

УДК 547.918:54.053:633.63

## ОСОБЕННОСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ САПОНИНОВ ИЗ КОРНЕПЛОДОВ РАСТЕНИЯ *BETA VULGARIS L.*

© 2004 г. Т.А.Брежнева, С.А.Атаманова, А.И.Сливкин, В.Ф.Селеменев, Е.Ф.Сафонова, Н.Е.Турыгина

*Воронежский государственный университет*

Изучены особенности использования корнеплодов сахарной свеклы в качестве сырья для получения сапонинов. Отмечено, что применение некондиционных корней малой массы позволяет повысить качество получаемых целевых суммарных сапонинных фракций. Рекомендованы условия и установлены сроки хранения свежесобранного и высушенного растительного сырья с целью максимального выделения сапонинов.

### ВВЕДЕНИЕ

Сапонины – это полициклические природные вещества гликозидного характера. Данные соединения имеют растительное, реже – животное происхождение и используются в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности как натуральные ПАВ. Многие сапонины фармакологически активны и являются действующим началом простых и комплексных фитопрепаратов.

В опубликованных работах [1-3] было выявлено адаптогенное и гипогликемическое действие у сапонинов, выделенных из корнеплодов двух разновидностей растения *Beta vulgaris L.* – сахарной и столовой свеклы. Распространенность и доступность растительного сырья в сочетании с выраженной фармакологической активностью открывают перспективы использования сапонинов свеклы в качестве действующего начала новых лекарственных препаратов. Обеспечение терапевтической эквивалентности подобных препаратов требует разработки унифицированной схемы выделения сапонинов из корнеплодов. В исследованиях, проводимых ранее, для этой цели применяли сырье с различными исходными характеристиками: свежесобранное и высушенное, имеющее разную степень дисперсности, отличающееся различными сроками и условиями хранения, и так далее. Конечный результат при выделении оценивали по выходу сапонинов из сырья и их содержанию в извлечении. При этом в ряде случаев было отмечено, что смена партии сырья приводит к получению конечного продукта иного качества по содержанию сапонинов и составу балласта.

Обработка оптимальных условий выделения сапонинов из растительного материала была невозможна без учета сырьевого фактора.

Целью настоящей работы было изучение специ-

фики извлечения сапонинов из конкретного вида растительного сырья – корнеплодов сахарной свеклы.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали корнеплоды сахарной свеклы, заготавливаемые в период осенней уборки свеклы на сахар (сентябрь-октябрь). Использовали корнеплоды массой 200-500 г, отвечающие требованию нормативной документации на сырье (ГОСТ 17421-82), а также некондиционные мелкие корнеплоды массой менее 100 г, составляющие выбраковку при уборке.

Количественное определение сапонинов в растительном сырье и извлечениях из него проводили по известной фотоколориметрической методике [4].

Исследование распределения сапонинов в корнеплодах показало, что максимальное их количество (1,6% в пересчете на сухое сырье) локализовано в перидерме и прилегающем к ней слое паренхимы, толщиной 0,5-0,8 см; во внутренних частях корнеплода их значительно меньше (1,0%). Установлено повышенное содержание сапонинов в нижней удлиненной части корня (1,4%) в сравнении с гипокотилем (0,8%). Поскольку распределение сахарозы в корнеплодах имеет обратный характер, были намечены рациональные пути использования последних: наружного слоя для получения сапонинов, внутреннего – по основному назначению – для производства сахара.

Учитывая данные по растворимости нативных форм сапонинов в воде и большинстве органических растворителей, в качестве экстрагентов для извлечения сапонинов из корнеплодов применяли водные растворы гидроксида натрия (рН=11,0) и гидрофильные органические растворители (оптимальный результат был получен при использовании бинарной смеси этанол-ацетон 1:4). И в первом, и во втором случае далее сапонины осаждали при подкислении извлечения до рН=1,0, переводя их в ма-

лорастворимую в воде кислотную форму. Полученное первичное извлечение, в зависимости от применяемого экстрагента, содержало от 12 до 43% сапонинов (в пересчете на сухое вещество).

Наибольшие трудности при дальнейшей очистке создавали две составляющие балласта. Первая – это красящие вещества сахарной свеклы, образующиеся под воздействием ферментов при повреждении клеток и контакте внутриклеточного содержимого с воздухом. Данные вещества, имеющие различную природу, окрашены в черный цвет и придают такой же оттенок выделенным сапонинам. Вторая – липофильные соединения, переходящие в первичное извлечение в виде конъюгатов с сапонинами.

Были проведены эксперименты по изучению закономерностей перехода в первичное извлечение сапонинов и обеих групп балластных веществ, связанных с исходным состоянием растительного сырья.

При подготовке к экстрагированию корнеплоды предварительно измельчали в шнековом измельчителе, высушенную измельченную массу дополнительно подвергали фракционированию. Контроль содержания красящих липофильных веществ в извлечении проводили спектрофотометрически по известным методикам [5,6,7]. При этом оценивали не их абсолютное содержание, а оптическую плотность растворов, учитывая ее пропорциональность концентрации.

В таблице 1 представлены результаты сравнительного анализа первичных извлечений из различных частей корнеплода, полученные с применением различных экстрагентов. Исследовали извлечения, полученные щелочной экстракцией (I), а также экстракцией смесью этанол-ацетон, давшей наилучшие ре-

зультаты в предварительных исследованиях (II). На основании данных таблицы можно отметить более высокую экстрагирующую способность по отношению к сапонинам второго экстрагента в сравнении с первым, а также большее их содержание в извлечении при использовании наружного слоя корнеплодов. Отмечается также несколько более высокое содержание сапонинов в извлечениях из свежих корнеплодов по сравнению с высушенными, что вполне объяснимо легкостью вымывания сапонинов из разрушенных клеток измельченного свежего сырья.

Щелочной экстрагент извлекает в 1,5-2 раза больше красящих веществ, чем спирто-ацетоновый. Использование обоих экстрагентов приводит к большему их поступлению из наружной части корнеплода, чем из внутренней, а также к нарастанию цветности при использовании высушенного сырья. Анализируя данные по содержанию липофильных веществ в извлечении можно отметить значительно большее (примерно в 5 раз) их содержание при экстракции смесью спирт-ацетон. Несколько большее поступление липофильных веществ наблюдается при использовании свежего сырья по сравнению с высушенными и внутренними частями корнеплода по сравнению с внешними.

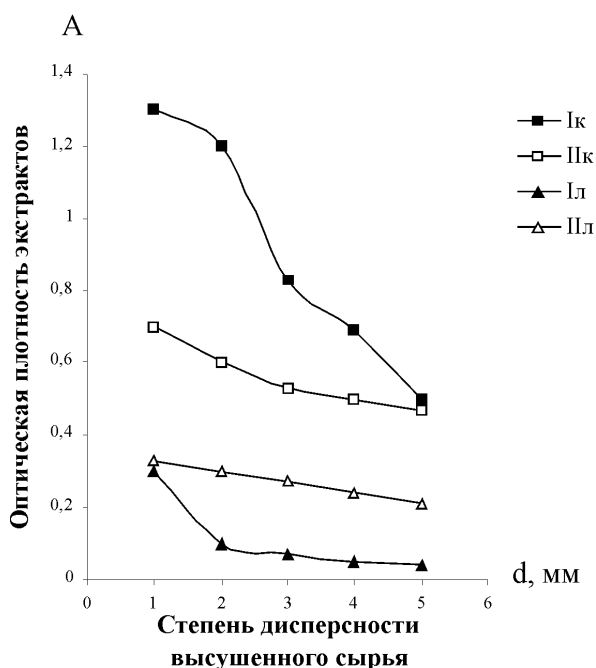
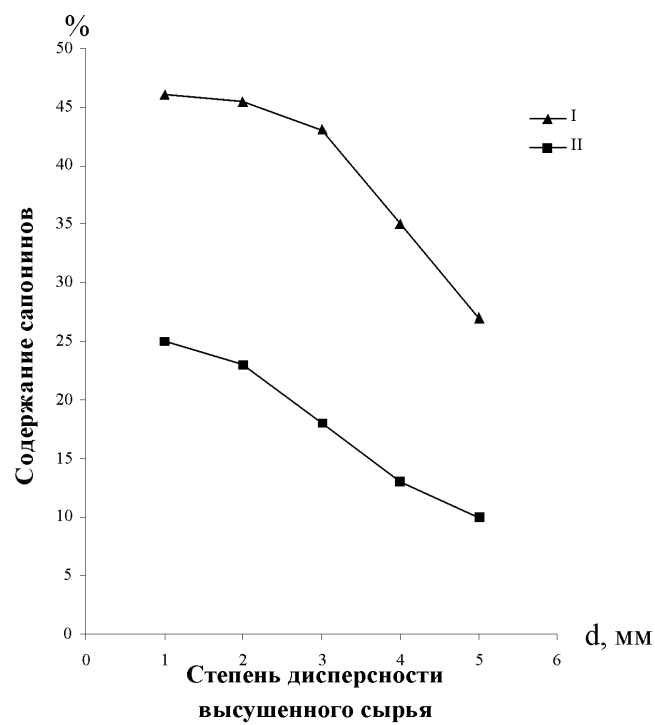
В следующей серии экспериментов проводили оценку влияния степени дисперсности высушенного растительного сырья на переход в первичное извлечение действующих и балластных веществ. Полученные данные представлены на рисунке 1. Анализируя данные рисунка, можно сделать вывод о том, что степень дисперсности оказывает существенное влияние на переход в первичное извлечение как дей-

Таблица 1

**Переход в первичное извлечение сапонинов и балластных веществ из различных частей корнеплода: I – экстракция раствором NaOH, pH=11,0; II – экстракция смесью этанол-ацетон 1:4**

Используемое сырье (корнеплоды сахарной свеклы)	Содержание сапонинов в извлечении, %		Оптическая плотность экстракта с красящими веществами, $A_k$		Оптическая плотность экстракта с липофильными веществами, $A_d$	
	I	II	I	II	I	II
Свежесобранные (наружный слой) *	20	47	0,53	0,34	0,06	0,31
Свежесобранные (внутренний слой)	15	37	0,38	0,20	0,08	0,35
Высушенные (наружный слой) *	15	43	0,63	0,42	0,04	0,29
Высушенные (внутренний слой)	11	31	0,40	0,25	0,06	0,32

\* наружный слой, включал перидерму и прилегающий к ней слой паренхимы 0,5-0,8 см



**Рис.1.** Влияние степени дисперсности сыра на переход в извлечение: а) сапонинов; б) балластных веществ при проведении экстракции раствором NaOH (I), смесью этанол-ацетон 1:4 (II). *к* – оптическая плотность экстрактов красящих, *л* – оптическая плотность липофильных веществ, соответственно.

ствующих, так и балластных веществ, причем закономерности их экстрагирования одни и те же. Из крупноизмельченного сыра экстрагируется меньше как сапонинов, так и балластных веществ обеих групп, что объясняется как меньшей поверхностью

контакта сыра с экстрагентом, так и затруднениями при диффузии веществ внутри частиц растительного материала. Очень тонкое измельчение сыра (до частиц  $< 0,2$  мм) приводит к смене механизма протекания экстракции от гелевого к пленочному, и экстракционная активность извлекателя падает как по отношению к сапонином, так и по отношению к балластным веществам. На рис. 1 хорошо заметен перегиб, соответствующий смене механизма экстракции сапонинов. Содержание красящих веществ возрастает с уменьшением частиц сыра, что объяснимо большей поверхностью контакта частиц сыра с воздухом при измельчении. Можно отметить, что образование красок усиливается при воздействии на сыре щелочной среды. Крайне малое количество извлекаемых в последнем случае липофильных веществ свидетельствует о разрушении их конъюгатов с сапонином при нагревании с водным раствором щелочи. Сами по себе неконъюгированные липофильные вещества в экстракт перейти не могут ввиду их малой растворимости в водной среде.

В таблице 2 представлены результаты исследования влияния сроков и условий хранения сыра на состав первичных извлечений. Полученные данные позволяют отметить следующие закономерности. Обои экстрагентами максимальное количество сапонинов извлекается из некондиционных корнеплодов малой массы, в этом случае получают извлечения, практически свободные от липофильных соединений, однако цветность их выше. Сравнивая состав извлечений из свежесобранного и свежего хранившегося сыра, можно отметить отсутствие влияния условий хранения на выход в извлечение сапонинов и липофильных фракций. Использование хранившегося сыра приводит к некоторому повышению содержания красящих веществ в извлечении, особенно в случае использования замороженных корнеплодов. Замораживание и оттаивание сыра приводит к разрыву клеток и образованию большого количества красящих веществ при контакте с воздухом. Таким образом, замораживание сыра нежелательно.

Сравнение извлечений из высушенного сыра разного срока хранения позволяет сделать вывод о возможности хранения высушенных корнеплодов в течение 1 года (состав извлечения практически не меняется). Из сыра, хранившегося в течение 2 лет, сапонинов извлекается значительно меньше.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенного исследования состава первичных извлечений были рекомендованы оптимальные условия использования корнеплодов сахарной свеклы в качестве сыра для получения са-

Влияние сроков и условий хранения сырья на состав первичных извлечений из него: I –экстракция раствором NaOH, pH=11,0; II –экстракция смесью этанол-ацетон 1:4

Характеристика сырья (корнеплодов сахарной свеклы)	Содержание сапонинов в извлечении, %		Оптическая плотность экстракта с красящими веществами, $A_k$		Оптическая плотность экстракта с липофильными веществами, $A_l$	
	I	II	I	II	I	II
Свежесобранные некондиционные	23	48	0,52	0,32	0,01	0,04
Свежесобранные стандартные	18	45	0,46	0,26	0,06	0,30
Свежие, хранившиеся 6 месяцев в кагатах	16	43	0,52	0,32	0,05	0,28
Свежие, хранившиеся замороженными	17	45	0,66	0,46	0,07	0,32
Высушенные некондиционные	19	46	0,58	0,34	0,01	0,03
Высушенные стандартные	13	44	0,50	0,30	0,05	0,27
Высушенное стандартное сырье, хранившееся 1 год	12	41	0,46	0,26	0,04	0,24
Высушенное стандартное сырье, хранившееся 2 года	6	25	0,30	0,26	0,04	0,17

понинов. Оптимального результата можно достичь, используя экстракцию спирто-ацетоновым экстрагентом (соотношение 1:4) некондиционных корнеплодов малой массы, свежесобранных или высушенных со степенью дисперсности 0,5-1 мм.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брежнева Т.А., Николаевский В.А., Селеменов В.Ф. и др. // Хим.-фарм. журн. 2001. Т.35. №3. С.39-41.
2. Атаманова С.А., Брежнева Т.А., Николаевский В.А. и др. // Всеросс. национ. конгресс "Человек и лекарство". Москва. 15-20 апреля 2002 г.: Тез. докл. М. 2002. С.572.
3. Атаманова С.А., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. и др. // Всеросс. национ. конгресс "Человек и лекарство". Москва. 7-11 апреля 2003 г.: Тез. докл. М. 2003. С.575.
4. Нагорная В.А., Жижина Р.Т., Карташов А.К. / Сахарная промышленность. 1966. №8. С.39-43.
5. Руденко В.Н., Бобровник Л.Д. // Сахарная промышленность. 2000. №2. С.21-23.
6. Бугаенко И.Ф., Якубсон М.В., Исмаилова А.Д. / Сахарная промышленность. 1998. №3. С.20-22.
7. Явич П.А., Гоциридзе А.В., Чурадзе Л.И. // Фармация. 2001. №3. С.13-16.