

ОПТИМИЗАЦИЯ РЕЖИМОВ ЭКСТРАКЦИИ МУМИЁ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА МАТЕМАТИЧЕСКОГО ПЛАНИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Д. В. Компанцев¹, Ф. С. Бугаёв²

¹ *Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный
медицинский университет» Минздрава России*
² *ООО «Квадрат-С»*

Поступила в редакцию 08.04.2019 г.

Аннотация. Технологический процесс очистки природной субстанции мумиё сложный и материалоёмкий процесс, характеризующийся большим количеством стадий с высоким уровнем энергетических и материальных затрат. Сложный состав исходного сырья, высокий уровень неоднородности требуют разработки научно обоснованных математически и статистически обоснованных режимов получения экстрактов. Также немаловажным в процессе очистки природного мумиё является сохранение уникального микро- и макроэлементного состава активных компонентов максимально приближенного к нативному, так как полнота фармакологического эффекта мумиё достигается присутствием всего комплекса активных компонентов, входящих в его состав. В связи с этим стандартные методы очистки фармацевтических субстанций не могут быть напрямую экстраполированы на данную субстанцию из-за риска потери биологически значимых микро- и макроэлементов. В данной статье исследуется зависимость времени экстракции и соотношения сырья и экстрагента на количественные характеристики готового продукта, такие как выход готового продукта, общее содержание аминокислот и гуминовых кислот. Целью данного исследования является определение оптимальных параметров экстракции мумиё с использованием метода математического планирования эксперимента. В качестве объекта исследования выступают данные о количественном содержании отдельных биологически активных веществ, полученные при моделировании различных условий экстракции сырья мумиё, а именно режимов экстракции. Показатели суммарное содержание аминокислот и гуминовых кислот были выбраны нами в качестве лимитирующих для оценки эффективности теоретически рассчитанного режима воздействия.

В ходе эксперимента были получены данные количественного содержания аминокислот и гуминовых кислот, а также выход продукта, на основании которых были построены уравнения регрессии, а также были построены кривые равных значений, адекватно описывающие влияние варьируемых параметров экстракции на количественные характеристики готового продукта. На основании полученных данных выбран оптимальный режим экстрагирования, позволяющий получить мумиё, очищенное с высоким содержанием гуминовых и аминокислот.

Ключевые слова: мумиё, уравнение регрессии, кривые равных значений, гуминовые кислоты, аминокислоты.

Мумиё — это химически сложная структурированная смесь веществ органического и неорганического происхождения, в состав которого в частности входят гуминовые кислоты, жирные и аминокислоты, микро- и макроэлементы, витамины [1, 2, 3, 4, 5]. Формирование породы мумиё

сложный и не до конца изученный процесс, измеряемый сотнями, а возможно тысячелетиями. В процессе формирования мумиё подвергается различным загрязнениям: биологическим, минеральным и, в последние годы, техногенным; поэтому для получения качественной субстанции нуждается в очистке, так как применение мумиё без предварительной очистки может быть опасным

для жизни и здоровья. В мумиё может находиться микроорганизмы, плесневые грибы, продукты жизнедеятельности животных и др [1, 6].

Активное изучение биологических свойств мумиё во второй половине XX века выявило большое количество фармакологических свойств, действие которых ученые связывают со всей суммой действующих веществ [7, 8, 9, 10, 11]. Данные исследования породили множество подходов к очистке и концентрированию, а также выделению отдельных фракций мумиё, эти исследования стали основой для разработки патентов и написанию научных статей доступных при анализе патентной базы и литературных источников [1, 3, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18]. Большинство технологий получения, как отмечалось выше, не имеют точности, что приводит к увеличению времени, затрачиваемого на производство, также не полное удаление нерастворимых минеральных примесей, негативно сказывается на качестве продукта и его фармакологической активности.

В виду того, что интерес для исследования представляет вся сумма водорастворимых действующих веществ, находящаяся в мумиё сырье, а также на основании литературного обзора химического состава и уже имеющихся данных по получению экстракта мумиё (большая часть входящих групп БАВ в мумиё хорошо растворимы в воде, таких как гуминовые кислоты, соли жирных кислот, аминокислоты, микро- и макроэлементы, витамины и другие БАВ) в качестве экстрагента была выбрана вода очищенная [1, 2, 3, 4, 12, 5, 13].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В ходе эксперимента изучалось влияние:

- соотношения сырья и экстрагента на выход продукта;
- времени экстракции на выход продукта;
- изучаемых параметров на общее содержание аминокислот и гуминовых кислот.

Аппарат матрицы математическом планировании позволяет оценить влияние практически неограниченного количества вариаций факторов, однако влияние большинства факторов уже изучено, а также при многофакторном планировании модель становится громоздкой и не целесообразной для практического выполнения, поэтому для некоторых факторов была введена постоянная:

1. Экстрагент используемый в процессе экстракции. На основании литературного обзора химического состава и уже имеющихся данных по получению экстракта мумиё выбрана вода

очищенная, ввиду того что большая часть входящих в состав мумиё компонентов растворима в воде [1, 2, 3, 4, 5].

2. Температура экстракции. На основании литературного обзора химического состава и уже имеющихся данных по получению экстракта мумиё выбрана температура 20-25°C, ввиду сложного многокомпонентного состава мумиё для предотвращения ускорения химических реакций [1, 2, 3, 4, 5, 12, 13, 15, 17].
3. Степень измельчения мумиё-сырья. На основании литературных данных оптимальной степенью измельчения является размер частиц 1-10 мм, количество пылевидной фракции не должно превышать 15% [12, 13, 14, 16, 18]. Для измельчения использовали валковую дробилку.
4. Очистка раствора после стадии экстракции. Центрифугирование на центрифуге фирмы «Дастан» марки ОПН-8 с использованием ротора РУ180Л в течении 15 минут 5000 об/мин [19].
5. Сушка супернатанта. В сушильном шкафу при температуре 70°C до остаточной влажности 5-10%.

Для оценки влияния на количественные характеристики конечного продукта, нами было проанализировано влияние таких параметров, как соотношение сырья и экстрагента, и время экстракции с использованием математического планирования и построения уравнения регрессии [20].

Соотношения сырья и экстрагента. На основании литературного обзора были выявлены различные соотношения сырья и экстрагента, от 1:1 до 1:20. Нами был выбран диапазон исследования от 1:1 до 1:10. Дальнейшее увеличение количества экстрагента не целесообразно и ведет к увеличению издержек производства [12, 13, 14, 16, 18].

Время экстрагирования. На основании литературных данных выбран диапазон исследования от 2 до 20 часов [12, 13, 14, 16, 18].

Для проведения математического планирования была составлена программа исследований, которая заложена в матрице планирования эксперимента, представленную в таблице (Таблица 1).

В качестве переменных были выбраны: x_1 – соотношение сырья и экстрагента, %, x_2 – время экстрагирования, ч. Исследуемым параметром является выход продукта, общее содержание аминокислот, содержание гуминовых кислот. Все переменные некоррелированы между собой. Пределы их вариаций представлены в таблице (Таблица 2).

Таблица 1.

Матрица планирования эксперимента

№ п/п	x_1	x_2
1	-1	-1
2	-1	+1
3	+1	-1
4	+1	+1
5	-1.414	0
6	+1.414	0
7	0	-1.414
8	0	+1.414
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
13	0	0

Таблица 2.

Пределы изменения параметров экстрагирования мумиё

Условия планирования	x_1 , содержание сырья в экстрагенте, %	x_2 , время экстрагирования, ч.
Основной уровень «0»	30	10
Интервал варьирования «1»	20	6
Верхний уровень «+1»	50	16
Нижний уровень «-1»	10	4
Верхняя «звездная» точка «+1.414»	58.28	18.484
Нижняя «звездная» точка «-1.414»	1.72	1.516

Выбор интервалов изменения содержания мумиё в экстрагенте и времени экстрагирования обуславливается теоретическими данными.

Содержание аминокислот определяли по ГОСТ 32195 – 2013 «Корма, комбикорма. Метод определения содержания аминокислот». Содержание гуминовых кислот определяли по методике, представленной в Р 4.1.1672-03 «Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище».

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании представленной матрицы планирования эксперимента были получены данные указанные в таблице (Таблица 3).

Статистическая обработка экспериментальных данных, полученных после проведения полнофакторного эксперимента позволила получить уравнения регрессии (1-3), адекватно описывающие процесс экстракции мумиё.

$$y_1 = 44.211 - 1.71x_1 + 0.497x_2 - 0.075x_1x_2 + 0.585x_1^2 - 0.065x_2^2 \quad (1)$$

$$y_2 = 8.71 + 0.736x_1 + 0.507x_2 + 0.172x_1x_2 + 0.042x_1^2 - 0.011x_2^2 \quad (2)$$

$$y_3 = 8.438 + 0.851x_1 + 0.804x_2 + 0.003x_1x_2 - 0.038x_1^2 + 0.007x_2^2 \quad (3)$$

На основании полученных уравнений регрессии (1-3) были построены кривые равных значений (Рисунок 1-3), которые наглядно описывают зависимость времени экстракции и соотношение сырья и экстрагента на количественные показатели субстанции мумиё.

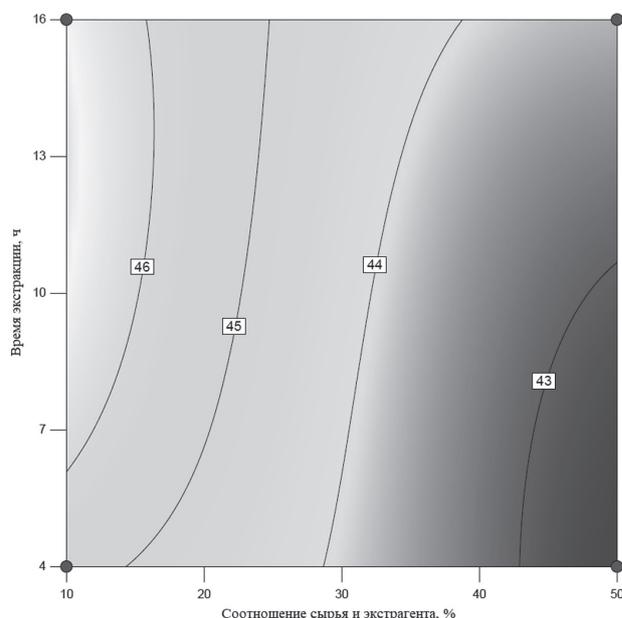


Рис. 1. Влияние соотношения сырья, экстрагента и времени экстрагирования на выход продукта, %.

Таблица 3.

Результаты полученные с использованием матрицы планирования эксперимента

№ п/п	x_1 , %	x_2 , ч.	y_1 , выход продукта, %	y_2 , содержание аминокислот, %	y_3 , содержание гуминовых кислот, %
1	10	4	45.3	7.68	7.67
2	10	16	46.8	8.24	8.83
3	50	4	42.5	8.61	8.15
4	50	16	43.7	9.86	9.32
5	1.72	10	48.3	7.76	6.98
6	58.28	10	42.8	10.12	9.58
7	30	1.516	43.8	8.04	6.92
8	30	18.484	44.7	9.63	9.82
9	30	10	44.1	8.72	8.46
10	30	10	44.3	8.68	8.43
11	30	10	44.2	8.70	8.43
12	30	10	44	8.73	8.42
13	30	10	44.4	8.71	8.44

Исходя из анализа кривых равных значений, полученных из уравнения регрессии (1) при определении выхода продукта (y_1), в исследуемом диапазоне значений, при повышении концентрации мумиё-сырца происходит снижение выхода продукта, а при увеличении времени экстрагирования происходит увеличение выхода продукта (Рисунок 1).

При анализе кривых равных значений, полученных из уравнения регрессии (2) при определении

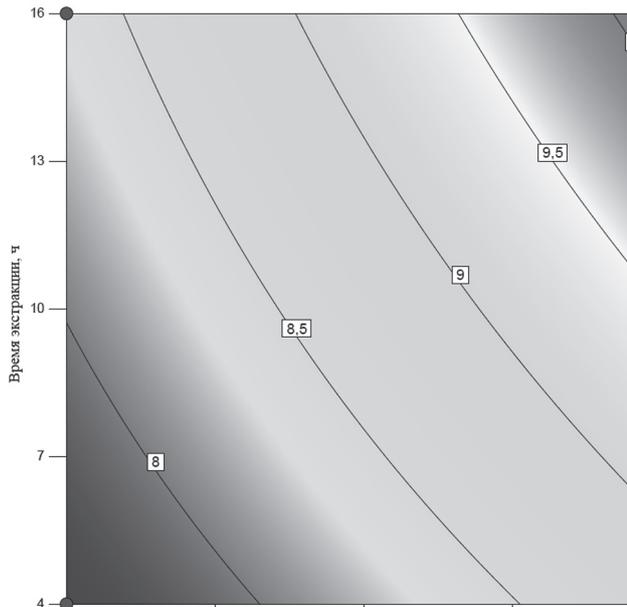


Рис. 2. Влияние соотношения сырья, экстрагента и времени экстрагирования на содержание аминокислот, %.

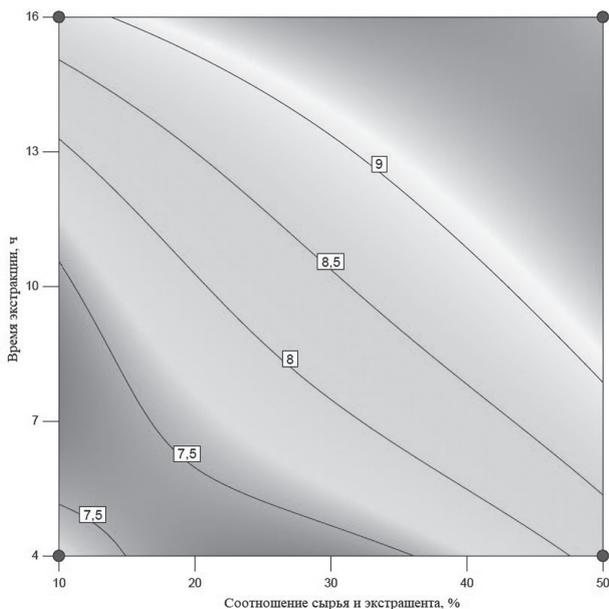


Рис. 3. Влияние соотношения сырья, экстрагента и времени экстрагирования на содержание гуминовых кислот.

нии содержания аминокислот (y_2), в исследуемом диапазоне значений, при повышении концентрации мумиё-сырца и увеличении времени экстрагирования происходит линейное увеличение содержания аминокислот (Рисунок 2).

Так же, при анализе кривых равных значений, полученных из уравнения регрессии (3) при определении содержания гуминовых кислот (y_3), в исследуемом диапазоне значений, при повышении концентрации мумиё-сырца и увеличении времени экстрагирования происходит линейное увеличение содержания гуминовых кислот (Рисунок 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате работы разработана и практически апробирована математическая модель экстракции мумиё, которая позволила наглядно представить влияние варьируемых параметров экстракции, время, соотношения сырья и экстрагента на количественные показатели целевого продукта мумиё очищенное.

Анализ результатов исследования позволил определить значение оптимального диапазона времени экстрагирования, который составляет 13-16 часов, а наилучшим соотношением сырья и экстрагента является 1:3-1:2.5. Разработанная модель позволила оптимизировать качество субстанции по показателям содержание гуминовых и аминокислот. Предметом дальнейших исследований является оптимизация показателя выход готового продукта по массе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Коноплева М.М. // Вестник фармации. 2012. Т. 55. №1. С. 74-82.
2. Carrasco-Gallardo C., Guzm'an L., Maccioni R.B. // International Journal of Alzheimer's Disease. 2012. Vol. 2012, pp. 1-4.
3. Бугаёв Ф.С., Компанцев Д.В., Сливкин А.И., Провоторва С.И. // ВЕСТНИК ВГУ. СЕРИЯ: ХИМИЯ, БИОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ. 2015. № 4. С. 113-118.
4. Agarwal S.P., Khalid Anwer M.D., Khanna R., Ali A., Sultana Y. // Journal of the Serbian Chemical Society. 2010. Vol. 75, pp. 413-422.
5. Кукес В.Г., Карпеев А.А., Киселева Т.Л., Баратова Л.А., Савиных М.И., Фролова Л.Н. Патент РФ, №2042948, 1995.
6. Bugaev F., Kompantsev D., Pogrebnyak L. // Journal of Research in Pharmacy. 2019. Vol. 23. №4, pp. 697-700.

Компанцев Д. В., Бугаёв Ф. С.

7. Trivedi N.A., Mazumdar B., Bhatt J.D., Hemavathi K.G. // *Indian Journal of Pharmacology*. 2004. Vol. 36. №6, pp. 373-376.
8. Jung Cho-Rok, Schepetkin I.A., Woo S.B., Khlebnikov A.I., Kwon B.S. // *Drug Development Research*. 2002. Vol. 57. №3, pp. 122-133.
9. Алексеева Э.А., Шантанова Л.Н. // *Вестник Бурятского Госуниверситета*. 2011. №12. С. 32-36.
10. Sidney J. Stohs // *Phytotherapy Research*. 2014. Vol. 28. №4, pp. 475-479.
11. Aiello A., Fattorusso E., Menna M., Vitalone R., Heinz S.C., Müller Werner E.G. // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011. Vol. 2011, pp. 1-8.
12. Орлов Ю.А., Орлов С.Ю., Сакалова К.Л. Патент РФ, № 2164411, 2001.
13. Козлов В.А., Романенко В.В., Батракова Л.Х., Козлова Э.П., Калинина Е.В., Крючков В.И., Потанин С.А., Бейсембаев Б.Б., Патент РФ, № 2102989, 1998.
14. Сергеев А. В., Искрин А. В., Курганов А. В., Киршонков Е. И., Сергеев В. Н. Патент РФ, № 2335925, 2008.
15. Ghosal S. Patent US, № 6440436, 2002.
16. Станко В.И., Овсянников Н.Н., Парамонова А.А. Патент РФ, № 2055585, 1996.
17. Rizun N. Patent US, № 20130280291, 2013.
18. Нарбеков О. Н., Корчубеков Б. К., Садыров О. А., Дейдиев А. У. Патент РФ, № 2050801, 1995.
19. Бугаёв Ф.С., Компанцев Д.В. // «Во имя жизни и здоровья» материалы 71-й Международной научно-практической конференции, 17-18 мая 2018 г., Пятигорск, 2018, с. 218-224.
20. Рузинов Л.П. Статистические методы оптимизации химических процессов. Москва, Химия, 1972, 200 с.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Компанцев Д. В., доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии

E-mail: farmacontractp@bk.ru

ООО «Квадрат-С»

Бугаёв Ф. С., начальник опытного производственного участка

E-mail: fedya-bugaev@yandex.ru

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - a branch of the Volgograd State Medical University, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education, Ministry of Health of the Russian Federation

Kompantsev D. V., PhD., DSci., Associate Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Technology with a medical biotechnology course

E-mail: farmacontractp@bk.ru

Kvadrat-S LLC

Bugaev F. S., Head of the experimental production site

E-mail: fedya-bugaev@yandex.ru

OPTIMIZATION OF SHILAJIT EXTRACTION MODES USING THE METHOD OF MATHEMATICAL PLANNING OF THE EXPERIMENT

D. V. Kompantsev¹, F. S. Bugaev²

*¹Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute
is a branch of the Volgograd State Medical University
Ministry of Health of the Russian Federation*

²LLC «Kvadrat-S»

Annotation. The technological process of purification of the natural substance shilajit is a complex and material-intensive process, characterized by a large number of stages with a high level of energy and material costs. The complex composition of the feedstock, a high level of heterogeneity require the development of scientifically sound mathematically and statistically sound modes of extracts. Also important

in the process of purification of natural shilajit is the preservation of the unique micro- and macroelement composition of active components as close as possible to the native one, since the completeness of the pharmacological effect of shilajit is achieved by the presence of the entire complex of active components that make up its composition. In this regard, standard methods for cleaning pharmaceutical substances cannot be directly extrapolated to this substance because of the risk of the loss of biologically significant micro- and macroelements. This article investigates the dependence of the extraction time and the ratio of raw materials and extractant on the quantitative characteristics of the finished product, such as the yield of the finished product, the total content of amino acids and humic acids. The aim of this study is to determine the optimal parameters for the extraction of shilajit using the method of mathematical planning of the experiment. The object of the study is the data on the quantitative content of individual biologically active substances obtained by modeling various conditions for the extraction of raw shilajit, namely, extraction modes. The indicators of the total content of amino acids and humic acids were selected by us as limiting for assessing the effectiveness of a theoretically calculated exposure regimen.

During the experiment, data were obtained on the quantitative content of amino acids and humic acids, as well as the product yield, on the basis of which the regression equations were constructed, and equal value curves were constructed that adequately describe the effect of varying extraction parameters on the quantitative characteristics of the finished product. Based on the obtained data, the optimal extraction mode was selected, which allows one to obtain shilajit, purified with a high content of humic and amino acids.

Keywords: shilajit, regression equation, equal value curves, humic acids, amino acids.

REFERENCES

1. Konopleva M.M., Vestnik farmatsii, 2012, Vol. 55, No. 1, pp. 74-82.
2. Carrasco-Gallardo C., Guzm'an L., Maccioni R.B., International Journal of Alzheimer's Disease, 2012, Vol. 2012, pp. 1-4. doi:10.1155/2012/674142
3. Bugaev F.S., Kompantsev D.V., Slivkin A.I., Provotorva S.I., VESTNIK VGU. SERIYA: KHIMIYA, BIOLOGIYA, FARMATSIYA, 2015, No. 4, pp. 113-118.
4. Agarwal S.P., Khalid Anwer M.D., Khanna R., Ali A., Sultana Y., Journal of the Serbian Chemical Society, 2010, Vol. 75, pp. 413-422. doi:10.2998/JSC090316006A
5. Kukes V.G., Karpeev A.A., Kiseleva T.L., Baratova L.A., Savinykh M.I., Frolova L.N. Patent RF, no. 2042948, 1995.
6. Bugaev F., Kompantsev D., Pogrebnyak L., Journal of Research in Pharmacy, 2019, Vol. 23, No. 4, pp. 697-700. DOI:10.12991/jrp.2019.178
7. Trivedi N.A., Mazumdar B., Bhatt J.D., Hemavathi K.G., Indian Journal of Pharmacology, 2004, Vol. 36, No. 6, pp. 373-376.
8. Jung Cho-Rok, Schepetkin I.A., Woo S.B., Khlebnikov A.I., Kwon B.S., Drug Development Research, 2002, Vol. 57, No. 3, pp. 122-133. DOI: 10.1002/ddr.10120
9. Alekseeva E.A., Shantanova L.N., Vestnik Buryatskogo Gosuniversiteta, 2011, No. 12, pp. 32-36.
10. Sidney J. Stohs, Phytotherapy Research, 2014, Vol. 28, No. 4, pp. 475-479. DOI: 10.1002/ptr.5018
11. Aiello A., Fattorusso E., Menna M., Vitalone R., Heinz S.C., Müller Werner E.G., Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2011, Vol. 2011, pp. 1-8. doi:10.1093/ecam/nen072
12. Orlov Yu.A., Orlov S.Yu., Sakalova K.L. Patent RF, no. 2164411, 2001.
13. Kozlov V.A., Romanenko V.V., Batrakova L.Kh., Kozlova E.P., Kalinina E.V., Kryuchkov V.I., Potanin S.A., Beisembaev B.B., Patent RF, no. 2102989, 1998.
14. Sergeev A.V., Iskrin A.V., Kurganov A.V., Kirshonkov E.I., Sergeev V.N. Patent RF, no. 2335925, 2008.
15. Ghosal S. Patent US, no. 6440436, 2002.
16. Stanko V.I., Ovsyannikov N.N., Paramonova A.A. Patent RF, no. 2055585, 1996.
17. Rizun N. Patent US, no. 20130280291, 2013.
18. Narbekov O.N., Korchubekov B.K., Sadyrov O.A., Deidiev A.U. Patent RF, no. 2050801, 1995.
19. Bugaev F.S., Kompantsev D.V. «Vo imya zhizni i zdorov'ya» Materials of the 71st International Scientific and Practical Conference, 17-18 may, 2018, Pyatigorsk, pp. 218-224.
20. Ruzinov L.P. Statisticheskie metody optimizatsii khimicheskikh protsessov. Moscow, Chemistry, 1972, 200 p.