

TEKUTÝ ZÁZVOROVÝ EXTRAKT: TECHNOLOGIE VÝROBY A HODNOCENÍ JAKOSTI

MASTEIKOVÁ R., BERNATONIENĚ R.¹, SAVICKAS A.², CHALUPOVÁ Z., BERNATONIENĚ J.²

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Farmaceutická fakulta, Ústav technologie léků

¹Kaunasská univerzita medicíny Litva, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutické chemie a farmakognozie

² Kaunasská univerzita medicíny Litva, Farmaceutická fakulta, Katedra technologie léků a sociální farmacie

SOUHRN

Tekutý zázvorový extrakt: technologie výroby a hodnocení jakosti

Cílem práce bylo vypracovat technologii výroby tekutého zázvorového extraktu a rovněž vybrat a ověřit metody hodnocení jakosti hotového přípravku. Na základě experimentu bylo zjištěno, že vhodným vyluhovadlem je ethanol 70%. Optimální podmínky pro vznik kvalitního extraktu se vytvoří, když je použita droga rozdrobněná na částice procházející sítím o velikosti otvorů 4000 µm, jako extrakční metoda slouží reperkolace s rozdělením vsádky drogy v poměru 5:3:2 a kapalina z perkolátoru vytéká rychlostí 0,2 ml/min/100 g drogy. Přítomnost aminokyselin, sacharidů, glykosidů, redukujících látek, fenolických sloučenin a alkaloidů v hotovém extraktu byla prokázána pomocí barevných nebo srážecích reakcí. Pro důkaz gingerolů a šogaolů byla použita metoda tenkovrstvé chromatografie. Kvantitativně byly stanoveny zbytek po odpaření, koncentrace ethanolu a množství silic.

Klíčová slova: *Zingiber officinale* – tekutý extrakt – technologie – hodnocení

Čes. slov. Farm., 2006; 55, 268–271

SUMMARY

Liquid Ginger Extract: Technology of Production and Quality Evaluation

The paper aimed to elaborate the technology of the production of a liquid ginger extract and to select and verify the methods of quality evaluation of the final preparation. The experiment revealed 70% ethanol as a suitable extraction agent. The optimal conditions for the development of an extract of good quality are established when the herbal drug is crushed to form particles passing through a sieve with a mesh size of 4000 µm, the extraction method is repercolation with the division of the charge of the drug in the relation 5:3:2, and the liquid flows from the percolator at a rate of 0.2 ml/min/100 g of the drug. The presence of amino acids, saccharides, glycosides, reducing agents, phenolic substances, and alkaloids in the finished extract was demonstrated by means of colour or precipitation reactions. Thin-layer chromatography was employed to demonstrate gingerols and shogaols. Evaporation residue, ethanol concentration, and the amount of essential oils were determined quantitatively.

Key words: *Zingiber officinale* – liquid extract – technology – evaluation

Čes. slov. Farm., 2006; 55, 268–271

Má

Úvod

Se zvyšujícím se zájmem o fytopreparáty roste potřeba výzkumných prací, zaručujících, že rostlinné přípravky budou kvalitní, účinné a bezpečné. Léčivé rostliny obsahují komplex účinných látek rozličné povahy, proto je zapotřebí pro každý přípravek vypracovat optimální technologický postup výroby a vybrat vhodné metody hodnocení jakosti.

Zázvor obecný (*Zingiber officinale*, Roscoe) je velmi stará kulturní rostlina, pocházející z jihovýchodní Asie. V dnešní době se již planě rostoucí rostliny nevyskytují a celá produkce zázvoru pochází z uměle pěstovaných kultur. Největšími současnými producenty zázvoru jsou Indie a Čína^{1, 2)}.

Zázvor se užívá především jako kuchyňské koření²⁾, avšak orientální medicína již několik tisíciletí používá zázvor k léčebným účelům³⁾. Terapeutický účinek

závoru byl prokázán i řadou současných vědeckých prací. Účinné látky přítomné v závorovém oddenku pozitivně ovlivňují procesy trávení v gastrointestinálním traktu ^{2, 4)}; Zmírňují dyspeptické potíže, aktivují střevní peristaltiku, podporují chuť k jídlu. Užívání závoru se obzvláště osvědčilo při nevolnostech a zvracení různého původu ^{1, 5-8)} (kinetóze, těhotenské nevolnosti, pooperační nevolnosti a zvracení). Závor a z něj připravené extrakty či izolované účinné látky působí proti řadě gram-pozitivních a gram-negativních mikroorganismů (např. *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a další) a plísní ^{5, 9)} (např. *Candida albicans*), potlačuje růst *Helicobacter pylori* ¹⁰⁾, vykazuje protizánětlivé ¹¹⁾ a imunostimulační účinky ⁵⁾. Výzkum rovněž prokázal, že závor stimuluje srdeční činnost a krevní oběh ^{12, 13)}, zabraňuje srážení krve a snižuje hladinu cholesterolu ¹⁴⁾, působí hypoglykemicky ¹⁵⁾, má výrazný antioxidační účinek ^{16, 17)}, může působit chemopreventivně ^{16, 18)}, tlumí bolest u pacientů nemocných osteoartritidou ¹⁹⁾.

Droga (*Zingiberis rhizoma*) obsahuje 1–4 % silic ¹⁾ (směs mono a seskviterpenů, např. zingiberen, kurkumen, bisabolen a další), pryskyřici ¹⁷⁾ (převážně gingeroly a šogaoly, zodpovědné za palčivou chuť čerstvého závoru), aminokyseliny, mastné kyseliny, proteiny, sacharidy, škroby, vitaminy a minerální látky ^{2, 5)}.

V současné době se z čerstvých nebo sušených závorových oddenků vyrábí řada přípravků (tinktura, extrakty, oleje, čajové směsi, tablety, prášky aj.). Přesto nepozbývá na významu zdokonalování technologie jednotlivých lékových forem.

Cílem práce bylo vypracování technologie výroby tekutého závorového extraktu (poměr drogy k výluhu 1:1) a výběr vhodných metod hodnocení jakosti.

POKUSNÁ ČÁST

Materiál

Sušené rozdrobněné oddenky závoru (dodala fa „Acorus Calamus“). Ethanol požadované koncentrace se získal ředěním ethanolu 96% (V/V) čistou vodou. Kvalita všech surovin vyhovovala požadavkům Evropského lékopisu ²⁰⁾.

Metodika

Při výběru vhodného vyluhovačla k přípravě tekutého extraktu byl použit ethanol 50%, 60%, 70% a 80%. Sledoval se rovněž vliv stupně rozdrobnění na kvalitu vzniklého výluhu. Stupeň rozdrobnění byl stanoven přesátím přes síta o velikosti otvorů 180 µm, 355 µm, 2000 µm, 4000 µm, 5600 µm a 8000 µm. Jako extrakční metody se zkoušely perkolace a reperkolace ²¹⁾, kde se navíc hodnotila rychlost vytékání kapaliny z perkolátoru. Při stanovení vlivu různých technologických proměnných extrakce probíhala až do úplného vyloužení drogy. Vybranou metodou připravený extrakt byl pak podroben stabilitním zkouškám ²²⁾.

Kvalita výluhu se hodnotila organolepticky, stanovením zbytku po odpaření, hustoty a koncentrace ethanolu podle metodik uvedených v Evropském lékopisu ²⁰⁾.

Zkoušky totožnosti zahrnovaly důkaz aminokyselin, sacharidů, glykosidů, redukujících látek, fenolických sloučenin a alkaloidů s použitím barevných nebo srážecích reakcí: aminokyseliny – fialové zabarvení po přidání 1 ml 1% roztoku ninhydrinu k 0,5 ml extraktu a zahřátí, sacharidy – sraženina červené barvy po přidání 1 ml směsi roztoků Fehlingův I a II (1:1) k 0,5 ml extraktu a zahřátí, glykosidy – červenohnědé zabarvení po přidání 1% roztoku p-dimethyl-aminobenzaldehydu v koncentrované kyselině sírové k 0,5 ml extraktu (po naředění vodou se toto zabarvení mění na fialové), redukující látky – sraženina šedé barvy po přidání 1 ml amoniakálního roztoku dusičnanu stříbrného ke stejnému množství extraktu, fenolické sloučeniny – sraženina žluté barvy po přidání 0,5 ml roztoku octanu olovnatého k 1 ml extraktu, alkaloidy – sraženina žluté barvy po přidání 0,5 ml kyseliny pikrové k 1 ml extraktu.

Přítomnost gingerolů a šogaolů byla zjišťována lékopisnou metodou tenkovrstvé chromatografie ²⁰⁾. Jako kontrolní roztok sloužil roztok 10 µl citralu a 10 mg resorcinolu v 10 ml methanolu. Obě kapaliny (extrakt a kontrolní roztok) se v množství 20 µl nanasly na chromatografickou desku potaženou silikagelem. Deska byla umístěna do chromatografické komory s mobilní fází (směs hexanu a diethyletheru v poměru 40:60). Vzdálenost mezi místem nanášení a čelem mobilní fáze byla 15 cm. Deska se vysoušela ve vzduchu, k vyvíjení byl použit 1% roztok vanilinu (m/V) v kyselině sírové. Vizuální hodnocení se provádělo při denním světle. Ke zviditelnění oddělených skvrn se desky zahřívaly 10 minut při teplotě 100–105 °C. Ve spodní části chromatogramu kontrolního roztoku byla pozorována zóna intenzivně červené barvy (resorcinol), v horní části pak zóna fialové barvy (citral). Na chromatogramu zkoumané kapaliny (závorový extrakt) byly pod zónou resorcinolu pozorovány dvě zóny intenzivně fialové barvy (gingeroly) a uprostřed zón resorcinolu a citralu dvě další zóny méně intenzivní fialové barvy (šogaoly).

Kvantitativně byl závorový extrakt hodnocen na základě stanovení množství silic. Do 500 ml baňky s kulatým dnem bylo umístěno 30,0 g extraktu a 100 ml čisté vody. Po napojení zpětného chladiče se prováděla destilace do 50 ml odměrné baňky až do získání potřebného množství destilátu. Zpětný chladič byl promyt 10 ml pentanu. V destilátu se rozpustil chlorid sodný v množství potřebném ke vzniku nasyceného roztoku. Pak byla provedena extrakce destilátu pentanem (3x pokaždé s použitím 20 ml pentanu). Pentanové vrstvy se spojily a filtrací přes bezvodý síran sodný se vysušily. Síran sodný byl promyt malým množstvím pentanu. Pak se pentan opatrně odpařil (při teplotě nepřekračující 40 °C). Zbytek se 2 hodiny sušil v exikátoru při teplotě 25 °C nad oxidem fosforečným a tuhým parafinem a následně byl zvážen.

Výsledky experimentu byly zpracovány statisticky s použitím Studentova testu ($p < 0,05$).

VÝSLEDKY A DISKUZE

V práci Joland et al. ²³⁾ pojednávající o vlivu koncentrace ethanolu na množství vyextrahovaných látek se jako optimální uvádí 60% (V/V) koncentrace. Výsledky našeho experimentu dokazují, že vyšších hodnot zbytku po odpaření a výtěžku silic se dosáhne použitím ethanolu 60%, 70% nebo 80% (obr. 1). K výrobě tekutého extraktu doporučujeme ethanol 70%. Ethanol této koncentrace byl proto použit v experimentu pro stanovení různých technologických proměnných.



Obr. 1. Vliv koncentrace ethanolu na kvalitu výluhu

Při stanovení vlivu stupně rozdrobnění drogy bylo zjištěno, že nejvíce účinných látek obsahují extrakty připravené z drobnější drogy (180–355 μm) (tab. 1).

Tab. 1. Vliv stupně rozdrobnění na kvalitu výluhu

Velikost otvorů síta (μm)	zbytek po odpaření (%)	množství silic (%)
180	13,90 $\pm$ 0,31	1,74 $\pm$ 0,02
355	12,40 $\pm$ 0,21	1,59 $\pm$ 0,03
2000	11,80 $\pm$ 0,15	1,39 $\pm$ 0,02
4000	10,85 $\pm$ 0,12	1,14 $\pm$ 0,02
5600	9,60 $\pm$ 0,22	0,86 $\pm$ 0,04
8000	7,90 $\pm$ 0,12	0,72 $\pm$ 0,03

Tab. 2. Vliv extrakční metody na kvalitu výluhu

Extrakční metoda	stanovená hodnota	
	zbytek po odpaření (%)	množství silic (%)
perkolace	9,00 $\pm$ 0,20	0,84 $\pm$ 0,03
reperkolace s rozdělením vsádky drogy v poměru 5:3:2	12,01 $\pm$ 0,40	1,15 $\pm$ 0,02
reperkolace s rozdělením drogy na tři stejně velké části	9,40 $\pm$ 0,30	0,87 $\pm$ 0,01

Tab. 3. Vliv rychlosti vytékání kapaliny z perkolátoru na kvalitu výluhu

Stanovené hodnoty (%)	rychlost vytékání kapaliny (ml/min/100 g drogy)				
	0,2	0,3	0,5	1	2
koncentrace ethanolu	64,3 $\pm$ 0,2	64,6 $\pm$ 0,3	64,5 $\pm$ 0,4	64,7 $\pm$ 0,2	64,9 $\pm$ 0,3
zbytek po odpaření	11,40 $\pm$ 0,09	11,00 $\pm$ 0,08	10,87 $\pm$ 0,09	9,04 $\pm$ 0,08	8,09 $\pm$ 0,07
množství silic	1,12 $\pm$ 0,04	0,91 $\pm$ 0,03	0,85 $\pm$ 0,05	0,71 $\pm$ 0,02	0,62 $\pm$ 0,03

Avšak v tomto případě se do výluhu dostává velké množství velmi malých částic, což sťažuje následnou filtraci. Po vyhodnocení ztrát technologického procesu doporučujeme rozdrobňovat drogu na velikost částic propadajících sítím o velikosti otvorů 4000 μm .

Při hodnocení vlivu extrakční metody se extrakty připravovaly klasickou perkolací a reperkolací, kde se navíc zkoušely dvě modifikace: rozdělení vsádky drogy na části různé velikosti (5:3:2) a rozdělení vsádky drogy na tři stejně velké části. Všechny zkoumané hodnoty (zbytek po odpaření, množství silic a aminokyselin) byly výrazně lepší v případě reperkolace, kde se vsádka drogy rozděvila v poměru 5:3:2 (tab. 2).

U perkolačních metod kvalitu výluhu ovlivňuje rovněž rychlost vytékání kapaliny z perkolátoru. Bylo zjištěno, že se nejlepších výsledků dosáhne při rychlosti 0,2 ml/min/100 g drogy (tab. 3).

Na základě získaných výsledků se vybranou metodou připravilo pět šarží extraktu, které byly ponechány 10 dní na tmavém chladném místě (8 $\pm$ 2 $^{\circ}\text{C}$) v dobře uzavřených nádobách, aby sedimentovaly. Pak byla provedena dekantace, filtrace a rozplnění do láhví z tmavého skla. Připravený tekutý extrakt byl čirý, měl hnědožlutou barvu, příjemnou vůni a palčivou chuť. Výsledky kvantitativního hodnocení jsou uvedeny v tabulce 4.

Takto připravený extrakt byl podroben stabilitní zkoušce uchováváním při teplotě 25 $\pm$ 2 $^{\circ}\text{C}$ a relativní vlhkosti vzduchu 60 $\pm$ 5 %. Během 24 měsíců uchovávání neproběhly v extraktech žádné významné změny. Doporučuje se proto doba použitelnosti extraktu 2 roky.

Tab. 4. Kvantitativní parametry tekutého zázvorového extraktu

Šarže	relativní hustota	ethanol (%)	stanovená hodnota	
			zbytek po odpaření (%)	silice (%)
01	0,9146	65,6±0,4	12,01±0,1	1,05±0,03
02	0,9135	66,0±0,6	10,84±0,2	1,06±0,04
03	0,9139	65,8±0,4	13,01±0,1	1,10±0,02
04	0,9138	65,9±0,5	10,80±0,1	1,14±0,01
05	0,9130	66,3±0,6	11,90±0,2	1,11±0,02

LITERATURA

- WHO monographs on selected medicinal plants. Vol. 1. Geneva, WHO, 1999, s. 277.
- Vasala, P. A.:** In Handbook of herbs and spices (Peter K.V. ed.). Boca Raton, CRC Press, 2001, s. 195.
- Langer, E., Greifenberg, S., Gruenwald, J.:** Adv. Ther., 1998; 57, 1221-1227.
- Ghayur, M. N., Gilani, A. H.:** Digest. Diseases Sci., 2005; 50, 1889-1897.
- Chrubasik, S., Pittler, M. H., Roufogalis, B. D.:** Phytomedicine, 2005; 12, 684-701.
- Ernst, E., Pittler, M. H.:** Br. J. Anaest., 2000; 65, 367-371.
- Chalyakunapruk, N. et al.:** Am. J. Obst. Gynecol., 2006; 194, 95-99.
- Scurr, J. H., Gulati, O. P.:** Phytother. Res., 2004, 18, 687-695.
- Grzanna, R., Lindmark, L., Frondoza, C. G.:** J. Medic. Food, 2005; 8, 125-132.
- Mahady, G. D. et al.:** Anticancer Res., 2003; 23, 3699-3702.
- Jolad, S. D. et al.:** Phytochemistry, 2005; 66, 1614-1635.
- Ghayur, M. N. et al.:** Vasc. Pharmacol., 2005; 43, 234-241.
- Ghayur, M. N., Gilani, A. H.:** J. Cardiovasc. Pharmacol., 2005; 45, 74-80.
- Thomson, M. et al.:** Prostagl. Leukotrien. Essent. Fatty Acids, 2002; 67, 475-478.
- Srinivasan, K.:** Int. J. Food Sci. Nutr., 2005; 56, 399-414.
- Surh, Y.-J.:** Food Chem. Toxicol., 2002; 40, 1091-1097.
- Zancan, K. C. et al.:** J. Supercritical Fluids, 2002; 24, 57-76.
- Wei, Q.-Y. et al.:** J. Ethnopharmacol., 2005; 102, 177-184.
- Altman, R. D., Marcussen, K. C.:** Arthritis Rheum., 2001; 48, 2531-2538.
- European Pharmacopoeia 5th Edition. Strasbourg, Council of Europe, 2005.
- Savickas, A. et al.:** Čes. slov. Farm., 2004; 53, 35-38.
- Vetchý, V. et al.:** Chem. Listy, 2006; 100, 24-29.
- Joland, S. D. et al.:** Phytochemistry, 2004; 65, 1937-1954.

Došlo 2. 8. 2006.

Přijato ke zveřejnění 8. 9. 2006.

PharmDr. Ruta Masteiková, CSc.
Palackého 1/3, 612 42 Brno
e-mail: masteikovar@vfu.cz

Česká a slovenská farmacie publikuje tiskem a zveřejňuje internetem i texty v anglickém jazyce

Rada vlády ČR a MŠMT vydaly „Metodiku hodnocení výzkumu a vývoje a jejich výsledků v roce 2006“ (www.vyzkum.cz), ve které mj. stanoví výrazně vyšší bodové hodnocení těchto výsledků publikovaných v časopisech, odborné knize či sborníku v jiném než českém, resp. slovenském jazyce.

V souvislosti s touto skutečností a na žádost některých institucí a řešitelů výzkumu umožňuje časopis Česká a slovenská farmacie od roku 2007 publikovat původní, případně přehledové práce z oblasti výzkumu a vývoje podporovaných z veřejných zdrojů v anglickém jazyce.

Česká a slovenská farmacie je vědecký časopis obou národních farmaceutických společností a jeho zaměření, charakter a jazyk musí této skutečnosti odpovídat. Na základě rozhodnutí redakční rady časopisu po dohodě s jeho vydavatelem by v každém čísle běžného ročníku mohly být publikovány 1–2 články v anglickém jazyce. Tyto články v anglické verzi budou v plném znění spolu s jejich anglickými a českými souhrny zveřejňovány i na internetových stránkách časopisů ČLS JEP (www.clsjep.cz).

Toto nové opatření by podle kritérií Rady vlády ČR a MŠMT zlepšilo bodové hodnocení výsledků výzkumu a vývoje a současně by se publikací sítí internetu nové poznatky lépe a rychleji rozšiřovaly. Zvyšovala by se i publicita našich autorů a jejich citovanost například v rámci SCI.

Zasílání anglicky psaných textů s anglickými i českými souhrny se bude řídit stejnými pravidly jako u českých/slovenských rukopisů dosud – viz Pokyny autorům v každém čísle.

Podmínky zveřejnění zůstávají stejné jako pro publikace grantového výzkumu a zpoplatňují se 1800 Kč včetně DPH za jednu černobílou tiskovou stranu + 250 Kč za revizi tiskové strany anglického textu při korektuře.

Bližší informace ohledně zasílání rukopisů získáte kontaktem s naší redakcí, uvedeným v tiráži časopisu.

redakce