

НИЗКОЧАСТОТНАЯ УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ЭКСТРАКЦИЯ ГЛИКАНОВ ИЗ *LINUM USITATISSIMUM*

*Е.В. Ожимкова, аспирант, *А.И. Сидоров, доцент, **И.Г. Плащина,
заведующий лабораторией, **Е.И. Мартиросова, научный сотрудник,
***И.В. Ущаповский, руководитель отдела, **А.Н. Даниленко, старший
научный сотрудник

*кафедра Тверской государственной технической университет

**Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН

***Всероссийский научно-исследовательский и проектно-технологический институт
механизации льноводства
e-mail: sulman@online.tver.ru

Представленная работа посвящена низкочастотной (30 кГц) ультразвуковой экстракции и исследованию основных физико-химических свойств экстрактов полисахаридов из семян льна. Разработанная методика позволяет существенно сократить время экстракции (с 24 ч до 16 мин) с сохранением структуры полисахаридов.

Ключевые слова: экстракция, ультразвук, полисахариды

За последние несколько лет значительно возрос интерес к растительным олиго- и полисахаридам. Если ранее гликаны применялись только в качестве вспомогательных компонентов, то в настоящее время, в связи с открытием новых свойств, они рассматриваются как самостоятельные биологически активные вещества. Обнаружены антигипоксические, противовоспалительные, иммуностропные, противоопухолевые, противовирусные, противомикробные, сорбционные, антиатеросклеротические свойства растительных полисахаридов.

Одним из широко известных и доступных источников полисахаридов являются семена льна (*Linum usitatissimum* L.), которые широко используются в качестве как лекарственного средства, так и ценного пищевого

растительного сырья. В фитохимическом отношении семена льна содержат богатый арсенал биологически активных веществ, имеющих широкий спектр фармакологического действия.

Наружная оболочка семян льна содержит ~10% слизи [1]. Слизь льна состоит из двух полисахаридных фракций: кислой (галактуроновые кислоты) и нейтральной (галактоглобуланы и арабиноксиланы) (рис. 1). В состав слизи также входит около 5% белка [2].

Слизь семян льна обладает обволакивающими и смягчающими свойствами, снижает местнораздражающее действие различных веществ. Ее применяют внутрь для уменьшения раздражения при воспалительных и язвенных процессах на слизистых оболочках, особенно в желудочно-кишечном тракте.

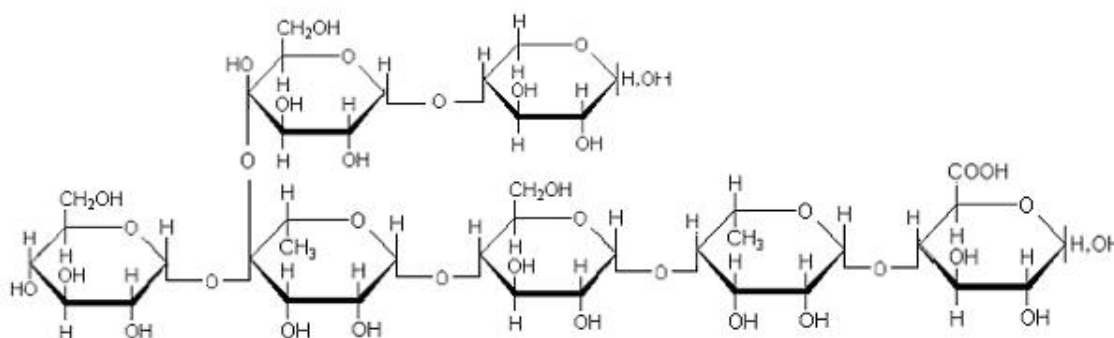


Рис. 1. Строение гетерополисахаридов семян льна.

Гликаны льна являются перспективными пребиотиками. Пребиотические эффекты полисахаридов связаны со следующими факторами: увеличение числа и активности

бифидо- и лактобактерий, оптимизация моторики кишечника, увеличение абсорбции кальция, магния и других металлов, снижение уровня холестерина и триглицеридов, пред-

отвращение развития рака кишечника. Полисахариды льна также могут использоваться в качестве водоудерживающих, связующих агентов и текстурантов при производстве хлебобулочных изделий, оказывая при этом протекторное действие на пищеварительную систему [3].

Перспективным методом интенсификации экстракции растительных полисахаридов из природного сырья является использование ультразвукового воздействия [4]. Можно выделить несколько основных параметров, которые собственно и делают процесс ультразвукового экстрагирования более эффективным по сравнению с традиционными методами экстракции:

- увеличение скорости обтекания;
- ускорение пропитки твердого тела жидкостью;
- увеличение коэффициента внутренней диффузии;
- кавитационный эффект, влияющий на структуру пористых тел и приводящий к появлению микротрещин.

Под действием ультразвуковых колебаний происходит более быстрое и активное разрушение тканей растительного сырья, что приводит к интенсификации процесса экстракции и дает возможность увеличить содержание биологически активных соединений в растворе [5].

В акустическом поле, наряду со снятием диффузионных ограничений, большое значение для интенсификации процесса экстракции имеет также увеличение межфазной удельной поверхности реагирующих компо-

нентов. Диспергирование при этом идет как за счет разрушения частичек твердой фазы, так и за счет поверхностного трения между твердыми и жидкими фазами. Использование ультразвуковых волн для экстракции биологически активных веществ из растительного сырья обеспечивает сочетание механического воздействия (размол, разрыв клеток при ультразвуковой обработке) с турбулизацией среды [6].

За последние несколько лет опубликован ряд работ, посвященных ультразвуковой экстракции полисахаридов из растительного сырья, например, экстракции целлюлозы из шрота сахарного тростника, экстракции ксиланов из томатов [4]. Использование ультразвукового воздействия ускоряет извлечение полисахаридов и при этом сохраняет их структуру.

В настоящей работе проведена водная низкочастотная (30 кГц) ультразвуковая экстракция полисахаридов из семян льна. Экстракты полисахаридов получали при комнатной температуре с помощью ультразвукового диспергатора IKASONIC U 50 (IKA Labortechnik, Германия) при соотношении сырье – экстрагент 1:10 (вес.).

Оптимальные параметры ультразвукового воздействия (время и интенсивность) были определены с использованием зависимости вязкости полученных растворов полисахаридов и массы сухого остатка от интенсивности ультразвука и от времени обработки (рис. 2 и 3). Измерение вязкости полученных экстрактов проводилось с помощью вискозиметра Убеллоде, определение сухого остатка – по стандартной методике Государственной фармакопеи.

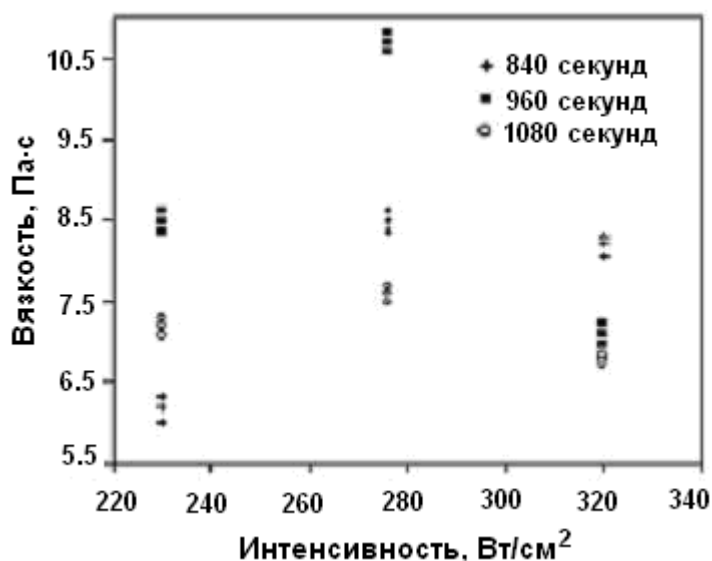


Рис. 2. Зависимость вязкости полученных растворов полисахаридов льна от интенсивности ультразвука.

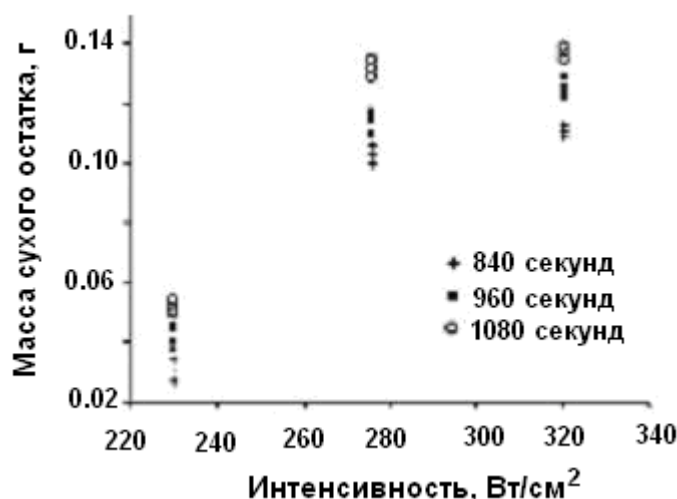


Рис. 3. Зависимость массы сухого остатка полисахаридов льна от интенсивности ультразвука.

Увеличение вязкости в каждой серии опытов имеет экстремум. Время появления экстремума сокращается по мере увеличения интенсивности ультразвукового воздействия.

Сопоставление этих двух зависимостей и дает оптимальные условия: нарастание концентрации и уменьшение вязкости после оптимальной точки свидетельствует о деструкции нативных полиуронидов.

Для подтверждения структуры полученных гликанов использовалась инфракрасная Фурье-спектроскопия (рис. 4) [7]. ИК-спектры полисахаридов семян льна и льняного жмыха, полученных традиционным настаиванием, сравнивались со спектрами гликанов, полученных ультразвуковой экст-

ракцией при оптимальных параметрах процесса (интенсивность 276 Вт/см² и продолжительность 16 мин).

Анализ полученных спектров показывает, что выбранные оптимальные параметры ультразвуковой обработки не вносят существенных изменений в структуру полисахаридов льна (на спектрах полностью сохраняются все пики, соответствующие функциональным группам полисахаридов льна (CH_2 (720 см^{-1}); C-O-C (1090 см^{-1}); OH (1380 см^{-1}); C=O (1670 см^{-1}), нет смещения полос). Особенно четко обозначены пики, отвечающие колебаниям карбоксильной группы ($1360\text{-}1470\text{ см}^{-1}$), что позволяет отнести выделенные полисахариды к полиуронидам.

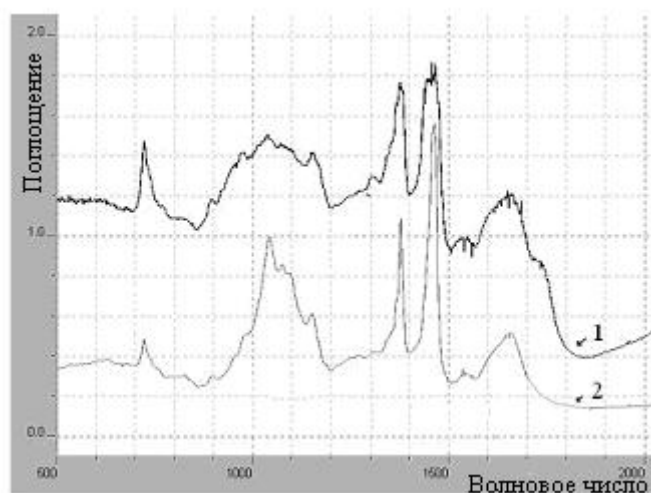


Рис. 4. ИК-спектры полисахаридов льна: 1 – полученных традиционным настаиванием; 2 – полученных ультразвуковой экстракцией (Фурье-спектрометр «ИнфралЮМ ФТ-02» НПФ АП «Льюэкс», Россия).

В ходе поисковых экспериментов было проанализировано 10 сортов льна (Альфа, Воронежский, Ленок, Росинка, Регина, Норлин, Фландерс, Новоторжский, желтый-ЛМ, коричневый-ЛМ). В табл. 1 приведены

данные сравнительного анализа суммарного содержания гликанов в полученных образцах экстрактов. Концентрацию белка в экстрактах определяли бицинхонатным методом [8], концентрацию редуцирующих сахаров – с

использованием 3,5-динитросалициловой кислоты [9]. Содержание редуцирующих сахаров варьирует в зависимости от сорта от 5.6 до 18.8 мг/г, что свидетельствует о существенных различиях в средней степени полимеризации гликанов в различных сортах льна. Более высокое содержание редуцирующих сахаров соответствует более низкой средней степени полимеризации гликанов в

экстракте. Значения степени полимеризации составляют от 53 до 178 для различных сортов в предположении, что один редуцирующий остаток приходится на одну полимерную цепь. Это соответствует средним значениям молекулярных масс гликанов 10-32 кДа (ВЭЖХ; хроматограф Gilson, эксклюзионная колонка Reprosil SEC 4000 элюент – 9 mM раствор H₂SO₄).

Таблица 1. Состав гликановых экстрактов из семян льна различных сортов.

№	Наименование сортов льна	Суммарное содержание гликанов, % (в пектиновом эквиваленте) *		Содержание белка в препарате, %	Содержание редуцирующих сахаров, мг/г
		при $\lambda=608$ нм	$\lambda=620$ нм		
1	Норлин	92	95	7	9.4
2	Росинка	100	100	4	8.5
3	Ленок	94	96	4	9.1
4	Альфа	95	97	4	7.9
5	Воронежский	92	95	3	5.6
6	Фландерс	100	98	3	9.9
7	Новоторжский	94	93	6	6.4
8	Регина	92	94	6	9.5
9	Желтый	80	82	7	18.8
10	Коричневый	94	96	4	13.0

* Определено на основании измерения оптической плотности стандартов пектинов AU-202 и препаратов гликанов.

Метод динамического светорассеяния (фотонно-корреляционной спектроскопии) использован для сравнительной характеристики средних размеров и распределения по размерам частиц гликановых экстрактов из семян льна различных сортов (ZetaSizer Nano (ZEN 3600), Malvern Instrument, UK). Исходные экстракты представляли собой опалесцирующие коллоидные системы с признаками тиксотропии. Характеристика таких систем методом динамического светорассеяния оказалась возможна при использовании функции обратного рассеяния под углом 173°, что позволяет вести измерения в достаточно концентрированных и мутных средах, не опасаясь эффекта многократного рассеяния. В табл. 2 приведены усредненные по интенсивности значения гидродинамических диаметров (D) частиц гликановых экстрактов, их доли в интенсивности рас-

сеяния растворов и значения показателей полидисперсности по диаметру.

Таким образом, установлено, что ультразвуковое воздействие существенно повышает эффективность экстракции полисахаридов *Linum usitatissimum* L, а также сокращает время процесса с 24 ч до нескольких минут, не вызывая деструкции гликанов. Проведенные анализы подтверждают, что использование ультразвуковой обработки не приводит к качественному изменению фракционного состава гликановых экстрактов, но позволяет получить более однородные по составу экстракты. Выделенные из семян льна и льняного жмыха полисахариды не имеют неприятного запаха, улучшают структуру продукта; являются перспективными пребиотиками, нетоксичны, и могут использоваться в качестве компонентов при создании функциональных продуктов питания.

Таблица 2. Гидродинамические размеры частиц различных фракций гликановых экстрактов семян льна различных сортов (25 °С).

Наименование сортов льна	Исходные экстракты		Экстракты после ультрафильтрации без УЗ-обработки		Экстракты после ультрафильтрации и УЗ-обработки	
	Д частиц, нм	%	Д частиц, нм	%	Д частиц, нм	%
Норлин	73	25.7	81.2	44.8	18.5	9.3
	351	74.3	277	55.2	114	82.2
Росинка	74.5	21.3	123	100	535	8.5
	313	78.7			37.1	20.6
Ленок	55.5	17.6	14.8	5.9	155	79.4
	286	82.4	46.7	31.4	19.4	9.3
Альфа			220	62.7	85	32
	51	13	76.5	53.6	276.5	57
Воронежский	187	55.6	215	46.4	42.3	23.4
	723	31.4			176	76.6
Фландерс	117	23.1	19.7	4.5	35	18.5
	432	76.9	55	17.1	158.5	81
Новоторжский			188	78.4		
	81.7	30.7	14.5	5.2	34.6	21.8
Регина	423	69.3	91.4	47.6	130	78.2
			410	47.2		
Желтый	61.6	15.1	24.7	7.6	47.5	33.6
	309	71.1	80.8	26.4	158	66.4
Коричневый	1070	13.7	223	66		
	68	25.1	27.8	10.3	36	29.4
	248	69.4	99.9	48.3	130.7	69
			449	41.4		
	13.9	5.6	42.4	30.4	17.1	6.3
	91.9	62.2	158	69.6	101	85.4
	466	30.8			654	6.8
	15.7	5.3	49.5	13.5	34.8	15.1
	113	48.4	123	33.8	140	84.9
	348	46.3	538	52.7		

ЛИТЕРАТУРА:

1. Муравьева, Д.А. Фармакогнозия / Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. – М. : Медицина, 2002. – 656 с.
2. Structural investigations of the neutral polysaccharide of *Linum usitatissimum* L. seeds mucilage / J. Warrand [et al.] // Int. J. Biol. Macromol. – 2005. – № 35. – P. 121–125.
3. Мельникова, Т.И. Растительные олигосахариды – перспективный класс пребиотиков / Т.И. Мельникова // Фиторецидент. – 2003. – № 2. – С. 32–35.
4. Vinatoru, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs / M. Vinatoru // Ultrasonic Sonochemistry. – 2001. – № 8. – P. 303–313.
5. Новицкий, Б.Г. Применение акустических колебаний в химико-технологических процессах / Б.Г. Новицкий. – М. : Химия, 1983. – 192 с.
6. Маргулис, М.А. Основы звукохимии / М.А. Маргулис. – М. : Высшая школа, 1984. – 272 с.
7. Schmitt, J. FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis / J. Schmitt, H-C. Flemming // Int. Biodeterioration & Biodegradation. – 1998. – № 41. – P. 1–11.
8. Protein determination with bicinchonic acid / P.K. Smith [et.al.] // Analyt. Biochem. – 1985. – Vol. 150. – P. 76–85.
9. Scherz, H. Analytical chemistry of carbohydrates / H. Scherz, G.Boon. – Stuttgart, New York : Georg Thieme, Verlag, 1998. – P. 33–34.