

УДК 615.32 : 582.89 : 547.56 : 54.061/062 : 547.56 :51-76

ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ ПРИ РОЗРОБЦІ ТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ 50% ЕТАНОЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛОДІВ МОРКВИ ПОСІВНОЇ З ВИКОРИСТАННЯМ МЕТОДУ МАТЕМАТИЧНОГО ПЛАНУВАННЯ

- О. А. Кисличенко, к. фарм. н., доц. каф. фармакогн.
- В. В. Процька, к. фарм. н., асис. каф. ХПС
- І. О. Журавель, д. фарм. н., проф. каф. ХПС

■ *Національний фармацевтичний університет, м. Харків*

Ефективність процесу виходу БАР із лікарської рослинної сировини значною мірою залежить від створених умов екстракції. Однак, підбір оптимальних умов, за яких досягається максимальний вихід БАР, вимагає проведення великої кількості емпіричних досліджень, що в свою чергу, є трудомістким та високовартісним процесом. Зменшити та оптимізувати число наукових досліджень, інтенсифікувати їх і при цьому знизити похибку та отримати на виході максимально достовірні та науково обґрунтовані результати дозволяє побудова математичного плану [4, 5, 8-11]. Більшість моделей математичних планів описують частковий взаємовплив факторів на досліджуваний процес. Метод математичного планування за допомогою комп'ютерної програми Statistica 10,0 дозволяє провести планування багатфакторного експерименту із визначенням значимості кожного вибраного фактора при одночасному взаємовпливі всіх критеріїв процесу [5, 8, 10, 11].

За даними літератури, діетилловий та метанольний екстракти плодів моркви індукували апоптоз клітин злоякісних новоутворень при мієлоїдній лейкемії і зменшували частоту виникнення пухлин на 40 % [1, 2]. Олійні екстракти плодів моркви посівної інгібували вільнорадикальні процеси у шлунку щурів. Етанольні екстракти плодів цієї рослини при визначенні антиоксидантної активності спектрофотометричним методом показали високі результати [1, 3]. Крім того, етанольні витяжки, за даними іракських вчених, підвищували когнітивні функції, знижували загальний рівень холестерину в сироватці крові, знижували артеріальний тиск, проявляли спазмолітичну, протизапальну та антибактеріальну дію [1-3]. Значний вплив на вираженість фармакологічного ефекту має кількісний вміст БАР в насінні моркви посівної, зокрема, поліфенольних сполук (гідроксикоричні кислоти (хлорогенова, корична та кофейна кислоти), кумарини, флавоноїди (кемпферол,

кверцетин, лютеолін та їх глікозиди) [1-3]. Тому велике значення при побудові математичного плану експерименту має контроль виходу суми екстрактивних речовин та поліфенольних сполук у процесі екстракції.

Метою роботи був підбір оптимальних умов екстракції для отримання моркви посівної плодів екстракту сухого.

Матеріали та методи дослідження

Для проведення досліджень використовували повітряно-сухі, подрібнені плоди моркви посівної. Сировину для аналізу було заготовлено на ділянках Дослідного Господарства «Інститут овочівництва та баштанництва НААН» в м. Мерефа Харківської області та фермерських господарствах Харківської та Хмельницької областей в 2016-2018 роках.

Математичне планування експерименту проводили з використанням комп'ютерного програмного забезпечення, а саме trial-версії програми Statistica 10,0.

Визначення вмісту екстрактивних речовин проводили згідно методики ДФУ 2.0.3, яка описана у монографії «Полин гіркий» [7]. При визначенні оптимального екстрагента використовували воду та водно-етанольні суміші зі зростаючою концентрацією етанолу. В подальшому, при побудові математичного плану – 50 % етанол, який було обрано оптимальним екстрагентом.

Визначення вмісту поліфенольних сполук проводили за методикою ДФУ 2.0.1 «Визначення танінів у лікарських засобах рослинного походження» [6]. Для проведення дослідів використовували витяжку, отриману при визначенні вмісту екстрактивних речовин.

Результати досліджень та їх обговорення

За результатами визначення вмісту екстрактивних речовин у витяжках з моркви посівної плодів екстракту

Таблиця 1

Вихідні фактори та інтервали їх варіювання

Фактор, що впливає на процес екстракції	Нижній рівень (-1)	Центральний рівень (0)	Верхній рівень (+1)	Інтервал варіювання
(А) Температура	25	60	95	35
(В) Співвідношення сировини до екстрагенту	0,10 (або 1:10)	0,15 (або 1:7,5)	0,20 (або 1:5)	0,05 (або 1:20)
(С) Кратність	1	2	3	1

Матриця математичного планування трьохфакторного дробного експерименту

Номер досліджу	Значення вихідних факторів у натуральних величинах			Параметри оптимізації функції	
	(А) температура екстракції, °С	(В) Співвідношення	(С) Кратність екстракції	Вихід екстрактивних речовин (ЕР), %	Вихід суми поліфенольних сполук (ПФ), %
1	25	0,10	1	11,56±0,55	1,82±0,05
2	25	0,15	3	13,47±0,65	2,23±0,12
3	25	0,20	2	13,82±0,66	2,45±0,06
4	60	0,10	1	12,43±0,60	3,21±0,08
5	60	0,15	3	13,69±0,64	3,44±0,09
6	60	0,20	2	14,17±0,68	3,75±0,09
7	95	0,10	1	13,21±0,63	2,68±0,07
8	95	0,15	3	14,70±0,71	2,80±0,07
9	95	0,20	2	14,79±0,70	2,95±0,07

сухого оптимальним екстрагентом було обрано 50 % етанол, який вилучав 3,60±0,17 % екстрактивних речовин.

При проведенні математичного планування експерименту вихідними факторами було обрано температуру екстракції, співвідношення сировини до екстрагенту та кратність екстракції. Значення вихідних факторів встановлювали на верхньому, центральному та нижньому рівнях. Інтервали варіювання та фактичне значення обраних факторів наведено в табл. 1.

Для якісної оцінки побудованого математичного плану як параметри оптимізації використовували вихід екстрактивних речовин та кількісний вміст суми поліфенольних сполук у 50 % витяжках з досліджуваного виду сировини. Повторюваність кожного досліджу станвила не менше 5, а величина похибки була в межах 1-2 %. Матрицю планування трьохфакторного дробного експерименту представлено в табл. 2.

Для вираження функціональної залежності виходу екстрактивних речовин з плодів моркви посівної від заданих чинників було розраховано коефіцієнти регресії:

Вільний член = 4,03748; Фактор В² = 249,33333;
 Фактор А = 0,02707; Фактор С² = 0,23333;
 Фактор В = 103,22857; Взаємодія А+В = 0,16381;
 Фактор С = 0,8900; Взаємодія А+С = 0;
 Фактор А² = 0,00013; Взаємодія В+С = 0;

Таким чином, рівняння регресії лінійної взаємодії другого порядку мало вигляд:

$$y(EP) = 4,03748 + 0,02707 \cdot A + 0,00013 \cdot A^2 + 103,2286 \cdot B - 249,33333 \cdot B^2 + 0,8900 \cdot C + 0,23333 \cdot C^2 - 0,16381 \cdot AB$$

Значимість впливу факторів на вихід екстрактивних речовин оцінювали за допомогою карти Парето (рис. 1).

Статистично значущими критеріями виходу екстрактивних речовин, як представлено на карті Парето, є чинники лінійного співвідношення сировини до екстрагенту та квадратичний чинник температури екстракції.

Графік поверхні площини функції відгуку виходу екстрактивних речовин та її проекція при фіксованому значенні кратності екстракції зображено на рис. 2А та рис. 2Б відповідно.

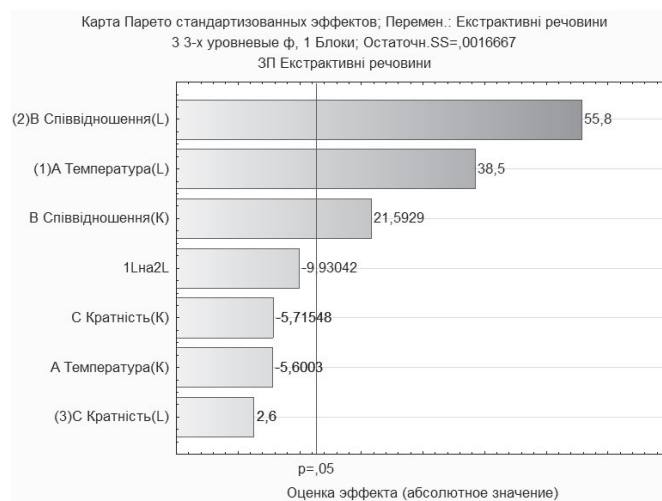


Рис. 1. Карта Парето значимості впливу факторів на вихід екстрактивних речовин з плодів моркви посівної

Виходячи з даних ілюстрацій встановлено, що максимум функції відгуку був при значенні фактора температури 80-100 °С та співвідношенні сировини до екстрагенту 0,15-0,20.

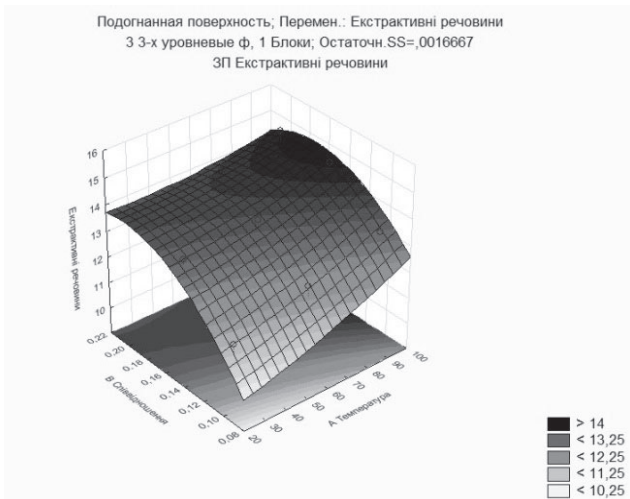
За цих умов найвище прогнозоване значення параметру оптимізації (вихід екстрактивних речовин) при одноразовій екстракції становило 14,00 %, при дво- та триразовій екстракції – 14,19 % та 14,27 % відповідно.

Проекцію ліній поверхні функції за умов триразової екстракції зображено на рис. 3.

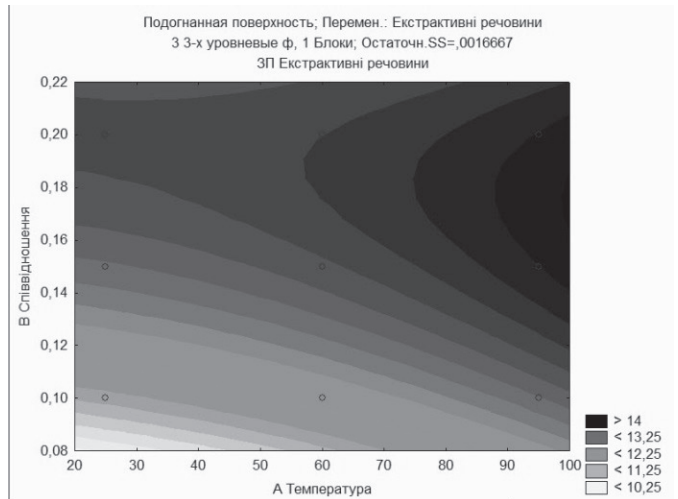
Очевидно, що максимальне значення параметру оптимізації (вихід екстрактивних речовин) очікується за умов триразової екстракції при 95 °С та співвідношенні сировини до екстрагенту 0,18 (або 1:5,5).

Вихід поліфенольних сполук оцінювали аналогічним чином. За розрахунками програми коефіцієнти регресії становили:

Вільний член = 2,81444; Фактор В² = 0,01333;
 Фактор А = 0,64333; Фактор С² = -0,05333;
 Фактор В = 0,48000; Взаємодія А+В = -0,23333;
 Фактор С = 0,00667; Взаємодія А+С = 0;
 Фактор А² = 0,97833; Взаємодія В+С = 0;



А



Б

Рис. 2. Графік поверхні площини функції відгуку виходу екстрактивних речовин з плодів моркви посівної та її проєкція при сталому значенні кратності екстракції

Рівняння регресії для заданого параметру оптимізації (кількісний вміст поліфенольних сполук) при лінійній взаємодії другого порядку мало вигляд:

$$y(\text{ПФ}) = 2,81444 + 0,64333 \cdot A + 0,97833 \cdot A^2 + 0,48000 \cdot B + 0,01333 \cdot B^2 + 0,00667 \cdot C - 0,05333 \cdot C^2 - 0,23333 \cdot AB$$

Оцінку значимості впливу досліджуваних критеріїв на кількісний вміст суми поліфенолів в 50 % етанольних витяжках з плодів моркви посівної проводили за даними карти Парето. У підсумку встановлено, що істотний вплив на вихід поліфенольних сполук має лише один чинник – квадратичне значення температури екстракції, коефіцієнт регресії якого значно перевищував критичне значення коефіцієнта розподілу Ст'юдента. Карту Парето значимості впливу факторів співвідношення сировини до екстрагента, температури та кратності екстракції представлено на рис. 4.

Графік площини функції відгуку виходу поліфенольних сполук з досліджуваної сировини та її проєкція при фіксованому значенні чинника кратності екстракції зображено на рис. 5А та рис. 5Б відповідно.

Отримані дані свідчать, що максимальний вихід поліфенолів прогнозовано при встановленні температури екстракції в межах 50-70 °С та співвідношенні сировини до екстрагента 0,20-0,22.

При цьому, прогнозоване значення виходу поліфенольних сполук при одноразовій екстракції становило 3,67 %, при дво- та тритриразовій екстракції значення цього параметру оптимізації були майже рівні – 3,71 % та 3,72 % відповідно, що свідчило про незначний вплив цього чинника на процес екстракції.

Враховуючи дані математичного планування експерименту та технологічні можливості проведення процесу

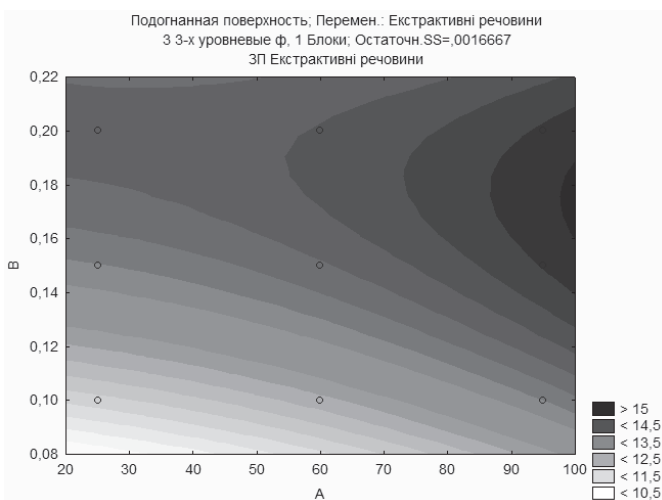


Рис. 3. Проекція ліній поверхні функції за умов триразової екстракції

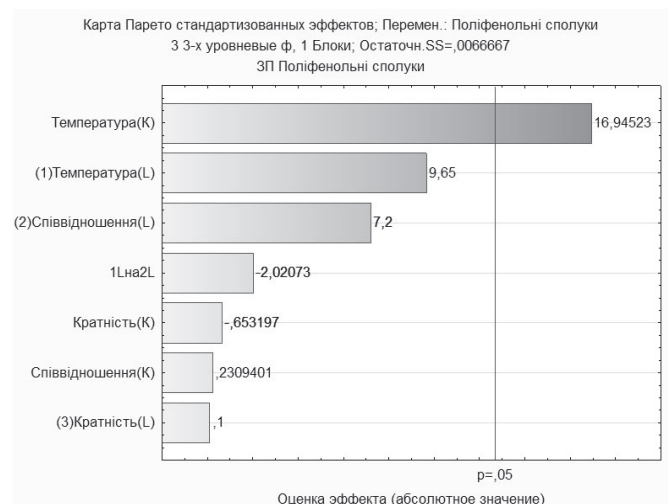
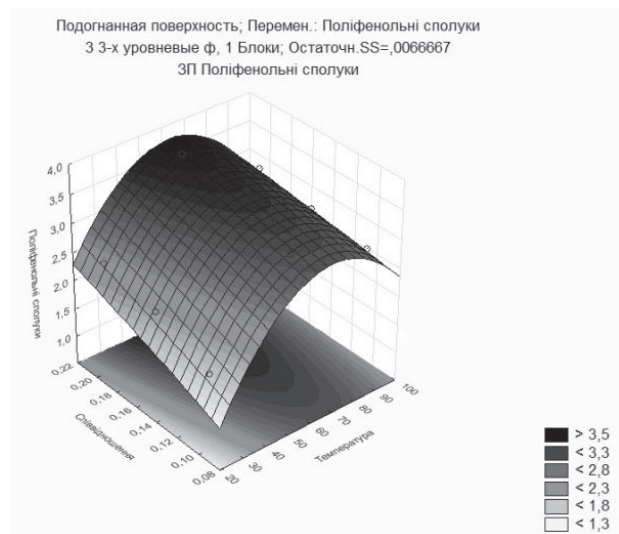
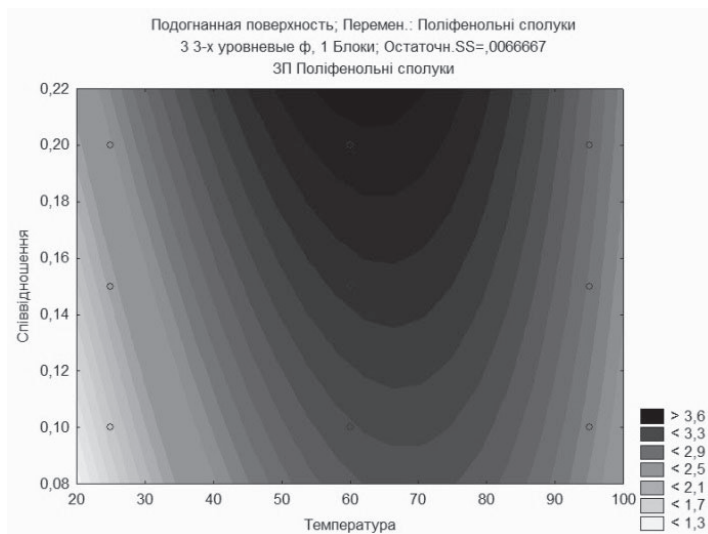


Рис. 4. Карта Парето значимості впливу факторів на процес екстракції поліфенольних сполук з плодів моркви посівної



А



Б

Рис. 5. Графік поверхні площини функції відгуку виходу поліфенольних сполук та її проекція при сталому значенні кратності екстракції

екстракції оптимальними умовами було обрано дворазову екстракцію при температурі 60 °С та співвідношенні сировини до екстрагента 0,2, що оптимально відповідало максимальному значенню виходу поліфенольних сполук і становило 3,71 %. Вихід екстрактивних речовин за даних умов дорівнював 14,00 %, що становило 98 % від максимального значення виходу екстрактивних речовин.

Висновки

1. Проведено підбір оптимальних умов одержання 50 % етанольного екстракту з плодів моркви посівної методом математичного планування шляхом побудови математичного плану трьохфакторного дробного експерименту.

2. Максимальний прогнозований вихід екстрактивних речовин становив 14,27 % за умов триразової екстракції при температурі від 80 до 100 °С та співвідношенні сировини до екстрагента 0,15-0,20.

3. Найбільший вихід поліфенольних сполук прогнозували за умов екстракції при температурі 50-70 °С та співвідношенні сировини до екстрагента понад 0,2. При цьому встановлено незначний вплив чинника кратності екстракції на вихід поліфенольних сполук.

Враховуючи технологічні можливості при проведенні процесу екстракції оптимальними умовами було обрано дворазову екстракцію при температурі 60 °С та співвідношенні сировини до екстрагента 0,2. За цих умов прогнозоване значення виходу екстрактивних речовин з плодів моркви посівної становило 14,00 %, а поліфенольних сполук – 3,71 %.

4. Отримані дані можуть бути використані при розробці технології виробництва 50 % етанольного екстракту з плодів моркви посівної та підборі оптимальних умов процесу екстракції.

Література

1. Al-Snafi Ali Esmail. Nutritional and therapeutic importance of *Daucus carota*- A review // *J. of Pharmacy*. – 2017. Vol. 7 (2). – P. 72-88.
2. Carlos J. Nutritional and health benefits of Carrots and their seed extracts. / J. Carlos, S. Dias // *Food and Nutrit. Sci.* – 2014, № 5. – P. 2147-2156.
3. Phytochemicals in *Daucus carota* and their importance in nutrition – Review article / *Corresp Tanveer Ahmad., Cawood Maria, Batool Asmat, Tariq Rana Muhammad Sabiretal* // *Peer J. Preprints*. – 2017, № 25. – P. 1-40.
4. Босов А.А. Математичне моделювання планування експерименту / А.А. Босов, В.В. Артемчук // *Вісн. Дніпропетров. Нац. універ. залізнич. трансп.* – 2008, № 25. – С. 118-121.
5. Гуресва С. М. Використання методів математичного планування для підбору оптимальної композиції полімерної оболонки таблеток «Антраль» / С. М. Гуресва // *Фармац. журн.* – 2012, № 2. – С. 69-72.
6. Державна Фармакопея України: в 3 т. // ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. X.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015, Т. 1. – 1130 с.
7. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. X.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2014, Т. 3. – 732 с.
8. Довжук В.В. Математичне моделювання постановки експерименту з розробки складу, технології приготування мазі з німесулідом / В.В. Довжук // *Укр. журн. клін. та лабор. мед.* – 2012, Т. 7. – № 1. – С. 49-51.
9. Ляшок А.В. Планування багатфакторного експерименту при дослідженні процесу ультразвукового розпилення в тонкому шарі / А.В. Ляшок // *Вісн. НТУУ «КПІ»*. – 2013, № 3 (69). – С. 13-17.

10. Одінцева В.М. Підбір допоміжних речовин з метою створення таблеток адамантан-1-амонію 2-((5-(адамтан-1-іл)-4-феніл-4н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат методом вологої грануляції. Частина 1. *Science Rise*. / В.М. Одінцева, О.С Біденко // *Pharmac. Sci.* – 2017, № 1. – С. 49-53.

11. Рубан О. А. Застосування методу математичного планування експерименту при оптимізації складу та технології матричних таблеток із сухим екстрактом листя чорниці. / О. А. Рубан, Т. Є. Колісник, Г. Д. Сліпченко // *Фармац. час.* – 2018, № 2. – С. 41-47.

Надійшла до редакції 27.11.2018

УДК 615.32 : 582.89 : 547.56 : 54.061/062 : 547.56 : 51-76

О. А. Кисличенко, В. В. Процька, І. О. Журавель

ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ ПРИ РОЗРОБЦІ ТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ 50% ЕТАНОЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛОДІВ МОРКВИ ПОСЕВНОЇ З ВИКОРИСТАННЯМ МЕТОДУ МАТЕМАТИЧНОГО ПЛАНУВАННЯ

Ключові слова: морква посівна, математичне планування експерименту, якісний та кількісний аналіз, поліфенольні сполуки.

Математичне планування експерименту дозволяє зменшити та оптимізувати число наукових досліджень, інтенсифікувати їх і при цьому зменшити похибку та отримати на виході максимально достовірні та науково обґрунтовані результати. За даними літератури діетиліві, метанолні та етанолні екстракти плодів моркви посівної проявляють протипухлинну, антиоксидантну, спазмолітичну, гіпотензивну, протизапальну та антибактеріальну властивості. Цьому сприяє багатий хімічний склад, зокрема значний вміст поліфенольних сполук.

Методом математичного планування при побудові дробного трьохфакторного плану експерименту визначено оптимальні чинники процесу екстракції, які забезпечують максимальний вихід БАВ при екстракції плодів моркви посівної 50 % етанолом.

Встановлено, що найбільше прогнозоване значення виходу екстрактивних речовин (14,27 %) було за умов триразової екстракції при температурі від 80 до 100 °С та співвідношенні сировини до екстрагенту 0,15-0,20. Відзначено незначний вплив кратності екстракції на процес екстракції поліфенолів, максимальне значення вмісту яких за умов екстракції при температурі 50-70 °С та співвідношенні сировини до екстрагенту понад 0,2 становило 3,72 %.

Враховуючи технологічні можливості при проведенні процесу екстракції оптимальною було обрано дворазову екстракцію при температурі 60 °С та співвідношенні сировини до екстрагенту 0,2. За цих умов прогнозоване значення виходу екстрактивних речовин становило 14,00 %, а поліфенольних сполук – 3,71 %.

А. А. Кисличенко, В. В. Процька, І. А. Журавель

ПОДБОР ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ 50% ЭТАНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА ПЛОДОВ МОРКОВИ ПОСЕВНОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА МАТЕМАТИЧЕСКОГО ПЛАНИРОВАНИЯ

Ключевые слова: морковь посевная, математическое планирование эксперимента, качественный и количественный анализ, полифенольные соединения.

Математическое планирование эксперимента позволяет уменьшить и оптимизировать число научных исследований, интенсифицировать их и при этом уменьшить ошибку и получить в итоге максимально достоверные и научно обоснованные результаты.

По данным литературы диетилловые, метанолные и этиловые экстракты плодов моркови посевной имеют противоопухолевое, антиоксидантное, спазмолитическое, гипотензивное, противовоспалительное и

антибактериальное свойства. Этому способствует богатый химический состав, в частности, значительное содержание полифенольных соединений.

Методом математического планирования при построении дробного трехфакторного плана эксперимента определены оптимальные условия процесса экстракции, которые обеспечивают максимальный выход БАВ при экстракции плодов моркови посевной 50 % этанолом.

Определено, что самое высокое прогнозируемое значение выхода экстрактивных веществ (14,27 %) было при условии трехкратной экстракции при температуре от 80 до 100 °С и соотношении сырья к экстрагенту 0,15-0,20. Отмечено незначительное влияние кратности экстракции на процесс экстракции полифенолов, максимальное значение содержания которых в условиях экстракции при температуре 50-70 °С и соотношении сырья к экстрагенту сверх 0,2 составляло 3,72 %.

Учитывая технологические возможности проведения процесса экстракции в качестве оптимальной выбрана двукратная экстракция при температуре 60 °С и соотношении сырья к экстрагенту 0,2. При этих условиях прогнозируемое значение выхода экстрактивных веществ составляло 14,00 %, а полифенольных соединений 3,71 %.

О. А. Kyslychenko, V. V. Protska, I. O. Zhuravel

SELECTION OF OPTIMAL CONDITIONS FOR THE DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY FOR OBTAINING 50% ETHANOL EXTRACT OF CARROT FRUITS USING MATHEMATICAL PLANNING METHOD

Keywords: *Daucus carota* subsp. *sativus*, mathematical planning of an experiment, qualitative and quantitative analysis, polyphenolic compounds.

Mathematical planning of an experiment allows to reduce and optimize the number of scientific researches, to intensify them, while reducing the error and obtaining the most reliable and scientifically based results at the output.

According to the literature, diethyl, methanol and ethanol extracts of carrot seeds have anti-tumor, antioxidant, antispasmodic, hypotensive, anti-inflammatory and antibacterial properties. This is due to the rich chemical composition, in particular the high content of polyphenolic compounds.

The method of mathematical planning during the formulation of a fractional three-factor plan of an experiment allowed determining the optimal factors of the extraction process, which provide the maximum yield of BAC during the extraction of carrot fruits by 50 % ethanol.

The highest predicted value of the extractable matter yield (14,27 %) was established to be under the conditions of triple extraction at a temperature from 80 to 100°C and the ratio of raw material to extragent 0.15-0.20. A slight effect of the extraction multiplicity on the polyphenol extraction process was noted, the maximum value of which in the conditions of extraction at a temperature of 50-70 °C and the ratio of raw material to extragent over 0,2 comprised 3.72 %.

Taking in to account the technological possibilities during the extraction process, the double extraction at 60 °C and the ratio of raw material to extragent 0.2 were selected as optimal conditions. Under these conditions, the predicted value of the extractable matter yield comprised 14.00 %, and 3.71 % for polyphenolic compounds.

