

APARATURA

BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

Usprawniona metoda ekstrakcji amigdaliny z nasion pestek moreli

ANDRZEJ GÜNTHER¹, BARBARA BEDNARCZYK-CWYNAR², ANITA TURAŁA³

¹ZACHODNIOPOMORSKI UNIWERSYTET TECHNOLOGICZNY W SZCZECINIE, WYDZIAŁ TECHNOLOGII I INŻYNIERII CHEMICZNEJ, INSTYTUT TECHNOLOGII CHEMICZNEJ ORGANICZNEJ

²UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO, WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY, KATEDRA I ZAKŁAD CHEMII ORGANICZNEJ

³ZACHODNIOPOMORSKI UNIWERSYTET TECHNOLOGICZNY W SZCZECINIE, WYDZIAŁ TECHNOLOGII I INŻYNIERII CHEMICZNEJ, KATEDRA CHEMII ORGANICZNEJ I CHEMII FIZYCZNEJ

Słowa kluczowe: amigdalina, izolowanie amigdaliny, ekstrakcja, nasiona pestek moreli

STRESZCZENIE:

Tradycyjna ekstrakcja w aparacie Soxhleta jest najczęstszą techniką używaną do izolowania związków naturalnych z materiałów biologicznych. Otrzymywanie amigdaliny również opiera się na ekstrakcji różnymi rozpuszczalnikami. W pracy przedstawiono wyniki badań usprawnionej ekstrakcji amigdaliny z zastosowaniem wody, 50% lub 96% alkoholu etylowego, a uzyskane wyniki porównano z ekstrakcją tradycyjną, w której stosuje się proste alkohole (w niniejszej pracy zastosowano bezwodny etanol).

Improved extraction method amygdalin from apricot seed kernels

Keywords: amygdalin, isolation of amygdalin, extraxtion, apricot seed kernels,

ABSTRACT:

The traditional extraction in the Soxhlet apparatus is the most common technique used for isolation of natural compounds from biological materials. The obtaining of amygdalin is also based on extraction with different solvents. The paper presents the results of an improved extraction of amygdalin with water, 98% and 50% ethanol and compared with traditional method, with methanol, isopropanol or anhydrous ethanol applied as a solvent for extraction.

niewielką ilość eteru dietylowego i całość wymieszano. Następnie rozpuszczalnik odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem. Surową amigdalinę po wysuszeniu krystalizowano z 96% etanolu.

Przeprowadzenie standardowej ekstrakcji w celu porównawczym. Istnieje wiele różnych metod ekstrakcji amigdaliny, wybrano najpopularniejszą wykorzystującą etanol. Postępując w oparciu o jedną z nich [7], odważono 10 g surowca i nie poddając go wcześniejszej ekstrakcji eterem, umieszczono w aparacie Soxhleta. Surowiec ekstrahowano etanolem 96% w temperaturze wrzenia przez godzinę. Po zakończeniu ekstrakcji uzyskany ekstrakt zateżono do około ¼ objętości i odstawiono na 24 godziny do krystalizacji. Następnie dodano tyle eteru dietylowego, aby po wymieszaniu olej się rozpuścił. Amigdalinę odsączono i rekrystalizowano z 96% etanolu.

3. WYNIKI I Dyskusja

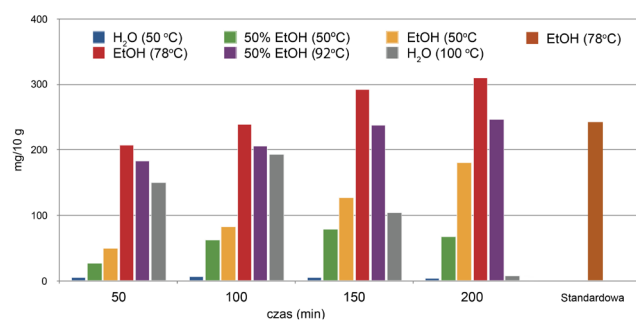
Otrzymaną amigdalinę zidentyfikowano w oparciu o analizę danych spektralnych (NMR, IR) i temperaturę topnienia (225°C). Powyższe dane pozostawały w zgodności z odpowiednimi danymi dostępnymi w piśmiennictwie [8-10].

Z przeprowadzonych doświadczeń jasno wynika, że duży wpływ na wydajność ma temperatura ekstrakcji oraz czas. Amigdalina jest bardzo dobrze rozpuszczalna w wodzie oraz etanolu i dobrze w butanolu, nierozpuszczalna natomiast w eterze dietylowym. Z tego powodu zdecydowano się użyć dwa pierwsze rozpuszczalniki do ekstrakcji.

Ekstrakcję z trzykrotnym powtórzeniem przeprowadzono łącznie 72 razy, każdorazowo stosując wodę, etanol 50% lub etanol 96% oraz metodę opracowaną przez Autorów. Przeprowadzono

także ekstrakcję standardową (z trzykrotnym powtórzeniem), której uśredniony wynik był punktem odniesienia. Wyniki przedstawiono w Tabeli 1.

Ekstrakcja przy użyciu wody w temperaturze 50°C dawała najmniej satysfakcjonujące wyniki. Przy dłuższym ogrzewaniu zaobserwowano obniżenie wydajności (Rys. 2), co świadczyć może o hydrolizie amigdaliny.



Rysunek 2 Uśredniona wydajności przeprowadzonych ekstrakcji (mg/10 g)

Figure 2 Average yields of the performed extractions (mg/10 g)

Odniesienie do ekstrakcji prowadzonej w etanolu, przez 60 min, w temperaturze 92°C. Uśredniona wydajność 217 mg.

Zastosowanie rozcieńczonego (50%) etanolu, ogrzewanego jedynie do 50°C, powoduje od 4,5- do 16-krotnego wzrostu ilości wyekstrahowanej amigdaliny, w stosunku do ekstrakcji ciepłą wodą w tym samym przedziale czasowym. Najwięcej tego związku uzyskano (80,19 mg), przeprowadzając ekstrakcję przez 150 minut. Zastosowanie 96% etanolu i tej samej temperatury ekstrakcji skutkuje dalszym wzrostem ilości wyizolowanej amigdaliny, od ok. 50 mg (czas ekstrakcji: 50 min) do ok. 182 mg (czas ekstrakcji: 200 min).

Tabela 1 Uśrednione wyniki serii ekstrakcji z 10 g materiału biologicznego
Table 1 Average results from series of 24 extraction with 10 g of biological material

Temperatura [°C]	Rozpuszczalnik	Ilość amigdaliny [mg] wyizolowanej w wyniku ekstrakcji w danych warunkach			
		Czas ekstrakcji			
		50 min	100 min	150 min	200 min
50	woda	6,12	6,80	6,11	4,13
50	50% etanol	27,74	62,51	80,19	68,23
50	96% etanol	50,53	83,29	128,13	182,02
100	woda	149,43	193,10	103,57	8,14
92	50% etanol	184,14	207,05	237,46	247,28
97,5	96% etanol	207,13	239,58	292,72	310,82

Dalszy, bardzo wyraźny wzrost ilości amigdaliny wyizolowanej z 10 g surowca naturalnego zaobserwowano, stosując do ekstrakcji wrzący rozpuszczalnik. Wyjątek stanowiła wrząca woda, której dłuższe stosowanie prowadziło do spadku wydajności (150 i 200 min), spowodowany częściową hydrolizą amigdaliny. Podobnie jest z użyciem ciepłej wody (150 i 200 min), zamiast wzrostu, obserwowano spadek ilości wyizolowanej amigdaliny. Wzrost wydajności ekstrakcji w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika, za wyjątkiem ekstrakcji wodą, jest szczególnie wyraźny po przeprowadzeniu dwuipółgodzinnego procesu, podczas którego rozcieńczonym etanolem wyekstrahowano ok. 238 mg amigdaliny, zaś 96% – ok. 293 mg. Dalsze wydłużenie czasu ekstrakcji tylko nieznacznie wpływało na wzrost wydajności (odpowiednio: 246 i 310 mg).

W wyniku standardowej metody ekstrakcji, tj. trwającej 60 minut i odbywającej się w temperaturze 92°C uzyskano średnio 217 mg amigdaliny. Rezultat ten można porównać do 100-minutowej ekstrakcji rozcieńczonym etanolem, bądź 50-minutowej ekstrakcji etanolem stężonym (96%).

Prostego usprawnienia dokonano na dwóch etapach procesu izolowania amigdaliny z jąder pestek moreli. Pierwszy z nich polegał na zastosowaniu eteru dietylowego, mające na celu pozbycie się sporych ilości oleju utrudniającego ekstrakcję. Eter zastosowano jeszcze przed przeprowadzeniem ekstrakcji właściwej, co przyczyniło się do wyizolowania amigdaliny o wysokim stopniu czystości. Drugi z tych etapów, to zastosowanie 50%, zamiast 96% etanolu, połączonego z wydłużeniem czasu ekstrakcji do 100 min. Wiąże się z to z oszczędnościami rozpuszczalnika, którego wystarczy użyć jedynie połowy, w porównaniu z metodą klasyczną. W celu dalszego zwiększenia wydajności ekstrakcji, proces ten może być wydłużony o dalsze 50 minut.

Amigdalina jest związkiem chemicznym, z którym wiąże się duże nadzieje, a jej szeroka dostępność z surowców roślinnych stanowi dodatkowy bodziec do poszukiwania usprawnionych metod jej izolowania. Usprawnienia te mogą być bardzo proste, a jednocześnie skuteczne, co wykazano w niniejszej publikacji.

LITERATURA

- [1] Günther A., Amigdalina - jako wstęp do świata związków naturalnych, *Chemia w Szkole*, 4 (2016), 48-50.
- [2] Cairns T., Froberg J. E., Gonzales S., Langham W. S., Stamp J. J., Howie J. K., Sawyer D. T., Analytical Chemistry of Amygdalin, *Anal. Chem.*, 50 (1978), 317-322.
- [3] Günther A., Bednarczyk-Cwynar B., Amigdalina – łatwo dostępny związek o ciekawych właściwościach farmakologicznych, I Wielkopolskie Seminarium Chemii Bioorganicznej, Organicznej i Biomateriałów BioOrg 2015, Poznań, grudzień, 2015, 190-192.
- [4] Chen Y., Ma J., Wang F., Hu J., Cui A., Wei C., Yang Q., Li F., Amygdalin induces apoptosis in human cervical cancer cell line HeLa cells, *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 35 (2013), 43-51.
- [5] Chang H. K., Shin M. S., Yang H. Y., Lee J. W., Kim Y. S., Lee M. H., Kim J., Kim K. H., Kim C. J., Amygdalin Induces Apoptosis through Regulation of Bax and Bcl-2 Expressions in Human DU245 and LNCaP Prostate Cancer Cells, *Biol. Pharm. Bull.*, 29 (2006), 1597-1602.
- [6] Zhou C., Qian L., Ma H., Yu X., Zhang Y., Qu W., Zhang X., Xia W, Enhancement of amygdalin activated with beta-d-glucosidase on HepG2 cells proliferation and apoptosis, *Carbohydr Polym.*, 90 (2012) 516-523.
- [7] Ghiulai V. M., Socaciu C., Jianu I., Ranga F., Fetea F., *Bul. USAMV*, 62 (2006), 246-253.
- [8] Savic I. M., Nikolic V. D., Savic-Gajic I. M., Nikolic L. B., Ibrić S. R., Gajic D. G., Optimization of technological procedure for amygdalin isolation from plum seeds (*Pruni domesticae* semen), *Front. Plant Sci.*, 6 (2015) article 276.
- [9] Yashunsky D. V., Kulakovskaya E. V., Kulakovskaya T. V., Zhukova O. S., Kiselevskiy M. V., Nifantiev N. E., *J. Carbohydr. Chem.*, 34 (2015) 460-474.
- [10] Ribeiro A. A., ¹H and ¹³C NMR Analysis of D-Amygdalin: Oligosaccharide Assignment and Sequencing, *Magn. Res.Chem.*, 28 (1990) 765-773.