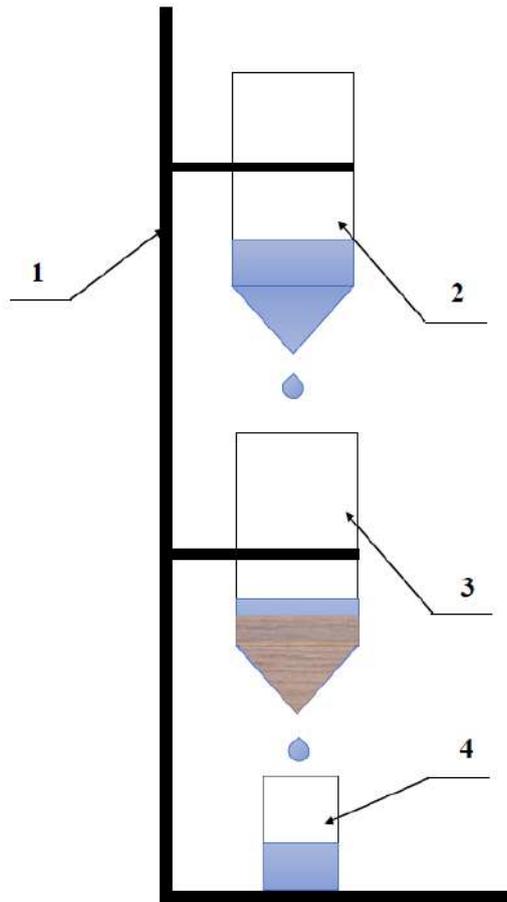


Рис. 11 - Схема установки экстракции перколяцией. 1 – штатив, 2 – верхний перколятор, 3 – нижний перколятор (с марлей), 4 - приёмник

2.2.2.3 Получение извлечения методом мацерации с нагреванием

Навеску сырья 5 г помещала в круглодонную колбу со шлифом (3) прибавляла 10 мл экстрагента. Выдерживали в течение часа при комнатной температуре.

Далее в колбу добавляли 20 мл экстрагента, присоединяли к обратному холодильнику (2) и нагревали на кипящей водяной бане (4) при 100 °С в течение 15 минут. После экстракции, колбу

снимали с холодильника, извлечение охлаждали, фильтровали, используя фильтры обеззоленные «синяя лента» [66, 87]. Схема установки представлена на рис. 12.

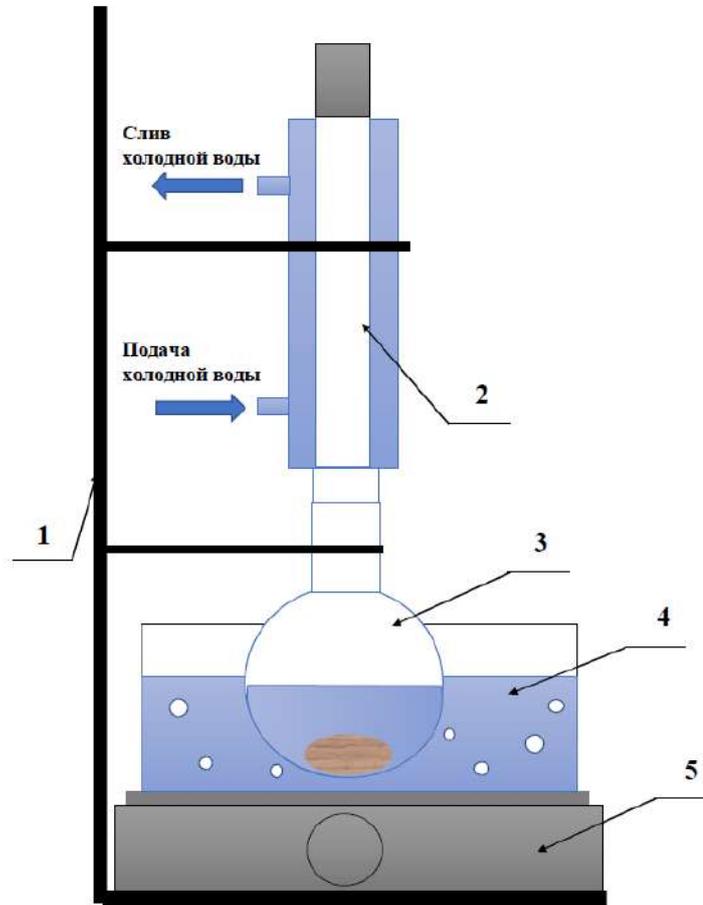


Рис. 12 - Схема установки экстракции с нагреванием. 1 – штатив, 2 – обратный холодильник, 3 – колба с сырьём и экстрагентом, 4 – водяная баня, 5 – плитка

2.2.3 Определение параметров набухания

Степень набухания определяли по изменению объёма сырья в цилиндре до и после набухания. В мерный цилиндр на 10 мл помещали навески частиц софоры японской (2.0 ± 0.025 г) и добавляли 6 мл экстрагента.

Цилиндры помещали в циркуляционный жидкостной термостат LOIP LT-105a. Измерение проводили при температуре $20 \pm 0,1$ °С и $60 \pm 0,1$ °С.

Время фиксации изменения объёма плодов в цилиндре фиксировали в начальный момент времени, через 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120 и 180 минут [86].

Степень набухания рассчитывали по формуле (28):

$$\alpha = \frac{V - V_0}{V_0} \quad (28)$$

где α – степень набухания, V – объём, занимаемый частицами плодов софоры японской через время (t), мл; V_0 – объём, занимаемый частицами плодов софоры японской в начале процесса, мл.

В работе изучали влияние температуры, состава водных растворов (в дистиллированной воде, при различных рН, добавок электролитов, ПАВ, в 50% водном растворе этилового спирта) на набухание частиц софоры японской.

Степень набухания определяли в дистиллированной воде с рН $5,8 \pm 0,05$, в растворах соляной кислотой с рН $3,56 \pm 0,05$ и гидроксида натрия с рН $7,94 \pm 0,05$.

В качестве добавок электролитов были выбраны растворы хлорида натрия концентрации 0,001 М, 0,01 М, 0,1 М; растворы иодида и роданида натрия концентрацией 0,001 М. Выбор электролитов определялся тем, что анионы данных электролитов можно поместить в один лиотропный ряд, а ион натрия является более индифферентным для оценки влияния на набухания растительного сырья.

В качестве добавок ПАВ использовали лаурет-2, натрия лаурил саркозинат и кокаmidопропиленгликольдимонийхлоридфосфат.

Константу скорости набухания при ограниченном набухании высокомолекулярных соединений (ВМС) определяли по уравнению (29) [19].

$$\ln n = \frac{\alpha_{\max}}{\alpha_{\max} - \alpha} = K\tau, \quad (29)$$

где K – константа скорости набухания, мин^{-1} ; α_{\max} – максимальная (предельная) степень набухания; τ – время, мин.

По графику зависимости $\lg(\alpha_{\max}/(\alpha_{\max} - \alpha))$ от t определяли константу скорости набухания (тангенс угла наклона линейной зависимости) [30].

2.2.4 Определение ζ -потенциала

Определение ζ -потенциала проводили при помощи электрофореза – методом подвижной границы [88, 89].

Для исследования зависимости электрокинетического потенциала от времени контакта дисперсных частиц с дисперсионной средой проводили измерения непосредственно после получения извлечения (методом мацерации, описанным в п. 2.2.2.1), через 30, 45 и 60 минут [90]. Через бюретку (2-4) осуществляли ввод извлечения, далее для подачи в U-образная трубку (1) открывали кран (2). Фиксировали время, за которое изменялась граница извлечения (золя), направление смещения и напряженность электрического поля. Схема установки представлена на рис. 13 [91].

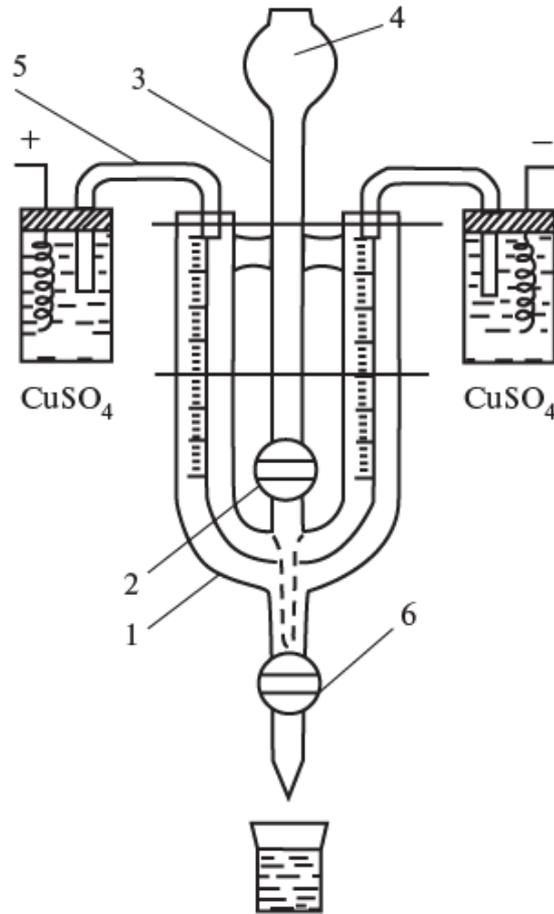


Рис. 13 - Схема установки электрофореза по методу подвижной границы: 1 – U-образная трубка, 2 – кран для ввода золя (извлечения), 3-4 – бюретка, 5 – агар-агаровые мостики, 6 – кран для слива жидкости

Расчеты ζ -потенциала проводили по формуле 30.

$$\zeta = \frac{h * \eta * l}{t * \varepsilon * \varepsilon_0 * E} \quad (30)$$

где h – смещение границы золя, м; η – вязкость дисперсной среды ($0,0011 \text{ Н} \cdot \text{с}/\text{м}^2$); l – расстояние между электродами, м; t – время электрофореза, с; ε – диэлектрическая проницаемость среды; ε_0 – диэлектрическая постоянная ($8,85 \cdot 10^{-12} \text{ А} \cdot \text{с}/(\text{В} \cdot \text{м})$); E – напряжённость электрического поля, В.

2.2.5 Определение сорбции ионов H^+ и OH^-

Сорбцию ионов H^+ и OH^- на частицах водной дисперсии софоры определяли при помощи *метода непрерывного потенциометрического титрования* исходного раствора, извлечения и водной дисперсии плодов софоры японской [92, 93, 94]. Извлечение получали методом мацерации, описанным в п. 2.2.2.1.

Титрование проводили раствором KOH ($0,025 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$) или HCl ($0,01 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$). Титрант добавлялся порциями по $0,1 \text{ мл}$ с интервалом в 30 секунд и регистрировались значения рН.

Для дозирования титранта использовали микробюретки на 5 мл. Растворы КОН готовили на дистиллированной воде, предварительно освобождённой от CO_2 воздуха кипячением в течение 30 минут.

Потенциометрическое титрование проводится в ячейке, изображённой на рис. 14 - 16.

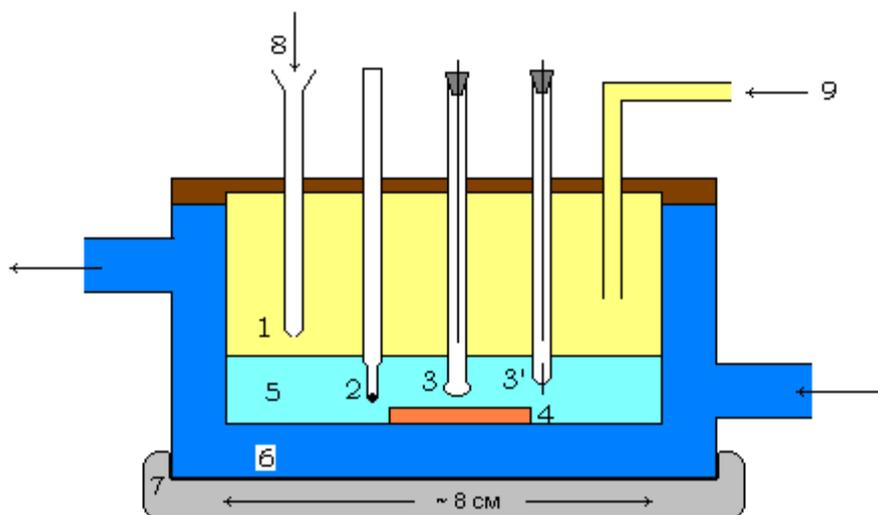


Рис. 14 - Ячейка для титрования: 1- основная рабочая кювета : жёлтым здесь выделено пространство, занимаемое газом- азотом или воздухом без CO_2 ; синим- рабочий раствор; 2 - термометр; 3 – стеклянный электрод; 3' второй электрод (AgCl); 4 – магнитная мешалка; 5 – рабочий раствор; 6 –термостат (заполнен внутри водой;); 7 – подставка; 8 – соединяется с бюреткой , где находится титрант (HCl или NaOH (см. рис. 15) ; 9 – соединяется с баллоном с газом (рис. 16). Коричневым указана крышка (она сделана из плексигласа , прилегает плотно (без особого внимания к герметичности), но.так как газ медленно пропускается все время опыта, в ней сделаны иголкой 2 – 3 отверстия, чтобы лишний газ мог выходить из кюветы

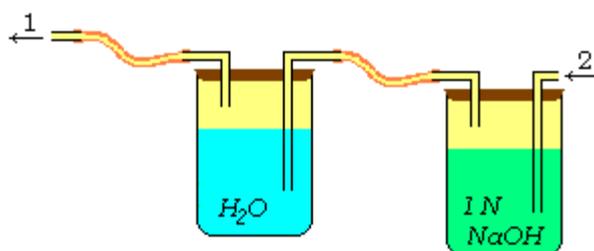


Рис. 15 - Дополнение к рис. 14: 1 – присоединение с правым отводом рис. 14; 2 – к баллону с газом

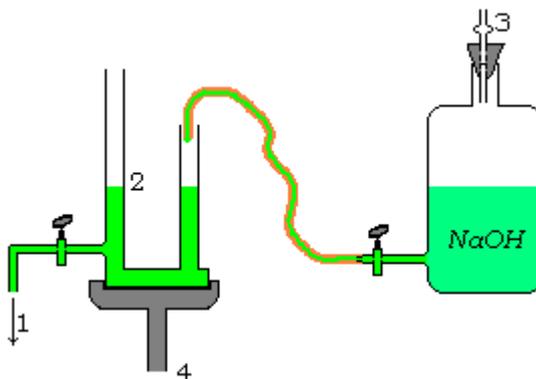


Рисунок 16 - Дополнение к рис. 14: 1 – соединение слева на рис 14; 2 – бюретка со щелочью или кислотой (на рис. для примера написана щелочь); 3 – трубочка с натронной известью

2.2.6 Определение поверхностного натяжения

Определение критической концентрации мицеллообразования (ККМ) поверхностно-активных веществ (ПАВ); величину поверхностного натяжения водно-спиртовых растворов, а также извлечений на их основе определялась на тензиометре Дю-Нуи по методу отрыва кольца при температуре 20°C [93, 95, 96, 97, 98].

Перед началом работы при помощи винта для закручивания нити (4) и указателя с нониусом (5) устанавливали нулевое деление отсчетного лимба и вращали винт, соединённый с упругой нитью (7) (до горизонтального положения коромысла с повешенным на нем кольцом).

Готовили серии растворов (водно-спиртовых экстрагентов и извлечений на их основе) различной концентрации. Исследуемые растворы наливали в кювету (8) на подвижном столике (9) с винтом (10). Измерения начинали с самых разбавленных растворов. Столик поднимали до тех пор, пока кольцо не коснётся поверхности исследуемой жидкости, затем с помощью винта (4) закручивали нить (1). Отмечали положение указателя на лимбе в момент отрыва кольца от поверхности жидкости. Схема установки представлена на рис. 17 [99].

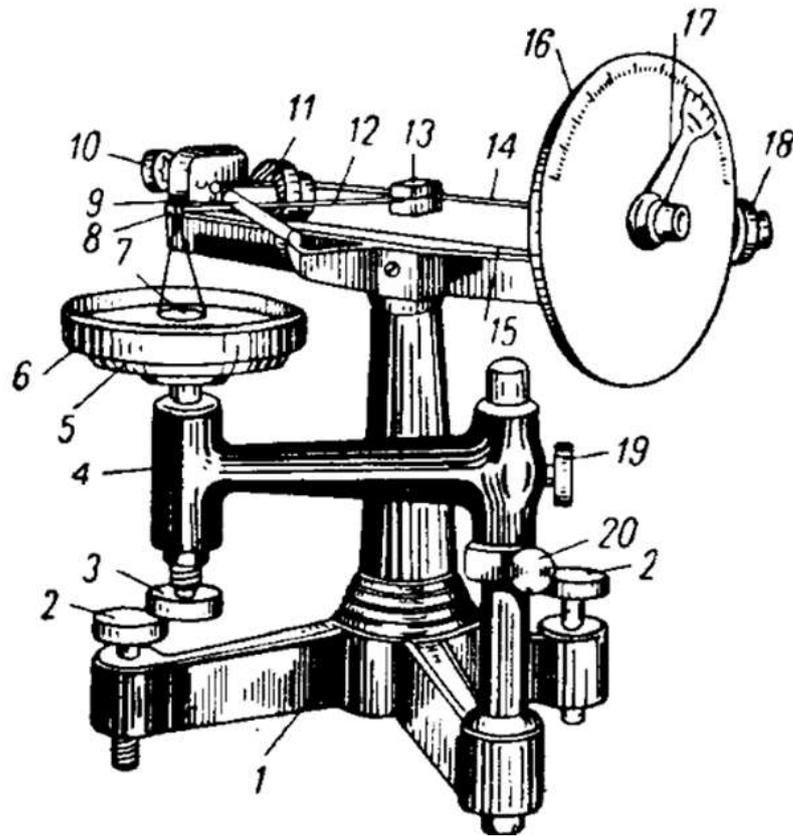


Рис. 17 - Схема установки тензиометра Дю-Нуи: 1 – штатив, 2 – установочные винты (для горизонтальной установки прибора), 3 – микрометрический винт (для вертикальной установки платформы), 4 – вращающийся кронштейн, 5 – платформа, 6 – плоскодонная чашка, 7 – кольцо из платиново-иридиевой проволоки, 8 – крючок, 9 – подвижная рамка, 10 – винт для натяжения проволоки, 11, 12 – рычаг, 13 – призма, 14 – стальная проволока, 15 – пластина, 16 – диск, 17 – указатель, 18 – винт для поворота указателя, 19, 20 – винты для кронштейна

Также ККМ анионного ПАВ определяли кондуктометрическим методом [100, 101, 102]. Готовили серию растворов анионного ПАВ различной концентрации. Определение электропроводности проводили на кондуктометре METLER TOLEDO LE703, начиная с самого разбавленного раствора. Схема установки представлена на рис. 18 [91].

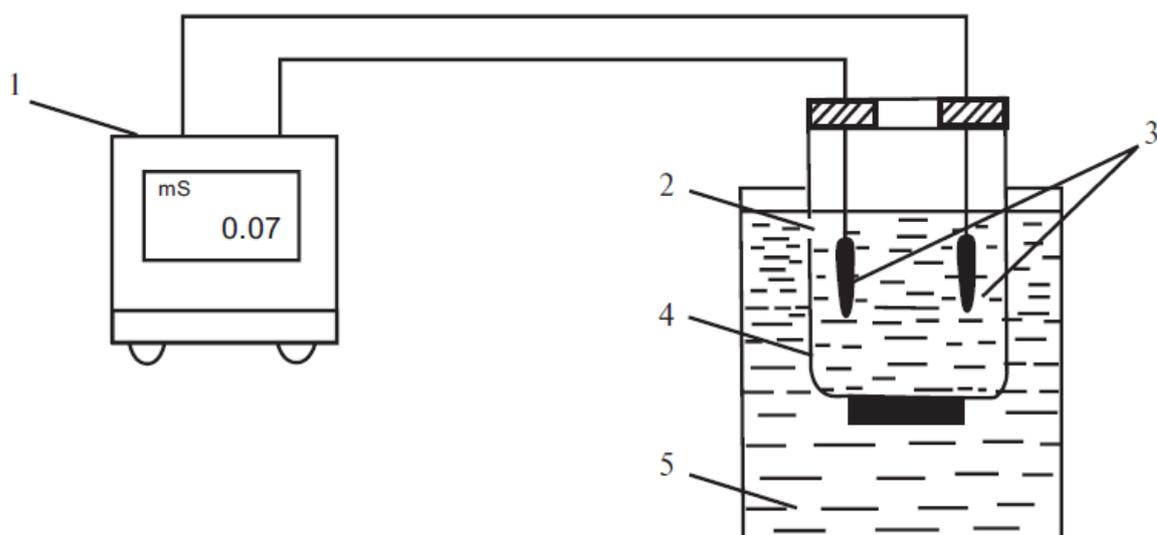


Рис. 18 - Кондуктометрическое измерение удельной электрической проводимости: 1 – измерительный блок; 2 – отверстие для заполнения раствором; 3 – измерительные пластины; 4 – кондуктометрическая ячейка; 5 – исследуемый раствор

2.2.7 Определение антиоксидантной активности

Определение антиоксидантной активности (АОА) извлечений проводили методом ЭДС, основанным на изменении потенциала окислительно-восстановительных электродов типа Me^{ox}/Me^{red} при их химическом взаимодействии с антиоксидантами (флавоноидами в извлечении). Измерение проводили на потенциометре Анион 4100.

Сущность метода заключается в измерении электрического потенциала, возникающего при окислении исследуемых веществ на поверхности рабочего электрода при определённом потенциале и сравнении полученного сигнала с сигналом антиоксидантного стандарта, измеренного в тех же условиях. Такой подход позволяет непосредственно определять антиоксидантный потенциал и антиоксидантную емкость изучаемого вещества, суммарно оценивая количество легко окисляемых групп (-OH, -SH, -NH₂).

В качестве электродов использовали окислительно-восстановительный электрод Fe^{+3}/Fe^{+2} . Схема установки изображена на рис. 19.

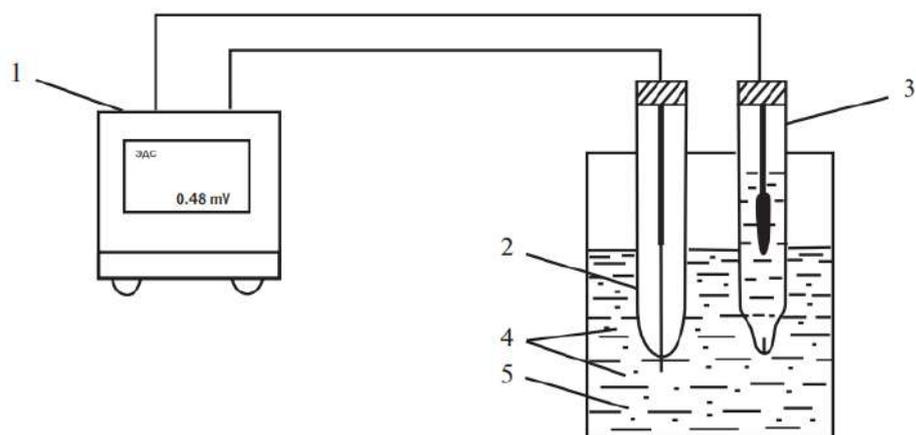


Рис. 19 - Установка для потенциометрического определения АОА: 1 – измерительный блок – потенциометр; 2 – окислительно-восстановительный электрод, состоящий из инертного электрода – обычно платиновый электрод, помещённый в исследуемый раствор и ОВР - Fe^{+3}/Fe^{+2} ; 3 – хлорсеребряный электрод (электрод сравнения); 4 – исследуемый раствор; 5 – раствор Fe^{+3}/Fe^{+2} .

Готовили растворы сульфата железа (III) 0,02 М и сульфата железа (II) семиводного 0,02 М. Далее растворы объединяли в соотношении 3:1 для получения раствора с ионами железа (III) и (II).

Готовили раствор аскорбиновой кислоты 0,01 М.

Измеряли ЭДС растворов следующих растворов во времени (0, 5, 10, 15, 20, 25 и 30 минут):

1) 5 мл извлечения;

15 мл объединённого раствора сульфата железа (III) 0,01 М и сульфата железа (II) семиводного 0,01 М в соотношении 1:3.

2) 5 мл раствора аскорбиновой кислоты 0,01 М;

15 мл объединённого раствора сульфата железа (III) 0,01 М и сульфата железа (II) семиводного 0,01 М в соотношении 1:3.

Растворы готовились методом последовательного разведения.

2.2.8 Количественное определение флавоноидов в извлечении

Принято для определения суммы флавоноидов в экстрактах, преобладающее количество из которых составляет рутин, проводить реакцию комплексообразования с хлоридом алюминия (III) в слабокислой среде. При этом наблюдается bathochromный сдвиг полосы поглощения флавоноидов от 330-350 к 390-410 нм в видимую область спектра [103]. Механизм реакции комплексообразования флавоноидов с алюминием хлоридом представлена на рис. 20.

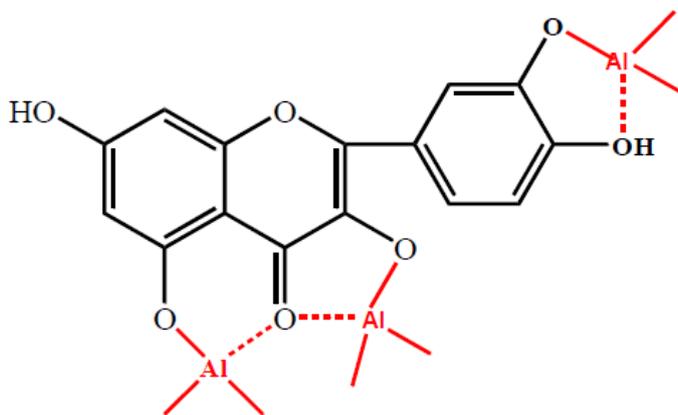


Рис. 20 - Механизм реакции комплексообразования флавоноидов с алюминием хлоридом

В качестве стандарта для определения флавоноидов в извлечении использовали рутин [104]. Определение большинства биофлавоноидов в этом случае измерение проводят в интервале длин волн 408 – 420 нм [105].

Для построения спектра использовали реакцию комплексообразования рутина с раствором алюминия хлорида (III). Готовили растворы сравнения и исходные растворы по следующей методике [66, 87]:

Приготовление раствора сравнения (раствор А):

в колбу на 25 мл помещали пипеткой 3 мл извлечения, 0.2 мл 1% уксусной кислоты, далее этиловым спиртом 95% доводили до метки.

Приготовление исходного раствора (раствор Б):

в колбу на 25 мл помещали пипеткой 3 мл извлечения, 126 0.2 мл 1% уксусной кислоты, 5 мл 10% раствора хлорида алюминия (III), далее этиловым спиртом 95% доводили до метки.

Раствор А и раствор Б выдерживали 30 минут. Снимали спектр поглощения растворов рутина различной концентрации на спектрофотометре СФ 2000 и определяли аналитическую длину волны (длина волны, соответствующая максимуму поглощения).

Далее готовили растворы стандартного образца рутина различной концентрации и определяли оптическую плотность на фотоколориметре КФК-3КМ при аналитической длине волны. По полученным данным строили градуировочный график [106].

Аналогично проводили реакцию комплексообразования флавоноидов, содержащихся в полученных извлечениях, с раствором хлоридом алюминия (III). Далее извлечение разводили в 30 раз.

Определение количественного содержания флавоноидов в извлечении проводили на фотоколориметре КФК-3КМ при длине волны 410 нм, толщине кюветы 1 см или 0,5 см (в зависимости от получаемой оптической плотности).

Количественное содержание флавоноидов в извлечениях рассчитывался по формуле (31):

$$C = \frac{D * C_{ст} * K_p * V_{извл}}{D_{ст} * l} \quad (31)$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора,

$D_{ст}$ – оптическая плотность стандартного раствора рутина концентрации $C_{ст}$, мг/мл

$C_{ст}$ – концентрация стандартного раствора рутина,

K_p – коэффициент разведения,

$V_{извл}$ – объем получаемого извлечения, мл

l – толщина кюветы, см

2.2.9 Определение влияния СВЧ-воздействия и УЗ-воздействия на количественное содержание флавоноидов в извлечении

Навеску сырья 5 г помещали в круглодонную колбу на 100 мл, прибавляли 10 мл воды дистиллированной (экстрагента), настаивали 1 час.

Далее в колбу прибавляли ещё 20 мл экстрагента и проводили обработку СВЧ- или УЗ-излучением.

СВЧ-воздействие.

Колбу с сырьём и экстрагентом помещали в фарфоровую чашку объёмом 500 мл с холодной водой 20°C , данную установку помещали в микроволновую камеру Mystery MMW-2315G и проводили облучение в течение установленного времени [4]. Каждую минуту проводили замену воды в бане на холодную во избежание чрезмерного нагревания сырья, таким образом поддерживали установленную температуру воды в диапазоне $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$.

Исследование проводили в микроволновой камере при мощности 900 Вт и частоте поля 2450 МГц (интенсивность 10 мВ/ см^2).

УЗ-воздействие. Колбу с сырьём и экстрагентом помещали на УЗ-баню ПСБ.2835.05 с рабочей частотой 35 кГц, интенсивностью 0,5 - 1,0 Вт/см² и проводили облучение в течение установленного времени [85, 107].

После обработки СВЧ- или УЗ- излучением проводили экстракцию двумя методами в зависимости от цели исследования: мацерацией без нагревания или при помощи нагревания (п. 2.2.2).

2.2.10 Определение влияния заморозки/разморозки на количественное содержание флавоноидов в извлечении

Навеску сырья 5 г помещали в стакан на 50 мл, прибавляли 10 мл воды дистиллированной (экстрагента), настаивали 1 час.

Далее в стакан прибавляли ещё 20 мл экстрагента. Стакан закупоривали и помещали в морозильную камеру ATLANT XM 4009 (температура $-18 \pm 1^{\circ}\text{C}$) на трое суток.

После чего стакан размораживали при комнатной температуре и проводили экстракцию при нагревании (п. 2.2.2.3).

2.2.11 Получение экстрактов из плодов софоры японской в условиях многократной экстракции

На первом этапе экстракцию проводили методом перколяции (п. 2.2.2.2). В качестве экстрагента использовали воду дистиллированную и спирт этиловый 50%.

Далее в нижнем перколяторе оставляли использованный шрот (сырье, оставшееся после экстракции) и проводили повторный цикл перколяции. Количество циклов определяли содержанием общей суммы флавоноидов в извлечении после экстракции.

2.2.12 Получение экстрактов из плодов софоры японской с целью описания кинетики экстракции

Кинетику экстракции определяли, используя метод мацерации (п. 2.3.3.1).

К навеске сырья 5 г добавляли 10 мл экстрагента. Оставляли укупоренным в течение часа. Далее добавляли 20 мл экстрагента и оставляли настаиваться в течение 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120 и 150 минут. Для каждой точки использовали одно извлечение.

Полученные извлечения фильтровали, используя фильтры обеззоленные «синяя лента».

2.2.13 Определение БАВ в извлечении

Определение биологически-активных веществ проводили по методикам, описанным Аслоновой И. Ж. [3]. Данные методики также описаны в других статьях, например, в работе М. I. Fedorovska [108, 109].

2.2.13.1 Определение флавоноидов

Для определения флавоноидов в извлечении использовали следующие реакции: «Цианидиновая проба», реакцию с хлоридом алюминия (рис. 21), реакцию с треххлорным железом (рис. 22), реакцию Вильсона (рис. 23), реакцию с аммиаком (рис. 24).

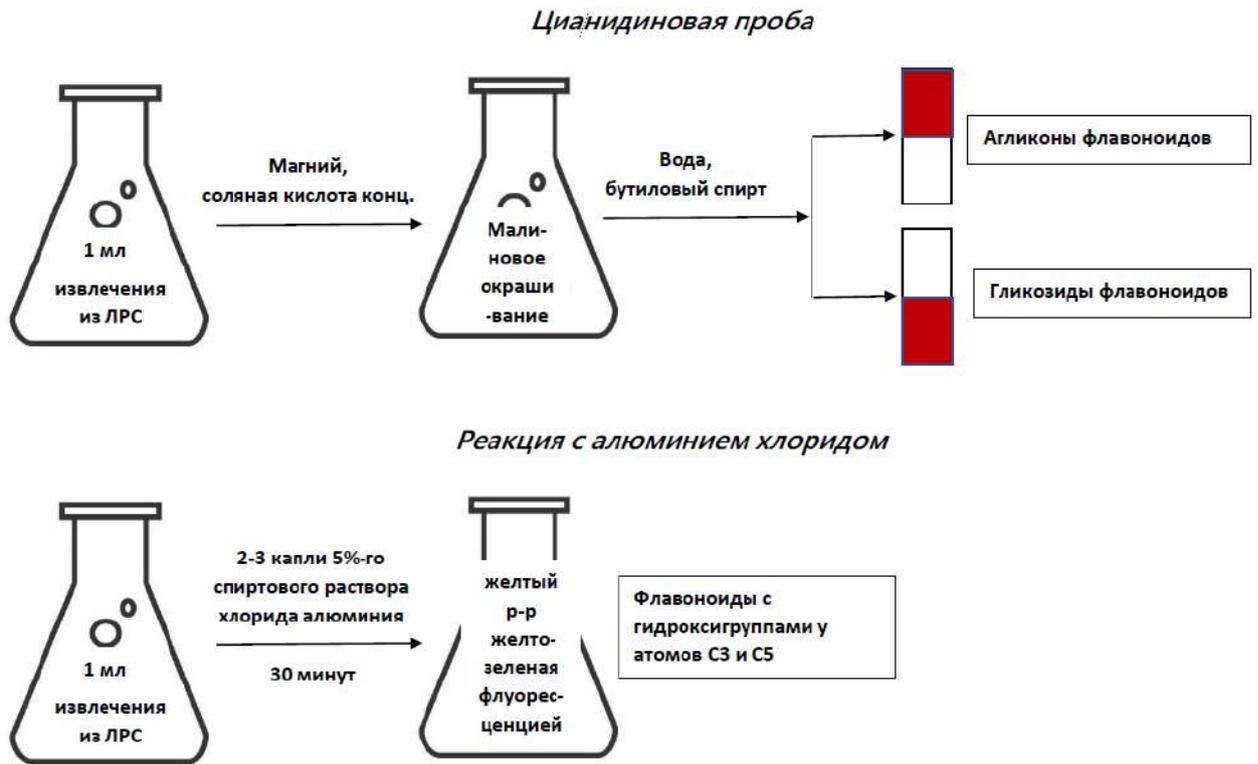


Рис. 21 - Качественные реакция определения флавоноидов в извлечении

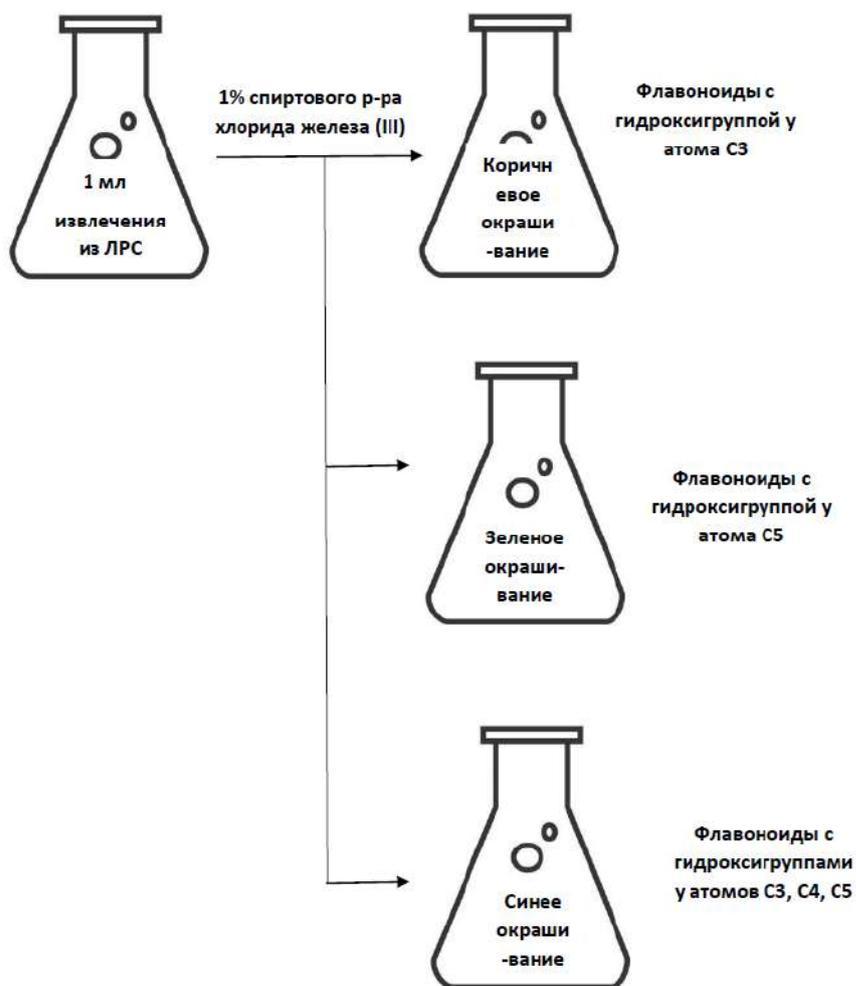


Рис. 22 - Реакция с треххлорным железом для определения флавоноидов в извлечении



Рис. 23 - Реакция Вильсона для определения флавоноидов в извлечении

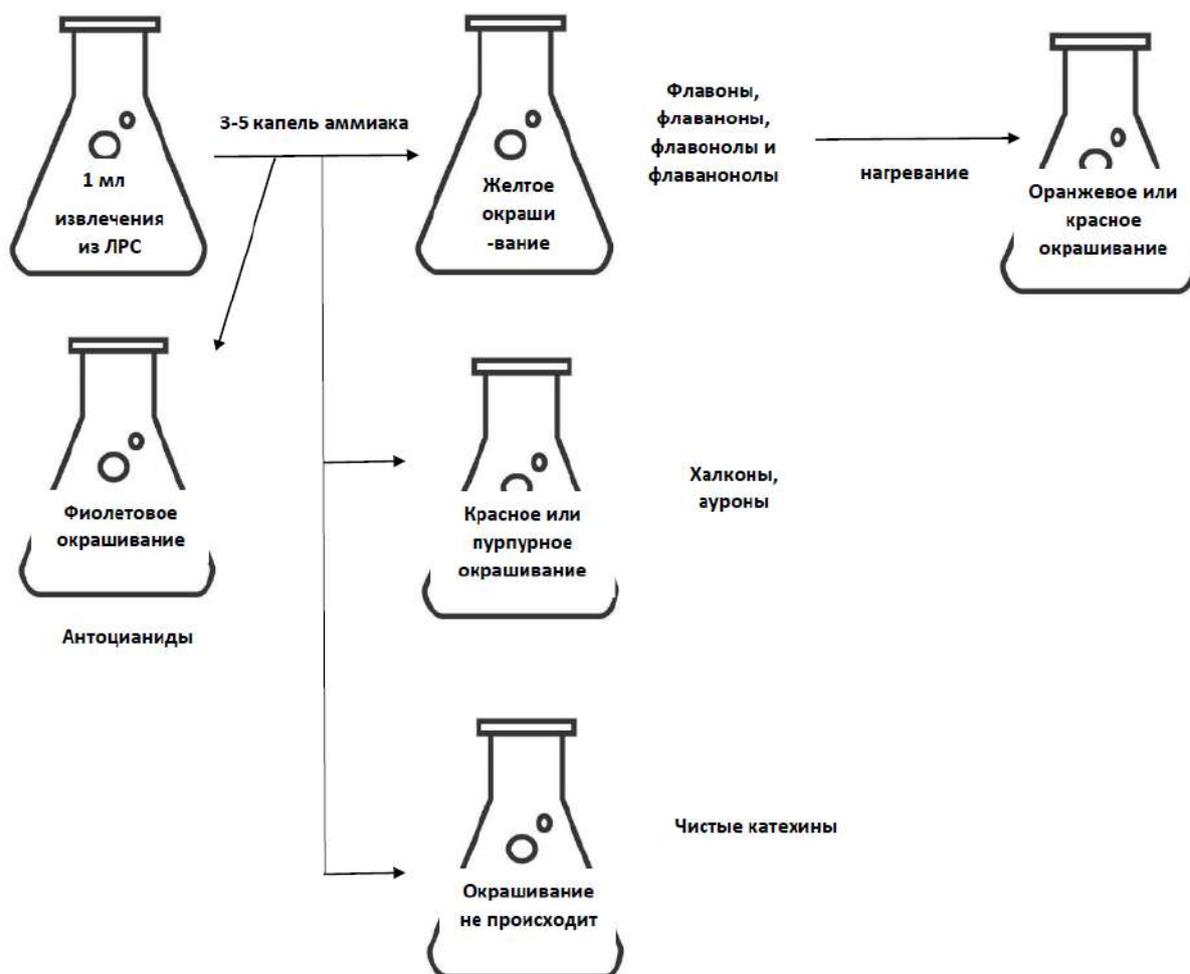


Рис. 24 - Реакция с аммиаком для определения флавоноидов в извлечении

С целью определения флавоноидов в извлечении также использовали метод тонкослойной хроматографии. В хроматографической камеру помещали раствор н-бутанола, уксусной кислоты и воды в соотношении 4:1:5 (подвижную фазу).

Извлечение и стандартный раствор рутина наносили микрошприцом на пластинку силикагеля «Silufor» таким образом, чтобы расстояние между пробами составляло не более 10 мм. Пластинку с нанесёнными пробами сушили на воздухе. После прохождения подвижной фазы через пластинку, её вынимали, опрыскивали 5 % раствором алюминия хлорида, сушили на воздухе и просматривали в УФ-облучателе ТСХ-254\365 при длине волны 354 нм.

2.2.13.2 Определение простых фенолов

Для определения простых фенолов в извлечении использовали реакции с сульфатом железа (II) и железоммонийными квасцами (рис. 25).

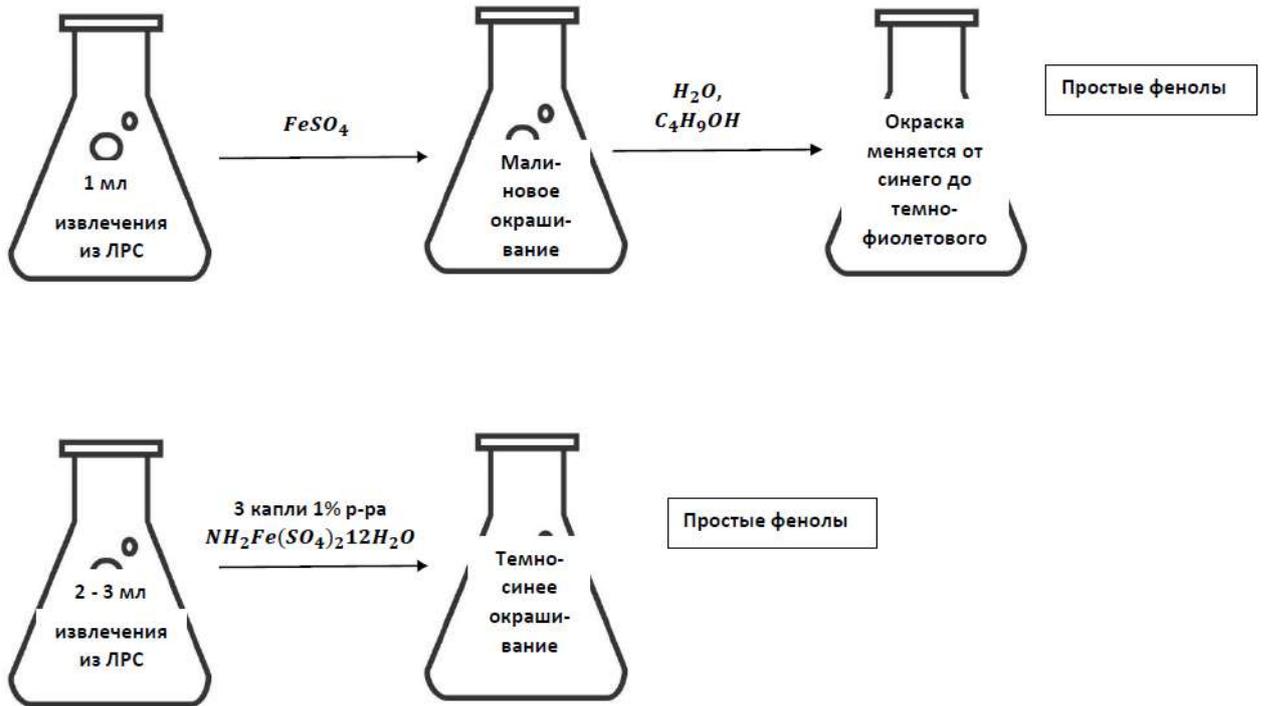


Рис. 25 - Качественные реакции определения простых фенолов в извлечении

2.2.13.3 Определение полисахаридов

Для определения полисахаридов в извлечении использовали реакции с этиловым спиртом, гидроксидом натрия и концентрированной соляной кислотой (рис. 26).

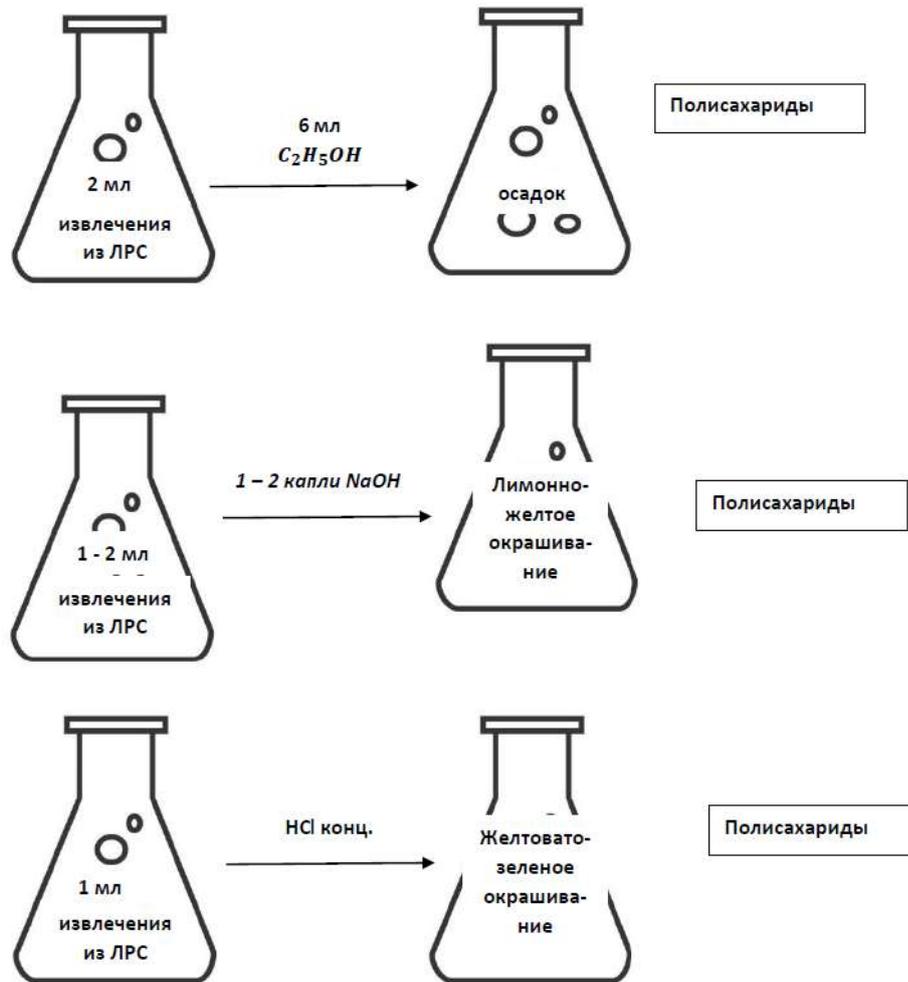


Рис. 26 - Качественные реакции определения полисахаридов в извлечении

2.2.13.4 Определение сапонинов

Для определения сапонинов использовали реакции с 10% ацетатом свинца и пенообразованием (в щелочной и кислой средах) (рис. 27).

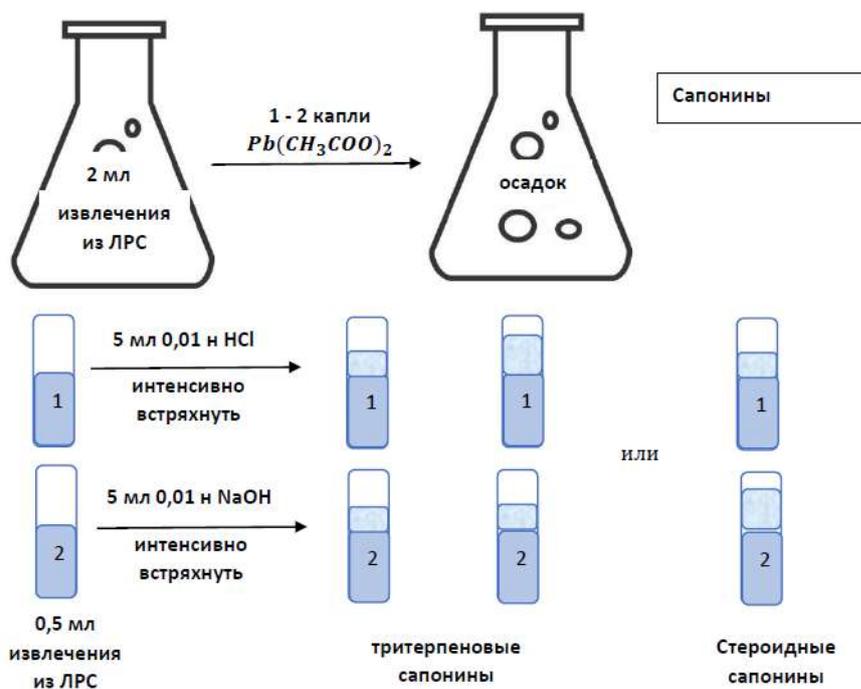


Рис. 27 - Качественные реакции определения сапонинов в извлечении

2.2.13.5 Определение алколоидов

Для определения алколоидов в извлечении проводили реакцию с раствором танина (рис. 28).



Рис. 28 - Качественная реакция определения алколоидов в извлечении

2.2.13.6 Определение дубильных веществ

Для определения дубильных веществ в извлечении использовали следующие реакции: реакция с раствором желатина, реакцию с калия бихроматом (рис. 29), реакцию с солями железа (III), реакцию с нитритом натрия (рис. 30).

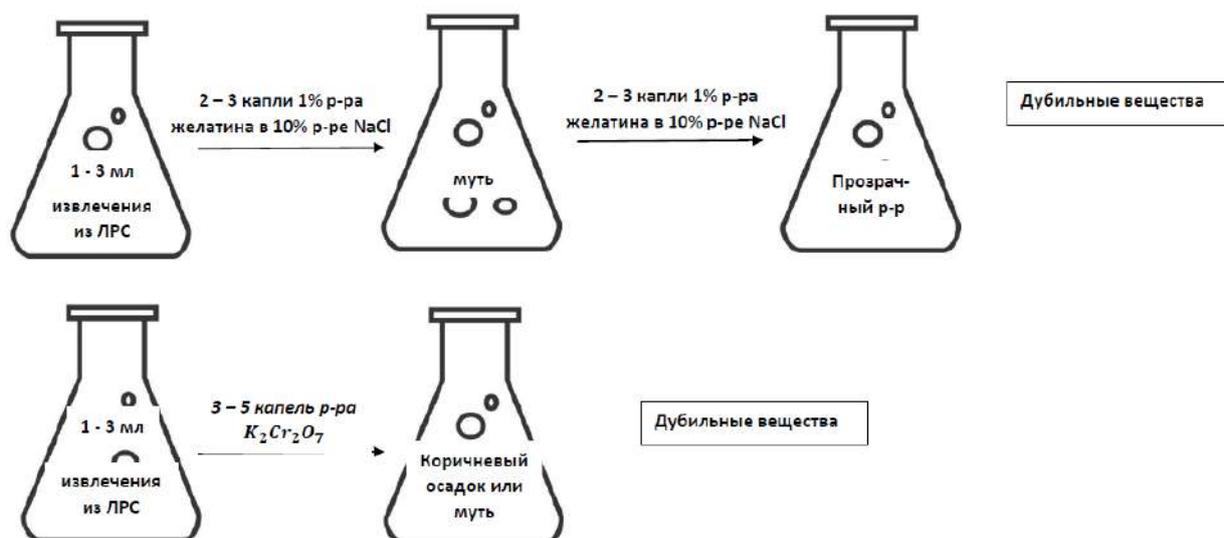


Рис. 29 - Качественные реакции (реакция с раствором желатина, реакцию с калия бихроматом) определения дубильных веществ в извлечении

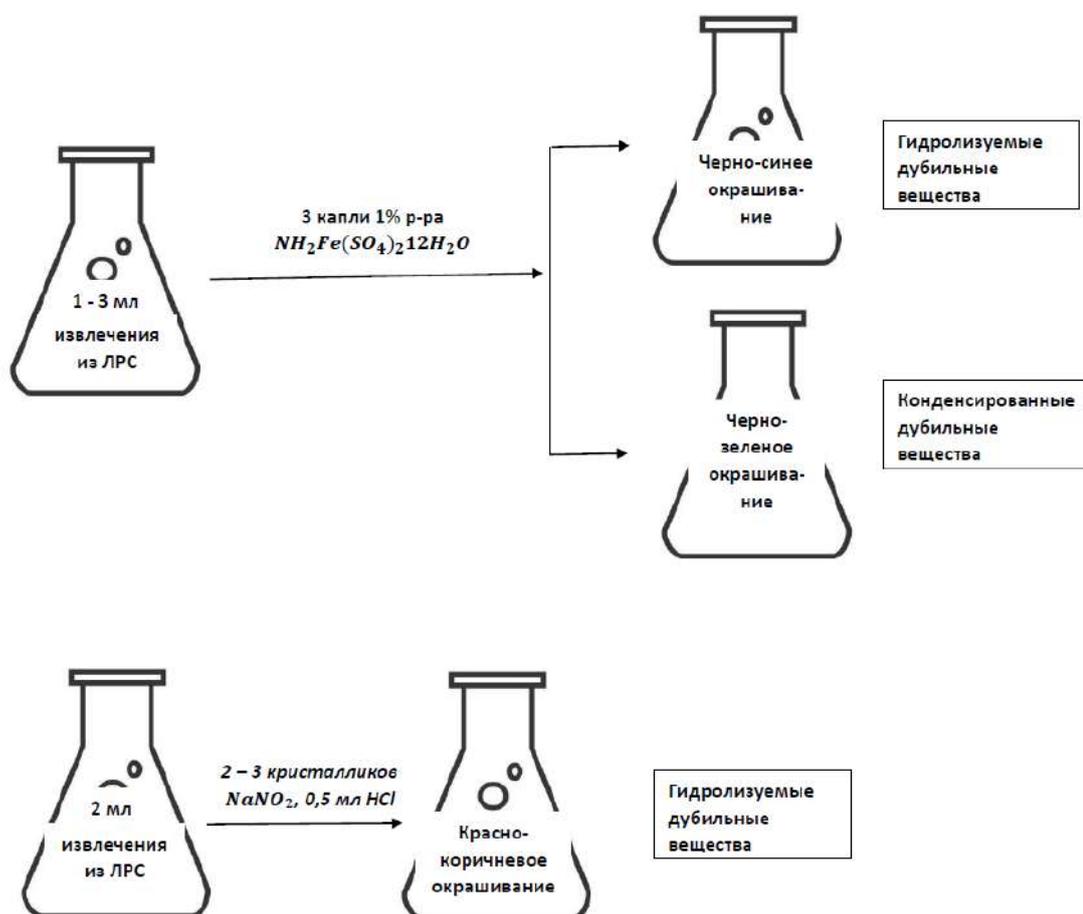


Рис. 30 - Качественные реакции (реакцию с солями железа (III), реакцию с нитритом натрия) определения дубильных веществ в извлечении

2.2.14 Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных проводилась в программе Excel. Оценку достоверности различий между выборками проводили параметрическим методом для независимых выборок,

определяя t-критерий Стьюдента. Использовалось по 10 измерений для каждого варианта исследования. Рассчитанное значение t-статистики составило 2,1, что меньше критического значения для данного числа наблюдений (степень свободы 4) и уровня значимости ($p < 0,05$). Результаты оказались значимыми, различия между выборками достоверные на уровне достоверности ($p < 0,05$).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1 Обоснование выбора методов экстракции БАВ из растительного сырья

При экстракции флавоноидов используют динамические и статические методы экстракции.

К динамическим методам относят перколяцию. Данный метод заключается в пропускании через сырье потока экстрагента с заданной скоростью. Процесс ускоряется за счёт постоянного создания разности концентраций. В некоторых случаях это позволяет получать извлечения с большим содержанием БАВ, поэтому этот метод использовался для изучения экстракции флавоноидов из плодов софоры японской в динамических условиях.

К статическим методам относят мацерацию. Данный метод заключается в настаивании сырья в экстрагенте до установления динамического равновесия. Мацерация является наиболее простым методом экстракции с низкой долей вариабельности процесса, поэтому при оценке различных факторов, влияющих на процесс, выбирали его.

Метод мацерации очень часто комбинируют с нагреванием на кипящей водяной бане с целью увеличения скорости и полноты экстракции флавоноидов, в связи с этим данный метод также использовался при оценке факторов, влияющих на процесс.

3.2 Качественное определение БАВ в извлечении из плодов софоры японской

Растительное сырье имеет сложный состав, включающий в себя различные БАВ, такие как флавоноиды, алкалоиды, терпены, фенольные соединения и другие. Каждое растение содержит уникальный набор химических соединений, который может варьироваться в зависимости от многих факторов, включая вид растения, условия выращивания, климат, почву и методы обработки [82].

Оболочка высушенной растительной клетки состоит из основных компонентов клеточной стенки, которые могут быть частично изменены или повреждены в процессе сушки. К ним относятся:

- **Целлюлоза:** Это основной полимер, составляющий клеточную стенку растительных клеток. Целлюлоза обеспечивает жёсткость и прочность клеточной стенки.
- **Гемицеллюлоза:** Это второй по распространённости полимер в клеточной стенке, который укрепляет её и участвует в формировании межклеточных связей.
- **Пектин:** Это группа полисахаридов, которая обычно находится в промежутках между целлюлозой и гемицеллюлозой. Пектин обладает способностью притягивать воду, что может играть роль в удержании влаги в растительной клетке.

· **Лигнины:** Это комплексные полимеры, которые придают жёсткость и устойчивость клеточной стенке. Лигнины могут быть особенно прочными и устойчивыми к действию различных внешних факторов.

· **Белки:** В клеточной стенке также могут содержаться белки, которые выполняют различные функции, такие как защита от вредителей или участие в сигнальных процессах.

· **Липиды:** Некоторые липиды, такие как воски, могут быть частично присутствовать в оболочке клетки и играть роль в её гидрофобности и защите.

Из-за этой сложности состава растительного материала выбор метода экстрагирования и оптимальных условий проведения процесса играют решающую роль в получении экстракта с высокой концентрацией желаемых компонентов. Каждый метод экстрагирования имеет свои преимущества и ограничения, и выбор оптимального метода зависит от целей и требований к конечному продукту.

Поэтому важно тщательно выбирать метод экстрагирования и проводить предварительные исследования состава растительного сырья для достижения максимальной эффективности и сохранения БАВ в полученном экстракте.

3.2.1 Определение флавоноидов

В результате идентификации флавоноидов при помощи качественных реакций (п. 2.2.5.1) получены следующие результаты:

1. Цианидиновая проба. При восстановлении магнием в присутствии хлористоводородной кислоты в пробирке с извлечением из плодов софоры японской произошло образование слабого оранжевого окрашивания. Следовательно, в извлечениях из плодов софоры японской содержатся флавонолы, флавононы или флавоны.

2. Реакция с алюминием хлоридом. В пробирке с извлечением из плодов софоры японской произошло слабое лимонно-желтое окрашивание. Следовательно, в данных извлечениях содержатся флавоноиды, имеющие две оксигруппы в положении C_3 и C_5 .

3. Борно-лимонная реакция (реакция Вильсона). В пробирке с извлечением из плодов софоры японской произошло ярко-желтое окрашивание с желто-зеленой флуоресценцией, при дальнейшем добавлении соответствующих органических кислот окраска и флуоресценция исчезли. Данные явления свидетельствуют о наличии 3- и 5-гидрокси флавоны и 3- и 5-гидрокси флавонолов.

4. Реакция с аммиаком. В пробирке с извлечением из плодов софоры японской произошло слабое жёлтое окрашивание, при нагревании переходящее в оранжевое. Данные явления свидетельствуют о наличии флавонов, флавонолов или флавононов.

5. Реакция с треххлорным железом. В пробирке с извлечением из плодов софоры японской произошло образование коричнево-зеленой окраски, что свидетельствует о наличии в данных извлечениях 3- и 5-гидрокси флавоноидов.

Тонкослойная хроматография для идентификации флавоноидов в извлечении

На пластинке с раствором стандарта образца рутина, извлечением из плодов софоры японской после хроматографирования обнаружено желто-коричневое пятно слабой окраски на линии хроматографирования стандарта рутина, такое же пятно (по величине, положению и окраски) обнаружено на линии хроматографирования раствора софоры японской.

Был рассчитан коэффициент R_f как отношение скорости движения фронта вещества к скорости движения фронта растворителя (расстояния, пройденного веществом, к расстоянию, пройденному растворителем). Он составил 0,6 для стандартного образца рутина и для полученного извлечения.

Это подтверждает нахождение в извлечении из плодов софоры японской флавоноидов.

3.2.2 Определение простых фенолов

В результате идентификации простых фенолов при помощи качественных реакций (п. 2.2.5.2) получены следующие результаты:

1. При взаимодействии с сульфатом железа закисного в извлечениях из плодов софоры японской происходит образование красновато-фиолетового, затем темно-фиолетового окрашивания, при стоянии образуется темно-фиолетовый осадок. Следовательно, в извлечении из плодов софоры японской содержатся простые фенолы.

2. В реакции с железоммонийными квасцами извлечение из плодов софоры японской дало темно-синее окрашивание, что свидетельствует о наличии в нем гидролизуемых простых фенолов.

3.2.3 Определение полисахаридов

При идентификации полисахаридов при помощи качественных реакций (п. 2.2.5.3) получены следующие результаты:

1. При взаимодействии с этиловым спиртом в извлечении из плодов софоры японской происходит осаждение слизи из водного извлечения. Появляются хлопьевидные сгустки, со временем выпадающие в осадок при стоянии – полисахариды.

2. Реакция с раствором щелочи. Извлечение из плодов софоры японской в реакции с гидроксидом натрия приобретает лимонно-желтую окраску. Следовательно, в извлечении из плодов софоры японской содержатся полисахариды.

3. Реакция с хлористоводородной кислотой. В реакции с концентрированной хлористоводородной кислотой извлечение из плодов софоры японской приобретает желтовато-

зеленое окрашивание. После добавления 95%-го этанола слизь коагулирует в пористый осадок. Следовательно, в извлечении из плодов софоры японской содержатся полисахариды.

3.2.4 Определение сапонинов

При идентификации сапонинов при помощи качественных реакций (п. 2.2.5.4) получены следующие результаты:

1. При воздействии ацетата свинца с извлечением из плодов софоры японской происходит осаждение сапонинов. Следовательно, в извлечении содержатся сапонины, причём тритерпеновые сапонины осаждаются средним ацетатом свинца, а стероидные – основным.

2. В реакции извлечения из плодов софоры японской с соляной кислотой и щёлочью произошло образование пены, примерно равной по объему и стойкости в обеих средах. Это свидетельствует о наличии в извлечении тритерпеновых сапонинов.

3.2.5 Определение алкалоидов

При реакции с танином (п. 2.2.5.5) в извлечении из плодов софоры японской произошло образование беловатого аморфного осадка. Следовательно, в нем присутствуют алкалоиды.

3.2.6 Определение дубильных веществ

При идентификации дубильных веществ при помощи качественных реакций (п. 2.2.5.6) получены следующие результаты:

1. С раствором желатина не произошло образование осадка или помутнения. Следовательно, в извлечении из плодов софоры японской содержатся дубильные вещества.

2. В реакции с калия бихроматом в пробирке с извлечением из плодов софоры японской произошло образование мутного раствора. Следовательно, в извлечении из плодов софоры японской содержатся дубильные вещества.

3. При добавлении раствора железоаммонийных квасцов в пробирке с извлечением из плодов софоры японской произошло черно-зеленое. Следовательно, в извлечении из плодов софоры японской содержатся конденсированные дубильные вещества.

4. В реакции с нитритом натрия в кислой среде в пробирках с извлечениями из плодов софоры японской изменений не произошло. Следовательно, в извлечении из плодов софоры японской отсутствуют гидролизуемые дубильные вещества.

3.3 Количественное определение флавоноидов в извлечении из плодов софоры японской

Плоды софоры японской содержат большое количество флавоноидов и поэтому считаются ценным лекарственным растительным сырьём. Таким образом, целевыми

компонентами в получаемом экстракте являлись флавоноиды. Так как наибольшее количество из них составляет рутин, качественное определение суммы флавоноидов проводили по данному стандарту.

Первым этапом являлось проведение реакции комплексообразования растворов стандартного образца рутина различной концентрации с хлоридом алюминия (III), далее были построены спектры поглощения (рис. 31) и определена аналитическая длина волны - 410 нм.

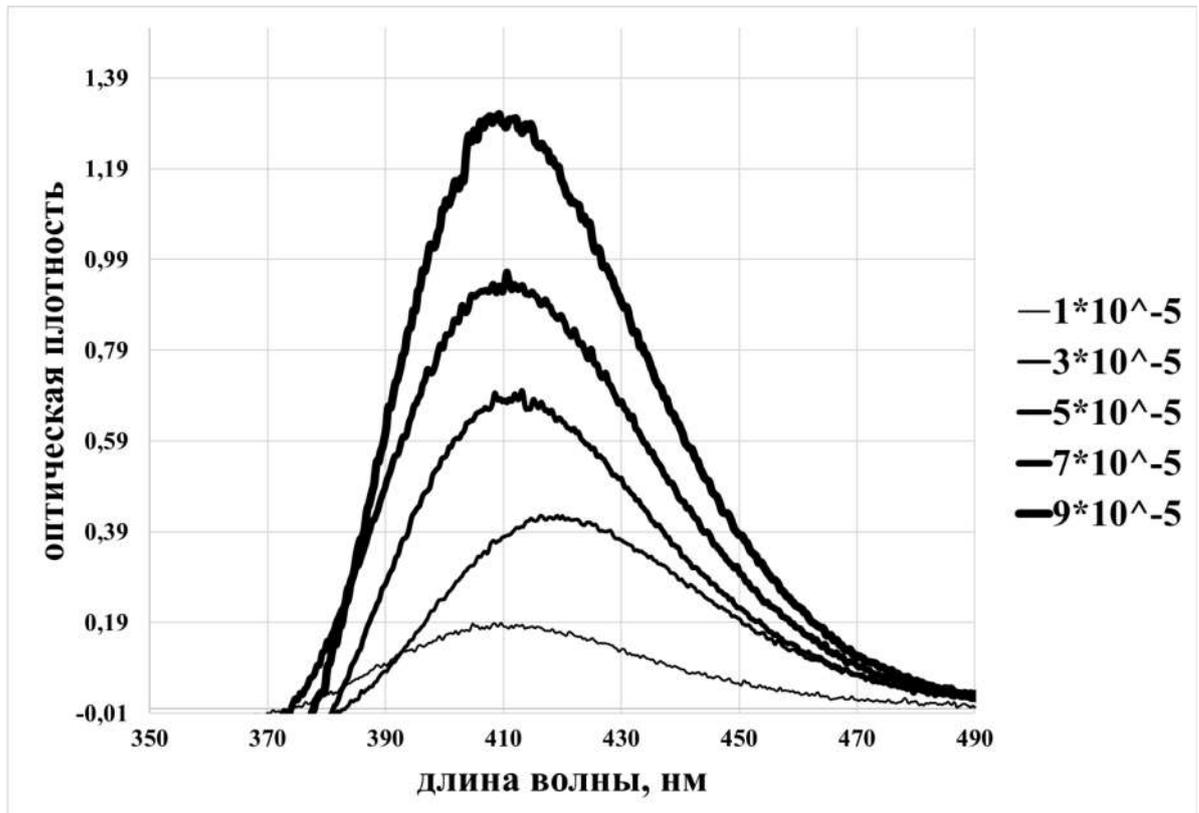


Рис. 31 - Спектры поглощения стандартных растворов рутина различной концентрации ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $3 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $7 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $9 \cdot 10^{-5}$ моль/л)

При данной длине волны была определена оптическая плотность исследуемых комплексов на фотоколориметре и построен градуировочный график для дальнейшего определения флавоноидов в извлечении (рис. 32) [110].



Рис. 32 - Градуировочный график (зависимость оптической плотности от концентрации рутина)

3.4 Многократная экстракция

В целях изучения полноты извлечения флавоноидом из плодов софоры японской была проведена многократная экстракция методом перколяции (п. 2.2.2.2). В качестве экстрагентов использовалась вода очищенная и спирт 50%.

Суммарный выход флавоноидов, или содержание флавоноидов в сырье, при использовании данных экстрагентов примерно одинаковый (в пределах погрешности) (рис. 33, 34). На первом этапе (при первой экстракции) происходит наибольшее извлечение флавоноидов при двух экстрагентах, так как разность концентраций внутри каркаса растительной клетки и в чистом экстрагенте наибольшая. При дальнейших этапах концентрация флавоноидов внутри высушенного растительного сырья уменьшается, соответственно, уменьшается разность концентраций и выход флавоноидов. При первом этапе экстракции в воде происходит больший выход, чем в спирте, дальше происходит резкое уменьшения экстрагируемых веществ. В спирте происходит более равномерное извлечение. Это объясняется тем, что спирт сначала воздействует на каркас клетки таким образом, что она сжимается и происходит закупоривание пор и затруднение диффузии веществ; на дальнейших этапах происходит разрушение каркаса клетки (целлюлозы, лигнина и др. составляющих) в процессе гидролиза. В воде гидролиз происходит быстрее и более полное извлечение флавоноидов происходит уже на первом этапе.

Таким образом, максимальное содержание флавоноидов в извлечении из плодов софоры японской может достигать 16 – 18 мг/мл. Следовательно, содержание флавоноидов в плодах

софоры японской находится в пределах 60 -70 мг в 1 г сырья. Извлечение в смеси ПАВ и в щелочной области дают близкий к максимальному значению выход флавоноидов.

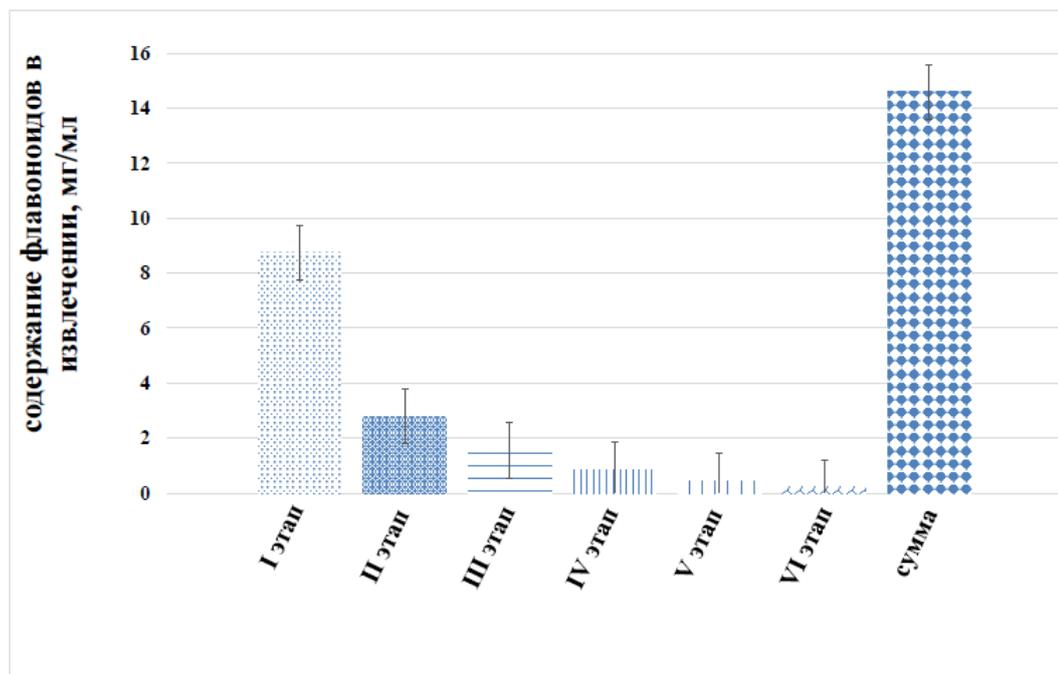


Рис. 33 - Зависимость содержания флавоноидов в извлечении от этапа экстракции (при экстракции водой) и общее содержание флавоноидов в сырье

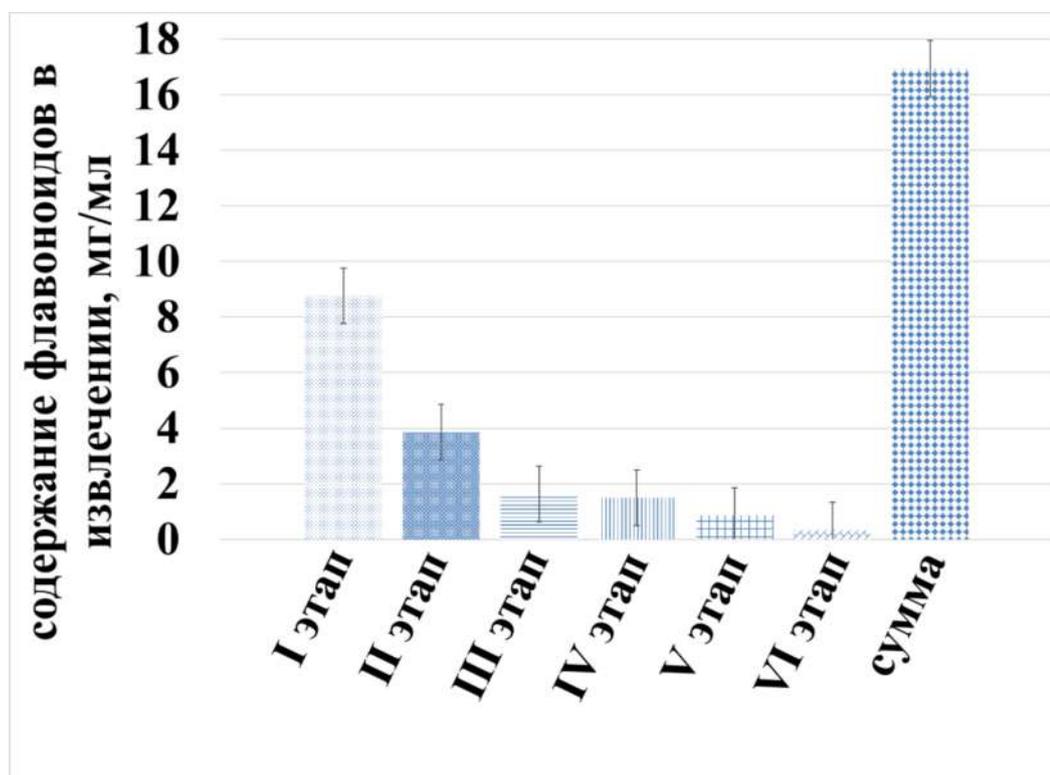


Рис. 34 - Зависимость содержания флавоноидов в извлечении от этапа экстракции (при экстракции спиртом 50%) и общее содержание флавоноидов в сырье

3.5 Влияние физико-химических факторов на процесс экстракции флавоноидов из плодов софоры японской

На процесс экстракции БАВ из растительного сырья могут влиять различные физико-химические факторы, к ним относятся:

- метод экстракции;
- температура;
- тип экстрагента и его концентрация;
- содержание ПАВ в экстрагенте;
- рН среды;
- степень измельчения растительного сырья (размер частиц);
- параметры набухания растительного сырья в экстрагенте;
- СВЧ- и УЗ- воздействие;
- заморозка растительного сырья.

Степень влияния различных факторов индивидуальна для каждого вида сырья и зависит от его состава, поэтому изучения данных явлений имеет важное значения для увеличения скорости и полноты экстракции.

3.5.1 Влияние метода экстракции и концентрации спирта в водно-спиртовом экстрагенте на извлечение флавоноидов из плодов софоры японской

Были получены извлечения из плодов софоры японской с различным содержанием спирта в экстрагенте (водно-спиртовом растворе) методом перколяции (п. 2.2.3.2) и экстракции методом мацерации с нагреванием (п. 2.2.3.3). После чего было определено количественное содержание флавоноидов.

В процессе экстракции методом перколяции содержание флавоноидов в водном извлечении преобладает и постепенно снижается при увеличении концентрации спирта, резкое уменьшение выхода флавоноидов наблюдается при экстракции 95 % спиртом (рис. 35).

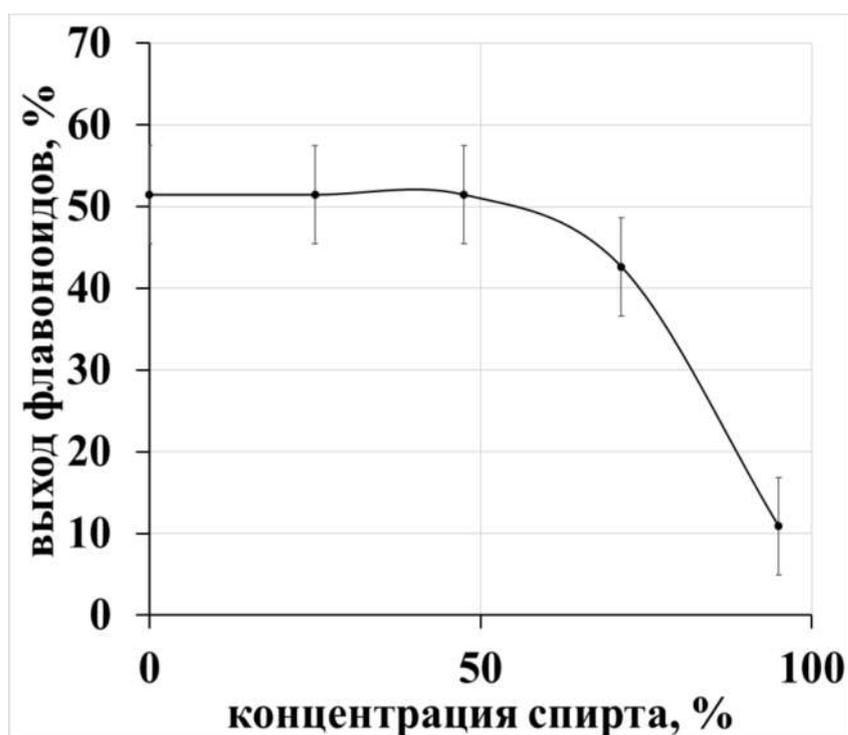


Рис. 35 - Зависимость выхода общей суммы флавоноидов от концентрации спирта при экстракции методом перколяции

При экстракции методом мацерации с нагреванием с увеличением содержания спирта в водно-спиртовом растворе увеличивался выход извлекаемых флавоноидов, максимальный выход наблюдается при содержании спирта 50 %, далее происходит плавный спад (рис. 36).

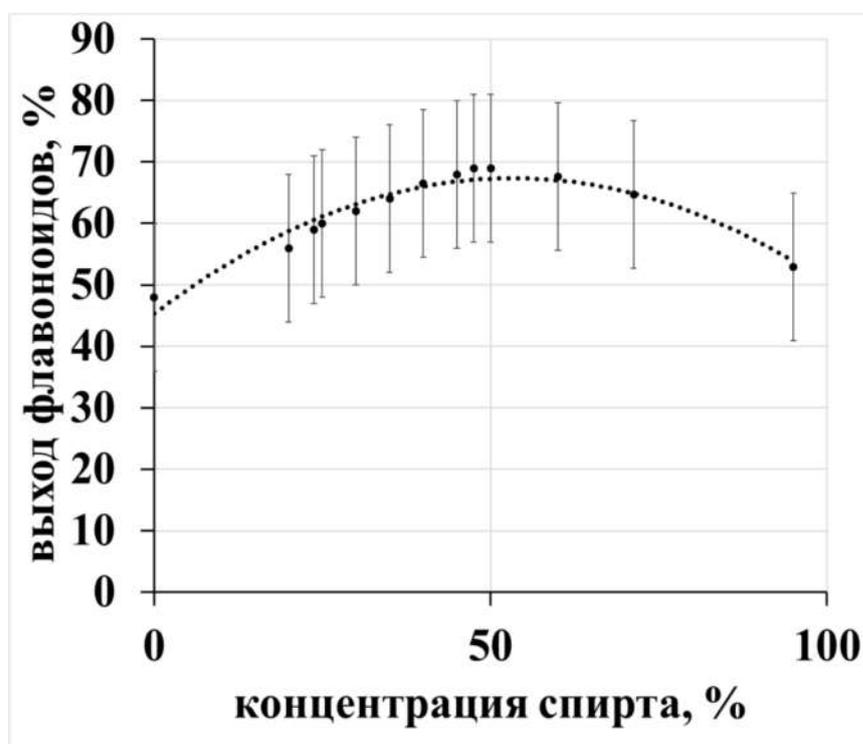


Рис. 36 - Зависимость выхода общей суммы флавоноидов от концентрации спирта при экстракции методом мацерации с нагреванием

Возрастание выхода флавоноидов с увеличением содержания спирта в растворе объясняется тем, что спирт обладает поверхностной активностью за счет дифильной природы молекулы, вследствие чего происходит уменьшения поверхностного натяжения и увеличение контактной поверхности при экстракции. Дальнейшее уменьшение выхода флавоноидов с уменьшением содержания спирта в растворе объясняется тем, что спирт способствует осаждению слизей, белков и некоторых других биологически-активных веществ.

Таким образом, при экстракции в этиловом спирте различной концентрации без нагревания и при нагревании получены различные зависимости. В обоих случаях выход при экстракции водой близкий к 8 мг/мл. С увеличением концентрации спирта в экстрагенте при экстракции методом перколяции плавно уменьшается выход флавоноидов, а при использовании чистого спирта резко снижается. При экстракции методом мацерации с нагреванием выход плавно возрастает, а затем снижается, максимальный выход соответствует концентрации этилового спирта 50%.

Спирт этиловый, с одной стороны, отнимает оставшуюся воду от частиц высушенного растительного сырья, вследствие чего они ещё более сжимаются, что затрудняет подход экстрагента внутрь клетки (данный эффект преобладает в процессе перколяции). С другой стороны, этиловый спирт обладает поверхностной активностью, что улучшает процесс растекания экстрагента по измельчённым плодам софоры японской. При увеличении температуры улучшается контакт растворителя с плодами за счёт уменьшения вязкости спирта и ускорения процесса диффузии веществ в экстрагент, также происходит разрушение прочных связей клеточной оболочки, что уменьшает эффект сморщивания клеток.

Как отмечалось ранее, в этиловом спирте также лучше растворяются агликоновые формы флавоноидов, а в воде гликозидные. При воздействии температур возможно улучшение растворения двух форм флавоноидов, а соотношение спирта и воды 1:1 является оптимальным для растворения двух форм при данных условиях, вследствие чего увеличивается их экстракция.

3.5.2 Экстракция в пропиленгликоле

Для экстракции флавоноидов из растительного сырья применяют не только традиционные водно-этанольные растворы, но и другие комбинации органических веществ с водой. Несмотря на большую вязкость (56,0 мПа*с) использование пропиленгликоль находит применение при извлечении флавоноидов [44, 111].

Экстракцию в пропиленгликоле проводили методом мацерации с нагреванием (п. 2.2.3.3). Содержание флавоноидов в пропиленгликолевом извлечении превышает, содержание данных веществ, полученное при использовании воды в качестве экстрагента, но является более низким по сравнению с извлечением, полученным при использовании спирта этилового 50% (таблица 5).

Таблица 5 - Содержание флавоноидов в извлечении при использовании различных экстрагентов

Экстрагент	Вода	Спирт этиловый 50%	Пропиленгликоль
Содержание флавоноидов в извлечении, мг/мл	8,30	13,39	9,15

Таким образом, полученные результаты доказывают, что пропиленгликоль в качестве экстрагента уступает место водно-спиртовой смеси при извлечении флавоноидов из плодов софоры японской. Это согласуется с литературными данными [111].

3.5.3 Влияние pH среды на экстракцию флавоноидов из плодов софоры японской

Извлечения, полученные при использовании экстрагентов с различным pH, были получены методом перколяции (п. 2.2.3.2). В кислой среде выход флавоноидов резко уменьшается, а в щелочной увеличивается (рис. 37). Однако при подщелачивании экстрагента выше $7,9 \pm 0,2$ pH извлечения остаётся в пределах pH 6,62.

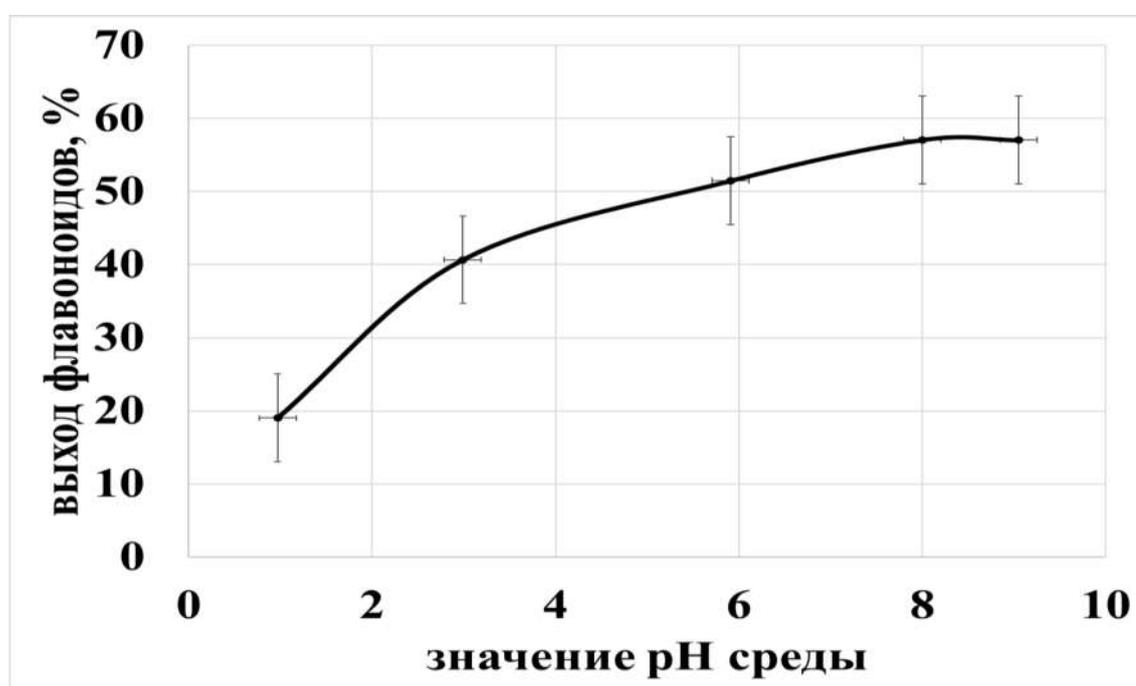


Рис. 37 - Зависимость выхода общей суммы флавоноидов от pH среды (экстракция методом перколяции)

Проведены исследования экстракции в щелочной области при значении pH экстрагента 9,1 при нагревании (п. 2.2.3.3). Выход флавоноидов в этом случае значительно увеличился (рис. 38). С ростом концентрации OH^- происходит улучшение растворения флавоноидов в водных растворах и облегчается их диффузия в экстрагент, а вследствие разрушения каркаса высушенной растительной клетки (состоящей из целлюлозы, лигнина и др.) при воздействии температуры облегчается десорбция веществ.

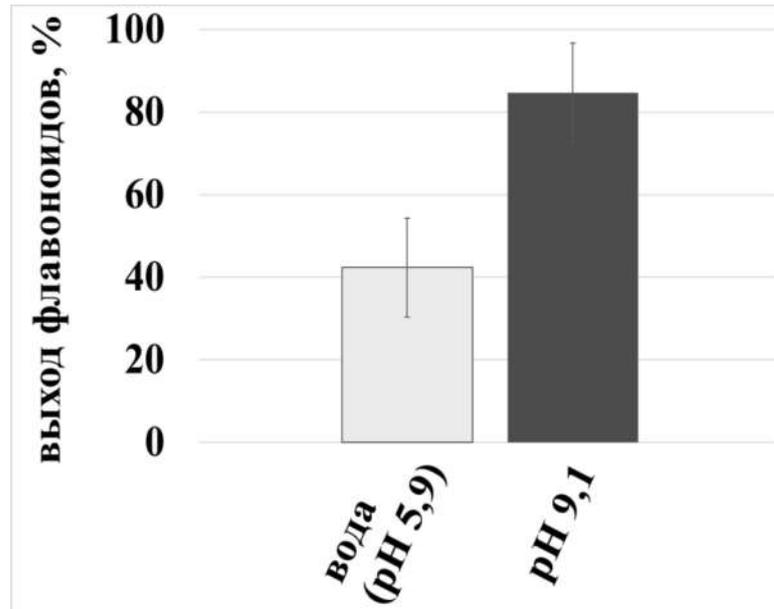


Рис. 38 - Зависимость выхода общей суммы флавоноидов от pH среды (экстракция при нагревании)

3.5.4 Влияние УЗ- и СВЧ-воздействия на экстракцию флавоноидов

Зависимость выхода флавоноидов при экстракции из плодов софоры японской методом мацерации (п. 2.2.2.1) после воздействия СВЧ представлена на рис. 39, при воздействии УЗ – на рис. 40.

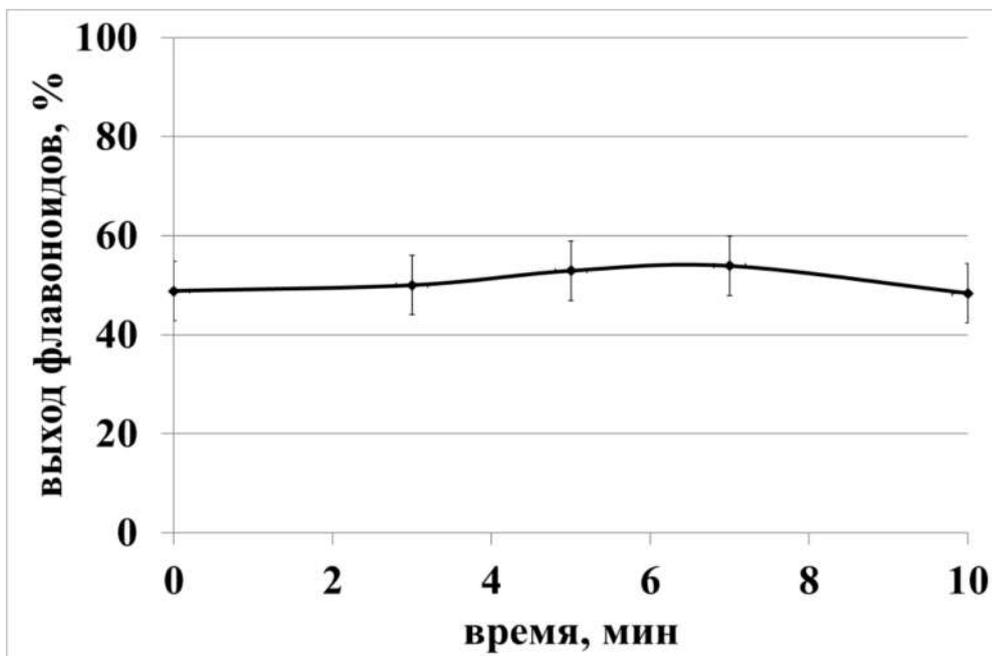


Рис. 39 - Зависимость содержания флавоноидов в извлечении от времени СВЧ-воздействия (экстракция методом мацерации)

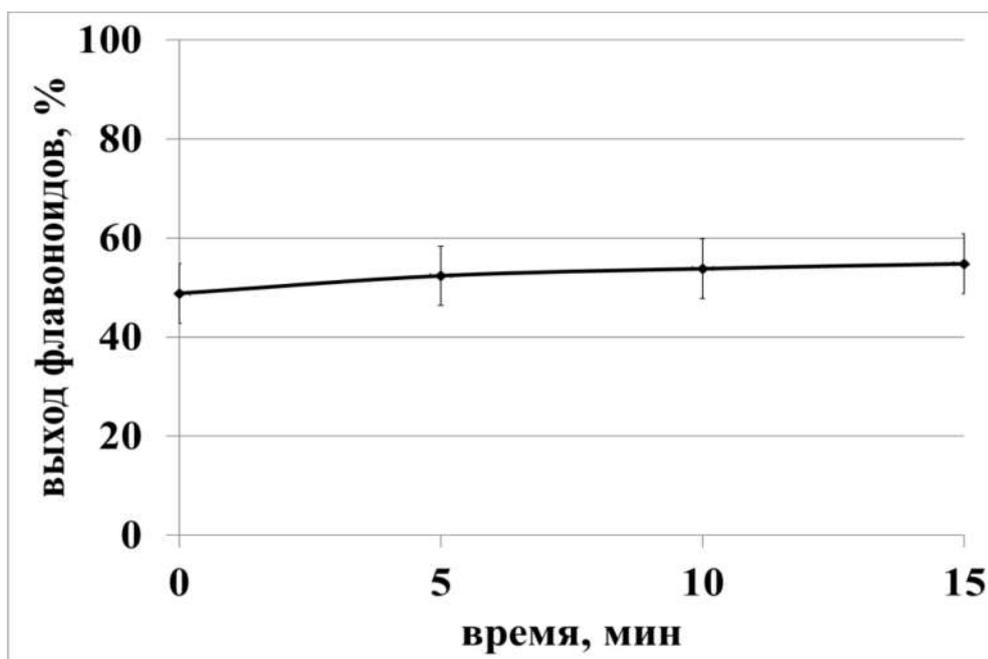


Рис. 40 - Зависимость содержания флавоноидов в извлечении от времени УЗ-воздействия (экстракция методом мацерации)

С увеличением времени воздействия СВЧ- излучения, как и с увеличением времени воздействия УЗ-излучения, выход флавоноидов из плодов софоры японской при экстракции методом мацерации (без нагревания) практически не изменяется. Вероятно, при данной мощности и частоте.

СВЧ-воздействия не происходит достаточного разрушения каркаса оболочки растительного сырья.

Зависимость выхода флавоноидов при экстракции из плодов софоры японской при нагревании (п. 2.2.2.3) после воздействия СВЧ представлена на рис. 41, при воздействии УЗ – на рис. 42.

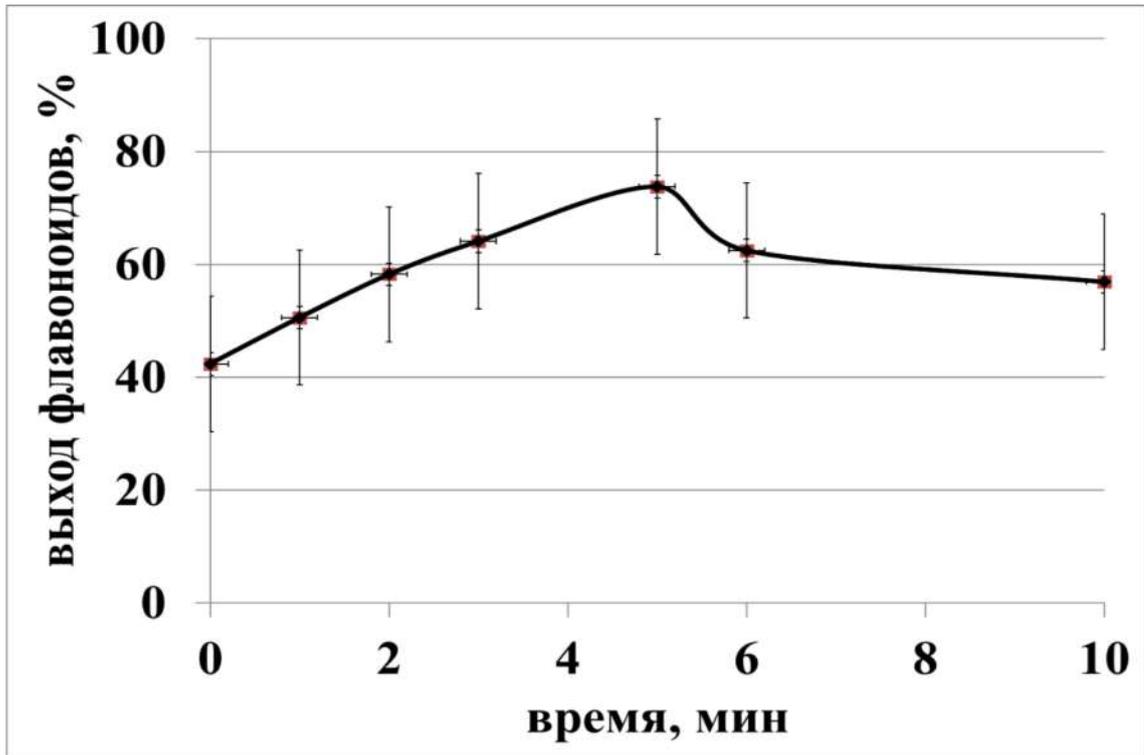


Рис. 41- Зависимость содержания флавоноидов в извлечении от времени СВЧ-воздействия (экстракция при нагревании)

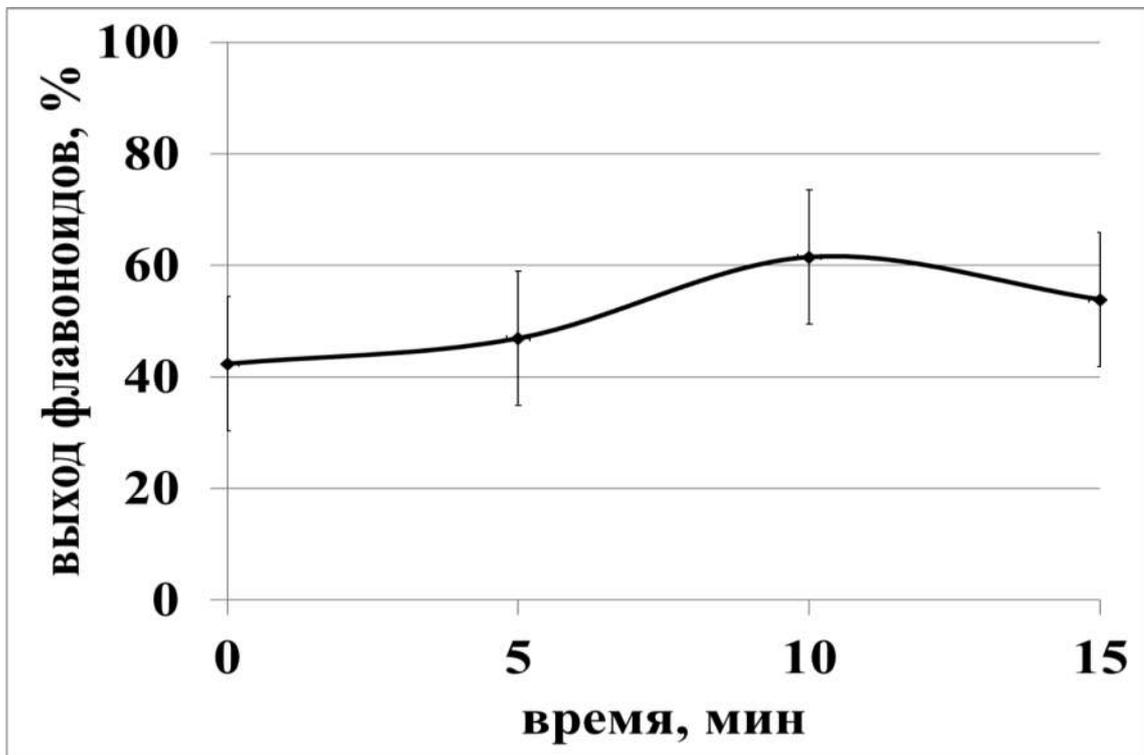


Рис. 42 - Зависимость содержания флавоноидов в извлечении от времени УЗ-воздействия (экстракция при нагревании)

При экстракции с нагреванием и предварительном СВЧ-воздействии (с мощностью 900 Вт и частой 2450 МГц) происходит увеличение скорости извлечения флавоноидов. Это

происходит вследствие увеличения вращающейся составляющей воды при СВЧ-излучении [23]. В процессе взаимодействия экстрагента с оболочкой начинается ее разрушение (гидролиз целлюлозы и лигнина), и продолжается при дальнейшем нагревании растительной клетки. В следствии этого облегчается десорбция флавоноидов.

Увеличение выхода флавоноидов после УЗ-воздействия (с частотой 35 кГц и интенсивностью 0,5 - 1,0 Вт/см²) происходит вследствие разрушения каркаса растительной оболочки, из-за турбулентного потока экстрагента, схлопывания кавитационных пузырьков и быстрого нагревания сырья.

Еще одним фактором увеличение выхода флавоноидов может служить улучшение их растворения в экстрагенте после СВЧ- и УЗ-воздействия. Однако, при длительном воздействии температуры происходит деструкция флавоноидов при обработке как СВЧ, так и УЗ – выход уменьшается.

Определено оптимальное время СВЧ-воздействия (с мощностью 900 Вт и частотой 2450 МГц) - 5 минут и УЗ-воздействию (с частотой 35 кГц и интенсивностью 0,5 - 1,0 Вт/см²) - 10 минут. При этом при СВЧ- и УЗ-воздействии выход флавоноидов увеличивается при экстракции с нагреванием по сравнению с экстракцией без предварительного облучения. Если проводить экстракцию без нагревания при аналогичном УЗ- или СВЧ-воздействии, наблюдается незначительное увеличение выхода флавоноидов в экстракт в первом случае и отсутствие изменений во втором.

3.5.5 Влияние заморозки на экстракцию флавоноидов

Экстракцию после цикла заморозки/разморозки набухшей навески сырья проводили при нагревании (п. 2.2.2.10). Экстракция флавоноидов при этом изменилась в пределах погрешности (рис. 43). Таким образом, заморозка сырья не влияет на разрушение высушенного каркаса растительной клетки.

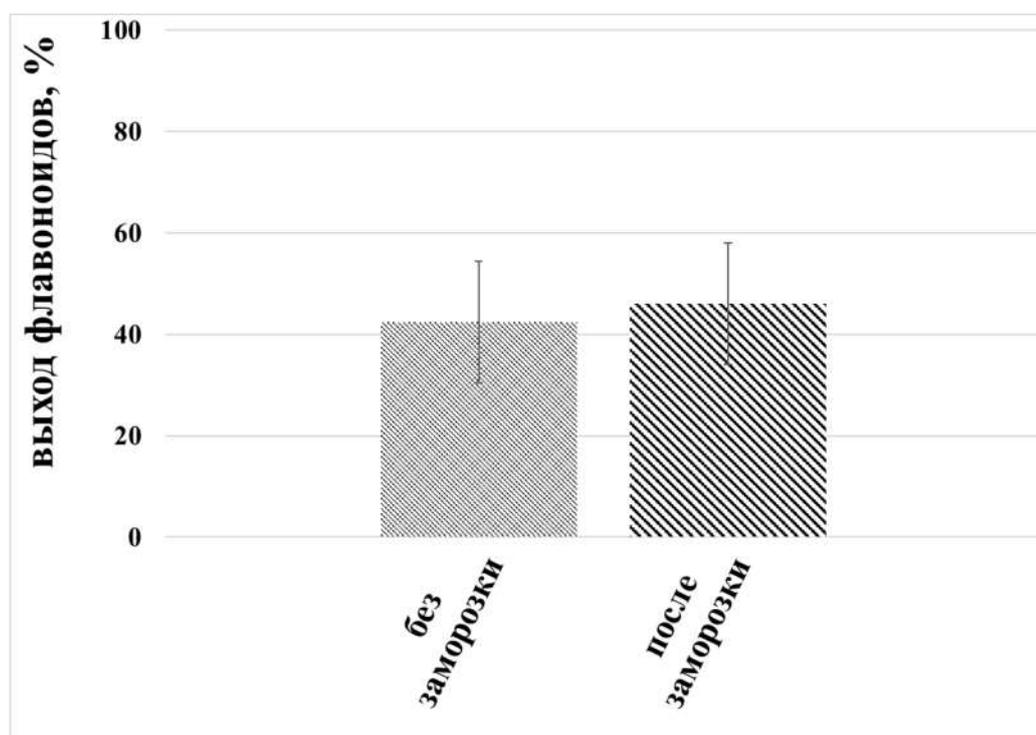


Рис. 43 - Зависимость содержания флавоноидов в извлечении после цикла заморозки/разморозки сырья (экстракция при нагревании)

3.6 Влияние коллоидных свойств дисперсий частиц плодов софоры японской на процесс экстракции флавоноидов

3.6.1 Влияние размера частиц плодов софоры японской на экстракцию флавоноидов

На рисунке 44 представлена зависимость содержания рутина в извлечениях от размера частиц. Извлечения были получены методом перколяции (п. 2.2.3.2). В качестве экстрагента использовался 50% этиловый спирт как наиболее эффективный экстрагент для извлечения флавоноидов из плодов софоры японской. Содержание флавоноидов в извлечении с увеличением размера частиц увеличивалось, однако достигнув размера 0,1-0,2 см снизилось и при размере частиц 0,2-1,0 см вышло на плато.

На фильтре после экстракции, при большом измельчении (размер частиц меньше 0,05 см) оставалось большое количество гелеобразного осадка, который не проходил через фильтр. Фильтрация извлечения, полученного при экстракции из сырья с размером частиц от 0,05 до 1,0 см, происходила быстрее. Остаток на фильтре был минимальным. Это может свидетельствовать о небольшом выходе в сырье балластных и гелеобразных веществ, которые затрудняют выход целевых компонентов – флавоноидов.

Несмотря на то, что согласно закону диффузии, скорость экстракции увеличивается с увеличением поверхности соприкосновения экстрагента с частицами, чрезмерное измельчение растительного сырья влечёт за собой увеличение количества разорванных высушенных клеток, а это приводит к вымыванию из них слизи, пектинов и других ВМВ. В следствии чего происходит

забивание пор, что затрудняет процесс проникновения экстрагента в клетку и диффузии целевых компонентов в извлечение, а также затрудняется процесс фильтрования [113].

Таким образом, определено, что наибольший выход флавоноидов достигается при размере частиц 0,1 – 0,2 см.

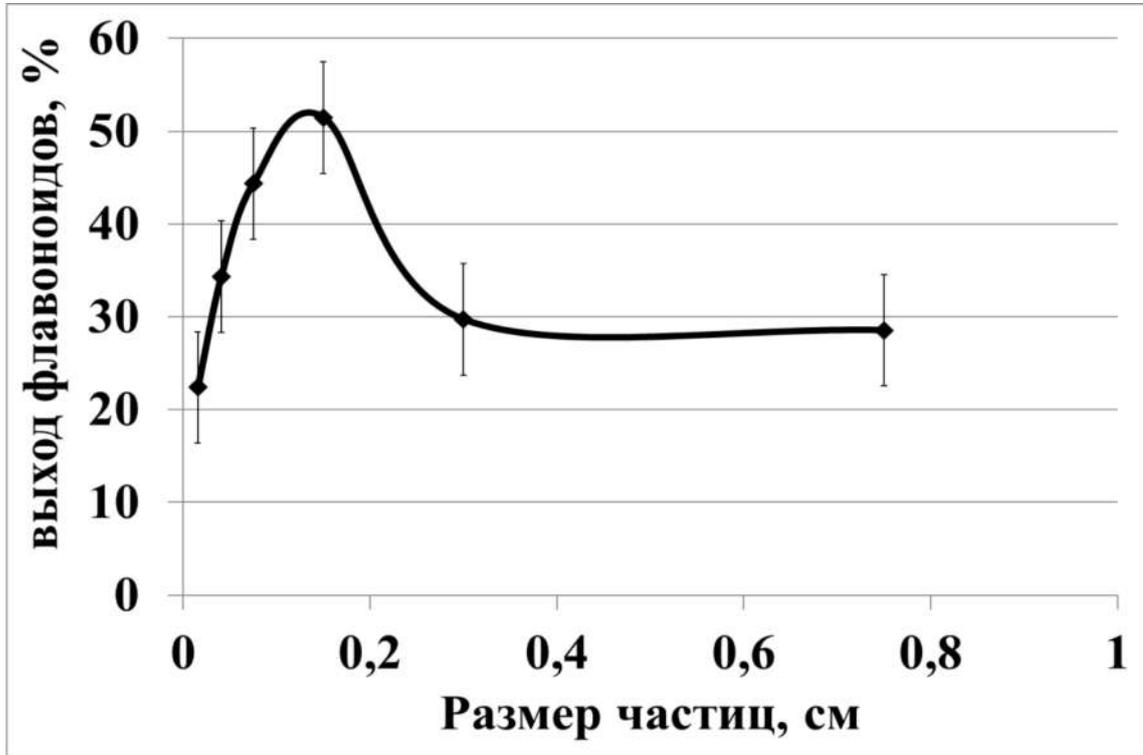
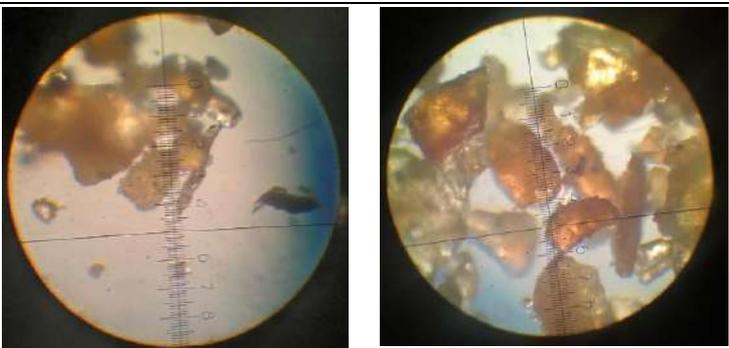


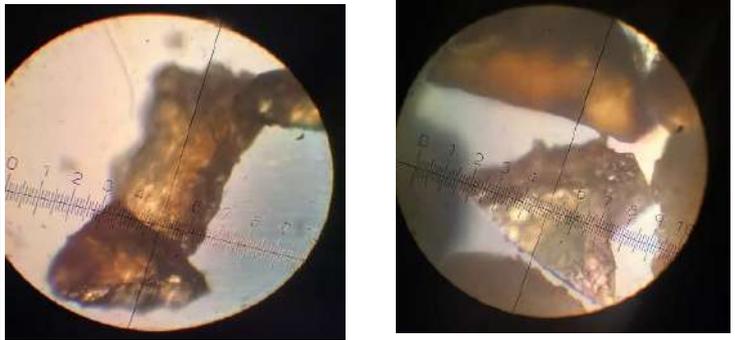
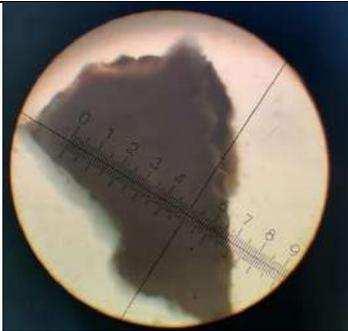
Рис. 44 - Зависимость содержания флавоноидов в экстракте от размера частиц плодов софоры японской

В таблице 6 представлены изображения измельчённого сырья различных размеров.

Таблица 6 - Частицы плодов софоры японской различного размера

Размер частиц, см	Без увеличения	Под микроскопом 1,5x15x9x0,20
Меньше 0,035		

Продолжение таблицы 6 - Частицы плодов софоры японской различного размера

Размер частиц, см	Без увеличения	Под микроскопом 1,5x15x9x0,20
0,035 – 0,05		
0,05 – 0,1		
0,1 – 0,2		
0,2 - 0,5		

Продолжение таблицы 6 - Частицы плодов софоры японской различного размера

Размер частиц, см	Без увеличения	Под микроскопом 1,5x15x9x0,20
0,5 – 1,0		

3.6.2 Определение точки нулевого заряда и изоэлектрической точки

В ходе изучения электрокинетических свойств водных дисперсий частиц софоры японской проведено исследование влияния времени контакта частиц софоры японской с раствором HCl на ζ -потенциала (рис. 45) и pH растворов (рис. 46).

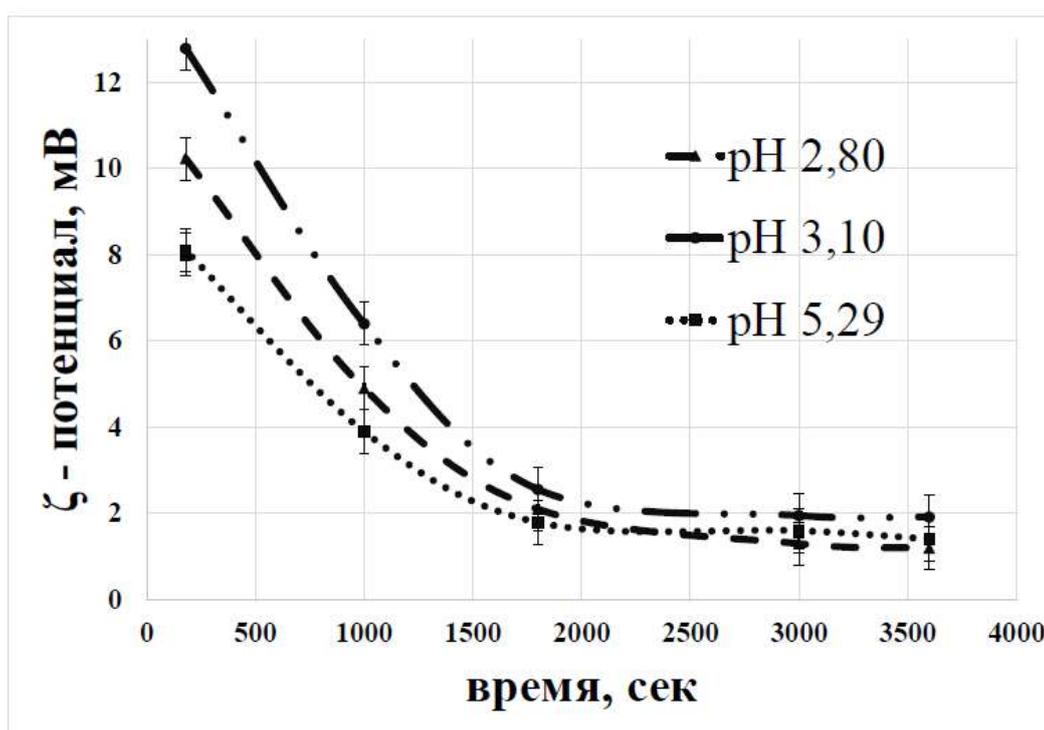


Рис. 45 - Зависимость ζ -потенциала от времени контакта частиц софоры и растворителя при pH (2,80; 3,90; 5,29)

В первые 30 минут происходит уменьшение электрокинетического потенциала, а затем достигается равновесие и процесс диффузии веществ из дисперсии в раствор прекращается. Таким образом, данное время является оптимальным для проведения экстракции БАВ из плодов софоры японской [112].

Влияние рН экстрагента на ζ -потенциала дисперсии плодов софоры японской представлено на рис. 46. Измерение было проведено через 30 минут после получения экстракта.

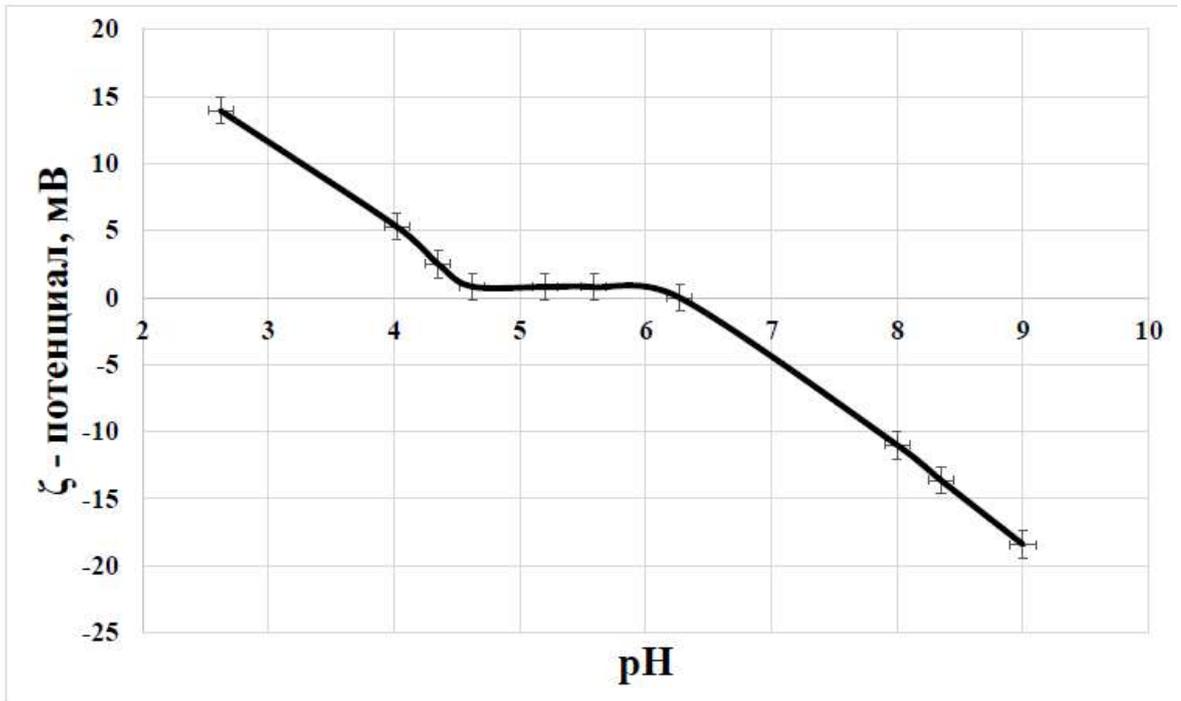


Рис. 46 - Зависимость ζ -потенциала частиц софоры от рН среды

В кислой области (при рН <6) частицы плодов софоры заряжены положительно, с увеличением рН в щелочную область величина ζ -потенциала уменьшается. Вследствие адсорбции и десорбции ионов H^+ и OH^- на активных центрах частиц софоры образуется заряд. К активными центрами частиц плодов софоры японской относятся являются: амино-, карбоксигруппы и др., которые являются составляющими белков, углеводов, липидов, нуклеиновых и органических кислот клеток растений [114, 115, 116, 117]. Положительный заряд частиц в кислой области обусловлен сорбцией ионов H^+ , отрицательный заряд в щелочной области обусловлен сорбцией OH^- . В пределах рН ~ 6 ζ -потенциала равен нулю, это значение соответствует изоэлектрической точки (рН_{изт}). Наличие плато на кривой ζ – рН в диапазоне 4-6 рН, определяется сложным составом растительного сырья и наличием на поверхности частиц различных по природе активных центров.

Кривые потенциометрического титрования дисперсии софоры, извлечения из плодов и фонового раствора представлены на рисунке 47.

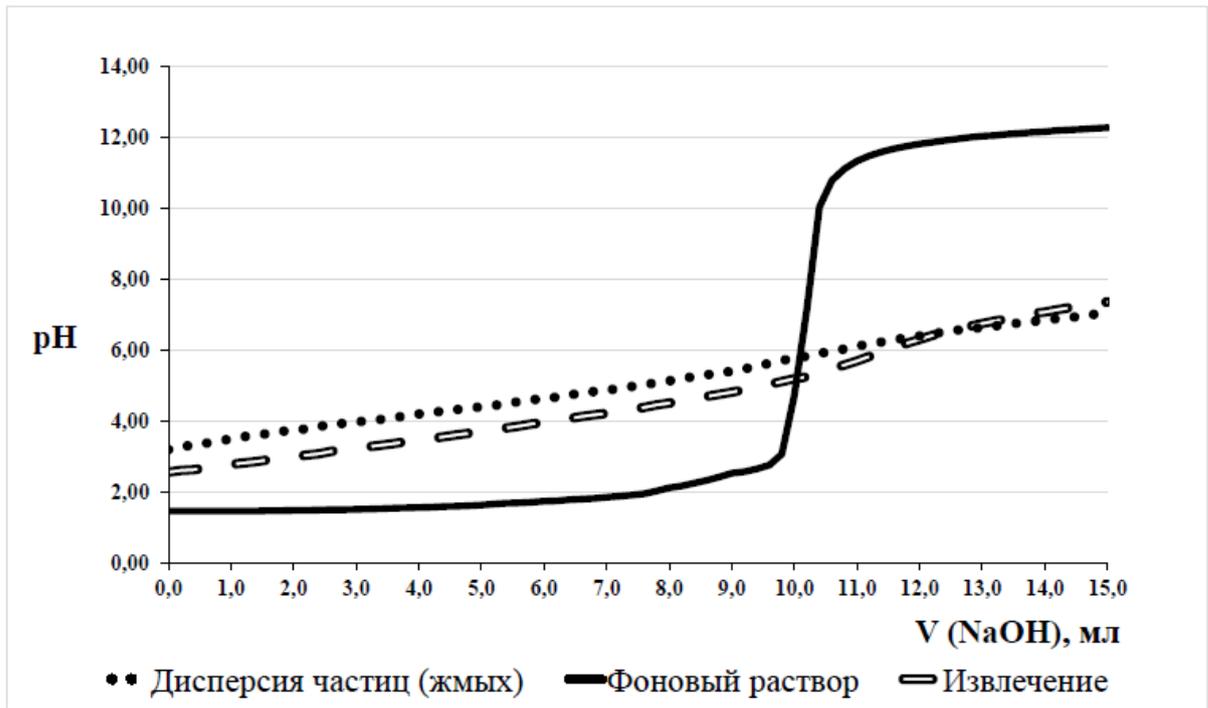


Рис. 47 - Кривые потенциометрического титрования водной дисперсии софоры, извлечения и фонового раствора

При титровании полученного экстракта, как и при титровании частиц, остающихся после фильтрации (жмыха), получены схожие результаты. При pH 5.8 в случае титрования жмыха и при pH 5.2 в случае извлечения происходит пересечение кривых с исходной кривой (кривой титрования кислоты щелочью). Эти значения соответствуют точке нулевого заряда ($pH_{ТНЗ}$), то есть происходит равенство количества адсорбированных ионов H^+ и OH^- . Данное значение близко к значению $pH_{изт}$, что подтверждает отсутствие специфической сорбции других ионов [118].

В процессе экстракции в извлечение переходят биологически-активные вещества, которые определяют значение $pH_{ТНЗ}$. В твёрдой дисперсии, остающейся после процесса экстракции остаются биологически-активные вещества, о чем свидетельствует аналогичный ход кривой титрования извлечения и твёрдой вытяжки.

Отличие значений $pH_{ТНЗ}$ твёрдой дисперсии и извлечения свидетельствует о наличии более прочных связей, чем простое электростатическое взаимодействие между функциональными группами БАВ и частицами софоры.

При изучении влияния pH среды определили, что при набухании сырья в воде, в процессе экстракции водой до фильтрования и после pH вытяжки меняется незначительно. При экстракции кислотой с pH 2,99 при набухании значение pH вытяжки лишь незначительно падает по сравнению с водной вытяжкой и немного увеличивается после фильтрования. При значении pH 0,97 изменения более значительны. Значение pH при набухании увеличивается по сравнению с

изначальной средой, а далее уменьшается на 2 единицы. В щелочной области рН более стабильно и сопоставимо с рН водной вытяжки (таблица 7).

Данные свидетельствуют о том, что в кислой среде происходит сорбция H^+ ионов на частицы сырья за счёт чего значение рН увеличивается по сравнению с изначально заданной, далее в процессе экстракции происходит переход рН в более кислую область.

В щелочной области происходит сорбция ионов OH^- за счёт чего рН уменьшается опускается до значения свойственное значению рН извлечения (таблица 7). Также сорбция ионов OH^- наблюдается при взаимодействии сырья с щелочным раствором визуально – происходит окрашивание раствора в чёрный цвет.

В щелочной области рН значение электрокинетического потенциала частиц плодов софоры японской увеличивается по абсолютной величине за счёт увеличения сорбции ионов OH^- как на поверхности частиц, так и на активных центрах молекул флавоноидов, что усиливает переход флавоноидов в диффузионный слой ДЭС и их десорбцию из частиц ПСЯ. Сравнение выхода флавоноидов в области рН_{изт} и в щелочной области при высоких значение $|\zeta|$ - потенциала показывает увеличение выхода флавоноидов в два раза (Рисунок 38 Зависимость выхода общей суммы флавоноидов от рН среды).

Таблица 7 - Значения рН вытяжки до фильтрации и извлечения

<i>вода рН=5,91</i>	
Вытяжка до фильтрации	5,55
Извлечение	5,59
<i>рН=2,99</i>	
Вытяжка до фильтрации	5,38
Извлечение	5,62
<i>рН=0,97</i>	
Вытяжка до фильтрации	1,45
Извлечение	1,53
<i>рН=7,90 - 8,10</i>	
Вытяжка до фильтрации	5.52
Извлечение	5.62
<i>рН=9,00 - 9,10</i>	
Вытяжка до фильтрации	5.68
Извлечение	5.63

3.6.3 Параметры набухания

Набухание – является важной частью экстракции БАВ из растительного сырья. На этом этапе происходят процессы смачивания и частичного растворения компонентов оболочки растительной клетки, десорбции БАВ. Этот процесс определяет дальнейшую диффузию компонентов в экстрагент. Поэтому изучения факторов, оказывающих влияния на параметры данного процесса очень важны для всего процесса экстракции.

Расчёт степени набухания измельчённых плодов софоры японской проведён в различных условиях, описанных ниже.

Во всех случаях построены графики зависимости степени набухания от времени протекания процесса. Степень набухания достигала максимального значения, после которого не увеличивалась. Это соответствует ограниченному набухания растительной клетки вследствие того, что полимер, из которого состоит растительная клетка, представляет собой пространственную сетку, которая препятствует отрыву макромолекулы друг от друга и переходу их в раствор, а также содержанию в ней высокомолекулярных веществ (ВМВ) [30, 33]. Гемиллюлозы и лигнин, входящие в состав оболочки клетки, имеют разветвлённую и сшитую структуру, свободное пространство каркаса полимера может активно заполняется водой при контакте. Максимальная степень набухания соответствует пределу набухания клетки и является важной характеристикой для оценки процесса набухания. Максимальная степень ($\alpha_{\text{макс}}$) и константа набухания (К) представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Характеристики набухания плодов софоры японской в разных экстрагентах

экстрагент	спирт этиловый 50 %	вода (дистиллированная)			вода (дистиллиро- ванная)		Раствор NaCl 0,001 М	Раствор NaI 0,001 М	Раствор NaCNS 0,001 М	Раствор лаурет-2	Раствор натрий лаурил саркозинат	Раствор кокамидпропиленгликоль- димонийхлоридфосфат	вода (дистиллированная)	вода (дистиллированная)
					Под- кис- лен- ная рН= 3.56	Под- щело- чѐнная рН= 7.94								
Температура/ доп. условия	20 °С	20 °С	20 °С	20 °С	20 °С	20 °С	20 °С	20 °С	20 °С	20 °С	20 °С	20 °С	60 °С	20 °С / УЗ- воз- дей- ствие
размер частиц, см	0,1 – 0,2	0,05 – 0,1	0,1 – 0,2	0,2 – 0,5	0,1 – 0,2	0,1 – 0,2	0,1 – 0,2	0,1 – 0,2	0,1 – 0,2	0,1 – 0,2	0,1 – 0,2	0,1 – 0,2	0,1 – 0,2	0,1 – 0,2
$\alpha_{\text{макс}}$	0,11±0,01	0,17±0,01	0,26±0,01	0,60±0,01	0,24±0,01	0,17±0,01	0,24±0,01	0,30±0,01	0,26±0,01	0,41±0,01	0,19±0,01	0,22±0,01	0,39±0,01	0,33±0,01
$K, \text{с}^{-1}$ с^{-1}	0,05	0,11	0,07	0,014	0,06	0,1	0,08	0,11	0,08	0,04	0,07	0,09	0,04	0,12

3.6.3.1 Влияние природы экстрагента на процесс набухания плодов софоры японской

Определены параметры набухания плодов софоры японской в различных экстрагентах.

При изучении набухания плодов софоры японской в спирте этиловом 50% отмечено, что его добавление снижает максимальную степень набухания больше, чем в два раза (рис. 48). Молекулы воды полярнее спирта (сольватирующая способность спирта ниже), вследствие чего процесс набухания растительной клетки ухудшается и константа скорости набухания в растворе спирта этилового ниже чем в воде. Набухание сырья в пропиленгликоле практически отсутствует – изменение объёма не наблюдалось.

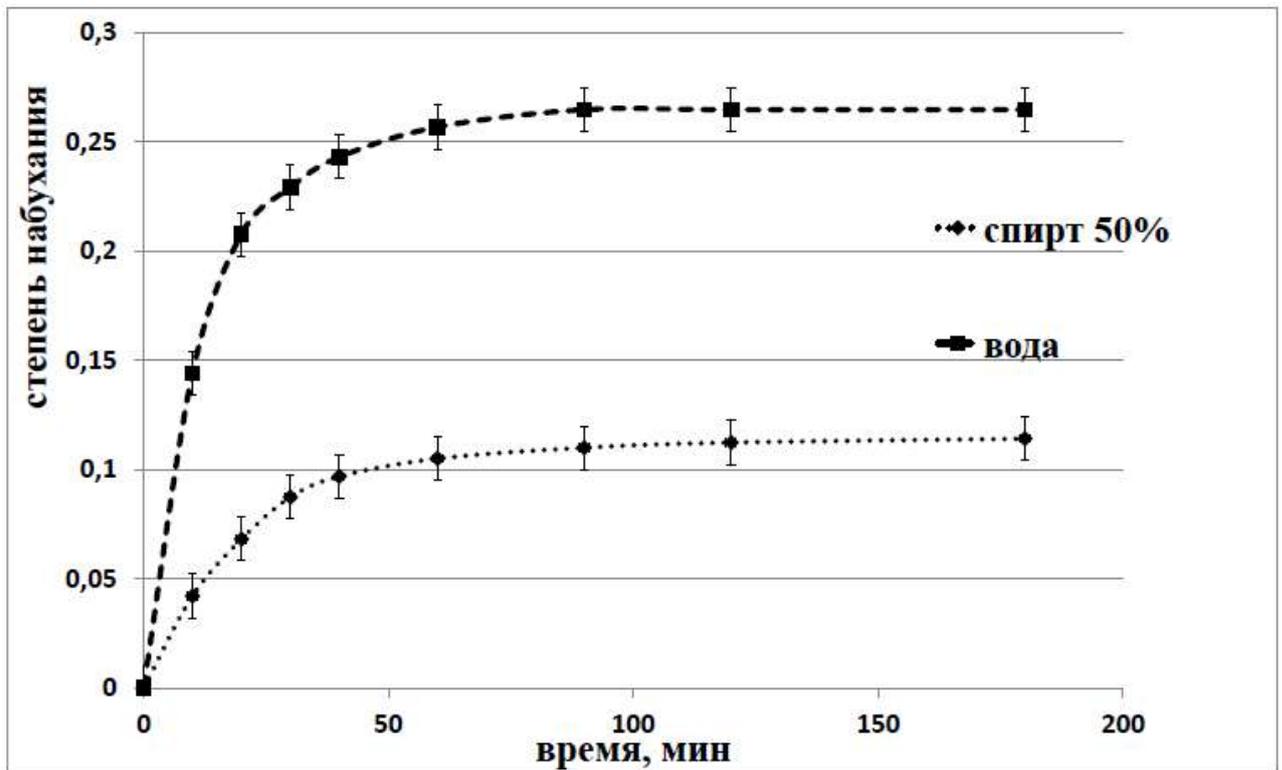


Рис. 48 - Зависимость степени набухания частиц плодов софоры в воде и 50 % спирте этиловом японской от времени

3.6.3.2 Влияние размера частиц софоры японской на параметры набухания

Кривые степени набухания частиц плодов софоры японской различного размера представлены на рисунке 49.

При их набухании максимальная степень набухания частиц 0,05 – 0,1 см наименьшая, среди рассматриваемых случаев и достигается через 60 минут, как и в случае с размером частиц 0,1 - 0,2 см. Это происходит вследствие чрезмерного измельчения плодов софоры японской, из-за которого в экстракт выделяются балластные вещества (такие как слизи), которые могут увеличивать вязкость экстрагента, забивать поры клетки, что нарушает процесс экстракции целевых компонентов (флавоноидов).

При размере частиц от 0,2 см до 0,5 см происходило постоянное увеличение степени набухания за длительное время (о чем свидетельствует константа набухания (таблица 8) вследствие меньшего разрушения каркаса клетки и уменьшение площади контакта жидкости с частицами плодов софоры японской.

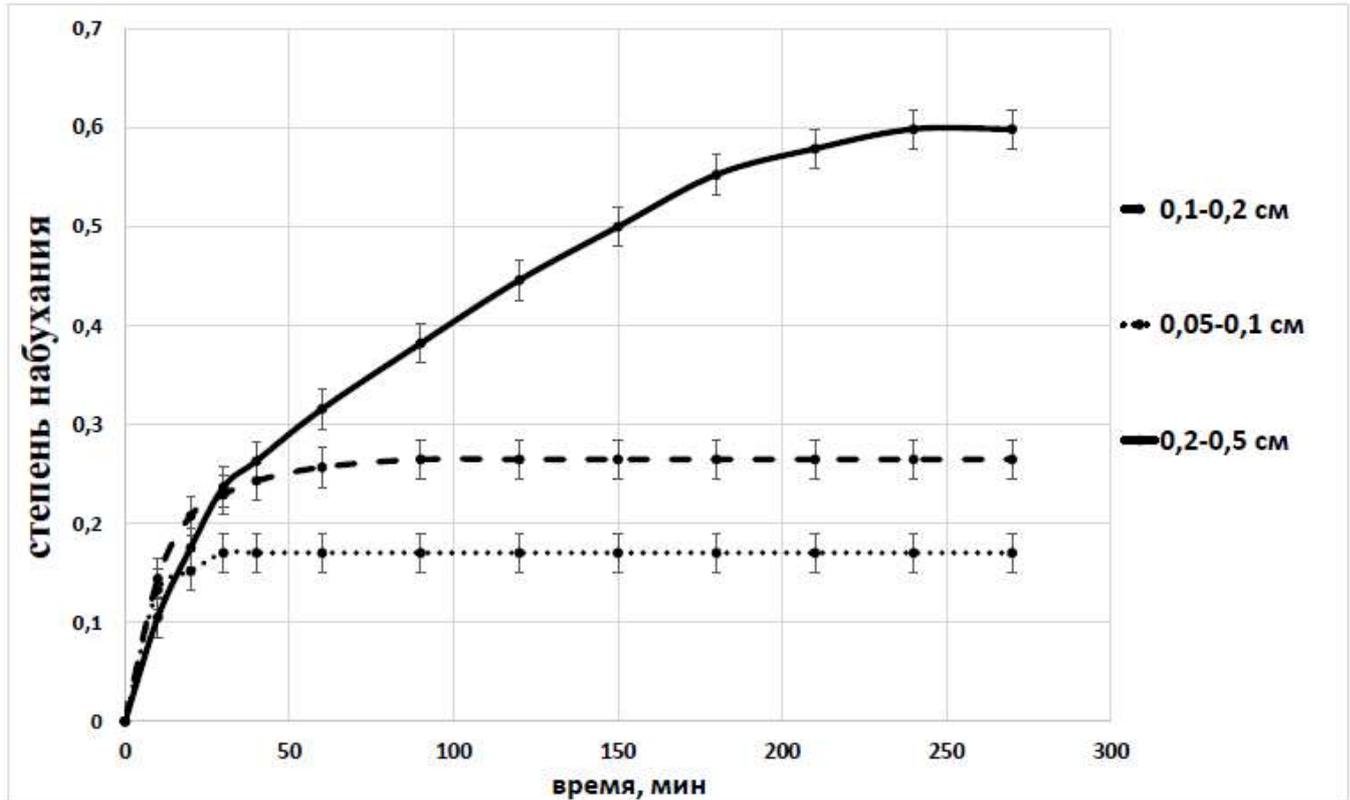


Рис. 49 - Зависимость степени набухания софоры от времени при размере частиц от 0,05 до 0,5 см

3.6.3.3 Влияние pH экстрагента на параметры набухания плодов софоры японской

В воде, при значении pH 5,7, происходит наибольшее набухание частиц софоры японской, отклонение pH в кислую и щелочную область не привело к увеличению максимальной степени набухания (рис. 50) [119].

Определена точка нулевого заряда водных дисперсий софоры, равная 5,8, и изоэлектрическая точка - 6,0 [22].

Обычно, в растворах ВМВ набухание в области изоэлектрической точки наименьшее, что не наблюдается в нашей работе. Это связано с тем, что частички плодов софоры имеют клеточную структуру и сворачивание в глобулу как в растворах ВМС не происходит. Также в результате воздействия агрессивной среды (кислой и щелочной), разрушаются внутренние связи в матрице полимера и ухудшается процесс набухания [19].

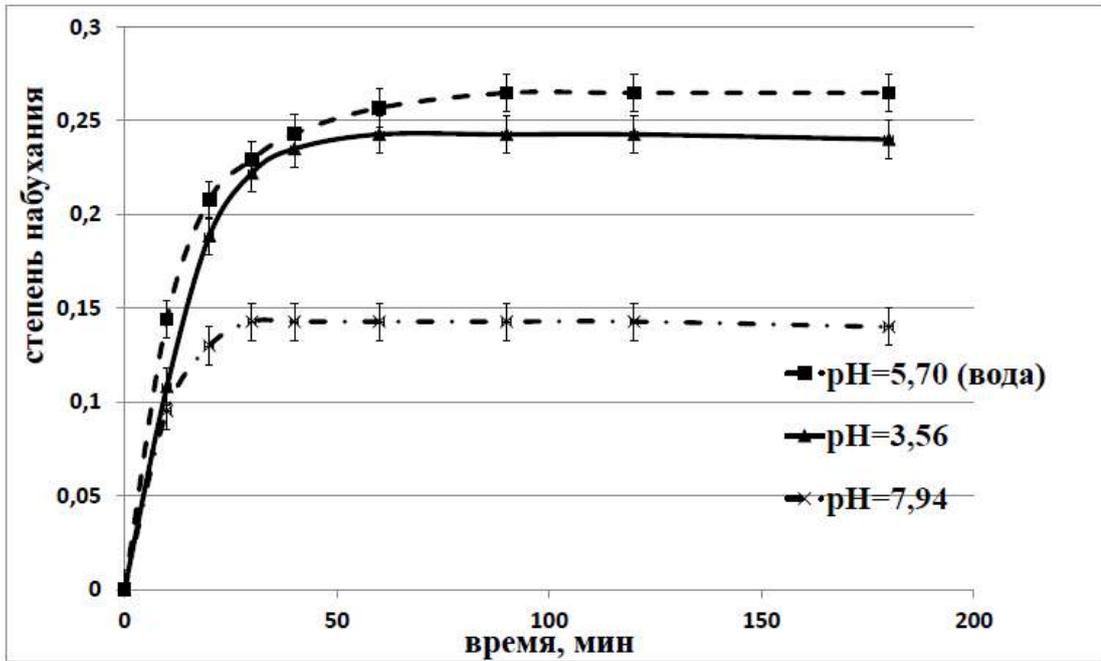


Рис. 50 - Зависимость степени набухания частиц плодов софоры японской при различных pH от времени

3.6.3.4 Влияние электролитов на параметры набухания плодов софоры японской

На рисунке 51 представлены зависимости степени набухания от времени для растворов натрия хлорида, иодида и роданида. Изучение влияния электролитов проводили при концентрации солей 0,001 М.

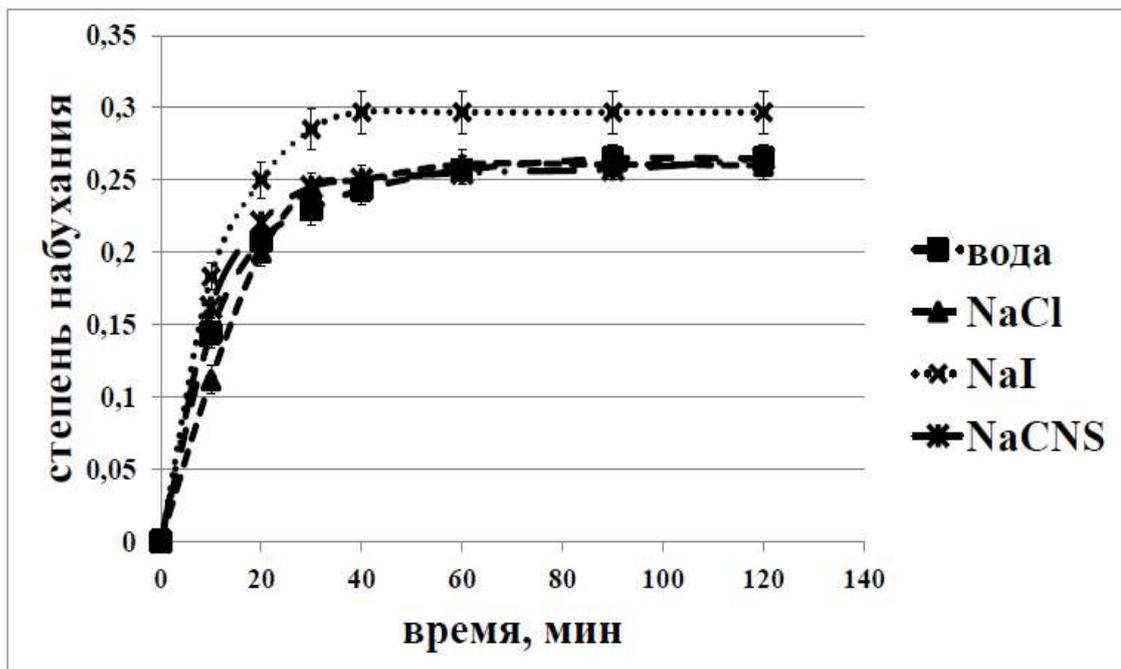


Рис. 51 - Зависимость степени набухания плодов софоры японской в растворе электролитов от времени

Наибольшее влияние на набухание плодов софоры японской наблюдается в растворах натрия иодида. В этом случае $\alpha_{\text{макс}}$ наибольшая при максимальной скорости набухания. При использовании хлорида и роданида изменения $\alpha_{\text{макс}}$ и константы скорости набухания были не существенны (таблица 9) [120].

3.6.3.5 Влияние ПАВ на параметры набухания плодов софоры японской

Важными характеристиками ПАВ являются ККМ и тип ПАВ. Были выбраны в качестве исследования рабочие концентрации ПАВ, таким образом, чтобы они не были большими во избежание раздражающего действия на человека и возможной деструкции сырья, но в то же время находились выше ККМ. Данные представлены в таблице 3.6.3.5.1.

Таблица 9 - Характеристики индивидуальных ПАВ и смеси ПАВ

Обозначение	Тип ПАВ	Название ПАВ	Мольные доли в смеси ПАВ	ККМ, моль/л	выбранная концентрация, моль/л
лаурет-2	неионогенный	лаурет-2	-	0,00018	0,004
натрий лаурилсаркозинат	анионный	натрий лаурилсаркозинат	-	0,0028	0,004
Мирамистин	катионный	мирамистин	-	0,00005 [121]	0,005
КПДХФ	амфотерный	Кокамидо-пропиленгликоль-димонийхлорид-фосфат	-	-	0,004

Далее были исследован процесс набухания в растворах ПАВ различного типа (неионогенного, анионного, катионного, амфотерного) определена максимальная степень набухания извлечений (рис. 52, таблица 9).

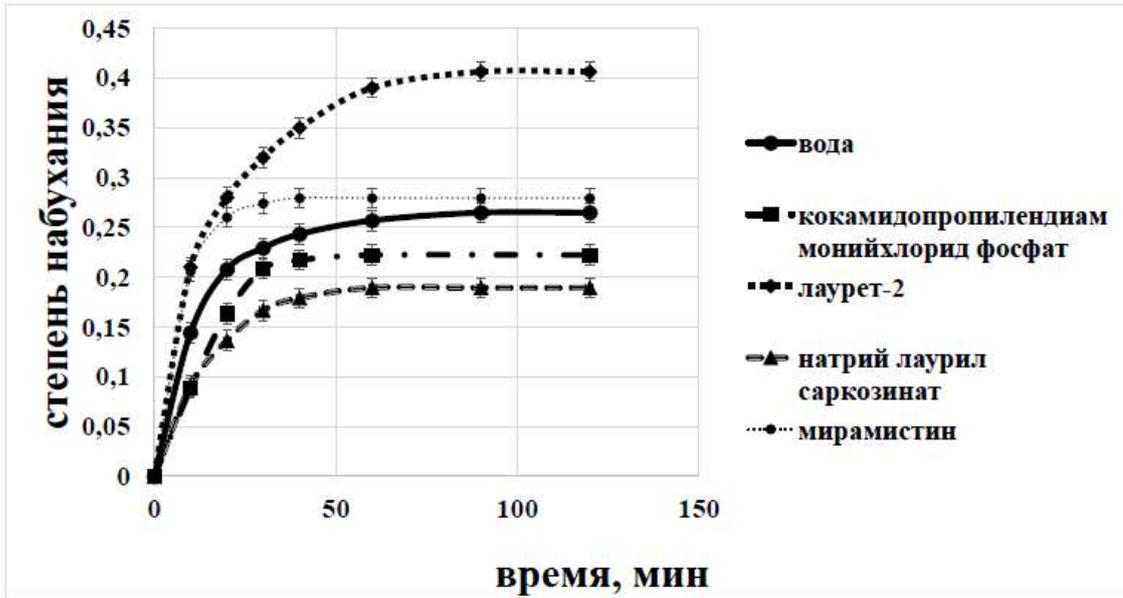


Рис. 52 - Зависимость степени набухания плодов софоры японской в растворе ПАВ от времени

При концентрации ниже ККМ влияние на набухание сырья не было отмечено, так как в этом случае в растворе недостаточно молекул для выстраивания необходимого количества на границе раздела фаз для улучшения смачиваемости, а также в этом случае не происходит образование мицелл, что способствовало бы лучшей солюбилизации флавоноидов. Поэтому все исследования набухания плодов софоры в ПАВ оценивали при концентрации выше ККМ. При набухании частиц плодов софоры японской в растворе неионогенного ПАВ (лаурет-2) $\alpha_{\text{макс}}$ и константа набухания значительно выше, чем при набухании в воде (8, рис. 52). Амфотерное и анионное ПАВ не оказали существенного влияния на набухание исследуемого объекта ($\alpha_{\text{макс}}$ практически не изменилась, а время набухания снизилось до 60 минут (таблица 8), что возможно происходит из-за наличия в лаурет-2 длинной гидрофобной части, а также более легкого разрушения связи между гидрофобным участком и гидрофильным (гидроксигруппой).

3.6.3.6 Влияние температуры на параметры набухания плодов софоры японской

Степень набухания частиц софоры японской с ростом температуры увеличивается (рис. 3.6.3.6.1), это объясняется как увеличением скорости диффузии молекул растворителя, так и увеличением разрушения оболочки клеток с ростом температуры [19], облегчающее проникновение молекул растворителя в глубь частиц софоры. Максимальное набухание частиц софоры при 20 °С достигается в течение 60 - 80 минут, а при 60 °С через 120 минут (рис. 53). Как уже выше отмечено, в начальный момент времени при нагревании скорость набухания увеличивается в основном из-за возрастания скорости диффузии молекул растворителя. Более длительное набухание при 60 °С происходит за счёт разрушения прочных связей растительной клетки, а также уменьшение вязкости экстрагента, что способствует лучшей растекаемости и контакту растительной клетки с жидкостью, а также лучшее растворение веществ при

температуре. Этот процесс идет при нагревании значительно сильнее и дольше, чем при 20 °С, что хорошо согласуется с низкой константой скорости набухания при 60 °С (таблица 8) [122, 123].

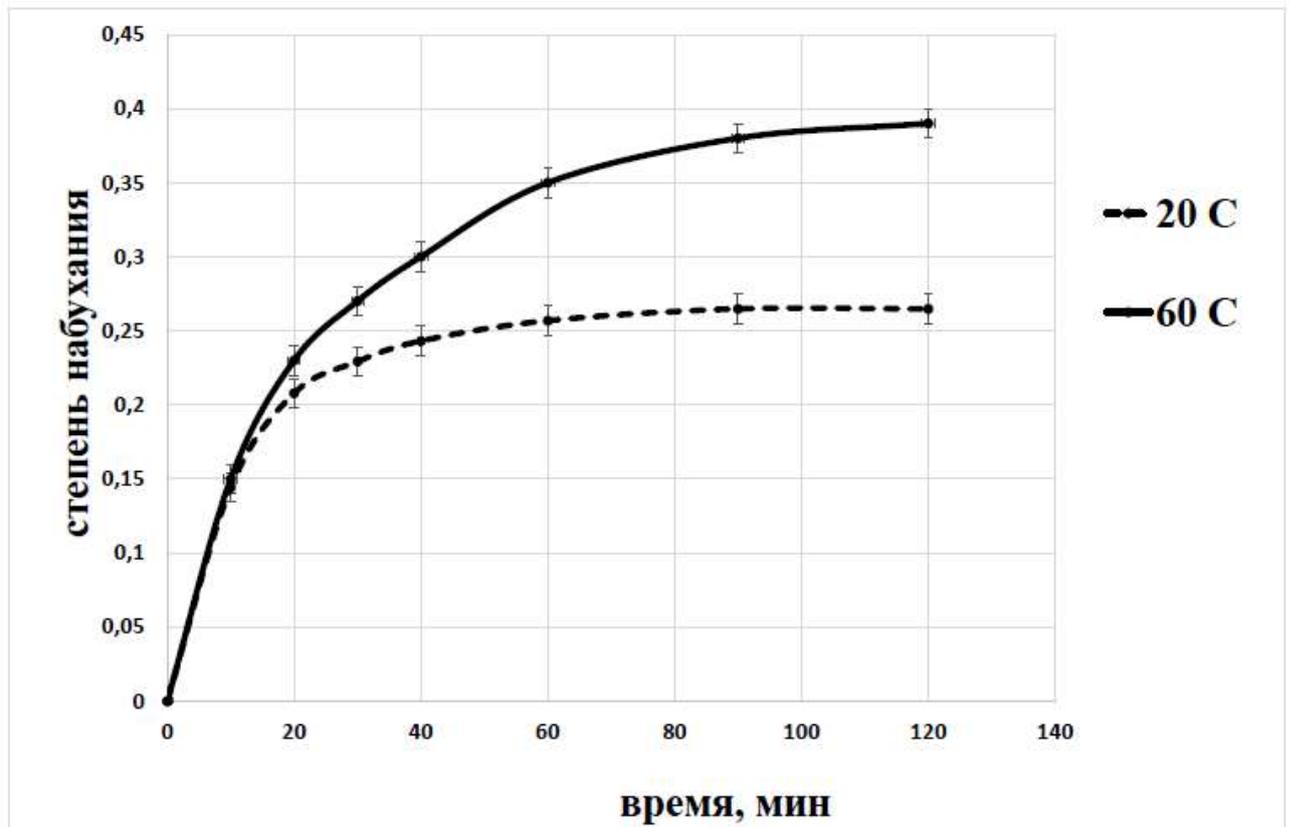


Рис. 53 - Зависимость степени набухания частиц плодов софоры японской при температуре 60 °С и 20 °С от времени

3.6.3.7 Влияние ультразвукового воздействия на параметры набухания плодов софоры японской

Использование ультразвукового воздействия способствует увеличению $\alpha_{\text{макс}}$, которая достигается за более короткое время (40 минут), о чем свидетельствует высокая константа набухания (таблица 8, рис. 54). Это происходит из-за разрушения прочных связей каркаса клетки.

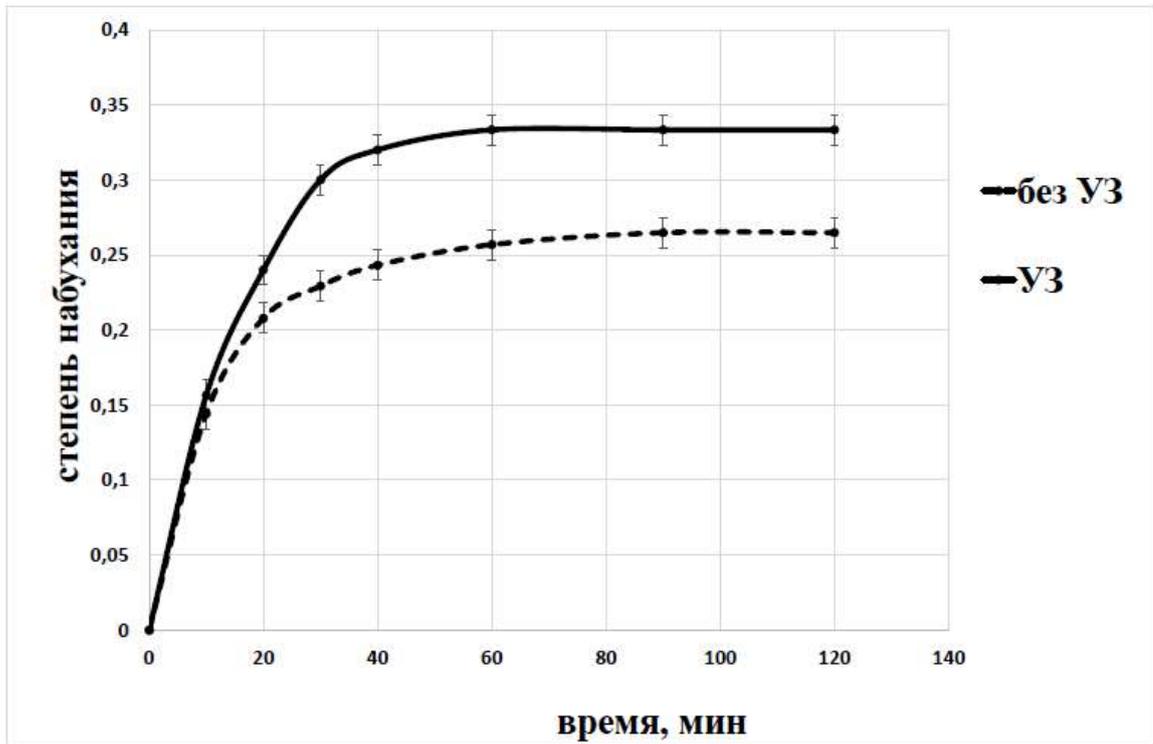


Рис. 54 - Зависимость степени набухания частиц софоры японской при воздействии ультразвука и без

3.6.4 Изучение десорбции флавоноидов из водных и водно-спиртовых дисперсий частиц софоры японской

Изучение процесса десорбции проводили следующим образом: к 5 г измельчённых плодов софоры добавляли 10 мл экстрагента (дистиллированной воды или 50% раствора этанола). Выдерживали 30 минут. В это время происходило набухание частиц софоры и начиналась десорбция флавоноидов из набухших частиц в дисперсионную среду. Затем дисперсию набухших частиц софоры помещали в перколятор и через 5 минут собирали первую порцию фильтрата и определяли в ней содержание флавоноидов в фильтрате, добавляли 10 мл растворителя. Эту процедуру проводили до тех пор, пока флавоноиды в фильтрате практически отсутствовали. На рис. 55 приведены зависимости десорбции (D) флавоноидов от времени для дисперсий частиц софоры японской в воде и в 50 % водно-спиртовом растворе.

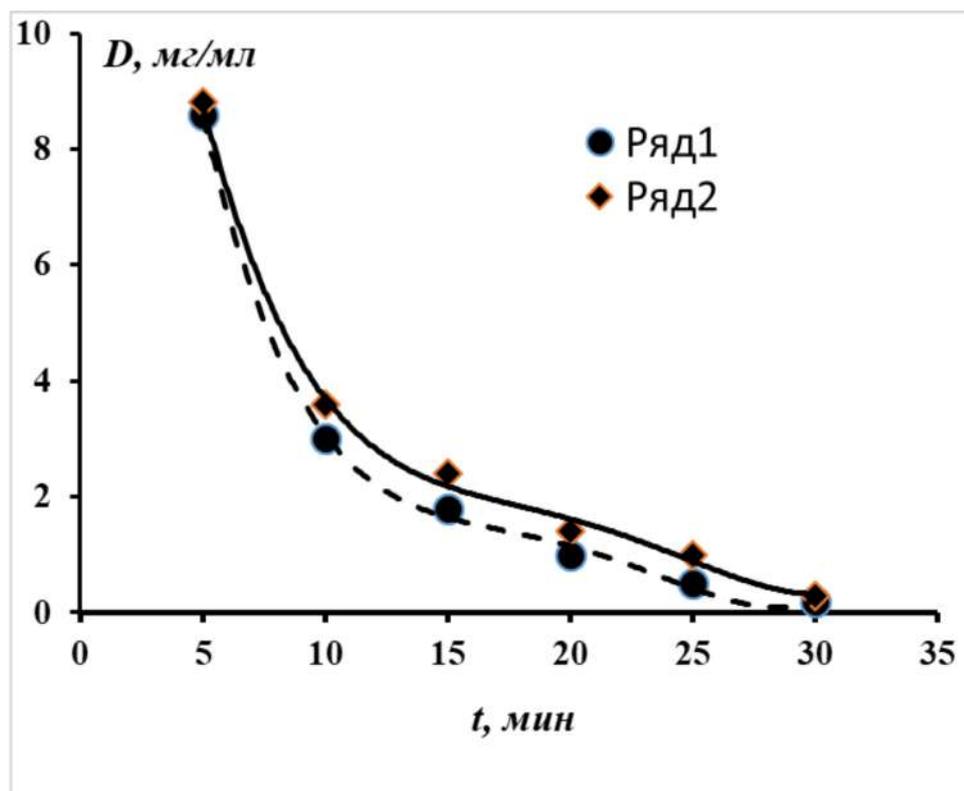


Рис. 55 - Зависимость количества десорбированных флавоноидов из дисперсий частиц софоры японской от времени десорбции: ряд 1 - дисперсии в воде; ряд 2 - в водно-спиртовом растворе.

Из рис. 55 видно, что десорбция в водно-спиртовых растворах выше, чем в воде, что согласуется с увеличением растворимости флавоноидов в водно-спиртовых растворах.

Кинетика десорбции соответствует реакциям первого порядка - скорость реакции прямо пропорциональна концентрации, а график зависимости логарифма концентрации от времени имеет линейный характер [91] представлен на рис. 56.

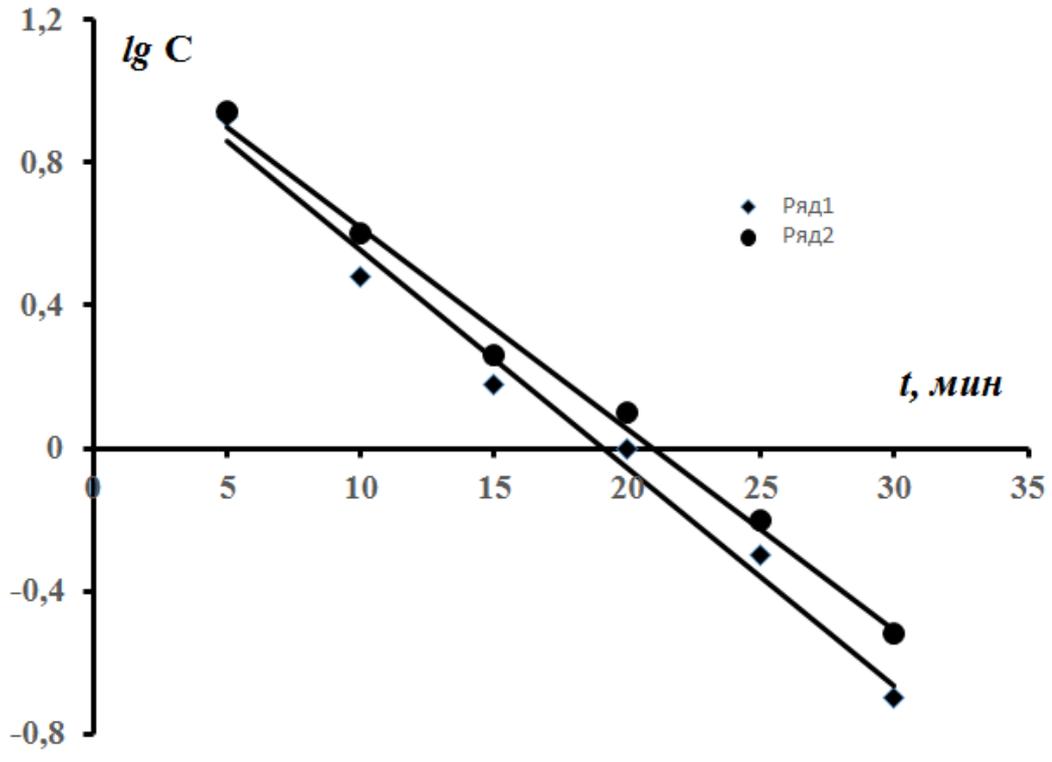


Рис. 56 - Зависимость $\lg C - t$ десорбции флавоноидов из дисперсий частиц софоры японской: ряд 1 - растворитель дистиллированная вода, ряд 2 - 50% раствор этанола

Константа скорости (K) для реакций первого порядка рассчитывается по уравнению 32 [91].

$$K = \frac{1}{t} \ln \frac{c_0}{c} \quad (32)$$

где C_0 - исходная концентрация реагента, C - концентрация реагента, соответствующая времени t .

Значения констант скорости процесса десорбции в дистиллированной воде и в 50% растворе этанола составляют соответственно 0,108 и 0,104 (мин^{-1}). Видно, что константы скорости в разных растворителях отличаются незначительно.

На рис. 57 приведены зависимости степени извлечения флавоноидов от типа природы растворителя.

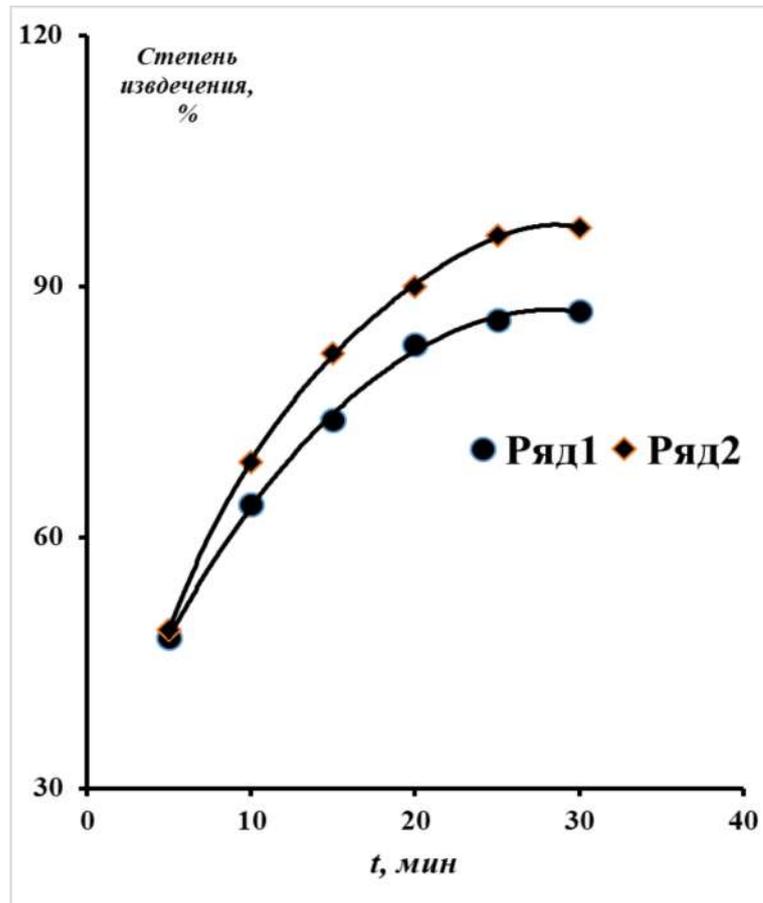


Рис. 57- Зависимость степени извлечения флавоноидов от природы растворителей: ряд 1 - дистиллированная вода, ряд 2 – 50 % водный раствор этанола

Из рис. 57 видно, что степень извлечения в водно-спиртовых растворах выше, чем в воде, что согласуется с результатами изучения экстракции.

3.6.5 Влияние ПАВ на процесс экстракции флавоноидов из плодов софоры японской

Изучение влияния ПАВ на процесс экстракции флавоноидов из плодов софоры японской проводили с использованием ионогенных, неионогенных ПАВ и их смеси. Для выбора оптимальных концентраций ПАВ определили их ККМ различными методами (поверхностным натяжением, кондуктометрией и фотометрическим). Извлечение готовили методом мацерации с нагреванием (п. 2.2.3.3). В таблице 3.6.3.5.1 представлены значения ККМ для индивидуальных ПАВ, а в таблице 10 смесей ПАВ. Для смесей ПАВ рассчитывали концентрации в мольных долях [124].

Таблица 10 - Характеристики индивидуальных ПАВ и смеси ПАВ

Обозначение	Тип ПАВ	Название ПАВ	Мольные доли в смеси ПАВ	ККМ, моль/л	выбранная концентрация, моль/л
Смесь №1	неионногенный	лаурет-2	0,8	0,00025	0,0008
	анионный	натрий лаурилсаркозинат	0,2		
Смесь №2	неионногенный	лаурет-2	0,2	0,0008	0,01
	анионный	натрий лаурилсаркозинат	0,8		
Смесь №3	неионногенный	лаурет-2	0,2	0,0032	0,004
	катионный	мирамистин	0,8		
Смесь №4	неионногенный	лаурет-2	0,2	0,000056	0,00008
	амфотерный	Кокамидо-пропиленгликоль-димонийхлорид-фосфат	0,8		

На рис. 58 приведены результаты экстракции в водных растворах ПАВ различной природы и их смеси. Извлечения были получены при нагревании (п. 2.3.3.3). Из рис.3.4.3.1 видно, что добавление ионогенных ПАВ не влияет на содержание флавоноидов в экстракте, а цвиттерионного ПАВ - кокамидопропиленгликоль-димонийхлоридфосфат на 28% и неионного лаурета-2 на 55% увеличивают выход флавоноидов. Неионогенные и цвиттерионные ПАВ обладают более высокой поверхностной активностью и значительно сильнее понижают межфазное натяжение на границе клетка - раствор ПАВ, способствуя более сильному разрушению растительных клеток и тем самым облегчают извлечение флавоноидов. Более значительно увеличивается экстракция флавоноидов при использовании смеси ПАВ. Смеси обладают более высокой поверхностной активностью, лучше адсорбируются на границе раздела чем индивидуальные ПАВ, образуют более крупные мицеллы, что увеличивают солюбилизацию флавоноидов [20, 21, 51, 125, 126, 127]. Механизм экстракции флавоноидов из растительного сырья в присутствии ПАВ хорошо согласуется с теорией Ребиндера [128, 129, 130, 131], который рассматривал с физико-химической точки зрения механизм удаления загрязнения с помощью ПАВ, как адсорбционное вытеснение, сопровождающееся смачиванием, эмульгированием и солюбилизацией [132, 133, 134, 135].

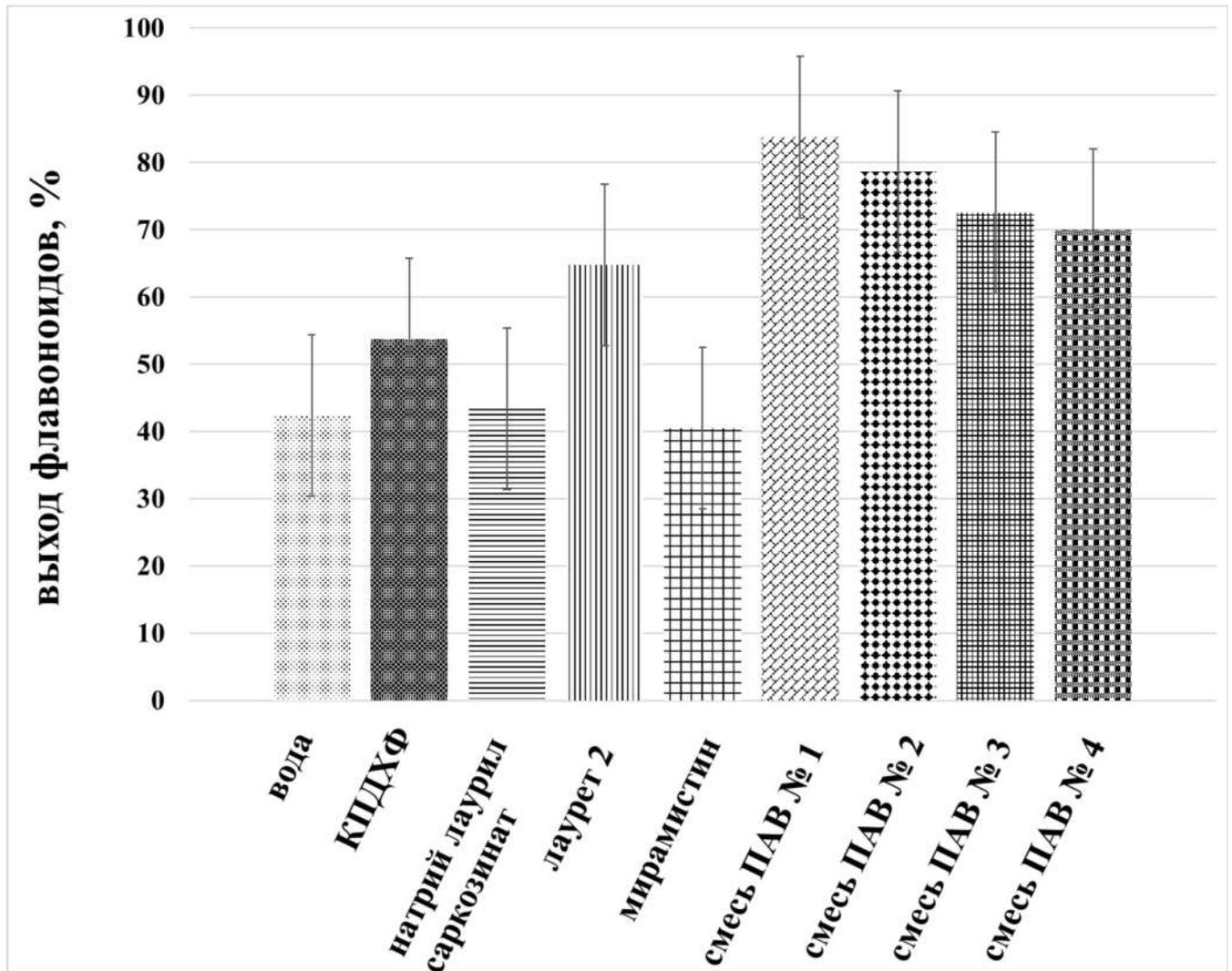


Рис. 58 - Содержание флавоноидов в извлечении, полученном методом перколяции при использовании ПАВ

3.7 Определение антиоксидантной активности извлечения

Одной из важнейших характеристик лекарственных препаратов является антиоксидантная активность (АОА). Биологическая активность природных веществ в комплексе с антиоксидантными свойствами определяет важность создания новых лекарственных и косметических средств физиологически совместимыми с организмом человека, получаемых из растительного сырья. Значение антиоксидантов определяется их способностью защищать организм человека от окислительного разрушения за счёт подавления и стабилизации свободно-радикальных процессов окисления [136]. В настоящей работе определение АОА проводили потенциометрическим методом [137]. Величину АОА оценивали путём сравнения АОА извлечения из плодов софоры японской со стандартным веществом в качестве которого использовали аскорбиновую кислоту.

Измерение АОА растворов БАВ потенциометрическим методом базируется на изменении потенциала окислительно-восстановительных электродов. В качестве окислительно-восстановительных электродов использовали электроды Fe^{+3}/Fe^{+2} [138].

Электродвижущая сила (ЭДС) гальванического элемента соответствует разности потенциалов положительного электрода и отрицательного электрода [139]. В нашем случае уравнение для расчета ЭДС имеет следующий вид (33):

$$E = \varphi_{Fe(+3)/Fe(+2)} - \varphi_{Ag,AgCl/Cl(-)}^0 \quad (33)$$

где E - ЭДС гальванического элемента, $\varphi_{Fe(+3)/Fe(+2)}$ потенциал окислительно-восстановительного электрода, $\varphi_{Ag,AgCl/Cl(-)}^0$ - потенциал электрода сравнения, в данном случае в качестве электрода сравнения использовался стандартный хлорсеребряный электрод

$$\varphi_{Ag,AgCl/Cl(-)}^0 = 0,200 \text{ В.}$$

Потенциал индикаторного электрода описывается уравнением (34):

$$\varphi_{Fe(+3)/Fe(+2)} = \varphi_{Fe(+3)/Fe(+2)}^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_{Fe(+3)}}{C_{Fe(+2)}} \quad (34)$$

где $\varphi_{Fe(+3)/Fe(+2)}^0 = 0,771 \text{ В}$ - стандартный окислительно-восстановительный электрод Fe^{+3}/Fe^{+2} . Измерения производили в разбавленных растворах с $C \sim 0,001$ моль/л, что позволяет использовать коэффициент активности равный 1. Концентрация $C_{Fe(+3)}$ - начальная концентрация железа (III) в растворе, $C_{Fe(+2)}$ - начальная концентрация железа (II), а C_x характеризует количество железа, которое восстанавливается или окисляется в окислительно-восстановительном процессе на электроде.

Подставляя значения потенциалов электродов в стандартном состоянии и изменение концентраций железа (III) и (II) в процессе окисления-восстановления получаем окончательное уравнение (35):

$$E = 0,771 + 2,3 \frac{RT}{zF} \lg \frac{C_{Fe(+3)} - C_x}{C_{Fe(+2)} + C_x} - 0,200 \quad (35)$$

Далее производили измерение ЭДС: раствора смеси железа (III) железа (II); раствора смеси железа (III) железа (II) с добавлением экстракта из плодов софоры с концентрацией 0,001 моль/л; раствора смеси железа (III) железа (II) с добавлением аскорбиновой кислоты с такой же концентрацией как и экстракта - 0,001 моль/л.

Затем рассчитывали C_x для экстракта из плодов софоры и для аскорбиновой кислоты и оценивали АОА экстракта из плодов софоры по сравнению со стандартным раствором аскорбиновой кислоты, который принимали за 100% (36):

$$\text{АОА} = \frac{C_x(\text{экстракта})}{C_x(\text{аскорб.к-ты})} \cdot 100\% \quad (36)$$

В таблице 11 приведены результаты определения АОА экстракта плодов софоры японской потенциометрическим методом.

Таблица 11 - Результаты определения АОА экстракта плодов софоры японской потенциометрическим методом

Компонент	C, моль/л	E, B	C _x , моль/л	АОА, %
$Fe_2(SO_4)_3$	0,001	0,487	0.00011	-
$FeSO_4$	0,001			-
Аскорбиновая кислота	0,001	0,466	0,00021	100
Извлечение из плодов софоры	0,001	0,436	0,00041	195

В ходе эксперимента установлено, что при концентрации 0,001 моль/л флавоноидов в водном извлечении плодов софоры японской АОА флавоноидов в 2 раза выше АОА аскорбиновой кислоты, что согласуется с данными работы Зверева Я.Ф. [140, 141]. В работе Зверева Я.Ф. АОА отдельных флавоноидов (рутина, кверцетин) в 3-5 раз выше АОА аскорбиновой кислоты, что возможно связано с другими условиями измерения АОА.

ВЫВОДЫ

В диссертации определено влияние коллоидных факторов и физико-химических условий на извлечение целевых компонентов - флавоноидов из плодов софоры японской (ПСЯ).

7. Установлены оптимальные размеры частиц ПСЯ для извлечения флавоноидов – 0,1–0,2 см. Размеры частиц менее 0,1 см затрудняют экстракцию целевых компонентов в связи с образованием слизи и трудностей фильтрации; размер частиц более 0,2 см является менее эффективным из-за уменьшения поверхности соприкосновения экстрагента с частицами.

8. Оценено значение набухания растительного сырья на процесс экстракции флавоноидов.

Определены факторы, влияющие на процесс набухания частиц ПСЯ:

- впервые показано, что в области изоэлектрической точки поверхности частиц софоры японской не наблюдается минимум набухания в отличие от ВМС. Это связано с тем, что частички имеют клеточную структуру и сворачивание в глобулу, как в растворах ВМС, не происходит;
- наибольшая степень набухания происходит для частиц с размером 0,1 - 0,2 см., так как при уменьшении размера частиц происходит увеличение вязкости экстрагента и уменьшение диффузии растворителя в клетке;

- наибольшая степень набухания отмечена в растворе неионогенного ПАВ (Лаурет-2). Для ионогенных ПАВ характерна более сильная гидратация, что не способствует набуханию, может приводить к обратному процессу - дегидратации частиц;
- увеличение температуры значительно увеличивает степень набухания ПСЯ в силу возрастания скорости диффузии растворителя и более активного разрушения растительных клеток;
- УЗ-излучение способствует увеличению степени набухания ПСЯ вследствие большего разрушения оболочки растительной клетки.

9. Оценено влияние различных ПАВ и их смесей на экстракцию флавоноидов из ПСЯ. Наибольший выход флавоноидов отмечен в присутствии неионогенного ПАВ. Катионный и анионный ПАВ не оказывают влияния на степень извлечения флавоноидов из плодов софоры японской. Неионогенные и цвиттерийонные ПАВ, и их смеси обладают более высокой поверхностной активностью и значительно сильнее понижают межфазное натяжение на границе «клетка - раствор ПАВ», способствуя интенсивному разрушению растительных клеток, и тем самым облегчают извлечение флавоноидов.

10. Определено, что в щелочной области рН значение электрокинетического потенциала частиц софоры увеличивается по абсолютной величине за счёт увеличения сорбции ионов OH^- как на поверхности частиц, так и на активных центрах молекул флавоноидов, что усиливает их переход в диффузионный слой ДЭС и десорбцию из частиц софоры. Сравнение выхода флавоноидов в области $\text{pH}_{\text{изт}}$ и в щелочной области при высоких значениях $|\zeta|$ -потенциала показывает увеличение выхода флавоноидов в два раза.

11. Определено, что воздействие УЗ- и СВЧ- излучения при экстракции с нагреванием значительно увеличивает степень извлечения флавоноидов вследствие разрушения растительной клетки, улучшению десорбции и растворения БАВ в экстрагенте.

12. Результаты изучения десорбции флавоноидов из растительного сырья позволили установить, что кинетика десорбции соответствует реакциям первого порядка. Расчёт степени извлечения флавоноидов по результатам десорбции показал, что в водно-спиртовых растворах их выход выше, чем в воде, что связано с увеличением растворимости флавоноидов в водно-спиртовых растворах и согласуется с результатами изучения экстракции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные результаты исследований влияния коллоидных факторов и физико-химических условий на процесс экстракции флавоноидов из ПСЯ позволили определить оптимальные параметры получения извлечений с высоким содержанием данных биологически-

активных веществ. Предложенные рекомендации способствуют экстракции максимально возможного количества флавоноидов в данном виде растительного сырья.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ПСЯ:	плоды софоры японской;
БАВ:	биологически активные вещества;
ДЭС:	двойной электрический слой;
СВЧ-излучение:	сверхвысокочастотное излучение;
УЗ-излучение:	ультразвуковое излучение;
ПАВ:	поверхностно-активные вещества;
АПАВ:	анионные поверхностно-активные вещества;
КПАВ:	катионные поверхностно-активные вещества;
ВМВ:	высокомолекулярные вещества;
ДМСО:	диметилсульфоксид;
ПЭО:	полиэтиленоксид;
ПГ:	пропиленгликоль;
ТСХ:	тонкослойная хроматография;
УФ-спектрофотометрия:	спектрофотометрия в ультрафиолетовой области;
$pH_{\text{ТНЗ}}$:	pH точки нулевого заряда;
$pH_{\text{ИЭТ}}$:	pH изоэлектрической точки;
АО:	антиоксидантная активность.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chávez-González, L. Chávez-González. Conventional and Emerging Extraction Processes of Flavonoids / Chávez-González, Mónica L., Leonardo Sepúlveda, Deepak Kumar Verma, Hugo A. Luna-García, Luis V. Rodríguez-Durán, Anna Ilina, Cristobal N. Aguilar // Processes. - 2020. – V. 8(4). – 29 p.
2. Пояркова, Н. М. Физиологическая роль фенольных соединений / Н. М. Пояркова, С. Е. Сапарклычева // Аграрное образование и наука. – 2019. – № 4. – 14 с.
3. Аслонова, И. Ж. Лечебные свойства растения софора японская / И. Ж. Аслонова, И. Д. Кароматов // Биология и интегративная медицина. – 2017. – № 11. – С. 179-190.
4. Khan H, Evidence and prospective of plant derived flavonoids as antiplatelet agents: Strong candidates to be drugs of future / M. Jawad, M.A. Kamal, A. Baldi, J. Xiao, S.M. Nabavi, M. Daglia // Food Chem Toxicol. - 2018. – Vol.119. – P. 355-367.
5. Moon, KM. Swertiajaponin as an anti-browning and antioxidant flavonoid / Kyoung Mi Moon, Bonggi Lee, Won-Kyung Cho, Bong-Seon Lee, Choon Young Kim, Jin Yeul Ma // Food Chem. – 2018. – V. 252. – P. 207-214.
6. Куркин В.А. Флавоноиды лекарственных растений: прогноз антиоксидантной активности / В.А. Куркин, В.В. Поройков, А.В. Куркина, Е.В. Авдеева, О.Е. Правдивцева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. - № 2-2. – 517 с.
7. Евсеева, С. Б. Экстракты растительного сырья как компоненты косметических и наружных лекарственных средств: ассортимент продукции, особенности получения (обзор) / С. Б. Евсеева, Б. Б. Сысуев // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4, № 3. – С. 4-37.
8. Milevskaya, V.V. Kinetics of Extraction of Biologically Active Substances from Medicinal Plant Raw Materials using Different Techniques / V. V. Milevskaya, T. S. Butylskaya, Z. A. Temerdashev [et al.] // Moscow University Chemistry Bulletin. – 2017. – V. 72, No. 6. – P. 260-266.
9. Guo, H., Chen, J., Wang, Z., Guo, H.L., Hong, W., Wang, X. Dynamic swelling performance of hydrophobic hydrogels // Chinese Chemical Letters. - 2022. - V. 33. - P. 2178 – 2182.
10. Шевченко А.С. Разработка технологии комплексной переработки фармакопейных видов растений рода Polygonum L дисс. На соискателя степени доктора философии (Ph) 6D072100 / Шевченко А.С. Казахстан Алматы - 2019. - 149 с.
11. Степанов, К. С. Сравнительная оценка методов экстракции глицирризиновой кислоты из корней солодки / К. С. Степанов, А. Д. Сахаров, В. В. Сорокин // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения : Сборник научных трудов X Международной научно-практической конференции молодых ученых. - 2022. – С. 198-201.
12. Бадогина, А.И. Исследование кинетических закономерностей процесса СВЧ-экстракции луба в сравнении с березовой корой / А. И. Бадогина, С. И. Третьяков, Н. А. Кутакова,

Е. Н. Коптелова // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. – 2017. – № 3(357). – С. 164-175.

13. Guo, Lina. Functional analysis of flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3',5'-hydroxylases from tea plant (*Camellia sinensis*), involved in the B-ring hydroxylation of flavonoids / Lina Guo, Liping Gao, Xiubing Ma, Furong Guo, Haixiang Ruan, Yu Bao, Tao Xia, Yunsheng Wang // *Gene*. – 2019.- V. 717. – ISSN 0378-1119. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144046> (дата обращения: 06.01.2024).

14. Васильева, П.А. Основные факторы, влияющие на процесс экстракции флавоноидов / П.А. Васильева // «Молодая фармация - потенциал будущего» Сборник материалов XI всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием. – 2021. – С. 126 – 131.

15. Liu, X. M. Effects of five extraction methods on total content, composition, and stability of flavonoids in jujube / X. M. Liu, Ya. Liu, Ch. H. Shan [et al.] // *Food Chemistry: X*. – 2022. – V. 14. – 8 p.

16. Липковская, Н. А. Взаимодействие кверцетина с высокодисперсным оксидом алюминия в водно-этанольной среде / Н. А. Липковская, В. Н. Барвинченко // *Коллоидный журнал*. – 2019. – Т. 81, № 4. – С. 472-477.

17. Ломако, Е. В. Применение поверхностно-активных веществ в анализе лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды / Е. В. Ломако, Н. А. Кузьмичева // *Вестник фармации*. – 2014. – № 3(65). – С. 42-49.

18. Легостева А.Б. Химия и технология фитопрепаратов: учебно-методическое пособие к лабораторным работам для бакалавров по направлению подготовки 18.03.01 "Химическая технология" / А. Б. Легостева, О. Н. Абросимова, И. Е. Каухова: Санкт-Петербург: Издательство СПХФУ, 2018. - 126 с. - Библиогр.: с. 123. - 325 экз. - ISBN 978-5-8085-0477-6.

19. Алексеева Т. В., Полянский К. К., Климова Е. А., Калгина Ю. О. Влияние кислотности среды на характер равновесного набухания биополимеров пищевой композиции в воде и технологических средах // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. - 2020. - № 2. - С. 5-15.

20. Васильева, П. А. Коллоидные свойства дисперсии плодов софоры японской / П. А. Васильева, И. Б. Дмитриева // «Коллоидная химия». - Том 86. Выпуск №1. - 2024.– С. 26 – 35.

21. Vasileva, P. A. Colloidal Properties of Sophora Japanese Fruit Dispersion / P. A. Vasileva, I. B. Dmitrieva // *Colloid Journal*. - V. 86. No. 1. – 2024. – p. 23 – 32.

22. Васильева, П. А. Особенности процесса набухания плодов софоры японской в различных условиях / П. А. Васильева, А. А. Лебедев, И. Б. Дмитриева // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2023. – № 3. – С. 5-11.
23. Васильева, П.А. Роль микроволнового и ультразвукового излучения в процессе экстракции флавоноидов из плодов софоры японской / П. А. Васильева, И. Б. Дмитриева // Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета). - №68(94). – 2024. – С. 36 – 39.
24. Чучалин, В.С. Технология получения экстракционных фи-топрепаратов: учебное пособие / В.С. Чучалин, Н.В. Келус. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2019. – 198 с.
25. Makanjuola, S. A. Influence of particle size and extraction solvent on antioxidant properties of extracts of tea, ginger, and tea–ginger blend // Food Science & Nutrition. – 2017. – Vol. 5. Issue 6. – P. 1179–1185.
26. Краснюк, И.И. Фармацевтическая технология. Технология лекарственных форм : учебник для студентов, обучающихся по специальности "Фармация" / [И. И. Краснюк и др.] ; под ред. И. И. Краснюка и Г. В. Михайловой. – 4-е изд., стер. – Москва : Академия, 2010. – (Учебник). – ISBN 978-5-7695-4566-5., с.446.
27. Адамцевич, Н. Ю., Болтовский В. С., Титок В. В. Влияние параметров экстракции на выход флавоноидов из листьев воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. - 2020. - Т. 65, - № 4. - С. 402-411.
28. Данилова, А. А. Разработка технологии сухого экстракта на основе биомассы каллусных культур *Scutellaria baicalensis* / А. А. Данилова, Н. С. Пивоварова, Е. В. Флисюк // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2023. – Т. 12, № 4. – С. 173-180.
29. Погребняк А. В., Погребняк Л. В, Щербакова Л. И. Изучение кинетики набухания коры березы // Наука в современном информационном обществе. 2019. С. 46-49.
30. Котлярова И.А., Степина И.В. Кинетика набухания древесины сосны, модифицированной аминборатами // Вестник Белгородского государственного технологического университета им. В.Г. Шухова. 2018. № 3. С. 81-88.
31. Бойко Н.Н., Макаревич Н.А., Писарев Д.И., Жилиякова Е.Т., Новиков О.О. Роль сорбционных явлений в распределении экстрактивных веществ между *Glycyrrhizae radices* и экстрагентом // Сорбционные и хроматографические процессы. 2018. Т. 18. № 4. С. 479 – 487.
32. Boyko, N.N. Study of distribution of biologically active substances from flowers of *helichrysum arenarium* between phases of the extraction system / N. N. Boyko, E. T. Zhilyakova, A. Yu. Maljutina [et al.] // Pharmacy & Pharmacology. – 2019. – V. 7, No. 5. – P. 271-278.

33. Garat W., Le Moigne N., Corn St., Beaugrand J., Bergeret A. Swelling of Plant Fibers under Hygro/Hydrothermal Conditions: Determination of Hygro/Hydroexpansion Coefficients
Processus de Gonflement des Fibres Végétales en Conditions Hygro/Hydrothermiques : Détermination des Coefficients d'Hygro/Hydroexpansion // *Revue des Composites et des Matériaux Avancés*. - 2019. - Vol. 29. No. 4. - P. 225 – 232
34. Дукси Ф., Вандышев В. В., Мусса Р. Изучение коэффициента набухания семян цератонии стручковой // *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. - 2021. - № 5. - С. 26-28.
35. Сорокин А. В., Лавлинская М. С. Влияние строения полисахарида на степень набухания композитных суперабсорбентов // *Актуальные проблемы науки о полимерах: Сборник трудов II Всероссийской научной конференции (с международным участием) преподавателей и студентов вузов*. - 2021. - С. 15-16.
36. Di Weng, Sheng-Hua Zha, Yuan Zhu, Hang Li, Shou-Bu Hou, Qing-Sheng Zhao, Bing Zhao. Effect of particle size on the physicochemical and antioxidant properties of Forsythia suspensa (Thunb.) Vahl leaf powders // *Powder Technology*. 2022. - V. 410. - <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0032591022007471> (accessed 30.11.2022)
37. Yi, Hao; Jia, Feifei; Zhao, Yunliang; Wang, Wei; Song, Shaoxian; Li, Hongqiang; Liu, Cheng. Surface wettability of montmorillonite (0 0 1) surface as affected by surface charge and exchangeable cations: A molecular dynamic study // *Applied Surface Science*. - 2018. - V. 459. - P. 148-154.
38. Rose-Marie Pernilla Karlsson, Per Tomas Larsson, Shun Yuc , Samuel Allen Pendergraph, Torbjörn Pettersson, Johannes Hellwig, Lars Wågberg. Carbohydrate gel beads as model probes for quantifying non-ionic and ionic contributions behind the swelling of delignified plant fibers // *Journal of Colloid and Interface Science*. - 2018. - V. 519. - P. 119-129.
39. Шабалдров, П. А. Сверхсильное набухание гидрогелей сополимеров акриламида и метакриловой кислоты // *Высокомолекулярные соединения*. - 2018. - Т. 60. № 5. - С. 402-412.
40. Аминов С. Н., Авезов Х. Т., Ахмадова Д. А., Жалилов Ш. Н. Влияние поверхностно-активных веществ на теплоту смачивания и набухания душицы мелкоцветковой (*Origanum tittanthum*) // *Universum: химия и биология*. - 2020. - № 6(72). - С. 48-51.
41. Каблов В. Ф., Кейбал Н. А., Крекалева Т. В. Исследование степени набухания гидрофильного наполнителя для эпоксидных композитов // *Взаимодействие предприятий и вузов - наука, кадры, новые технологии: Сборник материалов конференции*. - 2018. - С. 103-104.
42. Fijul Kabir S. M., Sikdar P. P., Haque B., Rahman Bhuiyan M. A., Ali A., Islam M. N. // *Progress in Biomaterials*. - 2018. - P. 153-174.

43. Феськова, Е. В. Условия экстракции и идентификации флавоноидов, стимулирующих регенерацию тканей / Е. В. Феськова, В. Н. Леонтьев, О. С. Игнатовец, Н. Ю. Адамцевич, А. Ю. Бесараб // Труды БГТУ. - 2019. - № 1(217). - С. 49-53.
44. Волков, В. А. Химический состав, антиоксидантная активность, стандартизация и кинетика получения водно-пропиленгликолевых экстрактов лекарственных растений / В. А. Волков, М. В. Воронков, В. М. Мисин [и др.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2020. – Т. 86, № 8. – С. 12-22.
45. Лукашов, Р. И. Влияние природы и концентрации экстрагентов на извлечение флавоноидов из травы золотарника канадского / Р. И. Лукашов // Химия растительного сырья. – 2018. – № 4. – С. 113-123.
46. Rahman, Z. , Zaidan, M. , Othman, A. , Ahmad, M. , Simoh, S. and Ismail, M. Optimizing Extraction of Phenolics and Flavonoids from Solanum ferox Fruit / Z. Rahman, Zaidan, M. , Othman, A. , Ahmad, M. , Simoh, S. and Ismail, M. // Natural Science. – 2019. – V. 11. P. 99-105.
47. Mirzadeh, M. Antioxidant, antiradical, and antimicrobial activities of polysaccharides obtained by microwave-assisted extraction method: A review / M. Mirzadeh, M. R. Arianejad, L. Khedmat // Carbohydrate Polymers. – 2020. – V. 229. – P. 115421.
48. Валеева, А. Р. Сравнительная характеристика влияния технологии экстракции на антиоксидантные свойства для плодов и цветков боярышника (*Crataegus*) / А. Р. Валеева, Н. В. Макарова, Д. Ф. Валиулина // Химия растительного сырья. – 2020. – № 1. – С. 157-166.
49. Скрыпник, Л. Н. Оптимизация условий ультразвуковой экстракции флавоноидов из плодов боярышника / Л. Н. Скрыпник, И. П. Мельничук // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2019. – № 6. – С. 31-34.
50. Гончарова, С. Б. Влияние факторов на процесс извлечения флавоноидов из травы касатика молочно-белого при ультразвуковой экстракции / С. Б. Гончарова, И. Е. Каухова // Инновации в здоровье нации : Сборник материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - 2017. – С. 140-142.
51. Дремчук, А.П. Коллоидно-химические свойства двойных и тройных смесей ПАВ различной природы: специальность 02.00.11 – «Коллоидная химия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук / Дремчук Алена Петровна, 2015. – 138 с.
52. Yushchenko, V. S. Molecular dynamics of the particle/substrate contact rupture in a liquid medium / V. S. Yushchenko, E. D. Shchukina, O. Edholm // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 1996. – Vol. 110, No. 1. – P. 63-73.

53. Щукин, Е. Д. Механизм действия ПАВ на различных межфазных границах // VII Международный Конгресс по ПАВ, секция В «Физическая химия межфазных слоев», часть 1. – 1976. – С. 16-53
54. Флисюк, Е.В. Кинетика экстрагирования диосцина из растительного сырья в виброкавитационном гомогенизаторе / Е. В. Флисюк, С. С. Белокуров, И. А. Наркевич [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2020. – Т. 9, № 2. – С. 77-81.
55. Аляутдин, Р.Н. Лекарствоведение: учебник для фармацевтических училищ и колледжей / Аляутдин Р.Н., Преферанская Н.Г., Преферанский Н.Г. - Москва : ГЭОТАР-Медиа. - 2019. – 1072 с. - ISBN:9785970467169.
56. Курдюков, Е. Е. Флавоноиды: классификация, биологические свойства и перспективы использования в медицине / Е. Е. Курдюков, Д. А. Плешакова, Н. Н. Глебова, В. А. Неклюдова, О. А. Водопьянова, Е. О. Гаранина // Международный научно-исследовательский журнал. – 2023. – № 11(137). – URL: <https://research-journal.org/archive/11-137-2023-november/10.23670/IRJ.2023.137.143> (дата обращения: 25.04.2024). — DOI: 10.23670/IRJ.2023.137.143.
57. Курдюков, Е. Е. К вопросу стандартизации по содержанию флавоноидов листьев стевии как перспективного лекарственного растительного сырья / Е. Е. Курдюков, А. В. Кузнецова, Е. Ф. Семенова, И. Я. Моисеева // Химия растительного сырья. – 2019. – № 1. – С. 217-224.
58. Шелюто В.Л. Фармакогнозия: [пособие для провизоров, врачей, аспирантов и студентов фармацевтического факультета, слушателей ФПКС] / В. Л. Шелюто [и др.] ; Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Витебский государственный медицинский университет ; [под общ. ред. В. Л. Шелюто]. - 2-е изд. - Витебск : [ВГМУ], 2012. - 489 с. – ISBN 978-985-466-620-4.
59. Ковальский, И. В. Повышение биодоступности рутина из твердых лекарственных форм методом твердых дисперсий : специальность 14.04.01 "Технология получения лекарств" : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Ковальский Иван Васильевич, 2015. – 138 с.
60. Куркин, В. А. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений / В. А. Куркин, А. В. Куркина, Е. В. Авдеева // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 11-9. – С. 1897-1901.
61. Miao, Mingsan. Intervention action of total flavonoids from root of *Ilex pubescens* in cerebral ischemic tolerance with blood stasis / Mingsan Miao, Lihua Cao, Kun Xu, Weiyun Xin, Yan Zheng // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2017.- V. 24. – ISSN 1319-562X. – P. 729-736.

62. Жохова Е.В. Фармакогнозия / Е.В. Жохова, М.Ю. Гончаров, М.Н. Пovyдыш, С.В. Деренчук. – Санкт-Петербург : Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа "ГЭОТАР-Медиа". - 2016. – 544 с. – ISBN 978-5-9704-3688-2.
63. Синютина, С. Е. Экстракция флавоноидов из растительного сырья и изучение их антиоксидантных свойств / С. Е. Синютина, С. В. Романцова, В. Ю. Савельева // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. – 2011. – Т. 16, № 1. – С. 345-347.
64. Spagnuolo, C. Anti-inflammatory effects of flavonoids in neurodegenerative disorders / Carmela Spagnuolo, Stefania Moccia, Gian Luigi Russo // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2018. – V. 153. – P. 105 – 115.
65. Diwan, V. The flavonoid rutin improves kidney and heart structure and function in an adenine-induced rat model of chronic kidney disease / Vishal Diwan, Lindsay Brown, Glenda C. Gobe // Journal of Functional Foods. – 2017. – V. 33. – P. 85 -93.
66. Жумагазеева, А. Ж. Разработка технологии сухого экстракта с биологически активными веществами гинкго билоба и софоры японской / А. Ж. Жумагазеева, А. Б. Легостева // Евразийский союз ученых. Серия: медицинские, биологические и химические науки. – 2022. – № 5(98). – С. 3-8.
67. Курдюков, Е. Е. Физико-химические свойства флавоноидов / Е. Е. Курдюков, Н. В. Финаенова, В. А. Неклюдова, Е. О. Гаранина, Д. Д. Бодрова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2023. – № 11(137). – 4 с.
68. Raffa, D. Recent discoveries of anticancer flavonoids / Demetrio Raffa, Benedetta Maggio, Maria Valeria Raimondi, Fabiana Plescia, Giuseppe Daidone // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2017. – V.142. – P.213–228.
69. Ковалева, Л.Г. Современное состояние и перспективы дальнейшего исследования плодов софоры японской / Л. Г. Ковалева, А. М. Сампиев, М. Р. Хочава, Е. Б. Никифорова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. – № 22(141). – С. 163-170.
70. Воронков, А. В. Обзор современных флеботропных препаратов на основе флавоноидов как перспективных эндотелиопротекторов при лечении хронических заболеваний вен / А. В. Воронков, О. Ю. Гамзелева // Стационарозамещающие технологии: Амбулаторная хирургия. – 2019. – № 1-2. – С. 27-33.
71. Балкунова М. Н. Влияние добавок экстракта боярышника на реологические свойства гелей на основе карбопола и кармелозы натрия / М. Н. Балкунова, П. А. Васильева, Д. Д. Корягина, А. С. Чухно // Мечниковские чтения-2024: Материалы 97-й Всероссийской научно-

практической конференции студенческого научного общества с международным участием. - 2024. – С. 112-115.

72. Хисматуллина, Д. И. Содержание флавоноидов в растительном сырье и их сохранность после термической обработки / Д. И. Хисматуллина, А. А. Нигматьянов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2017. – № 5(67). – С. 222-224.

73. Фалькова, М. Т. Циклический инъекционный анализ лекарственного растительного сырья с вскрытием проб в УЗ-поле : специальность 02.00.02 "Аналитическая химия" : диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук / Фалькова Марина Тахировна, 2014. – 112 с.

74. Белобородов В.Л., Стручков П.А., Савватеев А.М., Воскобойникова И.В., Колхир В.К. Спектрофотометрические методы оценки подгрупп фенольных соединений в сложной матрице. возможности и ограничения // X Международного симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты». 2018. С. 22-26.

75. Денисенко, Т. А. Спектрофотометрическое определение суммы фенольных соединений в растительных объектах с использованием хлорида алюминия, 18-молибдодифосфата и реактива Фолина-Чокальтеу / Т. А. Денисенко, А. Б. Вишникин, Л. П. Цыганок // Аналитика и контроль. – 2015. – Т. 19, № 4. – С. 373-380.

76. Бубенчиков, Р. А. Исследование фенольных соединений марьянника серебристоприцветникового и их антиоксидантная активность / Р. А. Бубенчиков, А. С. Апойцева // Фенольные соединения: свойства, активность, инновации : Сборник научных статей по материалам X Международного симпозиума, Москва, 14–19 мая 2018 года / Ответственный редактор Н.В. Загоскина. – Москва: PRESS-BOOK.RU, 2018. – С. 237-241.

77. Тринеева, О. В. Разработка теоретических подходов к определению основных групп биологически активных веществ лекарственного растительного сырья методом ТСХ // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10. № 2. С. 69-79.

78. Варданян, Л.Р. Антиоксидантная активность экстрактов некоторых лекарственных растений и их смесей / Л. Р. Варданян, Р. Л. Варданян, А. Г. Галстян, Л. В. Атабекян // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2019. – № 4. – С. 5-12.

79. Попова К. Г. Потенциометрическое определение антиоксидантной активности экстрактов растительного сырья с использованием гексацианоферрата калия : магистерская диссертация / К. Г. Попова ; Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Химико-технологический институт, Кафедра аналитической химии. — Екатеринбург. - 2017. — 61 с.

80. Горбацевич, Г. И. Антиоксидантная активность сухих экстрактов растений рода *Galium* / Г. И. Горбацевич, О. И. Шадыро // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине : Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – 2020. – С. 51-57.
81. Рудометова, Н.В. Исследование экстракции капсаицина из плодов острого перца рода *Capsicum* / Н.В. Рудометова, И.С. Ким // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». – 2019. - №1. – С.62 – 70.
82. Ашурбекова, Ф. А. Технологические аспекты получения высококачественных экстрактов из плодов дикоросов / Ф. А. Ашурбекова, Б. М. Гусейнова, Т. И. Даудова // Пищевая промышленность. – 2020. – № 1. – С. 18-22.
83. Белокуров, С.С. Современные методы экстрагирования лекарственного растительного сырья (обзор) / С. С. Белокуров, И. А. Наркевич, Е. В. Флисюк, И. Е. Каухова, М. В. Ароян // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, № 6. – С. 48-53.
84. Абашкин, И.А. Методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья (обзор) / И. А. Абашкин, Ю. А. Елеев, Е. Н. Глухан [и др.] // Химия и технология органических веществ. – 2021 – № 2(18). – С. 43-59.
85. Ligor, M. Extraction approaches used for the determination of biologically active compounds (cyclitols, polyphenols and saponins) isolated from plant material / M. Ligor, A. Kielbasa, H. Al-Suod [et al.] // Electrophoresis. – 2018. – Vol. 39, No. 15. – P. 1860-1874.
86. Лещенко, Т. А. Влияние поверхностно-активных веществ на процесс набухания растительного сырья / Т. А. Лещенко // Инновационное развитие легкой и текстильной промышленности (ИНТЕКС-2019): Сборник материалов Международной научной студенческой конференции. - 2019 – С. 119-122.
87. Андреева, В.Ю. Разработка методики количественного определения флавоноидов в манжетке обыкновенной *Alchemilla Vulgaris L.S.L.*/ В.Ю. Андреева, Г.И. Калинкина // Химия растительного сырья. – 2000. – №1. – С.85-88.
88. Беленький, Д. И. Методы и средства измерения дзета-потенциала / Д. И. Беленький // Альманах современной метрологии. – 2016. – № 6. – С. 27-48.
89. Щербенко, Е. А. Изучение зависимости электрокинетического потенциала дисперсий растительного сырья на основе плодов софоры японской от рН и времени контакта частиц с водными растворами / Е. А. Щербенко, Ю. И. Яновер // Молодая фармация - потенциал будущего : Сборник материалов XII всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием. - 2022. – С. 307-309.

90. Васильева, П.А. Изучение физико-химических характеристик дисперсий растительного сырья на основе плодов софоры японской, влияющих на процесс экстракции / П. А. Васильева, И. Б. Дмитриева, А. С. Чухно, Д.И. Нестерова, Чеботарева П.А. // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине : сборник научных трудов 2-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - 2021. – С. 48-56.
91. Беляев, А. П. Физическая и коллоидная химия : Учебник / А. П. Беляев, В. И. Кучук ; Под редакцией А.П. Беляева. – Москва : Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа "ГЭОТАР-Медиа", 2021. – 816 с. – ISBN 978-5-9704-5690-3.
92. Дмитриева, И. Б. Определение констант диссоциации карбоксильных и аминогрупп на альбумине методом потенциометрического титрования / И. Б. Дмитриева, А. А. Кергенцев, А. С. Чухно // Бутлеровские сообщения. - 2015. - Т.41. №3. - С.141-146.
93. Дмитриева, И. Б. Коллоидные свойства водных дисперсий декстрана / И. Б. Дмитриева, А. С. Чухно, Е. Ю. Родионова, А. Р. Назипова // Бутлеровские сообщения. – 2015. – Т. 42, № 5. – С. 98-103.
94. Чухно, А.С. Адсорбция ионов H^+ и OH^- на коллагене / А.С. Чухно, И.Б. Дмитриева, С.С. Колодеева, Д.В. Мартынов // Вестник СПбГУ. – 2011. - Сер. 4. Вып. 3. – С. 87 – 96.
95. ГОСТ 29232-91 (ИСО 4311-79) Определение критической концентрации мицеллообразования. Метод определения поверхностного натяжения с помощью пластины, скобы или кольца. Москва: Издательство стандартов, 2021.
96. Павлова Е.Ю. Влияние концентрации дисперсной фазы и кислотности среды на коллоидные свойства водных растворов яичного альбумина и сывороточного альбумина человека / Е.Ю. Павлова и [др.] // Бутлеровские сообщения. 2018. Том 53, номер 3, С. 43-48.
97. Васильева, П. А. Исследование поверхностно-активных веществ, гидрофильно-липофильного баланса и критической концентрации мицеллообразования / П. А. Васильева, И. Б. Дмитриева, А. С. Чухно // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине : Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием.– 2020. - Том Часть 1. – С. 45-51.
98. Chernysheva, M. G. Lysozyme-dalargin self-organization at the aqueous-air and liquid-liquid interfaces / M. G. Chernysheva, A. V. Kasperovich, H. S. Skrabkova [et al.] // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2021. – Vol. 202. – P. 111695.
99. Хомушку, А. О. Методы экспериментального определения поверхностного натяжения жидкостей / А. О. Хомушку // Вестник науки. – 2024. – Т. 2, № 1(70). – С. 795-804.

100. Шилова, С. В. Мицеллообразование кокоил изетионата натрия в водных средах / С. В. Шилова, Г. М. Миргалеев, А. Я. Третьякова, В. П. Барабанов // Вестник Технологического университета. – 2021. – Т. 24, № 6. – С. 5-8.
101. Мороз, М.В. Определение критической концентрации мицеллообразования поверхностно-активных веществ различной природы / М.В. Мороз, И.Н. Фадейкина // Материалы X Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум». – 2018. – 15 с.
102. Рыжков, Ю. А. Синтез и кондуктометрическое определение объемных свойств водных растворов ПАВ на основе 2-(диметиламино) этанола / Ю. А. Рыжков, М. А. Еремина // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. - № 4(38). – 2019. – С. 139-148.
103. Молдаванова, А. Ю. Количественное определение флавоноидов в траве горчака ползучего (*Acroptilon repens* L.) / А. Ю. Молдаванова, А. Ю. Малютина, Е. Т. Жилякова // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения : Сборник трудов Седьмой научной конференции с международным участием. - 2019. – С. 242-246.
104. Петухова, С. А. Разработка методики количественного определения флавоноидов в экстракте желчегонного действия / С. А. Петухова, В. М. Мирович // Инновационные технологии в фармации : Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной памяти доцента Пешковой В.А. - 2018. – С. 177-180.
105. Лобанова А.А. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья / А.А. Лобанова, В.В. Будаева, Г.В. Сакович // Химия растительного сырья. – 2004. – № 1. – С. 47-52.
106. Васильева, П. А. Изучение влияния физико-химических характеристик экстрагента на процесс извлечения флавоноидов из плодов софоры японской / Васильева П. А., Нестерова Д. И., Чеботова, П. А., Дмитриева И.Б. // Бутлеровские сообщения. - 2022. - Т. 71, № 8. - С. 118-125.
107. Aliaño González, M. J. Grapevine cane extracts: Raw plant material, extraction methods, quantification, and applications / M. J. Aliaño González, E. Cantos Villar, T. Richard // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10, No. 8. – P. 1-33.
108. Fedorovska, M. I. Development of methods for identification and quantitative determination of active substances in the medicated cosmetic cream for use in trichology / M. I. Fedorovska, N. P. Polovko, V. O. Grudko // *News of Pharmacy*. – 2018. – No. 1(93). – P. 17-22.
109. Васильева, П. А. Определение биологически-активных веществ в извлечении из плодов софоры японской и плодов боярышника / П. А. Васильева // Молодая фармация -

потенциал будущего : Сборник материалов XII всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием. - 2022. – С. 90-94.

110. Чеботова, П. А. Экстракция флавоноидов из плодов софоры японской / П. А. Чеботова, Д. И. Нестерова, П. А. Васильева // Физическая химия - основа новых технологий и материалов : Сборник материалов X Межвузовской конференции-конкурса (с международным участием) научных работ студентов имени члена-корреспондента АН СССР Александра Александровича Яковкина. - 2021. – С. 171-173.

111. Лукашов, Р. И. Уточнение объемной доли органических растворителей, используемых для экстракции флавоноидов из календулы цветков / Р. И. Лукашов, Н. С. Гурина // Инновационные технологии в фармации: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня образования кафедры фармакологии Иркутского государственного медицинского университета. - 2022. – С. 86-90.

112. Васильева, П.А. Изучение зависимости электрокинетического потенциала дисперсий растительного сырья на основе плодов софоры японской от рН и времени контакта частиц с водными растворами / П.А. Васильева, И.Б. Дмитриева, Е.А. Щербенко, Ю.И. Яновер // «EurasiaScience» XXXIX Международная научно-практическая конференция. – 2021. – С. 22 - 25.

113. Ковалева, Е.Л. Современные требования к контролю качества лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов по показателю "Измельченность" / Е. Л. Ковалева, В. В. Шелестова, Л. Н. Фролова [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2020. – Т. 10, № 4. – С. 218-227.

114. Уютова, Е. В. Оценка капилляропротекторных свойств софоры японской / Е. В. Уютова, Д. В. Шишканов, Е. Н. Курманова // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: Сб. научных трудов X Международной научно-практической конференции молодых ученых. - 2022. - С. 421-424.

115. Aly, S.H. Synergistic effect of *Sophora japonica* and *Glycyrrhiza glabra* flavonoid-rich fractions on wound healing: in vivo and molecular docking studies / S.H. Aly [et al] // *Molecules*. - 2023. - 28(7):2994. - P.1-24.

116. Choi M.-J. A Practical registration procedure of korean health functional food ingredient: the registration of *Sophora japonica* L., Fruit extract for excellent female menopausal efficacy / Choi M.-J., Kim K.-M., Cho E.-J., Jeong T.-B., Jung J.-Ch. // *Food supplements and biomaterials for health*. - 2021. - P.1-10.

117. Быков, И.И. Экстрагирование биологически активных веществ из *Zingiber officinale* roscoe в технологии фитопрепаратов (обзор) / И.И. Быков, Д.В. Компанцев, И.М. Привало // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. - 2017. - Т. 16, № 2. - С. 170-180.

118. Васильева, П. А. Изменение физико-химических свойств водно-спиртовой смеси в процессе экстракции биологически активных веществ из растительного сырья / П. А. Васильева, Д. И. Нестерова, П. А. Чеботова, А. С. Чухно // EurasiaScience: Сборник статей XXXIX международной научно-практической конференции. - 2021. – С. 16-21.

119. Лебедев, А. А. Влияние физико-химических факторов на процесс набухания частиц плодов софоры японской / А. А. Лебедев, П. А. Васильева // Физическая химия - основа новых технологий и материалов : Тезисы докладов XI Межвузовской конференции научных работ студентов имени члена корреспондента АН СССР Александра Александровича Яковкина (с международным участием). - 2022. – С. 227-229.

120. Васильева, П. А. Влияние электролитов на процесс набухания растительной клетки / П. А. Васильева, И. Б. Дмитриева // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине: Сборник научных трудов 4-й международной конференции, посвященной 135-летию со дня рождения профессора В. В. Лебединского. - 2023. – С. 42-47.

121. Skrabkova, H. S. Complex of lysozyme and Myramistin: formation and adsorption at the water-xylene interface / H. S. Skrabkova, M. G. Chernysheva, G. A. Badun, A. M. Arutyunyan // Mendeleev Communications. – 2020. – Vol. 30, No. 5. – P. 645-646.

122. Васильева, П. А. Коллоидные свойства дисперсии плодов софоры японской / П. А. Васильева, И. Б. Дмитриева // Поверхностные явления в дисперсных системах : Сборник тезисов докладов всероссийской конференции, посвященной 125-летию со дня рождения выдающегося советского ученого, академика АН СССР Петра Александровича Ребиндера, Москва. – 2023. – С. 161.

123. Васильева, П.А. Набухание высушенного растительного сырья под действием физико-химических факторов / П.А. Васильева, А.А. Лебедев // Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2023». – 2023. – С.120.

124. Holland, P.M. Nonideal multicomponent mixed micelle model / P.M. Holland, D.N. Rubingh // J. Phys. Chem. - V. 87. № 11. - 1983. - P.1984-1190.

125. Соболева, О.А. Смешанные мицеллы и адсорбционные слои неионогенного поверхностно-активного вещества с катионным (мономерным и димерным) / О.А. Соболева, М.В. Кривобокова // Вестник Московского университета. серия 2. химия. - 2004. - Т. 45. № 5 – С. 344 – 349.

126. Szymczyk K. Behaviour of cetyltrimethylammonium bromide, Triton X-100 and Triton X-114 in mixed monolayer at the (water-air) interface / K. Szymczyk, A. Zdziennicka, J. Krawczyk, B. Janczuk // *J. Chem. Thermodynamics*. 2014. V. 69. P. 85–92.
127. Szymczyk K. Properties of the ternary mixtures of fluorocarbon and hydrocarbon nonionic surfactants at the water-air interface // *Journal of Fluoro-rine Chemistry*. - V. 149. - 2013. - P. 1–7.
128. Rebinder, P. A. Surface phenomena in solids during the course of their deformation and failure / P. A. Rebinder, E. D. Shchukin // *Soviet Physics Uspekhi*. – 1973. – Vol. 15, No. 5. – P. 533-554.
129. Holland P.M. Nonideal mixed micellar solutions // *Adv. Colloid and Interface Sci.* - 1986. № 26. - P. 111-129.
130. Kunio, E. Structure - Performance Relationships in Surfactants // Margel Dekker, Inc. New York. – V. 112 – 2023. – 470 p. ISBN: 0-8247-4044-0.
131. Ребиндер, П.А. Избранные труды. Поверхностные явления в дисперсных системах // *Физико-химическая механика*. – 1979. – С. 203.
132. Rosen M.J. Surfactant – Surfactant Interactions in Mixed Monolayer and Mixed Micelle Formation / M.J. Rosen, Q. Zhou // *Langmuir*. - V. 17. № 12. - 2001. - P. 3532–3537.
133. Rosen M. J. *Surfactants and Interfacial Phenomena* / 3rd ed. New York: John Wiley & Sons - 2004. - 444 p. ISBN:9780470541944
134. Иванова Н.И. Мицеллообразование и поверхностные свойства водных растворов бинарных смесей Твин-80 и бромиды цетилтримети-ламмония // *Вестн. Моск. Ун-та. Сер.2 Химия*. - Т.53. № 1. - 2012. - С. 44–49.
135. Иванова Н.И., Волчкова И.Л., Щукин Е.Д. О проявлении синергизма в бинарной смеси неионогенного и катионного поверхностно-активных веществ // *Коллоид. журн.* - 58. № 2. - 1996. - С. 188-192.
136. Halliwell, B. *Free Radicals in Biology and Medicine* (4th edn) / B. Halliwell, J. Gutteridge – Oxford University Press. - 2007. – 851 p. ISBN-13 978-0198568698.
137. Иванова, А. В. Потенциометрическое определение водорастворимых антиоксидантов с использованием комплексов металлов / А. В. Иванова, Е. Л. Герасимова, И. А. Кравец, А. И. Матерн // *Журнал аналитической химии* - Т. 70, № 2. - 2013. – С. 156.
138. Васильева, П. А. Потенциометрическое определение антиоксидантной активности биологически активных веществ / П. А. Васильева, С. А. Перфильева, А. К. Плохова, А. С. Чухно // *Мечниковские чтения-2024: Материалы 97-й Всероссийской научно-практической конференции студенческого научного общества с международным участием*. - 2024. – С. 137-139.

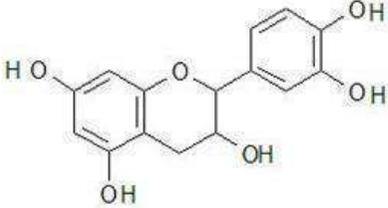
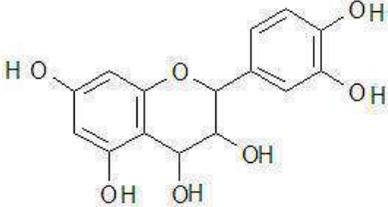
139. Киреев, В. А. Курс физической химии : учеб. для вузов. / В. А. Киреев. - изд. 3-е, перераб. и доп. - Москва: Химия, 1975. - 776 с. УДК 544(075.8).

140. Зверев, Я. Ф. Флавоноиды как перспективные природные антиоксиданты / Я. Ф. Зверев, В. М. Брюханов // Бюллетень медицинской науки. – 2017. – № 1(5). – С. 20-27.

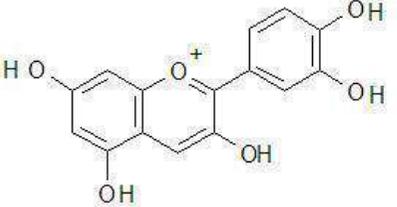
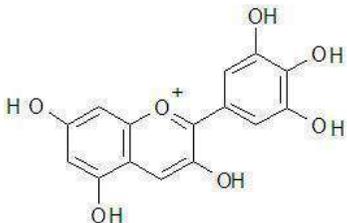
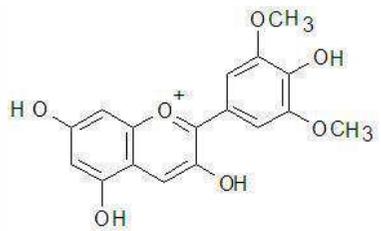
141. Зверев, Я. Ф. Флавоноиды глазами фармаколога. Антиоксидантная и противовоспалительная активность / Я. Ф. Зверев // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15, № 4. – С. 5-13.

Приложение А

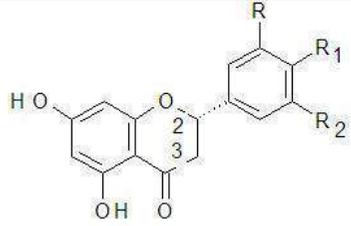
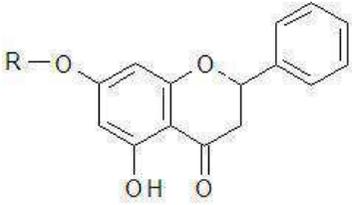
Таблица А.1 - Физико-химические свойства флавоноидов

<i>название</i>	<i>химическая формула</i>	<i>физическо-химические свойства</i>	<i>примечание</i>
Катехин (флаван-3-ол)		Бесцветные соединения, легко поддаются окислению (при окислении приобретают розовую или красную окраску), оптически активны (могут находиться в извлечении в виде 4 изомеров, которые обладают разными как физико-химическими свойствами (температурой плавления, углом вращения и др.), так и разным биологическим действием).	
Лейкоантоцианы (флаван-3,4-диолы)		Бесцветные соединения, при нагревании с кислотами превращаются в антоцианидины и приобретают красную окраску (цианидин).	

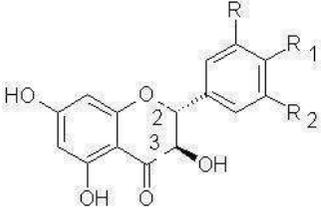
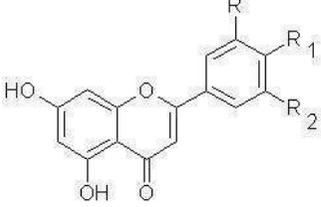
Продолжение таблицы А.1 - Физико-химические свойства флавоноидов

название	химическая формула	физическо-химические свойства	примечание
Антоцианиды	<div style="text-align: center;">  <p>Цианидин</p>  <p>Дельфинидин</p>  <p>Мальвидин</p> </div>	<p>В кислом растворе ведут себя как катионы (образуют соли с кислотами), в щелочном растворе - как анионы (образуют соли с основаниями), в зависимости от рН среды их окраска изменяется.</p>	<p>Обычно встречаются в природе в виде гликозидов — антоцианов, причем наиболее типичным и распространенным является цианидин (3, 5, 7, 3', 4'-пентагидроксиантоцианидин). В растениях встречаются также и другие антоцианы – дельфинидин (3, 5, 7, 3',4', 5'-гексагидроксиантоцианидин), мальвидин (3, 5, 7, 4'-тетрагидрокси- 3', 5'-диметоксиантоцианидин).</p>

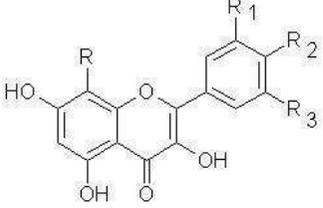
Продолжение таблицы А.1 - Физико-химические свойства флавоноидов

название	химическая формула	физическо-химические свойства	примечание
Флаваноны	 <p>Нарингенин: $R=R_2=H$; $R_1=OH$</p> <p>Эриодиктиол: $R=H$; $R_1=R_2=OH$</p> <p>Гесперетин: $R=H$; $R_1=OH$; $R_2=OCH_3$</p>  <p>Пиноцембрин: $R=H$</p> <p>Пиностробин: $R=CH_3$</p>	УФ спектры флаванонов имеют один интенсивный максимум поглощения при 289 нм, не имеют окраски.	В лекарственных растениях наиболее распространены пиноцембрин, пиностробин, нарингенин, эриодиктиол и гесперетин.

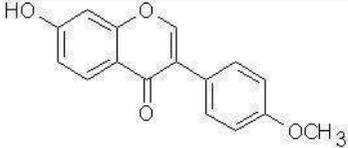
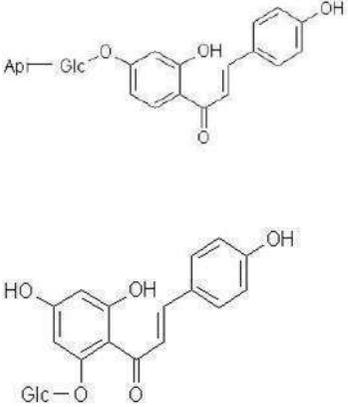
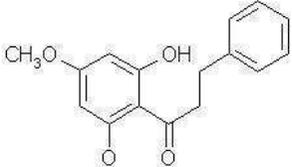
Продолжение таблицы А.1 - Физико-химические свойства флавоноидов

название	химическая формула	физическо-химические свойства	примечание
Флаванолы	 <p> Пинобанксин: $R=R_1=R_2=H$ Дигидрокемпферол: $R=R_1=H; R_2=OH$ Таксифоллин: $R=H; R_1=R_2=OH$ </p>	<p>УФ спектры флаванолов имеют один интенсивный максимум поглощения при 289 нм, не имеют окраски.</p>	<p>В лекарственных растениях наиболее распространены дигидрокемпферол, пинобанксин, таксифоллин.</p>
Флавоны	 <p> Хризин: $R=R_1=R_2=H$; Апигенин: $R=R_2=H; R_1=OH$ Акацетин: $R=R_2=H; R_1=OCH_3$ Лютеолин: $R=H; R_1=R_2=OH$ Хризоериол: $R=H; R_1=OH; R_2=OCH_3$ </p>	<p>Светло-желтая, желтая или желто-зеленая окраска, УФ спектры флавонов имеют два максимума поглощения при 270 нм и при-340-350 нм. 7-О-гликозиды флавонов гидролизуются в жестких условиях – при нагревании в течении 2 часов с 5-10% минеральными кислотами.</p>	<p>Наиболее распространенными агликонами флавонов являются хризин, апигенин, акацетин, лютеолин, диосметин, хризоериол, диуретин и трицин.</p>

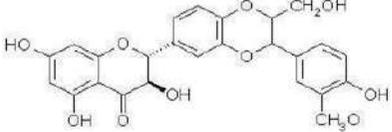
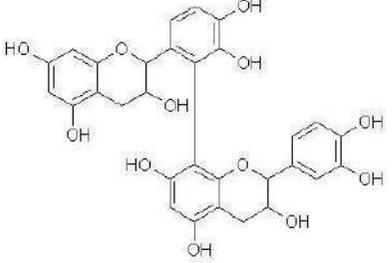
Продолжение таблицы А.1 - Физико-химические свойства флавоноидов

название	химическая формула	физическо-химические свойства	примечание
	Диосметин: $R=H; R_2=OH; R_1=OCH_3$ Трицин: $R_1=OH; R=R_2=OCH_3$		
Флавонолы	 <p>Галангин: $R=R_1=R_2=R_3=H$;</p> <p>Кемпферол: $R=R_1=R_3=H; R_2=OH$</p> <p>Кверцетин: $R=R_1=H; R_2=R_3=OH$</p> <p>Изорамнетин: $R=R_1=H; R_2=OH; R_3=OCH_3$</p> <p>Мирицетин: $R=H; R_1=R_2=R_3=OH$</p> <p>Гербацетин: $R_1=R_3=H; R=R_2=OH$</p>	<p>Желтая или желто-зеленая окраску, для УФ спектров флавонолов характерны два максимума поглощения при 260 нм и при 360-370 нм спектрофотометрического метода.</p> <p>Флавонол-3-гликозиды легко гидролизуются при нагревании со слабыми растворами минеральных кислот.</p>	<p>Наиболее распространенными агликонами флавонолов являются галангин, кемпферол, кверцетин, изорамнетин, мирицетин, гербацетин.</p>

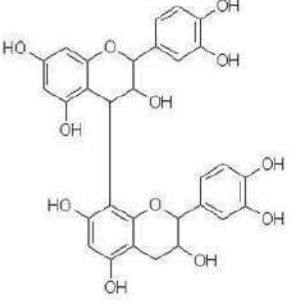
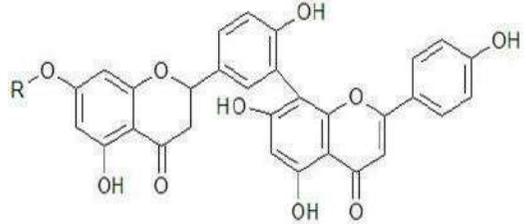
Продолжение таблицы А.1 - Физико-химические свойства флавоноидов

название	химическая формула	физическо-химические свойства	примечание
Изофлавоны	 <p>Формонетин</p>		
Халконы		В кислой среде халконы превращаются в соответствующие флаваноны.	Типичными халконами являются ликуразид (агликон — изоликвиритигенин) и изосалипурпозид.
Дигидрохалконы	 <p>2',6'-дигидрокси-4'-метоксидигидрохалкон: Почки тополя</p>		

Продолжение таблицы А.1 - Физико-химические свойства флавоноидов

название	химическая формула	физическо-химические свойства	примечание
Ауроны	 <p>Сульфуретин</p>		
Флаволигнаны	 <p>Силибин</p>	Продукты окислительного сочетания флавоноидов и фенилпропаноидов, чаще всего коричных спиртов.	
Биофлавоноиды	 <p>Катехин-6',8-димер</p>	Различаются между собой различным сочетанием двух молекул агликонов, структурой сочетающихся флавоноидов и характером связи.	Наиболее типичными бифлавоноидами являются компоненты листьев чая (димеры катехина), гинкго двулопастного (аментофлавон, гинкгетин), травы зверобоя

Продолжение таблицы А.1 - Физико-химические свойства флавоноидов

название	химическая формула	физическо-химические свойства	примечание
	 <p style="text-align: center;">Катехин-4,8-димер</p>  <p>Аментофлавон: R=H Гинкгетин: R=CH₃</p>		<p>продырявленного (биапигенин).</p>