

Изучено влияние гидромодуля, температуры и продолжительности экстрагирования на извлечение флавоноидов из сухого растительного сырья (мяты, Melissa, зверобоя, тысячелистника) при получении водно-спиртовых настоев лекарственных растений для обогащения функциональных напитков. Установлено, что оптимальными условиями технологического процесса можно считать следующие: для зверобоя — гидромодуль 1:15, продолжительность экстракции — 3,5–4 ч, температура — +60...+65 °С, для мяты, тысячелистника — гидромодуль 1:15, продолжительность экстракции — 1–1,5 ч, температура — +65...+70 °С, для Melissa — гидромодуль 1:15, продолжительность экстракции — 1–1,5 ч, температура — +55...+60 °С. Составлены композиции водно-спиртовых настоев лекарственных и пряно-ароматических растений для использования в рецептурах функциональных напитков.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ЭКСТРАКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ВОДНО-СПИРТОВЫХ НАСТОЕВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

**РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по продовольствию», г. Минск, Беларусь**

*З. В. Ловкис, член-корреспондент НАН Беларуси, доктор технических наук,
профессор, генеральный директор;
О. В. Колоскова, аспирант*

Широкое распространение среди продуктов оздоровительного действия получило направление напитков, содержащих экстракты, настои, отвары, бальзамы, сиропы пищевых и лекарственных растений.

Применение растительных экстрактов представляется перспективным для создания напитков функционального назначения, так как они обладают многовекторностью положительных свойств, отличаются простотой внесения в продукт, обеспечивают хорошие органолептические показатели, оригинальность вкуса [1].

Физиологическое действие, которое оказывают на организм растительные экстракты, обусловлено наличием в их составе так называемых минорных компонентов, присутствующих в микроколичествах и оказывающих влияние на физиологические процессы и биохимические реакции в организме [1].

Большая группа биологически активных веществ растений представлена полифенолами. За последние десятилетия у ученых и производителей пищевых продуктов возрос интерес к полифенолам. Этот интерес обусловлен их высокой антиоксидантной активностью, и, как следствие, их способностью препятствовать развитию заболеваний, в этиологии которых немаловажную роль играет оксидативный стресс: рака, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний (в частности болезни Альцгеймера) [2, 3].

Идентифицировано более 8000 полифенолов в различных видах растений. Более половины этих соединений относятся к флавоноидам. Исследованиями в области нутрициологии подтверждено, что диета, богатая флавоноидами, способствует улучшению циркуляции крови, снижению артериального давления, нормализации уровня холестерина в крови, укреплению иммунитета, препятствует развитию сахарного диабета, способствует противостоянию организма вирусным и бактериальным инфекциям [2, 3].

Для обогащения новых видов сокодерживающих напитков функционального назначения на основе концентрата из картофеля биологически активными веществами растительного сырья было принято решение использовать водно-спиртовые настои лекарственных растений с высоким содержанием флавоноидов.

Для получения водно-спиртовых настоев с высоким содержанием флавоноидов было отобрано следующее сырье: трава мелиссы лекарственной, трава мяты перечной, трава зверобоя, трава тысячелистника обыкновенного.

Основными критериями при выборе пряно-ароматического растительного сырья были разрешение органов госсанэпиднадзора для применения в пищевой промышленности, наличие значимых количеств БАВ, оригинальные органолептические показатели, произрастание на территории республики или легкость интродукции.

В настоящее время в пищевой промышленности при получении водно-спиртовых настоев используют технологию длительного двукратного настаивания сырья с экстрагентом при обычной температуре — мацерацию [4].

Однако, в соответствии с литературными данными, экстракция флавоноидов из растительного сырья лучше происходит при нагревании [5, 6]. В связи с этим для получения водно-спиртовых настоев с повышенным содержанием флавоноидов целесообразно использовать дигестию — двукратное настаивание при нагревании [4]. Применение дигестии позволит интенсифицировать экстракцию и сократить время процесса от 10–20 суток до нескольких часов.

Так как состав флавоноидов и их конъюгатов в различных видах растений, в различных органах и тканях разнообразен, то и условия экстракции (экстрагент и его концентрацию, температуру, продолжительность, гидромодуль) следует подбирать экспериментально для конкретного случая.

При подборе оптимального режима экстракции необходимо учитывать следующие факторы:

- ♦ различные концентрации этанола оказывают различный эффект на полярность жидкости и, следовательно, на растворимость флавоноидов; оптимальный выход экстрагируемых веществ может быть достигнут, когда полярность экстрагента и флавоноидов совпадают, поэтому существует необходимость подбора концентрации водно-спиртового раствора экспериментально;
- ♦ температура не должна превышать +75 °С, так как более высокие температуры способствуют быстрому окислению флавоноидов, помимо этого водно-спиртовая экстракция при высоких температурах ведет к ухудшению органолептических свойств экстрактов и настоев [4, 6];
- ♦ продолжительность экстракции флавоноидов водно-спиртовым раствором по литературным данным колеблется от 1 до 4 ч, что может быть обусловлено составом флавоноидов, влиянием других факторов.

Исследование проводили в два этапа. На первом этапе определяли оптимальную концентрацию экстрагента (водно-спиртового раствора). На втором этапе определяли условия (температуру, гидромодуль, время экстракции), обеспечивающие наибольший выход флавоноидов из сырья и получение настоев с хорошими органолептическими показателями (вкусом, цветом и ароматом).

Водно-спиртовые настои готовили следующим образом: сухие растения измельчали до размера частиц 2–3 мм, заливали водно-этанольными растворами соответствующей крепости. Выдерживали в термостате при фиксированной температуре. По окончании процесса экстракции сырье отжимали, отделяли жидкую фазу, определяли выход экстракта, содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, оценивали органолептические показатели настоев. Содержание суммы флавоноидов в полученном экстракте в пересчете на рутин определяли спектрофотометрическим методом на приборе КФК-3 при длине волны 420 нм. Органолептические показатели оценивали после растворения 1 мл настоя в 100 мл воды с температурой +20 °С.

Подбор спирта оптимальной крепости для экстракции флавоноидов из сухого растительного сырья проводили при следующих условиях: гидромодуль 1:10, температура — +40 °С, продолжительность экстракции — 4 ч. Полученные данные представлены в табл. 1.

Согласно проведенным исследованиям для экстракции флавоноидов из мяты и зверобоя лучше использовать водно-этанольный раствор с объемной долей спирта 40 %, а для мелиссы и тысячелистника — 60 %.

1.

Наименование растения	Крепость спирта, %			
	20	40	60	80
	Содержание флавоноидов в экстракте в пересчете на рутин, мг/г ткани			
Мята перечная	9,2±0,3	10,5±0,2	8,6±0,3	10,0±0,2
Мелисса лимонная	5,4±0,6	5,0±0,4	6,6±0,4	4,5±0,3
Зверобой продырявленный	14,1±0,3	36,0±0,3	29,5±0,2	23,7±0,2
Тысячелистник обыкновенный	14,3±0,1	14,4±0,2	16,6±0,7	15,8±0,3

С целью установления оптимальных для извлечения флавоноидов режимов экстракции был проведен полнофакторный эксперимент 3³. В качестве факторов экстракции были выбраны гидромодуль (X_1), продолжительность (X_2 , ч), температура процесса настаивания (X_3 , °С). В качестве параметра оптимизации (Y) суммарное содержание флавоноидов в экстракте в пересчете на рутин (мг/г ткани). Значения гидромодуля варьировали от 1:5 до 1:15, температуры — от +45 °С до +75 °С, продолжительность экстрагирования — от 1 до 4 ч. Пределы варьирования факторов были определены на основании анализа литературных данных. В соответствии с основными характеристиками исследуемых факторов была сгенерирована матрица планирования эксперимента с помощью программы «Statgraphics Centurion XV.11». Повторность опытов трехкратная.

2.

Номер опыта	Факторы			Функция отклика, \bar{Y} (среднее значение), мг/г ткани			
	X_1	X_2	X_3	мелисса	мята	зверобой	тысячелистник
1	5	1	45	6	7,5	10,7	10
2	10	1	45	5,8	9,9	12,8	13,2
3	15	1	45	6,4	10,8	30,1	15,3
4	5	2,5	45	4,8	6,3	13,2	9,8
5	10	2,5	45	5,2	7,3	14,3	12
6	15	2,5	45	6,1	7,8	35,4	14,8
7	5	4	45	5,8	7,1	15,7	9,2
8	10	4	45	5,5	9,8	25	12,2
9	15	4	45	6,2	10,1	32,3	14,8
10	5	1	60	6,4	8,8	26,5	10,4
11	10	1	60	6	12,3	26,2	14,8
12	15	1	60	6,9	11,8	27,1	19,5
13	5	2,5	60	5,6	6,9	27,5	9,9
14	10	2,5	60	5,3	7,2	37,8	12,6
15	15	2,5	60	5,9	10,7	47,9	14,8
16	5	4	60	6,1	8	28,3	9,5
17	10	4	60	6	10,4	49,3	12,3
18	15	4	60	6,3	11	38	14,5
19	5	1	75	6,1	8	28,1	9
20	10	1	75	5,8	10,7	29	13,6
21	15	1	75	6,5	11,6	30,2	17
22	5	2,5	75	5,6	6,8	28,3	8,3
23	10	2,5	75	5,3	10,3	32,1	13
24	15	2,5	75	5,9	10,4	46	15,9
25	5	4	75	6	7,6	29,5	8,6
26	10	4	75	5,7	10,7	33,4	13,1
27	15	4	75	6,2	11,1	42,1	16,4

В результате анализа полученных данных было установлено, что наибольшее влияние на извлечение флавоноидов из растительных тканей оказывают гидро модуль и температура. С повышением температуры выход флавоноидов увеличивается. Однако при температуре $+75\text{ }^{\circ}\text{C}$ содержание флавоноидов снижается, что, вероятно, связано с тем, что при повышении температуры ускоряются процессы окисления флавоноидов.

Наибольшая концентрация флавоноидов наблюдается после 1–2 ч экстрагирования (в зависимости от используемого сырья). После этого концентрация флавоноидов снижается, но в дальнейшем незначительно возрастает. Снижение концентрации флавоноидов может быть связано с их высокой реакционной способностью: возможно их конденсирование или образование комплексов с другими соединениями. Иная картина наблюдалась для травы зверобоя. Рост концентрации флавоноидов в настое продолжается на протяжении всех 4 ч. Только при температуре $+75\text{ }^{\circ}\text{C}$ содержание флавоноидов снижается после 3 ч экстракции.

Данные, полученные в ходе эксперимента, обрабатывали с применением критериев Стьюдента и Фишера. На рис. 1 представлено графическое отражение влияния каждого из факторов и их взаимодействий на процесс экстракции флавоноидов из мелисы лекарственной — карта Парето.

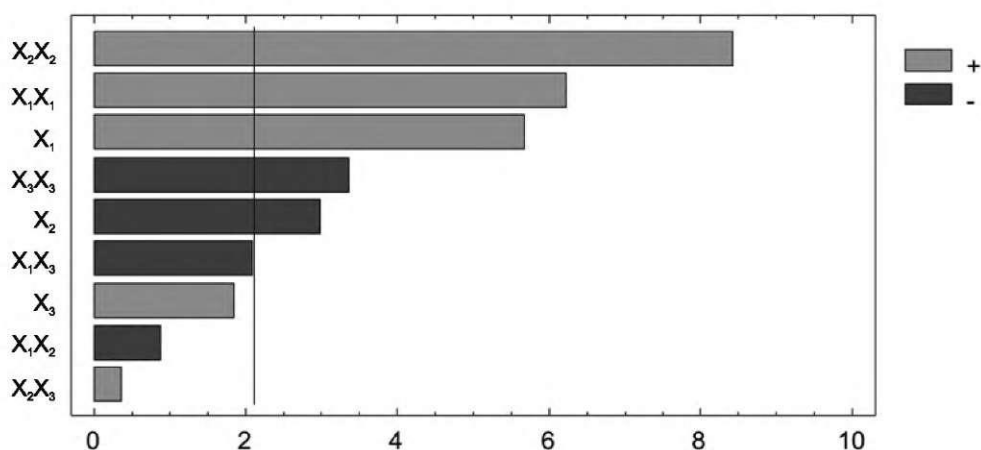


Рис. 1. Карта Парето для содержания флавоноидов в водно-спиртовых настоях мелисы лекарственной

Вертикальная линия на карте Парето представляет 95 % доверительную вероятность. Пересечение стандартизованных эффектов вертикальной линией означает, что влияние факторов на функцию отклика статистически значимо. Например, из рис. 1 следует, что в 95 % случаев значение температуры не оказывает статистически значимое влияние на содержание флавоноидов в настоях мелисы, в то время как влияния значения квадрата данного фактора существенно.

О влиянии и значимости варьируемых факторов можно судить и по графику главных эффектов для показателя содержания флавоноидов в водно-спиртовых настоях (рис. 2).

Для каждого вида лекарственного сырья (мяты, мелисы, зверобоя, тысячелистника) получены уравнения регрессии, адекватно описывающие зависимость выхода флавоноидов. Данные уравнения (без учета незначимых факторов и взаимодействий) и значения коэффициентов детерминации R^2 для них представлены в табл. 2.

Коэффициент детерминации R^2 отражает качество полученной регрессионной модели. Чем ближе его значение к 1, тем теснее связь результативного показателя Y с исследуемыми факторами. Значение коэффициента детерминации достаточно высоки. Чем значительнее доля объясненной вариации, тем меньше роль прочих факторов, и значит, модель регрессии хорошо

аппроксимирует исходные данные и такой регрессионной моделью можно воспользоваться для прогноза значений результативного показателя.

Визуально о соответствии наблюдаемых значений и модельной функции можно судить по поверхности отклика, представленной на рис. 3 на примере зверобоя.

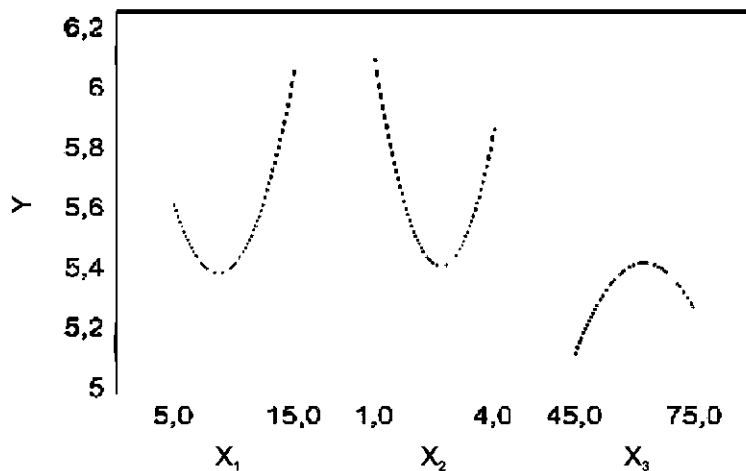


Рис. 2. График главных эффектов для показателя содержания флавоноидов в водно-спиртовых настоях мелисы лекарственной

2.

(Y)

(X₂,)

(X₃, °)

(X₁),

Наименование сырья	Уравнение регрессии	R ²
Мята перечная	$y = -1,823 + 0,794 \cdot x_1 + 0,312 \cdot x_3 - 0,033 \cdot x_1^2 + 0,735 \cdot x_2^2$	0,88
Мелиса лекарственная	$y = 3,660 - 0,199 \cdot x_1 - 1,338 \cdot x_2 + 0,017 \cdot x_1^2 - 0,254 \cdot x_2^2 - 0,001 \cdot x_3^2$	0,91
Зверобой	$y = -141,13 + 1,840 \cdot x_1 + 7,470 \cdot x_2 + 4,529 \cdot x_3 + 1,252 \cdot x_2^2$	0,81
Тысячелистник	$y = 2,306 + 0,521 \cdot x_1 - 1,568 \cdot x_2 + 0,044 \cdot x_1 \cdot x_2$	0,95

При оценке органолептических свойств экстрактов было установлено, что в интервале от 1 до 3 ч экстрагирования вкус экстракта был приятным, свойственным используемому сырью, с ярко выраженным ароматом трав; после 3,5–4 ч экстрагирования отмечали появления опалесценции, горький, вяжущий вкус экстракта. В образцах, полученных при гидромодуле 1:15, отмечался менее выраженный вкус и аромат. В образцах, полученных при гидромодуле 1:5, чувствовалась горечь и вяжущий вкус.

При анализе математических зависимостей было установлено, что оптимальными условиями технологического процесса можно считать следующие: для зверобоя — гидромодуль 1:15, продолжительность экстракции — 3,5–4 ч, температура — +60...+65 °С, для мяты, тысячелистника — гидромодуль 1:15, продолжительность экстракции — 1–1,5 ч, температура — +65...+70 °С, для мелисы — гидромодуль 1:15, продолжительность экстракции — 1–1,5 ч, температура — +55...+60 °С. Однако, учитывая органолептические характеристики полученных образцов, было принято решение проводить экстракцию при гидромодуле 1:10.

В ходе исследований было установлено, что выход настоя зависит от вида сырья (его гигроскопичности) и гидромодуля. При гидромодуле 1:10 выход настоя составляет для зверобоя и мяты — 70 %, для тысячелистника — 75 %, для мелисы — 60 % от залитого водно-спиртового раствора.

Для более полного извлечения ароматических компонентов и БАВ было принято решение о повторном заливе сухого растительного сырья. После первого слива траву заливали вторич-

но 20 % водно-спиртовым раствором и выдерживали при температуре +60 °С. По органолептическим показателям настоев было определено оптимальное время выдержки при повторном заливе — 1,5–2 ч.

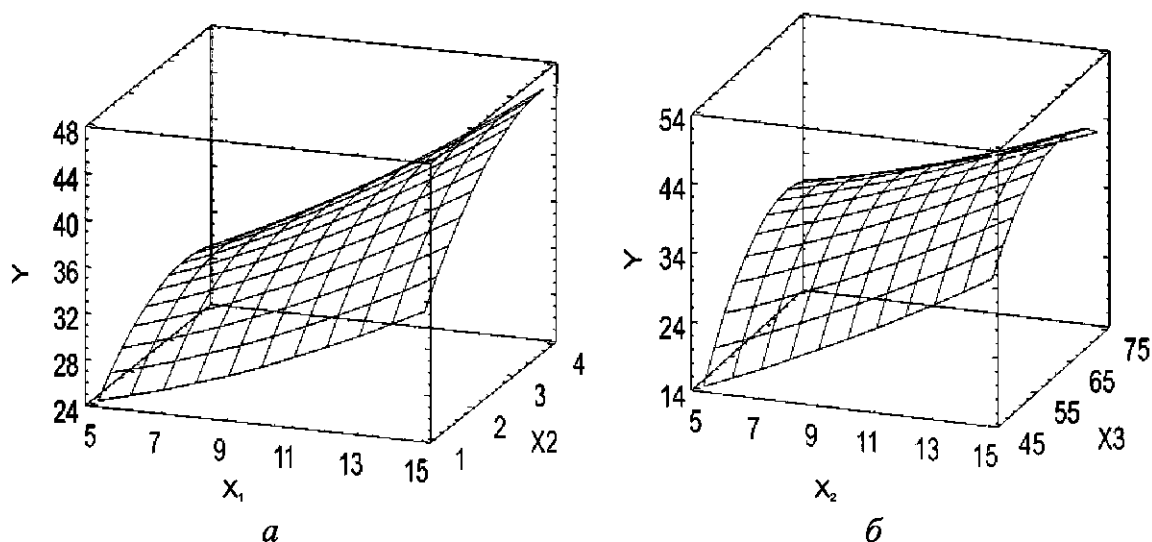


Рис. 3. Поверхности отклика для показателя содержания флавоноидов в настое зверобоя (мг/г ткани): а) $X_2 = +60$ °С; б) $X_2 = 4$ ч

В настоях, полученных по разработанным режимам, было определено содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин: настоем зверобоя — 14,0 мг/мл, настоем мяты перечной — 1,7 мг/мл, настоем Melissa officinalis — 0,9 мг/мл, настоем тысячелистника — 2,1 мг/мл. В настоях, полученных путем мацерации по традиционной технологии (производство ООО «Экстракт»), содержание флавоноидов составило: для мяты — 1,46 мг/мл, для Melissa officinalis — 0,2 мг/мл, для зверобоя — 1,6 мг/мл, для тысячелистника — 0,8 мг/мл. Полученные данные свидетельствуют о том, что подобранные технологические режимы позволяют значительно интенсифицировать экстракцию флавоноидов.

На основе полученных настоев были разработаны композиции для обогащения напитков функционального назначения:

- ♦ композиция № 1 — водно-спиртовые настои зверобоя продырявленного, Melissa officinalis лимонной, эхинацеи пурпурной, кориандра посевного;
- ♦ композиция № 2 — водно-спиртовые настои тысячелистника обыкновенного, Melissa officinalis лимонной, эхинацеи пурпурной, мяты перечной;
- ♦ композиция № 3 — водно-спиртовые настои тмина обыкновенного, кориандра посевного, эхинацеи пурпурной;
- ♦ композиция № 4 — водно-спиртовые настои шиповника, тмина обыкновенного, мяты перечной, кориандра посевного.

В состав композиций для придания аромата и обогащения напитков дополнительными биологически активными веществами были включены водно-спиртовые настои кориандра, тмина, шиповника и эхинацеи производства ООО «Экстракт».

В ходе исследования композиций настоев было показано, что по органолептическим (внешний вид, вкус, цвет, аромат) и физико-химическим показателям (объемная доля спирта (%), растворимость) разработанные образцы соответствуют требованиям СТБ 924-2008 «Настои и композиции водно-спиртовые из растительного сырья»: все композиции настоев представляют собой прозрачную жидкость без посторонних включений со вкусом и ароматом, свойствен-

ным растительному сырью, используемому для приготовления настоев, растворимость композиций настоев полная.

Была исследована общая антиоксидантная активность полученных композиций. Антиоксидантные свойства композиций водно-спиртовых настоев определяли на приборе Photochem (Аналитик Йена, Германия) методом фотосенсибилизирующей хемилюминесценции, предназначенным для количественного определения антиоксидантов в водорастворимых и липидорастворимых веществах. В качестве стандарта для расчета содержания антиоксидантов использовали аскорбиновую кислоту. Согласно полученным результатам общая антиоксидантная активность (г/100 г в эквиваленте к аскорбиновой кислоте) композиций полученных водно-спиртовых настоев лекарственных растений высокая и составляет: композиция № 1 — 6,5, композиция № 2 — 9,8, композиция № 3 — 6,3, композиция № 4 — 8,5.

Вывод. На основании проведенных исследований установлены технологические режимы и параметры процесса экстрагирования флавоноидов водно-спиртовыми растворами для каждого вида растительного сырья: мяты, тысячелистника, Melissa и зверобоя. По разработанным режимам получены водно-спиртовые настои лекарственных растений. На их основе разработаны композиции водно-спиртовых настоев с высокой антиоксидантной активностью. Разработанные композиции планируется использовать в составе сокодержущих функциональных напитков на основе картофельного концентрата.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Gruenwald, J.* Novel botanical ingredients for beverages / J. Gruenwald // *Clinics in Dermatology*. — 2009. — № 27. — P. 210–216.
2. *Scalbert, A.* Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases / A. Scalbert [etc.] // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. — 2005. — № 45. — P. 287–306.
3. *Pandey, K. B.* Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease / K. B. Pandey, S. I. Rizvi // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* — 2009. — 2:5. — P. 270–278.
4. Производство концентратов, экстрактов и безалкогольных напитков: справочное издание / В. А. Домарецкий — Киев: Урожай, 1990. — 245 с.
5. Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology / G. Borges [etc.] // *Food Research International*. — 2011. — № 44. — P. 708–715.
6. Optimization of flavonoids extraction from the leaves of *Tabernaemontana heyneana* Wall. using L16 Orthogonal design / T. Sathishkumar [etc.] // *Nature and Science* — 2008. — № 6 (3). — P. 10–21.

Рукопись статьи поступила в редакцию 27.06.2012

Z. V. Lovkis, O. V. Koloskova

DETERMINATION OF OPTIMAL PARAMETERS OF THE EXTRACTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE RECEIVING AQUEOUS-ALCOHOLIC EXTRACTS OF MEDICINAL PLANTS

The response surface methodology (RSM) was employed to optimize the extraction of flavonoids to obtain aqueous-alcoholic extracts of medicinal plants (peppermint, tutsan, milfoil, molasses) for the enrichment of functional beverages. The optimum process conditions were found: for the tutsan — solid to liquid ratio 1:15, extraction time — 3,5–4,0 hours, extraction temperature — +60...+65 °C, for the peppermint, milfoil — solid to liquid ratio 1:15, extraction time — 1,5 hours, extraction temperature — +65...+70 °C, for the molasses — solid to liquid ratio 1:15, extraction time — 1,0–1,5 hours, extraction temperature — +55...+60 °C. The compositions of aqueous-alcoholic extracts of medicinal and aromatic plants were composed for use in the formulations of functional drinks.