

ДОСЛІДЖЕННЯ УМОВ ВИЛУЧЕННЯ СПИРТО- ТА ВОДОРОЗЧИННИХ РЕЧОВИН ІЗ КУЛЬТИВОВАНИХ ГРИБІВ

Н.К. Черно, С.О. Озоліна, О.В. Нікітіна

Установлено, що раціональними умовами вилучення спирторозчинних речовин із грибів є екстракція сировини 70%-вим етанолом протягом 30-45 хв при температурі 60 °С. Максимальний вихід водорозчинних речовин можливий під час обробки грибів водою при температурі кипіння протягом 60 хв.

***Ключові слова:** спирторозчинні речовини, водорозчинні речовини, *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*.*

ИССЛЕДОВАНИЕ УСЛОВИЙ ИЗВЛЕЧЕНИЯ СПИРТО- И ВОДОРАСТВОРИМЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ ГРИБОВ

Н.К. Черно, С.А. Озолина, А.В. Никитина,

Установлено, что рациональными условиями выделения спирторастворимых веществ из грибов является экстракция сырья 70%-ным этанолом в течение 30-45 мин при температуре 60 °С. Максимальный выход водорастворимых веществ возможен при обработке грибов водой при температуре кипения в течение 60 мин.

***Ключевые слова:** спирторастворимые вещества, водорастворимые вещества, *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*.*

THE INVESTIGATION OF CONDITIONS OF THE ETHANOL- AND WATER-SOLUBLE SUBSTANCES EXTRACTION FROM CULTIVATED MUSHROOMS

N.K. Chernov, S.A. Osolina, A.V. Nikitina

*The properties of mushroom ethanol- and water-soluble fractions are being investigated all over the world. However, there are no the proved conditions of extracting these substances from mushrooms. The purpose of this research was to determine the conditions of the ethanol- and water-soluble substances extraction from cultured mushrooms (*Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*). It was shown that the rational conditions of the ethanol-soluble substances extraction from mushrooms are treatment of the raw materials with 70% ethanol during 30-45 min at 60°C. The maximum possible yield of water-soluble substances was obtained while processing the mushrooms with water at boiling temperature during 60 min.*

Carbohydrates, protein substances and melanins were macrocomponents of the extract. The weight fraction of carbohydrates in the solution increases during the decrease in temperature from 100 °C to 40 °C.

Keywords: *ethanol-soluble substances, water-soluble substances, Agaricus bisporus, Pleurotus ostreatus.*

Постановка проблеми у загальному вигляді. Наявність у складі макроскопічних грибів великого різноманіття біологічно активних речовин зумовила підвищення інтересу до них фахівців у галузі нутриціології та медицини. Найбільшу увагу привертають спирто- та водорозчинні фракції грибів, оскільки вони виявляють високі антиоксидантні, антибактеріальні, протівірусні, протипухлинні, імуномодулюючі властивості [1–5].

Незважаючи на те, що роботи в цьому напрямі ведуться в багатьох країнах світу, дотепер не запропоновано обґрунтованих методів вилучення цих речовин із сировини. Окрім того, не досліджено вплив умов їх екстрагування на вихід та хімічний склад отриманих фракцій.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Існуючі методи вилучення спирторозчинних речовин полягають в обробці сировини етанолом чи метанолом протягом 4...8 годин. При цьому концентрацію реагенту в складі розчину варіюють у межах 80...96%. Кратність таких обробок складає 3 рази [1;2].

Для виділення водорозчинної фракції з грибів екстракцію проводять водою при температурі кипіння протягом 3...5 годин. Цю операцію повторюють двічі [3; 4].

Дані щодо умов вилучення вказаних фракцій із найбільш популярних в Україні культивованих грибів (печериці двоспорової (*Agaricus bisporus*) та гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus*)) взагалі відсутні. Це стримує розроблення ефективних технологій отримання спирто- та водорозчинних речовин із вказаних видів грибів.

Мета статті. Метою роботи було визначення умов вилучення спирто- та водорозчинних речовин із печериці двоспорової (*Agaricus bisporus*) та гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus*).

Виклад основного матеріалу дослідження. Метанол є отруйною сполукою, і його використання є небажаним. Тому під час дослідження умов виділення екстрактивних речовин гриби обробляли етанолом. При цьому варіювали його концентрацію, температуру та тривалість екстрагування.

Після вилучення спирторозчинної фракції гриби двічі обробляли водою для виділення водорозчинних речовин, змінюючи температуру та тривалість проведення процесу.

Після закінчення екстракцій отримані суспензії центрифугували, твердий залишок промивали екстрагентом, суміш знову центрифугували.

Вихід спирто- та водорозчинних речовин розраховували за співвідношенням між їх кількістю в складі відповідних об'єднаних супернатантів та загальним вмістом екстрактивних та водорозчинних речовин у грибах. Останні визначали за результатами вичерпної екстракції.

В екстрактах водорозчинних речовин визначали вміст основних макрокомпонентів: вуглеводів – антроновим методом [6], білкових речовин – за методом Кьельдаля [7], меланінів – спектрофотометричним методом [8].

Спирторозчинні речовини вилучали з попередньо висушених та подрібнених печериць та гливи.

Незважаючи на те, що гриби відрізняються за хімічним складом екстрактивних речовин [5], криві залежності кількості вилучених спирторозчинних речовин від тривалості контакту сировини з екстрагентом мають подібний характер (рис. 1–3).

Так, після 30 хв експозиції грибів у 80%-му етанолі ступінь вилучення екстрактивних речовин сягає 90,8...96,0 % від їх загального вмісту (рис. 1). У разі подовження тривалості обробки до 45 хв спостерігається їх вичерпна екстракція.

Під час дії на гриби більш розведеного етанолу (70%-го) протягом 30 хв вихід екстрактивних речовин печериць підвищується (рис. 2). Це пов'язано з фізико-хімічними властивостями їх головного компонента – маніту, розчинність якого в разі зменшення концентрації спирту з 80% до 70% підвищується в 2,3 рази, а до 60% – утричі [9].

Ступінь вилучення спирторозчинних речовин із гливи у разі зниження масової частки етанолу до 70% майже не змінюється. Це зумовлено тим, що на долю маніту припадає лише близько однієї четвертої частини від загального вмісту екстрактивних речовин. Провідною ж речовиною є низькомолекулярні вуглеводи, розчинність яких за розглянутих умов змінюється значно меншою мірою.

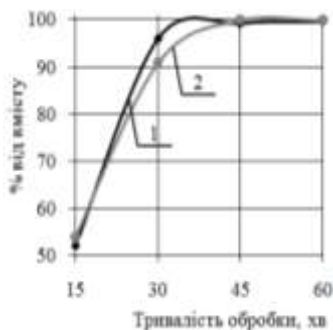


Рис. 1. Залежність ступеня вилучення екстрактивних речовин грибів від тривалості обробки (80%-вий етанол, температура кипіння):

1 – глина звичайна; 2 – печериця двоспорова

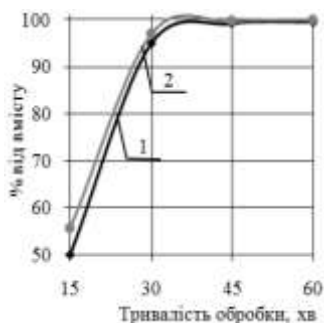


Рис. 2. Залежність ступеня вилучення екстрактивних речовин грибів від тривалості обробки (70%-вий етанол, температура кипіння):

1 – глина звичайна; 2 – печериця двоспорова

Після 45 хв експозиції ступінь вилучення спирторозчинних речовин з обох видів грибів досягає тих же значень, що й у разі використання 80%-го реагенту.

Екстракція 60%-вим етанолом супроводжується вилученням більшої кількості сухих речовин із грибів, але їх маса перевищує загальний вміст власне спирторозчинних речовин у сировині за рахунок часткового переходу до складу екстрактів водорозчинних компонентів. Тому застосування 60%-го екстрагенту не є доцільним.

Отже, під час використання 70%- та 80%-го етанолу при температурі кипіння ступінь вилучення екстрактивних речовин суттєво не відрізняється між собою.

Для встановлення можливості застосування більш низьких температур для виділення спирторозчинних речовин сировину обробляли 70%-вим реагентом при температурі 60 °С. За таких умов вихід екстрактивних речовин наближається до максимального значення після 30–45 хв екстракції (рис. 3).

Саме такий режим обробки використовували для попереднього видалення з сировини спирторозчинних речовин із метою подальшого встановлення раціональних умов вилучення водорозчинних компонентів із грибів.

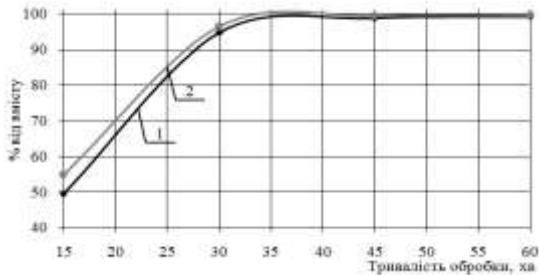


Рис. 3. Залежність ступеня вилучення екстрактивних речовин грибів від тривалості обробки (70%-вий етанол, температура 60 °С): 1 – глива звичайна; 2 – печериця двоспорова

Під час обробки грибів водою при температурі кипіння протягом 30 хв інтенсивніше екстрагуються водорозчинні речовини печериць (рис. 4). Проте через годину їх практично повністю вдалося вилучити з обох видів грибів.

У разі зменшення температури процесу до 70 °С спостерігається зниження швидкості переходу водорозчинних речовин сировини до складу екстракту (рис. 5). Так, під час обробки печериць водою протягом 60 хв масова частка вилучених речовин зменшується в 1,4, а гливи – в 1,2 рази. Окрім того, максимальна кількість екстрагованих сполук сягає лише 74,1...87,2% від їх загального вмісту у складі сировини навіть після 120 хв екстракції.

Як і слід було очікувати, зниження температури проведення процесу до 40 °С приводить до подальшого зменшення виходу водорозчинних речовин (рис. 6), який у 1,5 рази менший, ніж при 70 °С.

Температура процесу впливає не тільки на вихід водорозчинних речовин грибів, але й на співвідношення основних макрокомпонентів у складі екстрактів.

Для гливи зниження температури корелює зі збільшенням концентрації вуглеводів у розчині. При цьому кількість білкових речовин та меланінів пропорційно знижується. Так, зміна температури обробки від 100 °С до 40 °С супроводжується підвищенням масової частки вуглеводів у складі екстракту в 1,3 рази. При цьому кількість вилучених білкових речовин зменшується в 1,6, а меланінів в 1,8 рази. Тобто мінімальний вміст останніх компонентів у складі водорозчинних речовин грибів можливо отримати при низьких температурах екстракції.

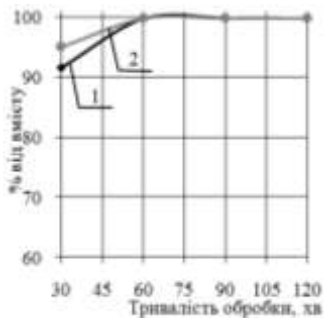


Рис. 4. Залежність ступеня вилучення водорозчинних речовин грибів від тривалості обробки (температура 100 °С):

1 – гриба звичайна; 2 – печериця двоспорова

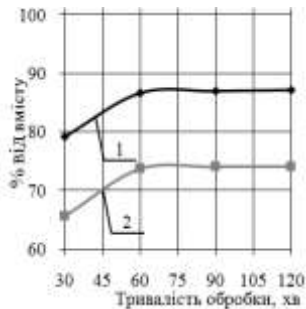


Рис. 5. Залежність ступеня вилучення водорозчинних речовин грибів від тривалості обробки (температура 70 °С):

1 – гриба звичайна; 2 – печериця двоспорова

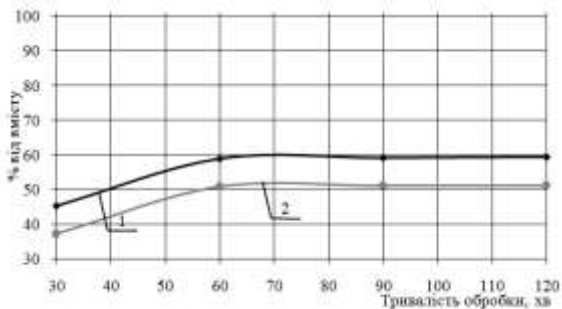


Рис. 6. Залежність ступеня вилучення водорозчинних речовин грибів від тривалості обробки (температура 40 °С):

1 – гриба звичайна; 2 – печериця двоспорова

Для печериць зниження температури процесу зі 100 °С до 40 °С призводить до збільшення масових часток вуглеводів та білкових речовин у складі екстрактів, проте співвідношення цих компонентів залишається практично сталим. При цьому відповідно зменшується вміст меланінів.

Зміна співвідношення макрокомпонентів у складі екстрактів водорозчинних речовин грибів впливає на їх фізіологічні ефекти. Зокрема антиоксидантна активність розчинів, визначена за тіоціонатним методом [10], корелює з масовою часткою меланінів у їх складі. Вона зменшується зі зниженням температури процесу.

Висновки. На підставі наведених результатів встановлено, що раціональними умовами вилучення спирторозчинних речовин із грибів є обробка сировини 70%-вим етанолом протягом 30...45 хв при температурі 60 °С. Порівняно з відомими, запропонований режим екстракції дозволяє знизити енерго- та ресурсозатратність цього процесу.

Максимальне вилучення водорозчинних речовин із сировини досягається шляхом її обробки водою при температурі протягом 60 хв. Цим екстрактам притаманна й найвища антиоксидантна активність. З метою отримання розчинів вуглеводів, що містять найменшу кількість супутніх речовин, температуру екстракції доцільно знизити.

Наведені дані можуть бути використані під час розробки технологій отримання дієтичних добавок із культивованих грибів.

Список літератури / References

1. Abah, S.E., Abah, G. (2010), "Antimicrobial and Antioxidant Potentials of *Agaricus bisporus*", *Advances in Biological Research*, Vol. 4(5), pp. 277–282.

2. Yamac, M. Antimicrobial Activities of Fruit Bodies and/or Mycelial Cultures of Some Mushroom Isolates [Text] / M. Yamac, F. Bilgili // *Pharmaceutical Biology*. – 2006. – Vol. 44. – No. 9. – P. 660–667.

3. Jagadish, L.K., Hemalatha, M., Gunasundari, D. (2011), "Antioxidant activity of hot water soluble fraction from *Agaricus heterocystis* and its effect on apple browning", *Emir. J. Food Agric.*, Vol. 23(4), pp. 381–386.

4. Kim, Y. (2010), "Immunomodulatory Activity of the Water Extract from Medicinal Mushroom *Inonotus obliquus*", *Mycobiology*, Vol. 33(3), pp. 158–162.

5. Характеристика екстрактивних речовин культивованих грибів / Н. К. Черно, Т. А. Лисогор, С. О. Озоліна, О. В. Нікітіна // Наукові праці Одеської національної академії харчових технологій. – Одеса : 2013. – Вип. 44. – Т. 2. – С. 92–95

Cherno, N.K., Lysogor, T.A., Osolina, S.A., Nikitina, A.V. (2013), "The characteristic of extractive substances from cultivated mushrooms", *Research papers of Odessa National Academy of Food Technologies* ["Kharakterystyka ekstraktyvnykh rechovyn kul'tyvovanykh hrybiv"], *Naukovi pratsi Odes'koyi natsional'noyi akademiyi kharchovykh tekhnolohiy*, Odessa, Iss. 44, Vol. 2, pp. 92–95

6. Оболенская А. В. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы / А. В. Оболенская, З. П. Ельницкая, А. А. Леонович. – М.: Экология, 1991. – 320 с.

Obolenskya A.V., Elnitsky, Z.P., Leonovich, A.A. (1991) *Laboratory works on chemistry of wood and cellulose* [Laboratorynye raboty po himii drevesiny i cellulozy], Ecology, Moscow, 320 p.

7. Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков, В. В. Арасимович. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.

Ermakov, A.I., Arasimovich, V.V. (1987), *Methods of biochemical research of plants* [Metody biokhimeskogo issledovaniya rastenij], Agropromizdat, Leningrad, 430 p.

8. Бабицкая В. Г. Меланиновый комплекс гриба *Inonotus obliquus* / В. Г. Бабицкая, В. В. Щерба, Н. В. Иконникова // Прикл. биохимия и микробиология. – 2000. – Т.36, № 4. – С. 439–444.

Babickaya, V.G., Szczerba, V.V., Ikonnikova, N.V. (2000), "Melanin complex of mushroom *Inonotus obliquus*" *J. Appl. biochemistry and microbiology [Prkl. biohimija i mikrobiologija]*, Vol. 36, no 4, pp. 439–444.

9. Справочник химика / под ред. Б. П. Никольского. – Л.: Химия, 1971. – 1169 с.

Nikolsky, B.P. (1971), *Chemist's Handbook [Spravochnik himika]*, Chemistry, Leningrad, 1169 p.

10. Салькова Е. Г. Изучение антиоксидантной активности экстрактов кутикулы яблوك / Е. Г. Салькова, М. Г. Амзашвили // Прикл. биохимия и микробиология. – 1987. – Т. 23, № 5. – С. 686–691.

Salkova, E.G., Amzashvili, M.G. (1987), "The study of the antioxidant activity of extracts from the cuticle of apples", *J. Appl. biochemistry and microbiology [Prkl. biohimija i mikrobiologija]*, Vol. 23, no 5, pp. 686–691.

Черно Наталія Кирилівна, д-р техн. наук, проф., Одеська національна академія харчових технологій. Адреса: вул. Канатна, 112, м. Одеса, Україна 65039. Тел.: +38(048)7124176; e-mail: onaft_foodchem@mail.ru

Черно Наталья Кирилловна, д-р техн. наук, проф., Одесская национальная академия пищевых технологий. Адрес: ул. Канатная, 112, г. Одесса, Украина, 65039. Тел.: +38(048)7124176; e-mail: onaft_foodchem@mail.ru

Cherno Natalya Dr. en. sc., Prof. Head of Food Chemistry Department of Odessa National Academy of Food Technologies, Kanatnya st. 112, Odessa, 65039, Ukraine; tel.: +38(048)7124176; e-mail: onaft_foodchem@mail.ru

Озолина Софія Олександрівна, канд. хім. наук, доц., кафедра харчової хімії, Одеська національна академія харчових технологій. Адреса: вул. Канатна, 112, м. Одеса, Україна 65039. Тел.: +38(048)7124176; e-mail: onaft_foodchem@mail.ru

Озолина София Александровна, канд. хим. наук, доц., кафедра пищевой химии, Одесская национальная академия пищевых технологий. Адрес: ул. Канатная, 112, г. Одесса, Украина, 65039 тел.: +38(048)7124176; e-mail: onaft_foodchem@mail.ru

Osolina Sophya PhD. chem. sc., as. prof., as. prof. of Food Chemistry Department of Odessa National Academy of Food Technologies, Kanatnya st. 112, Odessa, 65039, Ukraine. Tel.: +38(048)7124176; e-mail: onaft_foodchem@mail.ru

Нікітіна Олександра Валеріївна, м.н.с., ПНДЛ, Одеська національна академія харчових технологій. Адреса: вул. Канатна, 112, м. Одеса, Україна, 65039. Тел.: +38(095)192-42-12; e-mail: alex.nikitina@gmail.com

Никитина Александра Валериевна, м.н.с. ПНИЛ Одесская национальная академия пищевых технологий. Адрес: ул. Канатная, 112, г. Одесса, Украина, 65039. Тел.: +38(095)1924212; e-mail: alex.nikitina@gmail.com

Nikitina Alexandra j.r.a. PRDL of Odessa National Academy of Food Technologies, Kanatnya st. 112, Odessa, 65039, Ukraine; tel.: +38(095)1924212; e-mail: alex.nikitina@gmail.com

*Рекомендовано до публікації д-ром техн. наук, проф. Н.К. Черно.
Отримано 15.03.2014. ХДУХТ, Харків.*